ORDIN DE PLATA NR.48 Tip.doc. 1

DATA EMITERII: 10 martie 2026

PLATITI:5546-16 LEI: Cinci Mii Cinci Sute Patruzeci si Sase, 16

PLATITOR: (R)MEDIST GRUP SRL CODUL IBAN:MD57VI022242600000269MDL:
CODUL FISCAL:1018600004516

PRESTATORUL PLATITOR
B.C VictoriaBank S.A. s.26 Chisinau

BENEFICIAR:(R) IMSP Institutul Oncologic CODUL IBAN:MD13AG000000022516479786:
CODUL FISCAL:1003600151023

PRESTATORUL BENEFICIAR
BC'MAIB'S.A.

DESTINATIA PLATII: Plata pentru garantie de oferta , pentru LP nr. 21561411 din 05.02.2026

NORMAL/URGENT:NO

L.S.

CODUL TRANZACTIEI:001

DATA PRIMIRII: _____

DATA EXECUTARII: _____

SEMNATURILE EMITENTULUI

_____
SEMNATURA PRESTATORULUI

MOTIVUL REFUZULUI

L.S.

«VICTORIABANK»
DIRECȚIA OPERAȚIUNI
10. MAR. 2026
Cod fiscal 1002600001338 SWIFT VICBMD2X
Cod IBAN MD81VI0000000000225216701

14:13:31 10 MAR 2026
Semnatura electronica:
AUlRIwKcnxZhzT+a1qa2dC8rKQyulLnIUi9AiOl9iNgAaYEvEooXSAeDpzuJJ5veNYB/FJVsKRyu
DvIZ/aIjJ21HTdtkhbc/8HzfoTr9tQ1b2lKSzj+o3D5jqO7PpAl4xPgPcx5TdOfW9oHkjz8clhVw
sR4g9PmAJF3Tj5ubWR/JvELptfBQbayb7WKOEWQ3l5DuysALDkYusGWTaYfXWvy1ZR9a7gplfU2A
r59rsGhJAQM23SA0TzgLOyWGCukTcG/Kn9W8CbWZZsK+ZJRlWhRka0s5qJeiiEYf+ES3v96g0RFL
3EBGLuOuRksmjlm3Hgtn4J4EnvV+wGOxfwCLZA==

Digitally signed by Anghel Gabriela-Cristina
Date: 2026.03.10 14:43:36 EET
Reason: MoldSign Signature
Location: Moldova
MOLDOVA EUROPEANĂ

MEDIST Grup
Soluții pentru sănătate

ISO 9001 SYSTEMA CERTIFICĂM PERFORMANȚA
ISO 14001 SYSTEMA CERTIFICĂM PERFORMANȚA
ISO 13485 SYSTEMA CERTIFICĂM PERFORMANȚA
IAS ACCREDITED Management Systems Certification Body MSCB-173

DECLARAŢIE
privind valabilitatea ofertei

Către: **IMSP Institutul Oncologic**

Stimaţi domni,

Ne angajăm să menținem oferta valabilă, **privind Achiziţionarea Reagenți, consumabile și reactive de laborator (Genetica, Imunologia, Citometrie în flux),** pentru o durată de 5**0 (cincizeci) zile, respectiv până la 15.05.2026** și ea va rămâne obligatorie pentru noi și poate fi acceptată oricând înainte de expirarea perioadei de valabilitate.

Data completării 10.03.2026

Cu stimă,
Ofertant/candidat
Gabriela-Cristina Anghel
(semnătura autorizată)

MEDIST Grup S.R.L.
Str. Mitropolit Gavriil Bănulescu-Bodoni nr. 25
Oficiul 33, MD-2012 Chișinău, Rep. Moldova
Tel./Fax: +373 22 84 94 95
E-mail: office@medist.md
Web: www.medist.md

IDNO: 1018600004516
TVA: 0508191
BC Victoriabank SA, Filiala nr. 26 Chișinău
IBAN (MDL):MD57VI022242600000269MDL
SWIFT: VICBMD2X469

Certificate of Registration

QUALITY MANAGEMENT SYSTEM - ISO 9001:2015

This is to certify that:

Beckman Coulter, Inc.
250 South Kraemer Blvd.
Brea
California
92821
USA

Holds Certificate No: **FM 663561**

and operates a Quality Management System which complies with the requirements of ISO 9001:2015 for the following scope:

The Design and Development, Manufacture, Remanufacture, Service, Installation and Distribution of Instruments, Components, Reagents, Calibrators, Controls, and other Consumables for Laboratory and Research Use.

For and on behalf of BSI:

Carlos Pitanga, Managing Director Assurance, Americas

Original Registration Date: 2016-03-19
Effective Date: 2024-03-13
Latest Revision Date: 2024-02-22
Expiry Date: 2027-03-12

...making excellence a habit.™

This certificate remains the property of BSI and shall be returned immediately upon request.
An electronic certificate can be authenticated online. Printed copies can be validated at www.bsigroup.com/ClientDirectory
To be read in conjunction with the scope above or the attached appendix.
Information and Contact: BSI, Kitemark Court, Davy Avenue, Knowlhill, Milton Keynes MK5 8PP. Tel: + 44 345 080 9000
BSI Assurance UK Limited, registered in England under number 7805321 at 389 Chiswick High Road, London W4 4AL, UK.
A Member of the BSI Group of Companies.

Certificate No: **FM 663561**

Location	Registered Activities
Beckman Coulter, Inc. 250 South Kraemer Blvd. Brea California 92821 USA	Headquarters (*Diagnostics div.) Administration, Design and Development, Manufacturing and Remanufacturing, Service (Technical Support Center), Distribution.
Beckman Coulter, Inc. 2295 Progress Drive Hebron Kentucky 41048 USA	Warehouse and Distribution of Finished Goods.

Original Registration Date: 2016-03-19
Effective Date: 2024-03-13
Latest Revision Date: 2024-02-22
Expiry Date: 2027-03-12

This certificate remains the property of BSI and shall be returned immediately upon request.
An electronic certificate can be authenticated online. Printed copies can be validated at www.bsigroup.com/ClientDirectory
To be read in conjunction with the scope above or the attached appendix.
Information and Contact: BSI, Kitemark Court, Davy Avenue, Knowlhill, Milton Keynes MK5 8PP. Tel: + 44 345 080 9000
BSI Assurance UK Limited, registered in England under number 7805321 at 389 Chiswick High Road, London W4 4AL, UK.
A Member of the BSI Group of Companies.

Certificate of Registration

QUALITY MANAGEMENT SYSTEM - ISO 13485:2016 & EN ISO 13485:2016

This is to certify that:

Beckman Coulter, Inc.
250 South Kraemer Blvd.
Brea
California
92821
USA

Holds Certificate Number: MD 670607

and operates a Quality Management System which complies with the requirements of ISO 13485:2016 & EN ISO 13485:2016 for the following scope:

The design and development, manufacture, distribution, installation, service and customer support of automated instruments, software, reagents, calibrators, controls and other consumables for use in in-vitro diagnostic medical devices.

For and on behalf of BSI:

Graeme Tunbridge, Senior Vice President Global Regulatory & Quality

Original Registration Date: 2017-04-12
Latest Revision Date: 2024-09-10

Effective Date: 2024-03-19
Expiry Date: 2027-03-18

...making excellence a habit.™

This certificate was issued electronically and remains the property of BSI and is bound by the conditions of contract.
An electronic certificate can be authenticated online.
Printed copies can be validated at www.bsigroup.com/ClientDirectory

Information and Contact: BSI, Kitemark Court, Davy Avenue, Knowlhill, Milton Keynes MK5 8PP. Tel: + 44 345 080 9000
BSI Assurance UK Limited, registered in England under number 7805321 at 389 Chiswick High Road, London W4 4AL, UK.
A Member of the BSI Group of Companies.

Certificate No: MD 670607

Location	Registered Activities
Beckman Coulter, Inc. 250 South Kraemer Blvd. Brea California 92821 USA	Design and development, manufacture, distribution, installation, service and customer support.
Beckman Coulter, Inc. 1000 Lake Hazeltine Drive Chaska Minnesota 55318 USA	Design and development, manufacture, distribution, installation, service and customer support.
Beckman Coulter, Inc. 2470 Faraday Avenue Carlsbad California 92010 USA	Design and development, manufacture and distribution.
Beckman Coulter, Inc. 11800 SW 147th Avenue Miami Florida 33196 USA	Design and development, manufacture, distribution, installation, service and customer support.
Beckman Coulter, Inc. 740 West 83rd Street Hialeah Florida 33014 USA	Manufacture and distribution.
Beckman Coulter Inc. 7381 Empire Drive Florence Kentucky 41042 USA	Manufacture
Beckman Coulter GmbH Europark Fichtenhain B13 47807 Krefeld Germany	Manufacture

Original Registration Date: 2017-04-12

Effective Date: 2024-03-19

Latest Revision Date: 2024-09-10

Expiry Date: 2027-03-18

This certificate was issued electronically and remains the property of BSI and is bound by the conditions of contract.
An electronic certificate can be authenticated online.
Printed copies can be validated at www.bsigroup.com/ClientDirectory

Information and Contact: BSI, Kitemark Court, Davy Avenue, Knowlhill, Milton Keynes MK5 8PP. Tel: + 44 345 080 9000
BSI Assurance UK Limited, registered in England under number 7805321 at 389 Chiswick High Road, London W4 4AL, UK.
A Member of the BSI Group of Companies.

Certificate No: MD 670607

Location	Registered Activities
Beckman Coulter, Inc. Microbiology Business 2040 Enterprise Blvd. West Sacramento California 95691 USA	Manufacture and distribution
Beckman Coulter, Inc. Microbiology Business 1584 Enterprise Blvd. West Sacramento California 95691 USA	Design and development, installation, service, customer support and software
Beckman Coulter, Inc. 2295 Progress Drive Suite C Hebron Kentucky 41048 USA	Manufacture

Original Registration Date: 2017-04-12
Effective Date: 2024-03-19
Latest Revision Date: 2024-09-10
Expiry Date: 2027-03-18

This certificate was issued electronically and remains the property of BSI and is bound by the conditions of contract.
An electronic certificate can be authenticated online.
Printed copies can be validated at www.bsigroup.com/ClientDirectory

Information and Contact: BSI, Kitemark Court, Davy Avenue, Knowlhill, Milton Keynes MK5 8PP. Tel: + 44 345 080 9000
BSI Assurance UK Limited, registered in England under number 7805321 at 389 Chiswick High Road, London W4 4AL, UK.
A Member of the BSI Group of Companies.

DECLARATION OF CONFORMITY

Beckman Coulter Inc. hereby ensures and declares that the product(s) listed below comply with the requirement of the *In-Vitro* Diagnostic Medical Devices Regulation 2017/746.

This EU Declaration of Conformity is issued under the sole responsibility of the manufacturer.

Product(s):
IsoFlow Sheath Fluid - PN 8546859

Device Group:
W010308

BUDI-DI:
150995901LSSHEATH9Z

Risk Class:
Class A, Rule 5 (Article 47 in accordance with Annex VIII)

Intended Purpose:
IsoFlow Sheath Fluid is a non-fluorescent, azide free balanced electrolyte solution for use on COULTER Flow Cytometers with light scatter and fluorescent applications. The IsoFlow Sheath Fluid is manufactured for low particulate and fluorescence background to ensure superior signal to noise ratio measurements during the user defined (non-automated) analysis process. This product is intended for Laboratory Professional use only.

Common Specification(s):
None

Authorized Representative (AR)
Beckman Coulter Ireland, Inc.
Lismeehan, O'Callaghan's Mills
Co. Clare Ireland
+(353) (0) 65 683 1100

AR SRN: AR-000000886

Conformity Assessment Procedure:
Conformity Assessment based on a Quality Management System and on Assessment of Technical Documentation (Article 48 in accordance with Annex IX)

Signed for and on behalf of Beckman Coulter, Inc. the Legal Manufacturer.



Name: Sudharsan Sathyamurthy, Ph.D. 2022-05-26
Title: Director, Quality and Regulatory Affairs, PRRC
Place of Issue: Beckman Coulter, Inc., Miami, FL. USA

Notified Body
N/A

Beckman Coulter, Inc.
250 S. Kraemer, Brea, CA 92821 USA
+(1) 800-854-3633
Manufacturer SRN: US-MF-000010288
IVDR Certificate Number: N/A

Document Control	
Issue Date:	2022-04-07
Revision Level:	1.1
Starting :	May 26, 2022
DoC Filename:	BRE-0094 DoC

English

BECKMAN COULTER

English — English

Declaration of Conformity

Immunotech SAS hereby ensures and declares that the product(s) listed below comply with the requirement of the *In-Vitro* Diagnostic Medical Devices Regulation 2017/746.

This EU Declaration of Conformity is issued under the sole responsibility of the manufacturer.

Product(s):
CD5-PC5, ref. A07754

EMDN Code: W010308

BUDI- DI: 150995903A07754RH

Risk Class: Class C, Rule 3 (Article 47 in accordance with Annex VIII)

Intended Purpose:
Intended use: The CD5-PC5 antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the CD5 antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

Intended user: This product is intended for laboratory professional use.

Clinical relevance: The CD5-PC5 is a CD5 antibody used to identify and characterize cells expressing the CD5 antigen by flow cytometry. This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.

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

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

Sample: Venous blood (as described in IFU)

Common Specification(s)
None

Conformity Assessment Procedure

Conformity Assessment is based on a Quality Management System and on Assessment of Technical Documentation (Article 48 in accordance with Annex IX)

Signed for and on behalf of Immunotech SAS, the Legal Manufacturer

Date 16 Feb 2022

Legal manufacturer BU RA delegate
Name: Sophie ROQUES-VIOLIN
Title: PRRC: Person Responsible for Regulatory Compliance
Senior Manager Quality Assurance & Regulatory Affairs
Place of Issue: Marseille, France

Notified Body
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Netherlands
Phone: +31 (0)20 346 07 80
Email: info.nl@bsigroup.com

Notified Body number: 2797

Immunotech SAS
A Beckman Coulter Company
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
France
+(33) 4 91 17 27 27
Manufacturer SRN: FR-MF-000011121
IVDR Certificate Number: IVDR-738451

Document Control

Issue Date:	16 Feb 2022
Revision Level:	2
Starting Lot:	200501
DoC Filename:	A07754-TF-810

English — English

Declaration of Conformity

Immunotech SAS hereby ensures and declares that the product(s) listed below comply with the requirement of the *In-Vitro* Diagnostic Medical Devices Regulation 2017/746.

This EU Declaration of Conformity is issued under the sole responsibility of the manufacturer.

Product(s):
CD13-PE, ref. A07762

EMDN Code: W010308

BUDI- DI: 150995903A07762RG

Risk Class: Class C, Rule 3 h) (Article 47 in accordance with Annex VIII)

Intended Purpose:
Intended use: The CD13-PE antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the CD13 antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

Intended user: This product is intended for laboratory professional use.

Clinical relevance: The CD13-PE is a CD13 antibody used to identify and characterize cells expressing the CD13 antigen by flow cytometry. This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.
When used in combination with other markers, this product can be used to aid in one or more of the following functions:

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

Sample: Venous blood (as described in IFU)

Common Specification(s)
None

Conformity Assessment Procedure

Conformity Assessment is based on a Quality Management System and on Assessment of Technical Documentation (Article 48 in accordance with Annex IX)

Signed for and on behalf of Immunotech SAS, the Legal Manufacturer

Date 8 NOV 2021

Legal manufacturer BU RA delegate
Name: Sophie ROQUES-VIOLIN
Title: PRRC: Person Responsible for Regulatory Compliance
Senior Manager Quality Assurance & Regulatory Affairs
Place of Issue: Marseille, France

Notified Body
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Netherlands
Phone: +31 (0)20 346 07 80
Email: info.nl@bsigroup.com

Notified Body number: 2797

Immunotech SAS
A Beckman Coulter Company
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
France
+(33) 4 91 17 27 27
Manufacturer SRN: FR-MF-000011121
IVDR Certificate Number: IVDR-738451

Document Control

Issue Date:	03 Nov 2021
Revision Level:	1
Starting Lot:	200501
DoC Filename:	A07762-TF-810

BECKMAN COULTER

English — English

Declaration of Conformity

Immunotech SAS hereby ensures and declares that the product(s) listed below comply with the requirement of the *In-Vitro* Diagnostic Medical Devices Regulation 2017/746.

This EU Declaration of Conformity is issued under the sole responsibility of the manufacturer.

Product(s):
CD34-PC5, ref. A07777

Device Group: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI-DI: 150995903A07777RV

Risk Class: Class C, Rule 3 (Article 47 in accordance with Annex VIII)

Intended Purpose:
Intended use: The CD34-PC5 antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the CD34 antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

Intended user: This product is intended for laboratory professional use.

Clinical relevance: The CD34-PC5 is a CD34 antibody used to identify and characterize cells expressing the CD34 antigen by flow cytometry. This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.
When used in combination with other markers, this product can be used in one or more of the following functions:

- To aid in the differential diagnosis of hematologically abnormal patients suspected of having hematological disorder and to monitor patients with known hematological disorder.
- To aid in the prognosis of patients having hematopoietic neoplasm.
- To monitor transplantation process or results.

Sample: Venous blood (as described in IFU)

Common Specification(s)
None

Conformity Assessment Procedure

Conformity Assessment is based on a Quality Management System and on Assessment of Technical Documentation (Article 48 in accordance with Annex IX Chapters I and III)

Signed for and on behalf of Immunotech SAS, the Legal Manufacturer

Date 23 March 2022

Name: Claudio Carlino
Title: Quality Assurance & Regulatory Affairs manager, PRRC deputy.
Place of Issue: Marseille, France

Notified Body
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Netherlands
Phone: +31 (0)20 346 07 80
Email: info.nl@bsigroup.com

Notified Body number: 2797

Immunotech SAS
A Beckman Coulter Company
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
France
+(33) 4 91 17 27 27
Manufacturer SRN: FR-MF-000011121
IVDR Certificate Number: IVDR-738451

Document Control

Issue Date:	23 Mar 2022
Revision Level:	1
Starting Lot:	200501
DoC Filename:	A07777-TF-810

DECLARATION OF CONFORMITY

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, assure et déclare par la présente que le(s) produit(s) listé(s) ci-dessous sont conformes aux exigences de la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, ensures and declares that the product(s) listed bellow comply with the requirements of the European Union In Vitro Diagnostic Medical Device Directive 98/79/CE.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, versichent und erklärt hiermit, daß die im Folgenden aufgeführten Produkte den Auflagen der IVD-Richtlinie für In-Vitro-Diagnostika der Europäischen Union (98/79/EC) entsprechen.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, dichiara ed assicura che i prodotti qui elencati sono conformi ai requisiti della direttiva comunitaria 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, asegura y declara que los productos listados a continuación cumplen con los requicitos establecidos en la directiva 98/79/CE de la Comunidad Europea para dispositivos médicos de diagnóstico in vitro.

Produit(s) / Product(s) / Produkt(e) / Prodotto(i) / Producto(s) :

CD56-PE (A07788)

Marie-Hélène PUXEDDU
Senior Engineer
Quality Assurance
And Regulatory Affairs

P/o :

Rémi Dumas
Director
Quality Assurance & Regulatory Affairs

Date: 26 Février 2018

Conformity Assessment Procedure
Annex III

Document Control

Issue Date :	Dec. 02, 2003
Revision Lev :	03
Revision Date :	Feb. 26, 2018
File Name	A07788 DoC CE rev 03

IMMUNOTECH S.A.S.
130 Avenue de Lattre de Tassigny - BP177
13276 Marseille cedex 9, France

DECLARATION OF CONFORMITY

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, assure et déclare par la présente que le(s) produit(s) listé(s) ci-dessous sont conformes aux exigences de la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, ensures and declares that the product(s) listed bellow comply with the requirements of the European Union In Vitro Diagnostic Medical Device Directive 98/79/CE.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, versichent und erklärt hiermit, daß die im Folgenden aufgeführten Produkte den Auflagen der IVD-Richtlinie für In-Vitro-Diagnostika der Europäischen Union (98/79/EC) entsprechen.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, dichiara ed assicura che i prodotti qui elencati sono conformi ai requisiti della direttiva comunitaria 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, asegura y declara que los productos listados a continuación cumplen con los requicitos establecidos en la directiva 98/79/CE de la Comunidad Europea para dispositivos médicos de diagnóstico in vitro.

Produit(s) / Product(s) / Produkt(e) / Prodotto(i) / Producto(s) :

CD5-FITC (A08932)

Marie-Hélène PUXEDDU
Senior Engineer
Quality Assurance
And Regulatory Affairs

P/o

Rémi Dumas
Director
Quality Assurance & Regulatory Affairs

Date: 26 Février 2018

Conformity Assessment Procedure
Annex III

Document Control

Issue Date :	Nov. 14, 2003
Revision Lev :	03
Revision Date :	Feb. 26, 2018
File Name	A08932 DoC CE rev 3

IMMUNOTECH S.A.S.
130 Avenue de Lattre de Tassigny - BP177
13276 Marseille cedex 9, France

BECKMAN COULTER

English — English

Declaration of Conformity

Immunotech SAS hereby ensures and declares that the product(s) listed below comply with the requirement of the *In-Vitro* Diagnostic Medical Devices Regulation 2017/746.

This EU Declaration of Conformity is issued under the sole responsibility of the manufacturer.

Product(s):
CD3-APC-Alexa Fluor 750, ref. A94680

EMDN Code: W010308

BUDI- DI: 150995903A94680TT

Risk Class: Class C, Rule 3 (Article 47 in accordance with Annex VIII)

Intended Purpose:
Intended use : The CD3-APC-Alexa Fluor 750 antibody allows the qualitative and non-automated identification of cell populations expressing the CD3 antigen present in human **biological sample using flow cytometry (see section "Samples" below).**

Intended user : This product is intended for laboratory professional use.

Clinical relevance : CD3-APC-Alexa Fluor 750 is a CD3 antibody used to identify and characterize cells expressing the CD3 antigen by flow cytometry.
This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.
When used in combination with other markers, this product can be used in one or more of the following functions:

- To aid in the differential diagnosis of hematologically abnormal patients suspected of having hematopoietic neoplasm and to monitor patients with known hematopoietic neoplasm.
- To aid in the prognosis of patients having hematopoietic neoplasm.
- To aid in diagnosis of patients with suspected immunodeficiency and monitor patients with known immunodeficiency.
- To monitor transplantation process or results.

Sample : Venous blood (as described in IFU)

Common Specification(s)
None

Conformity Assessment Procedure

Conformity Assessment is based on a Quality Management System and on Assessment of Technical Documentation (Article 48 in accordance with Annex IX)

Signed for and on behalf of Immunotech SAS, the Legal Manufacturer

Date 16 FEB 2022

Legal manufacturer BU RA delegate
Name: Sophie ROQUES-VIOLIN
Title: PRRC : Person Responsible for Regulatory Compliance
Senior Manager Quality Assurance & Regulatory Affairs
Place of Issue: Marseille, France

Notified Body
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Netherlands
Phone : +31 (0)20 346 07 80
Email : info.nl@bsigroup.com

Notified Body number : 2797

Immunotech SAS
A Beckman Coulter Company
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
France
+(33) 4 91 17 27 27
Manufacturer SRN: FR-MF-000011121
IVDR Certificate Number: IVDR-738451

Document Control

Issue Date:	16 Feb 2022
Revision Level:	2
Starting Lot :	200501
DoC Filename:	A94680-TF-810

English — English

Declaration of Conformity

Immunotech SAS hereby ensures and declares that the product(s) listed below comply with the requirement of the *In-Vitro* Diagnostic Medical Devices Regulation 2017/746.

This EU Declaration of Conformity is issued under the sole responsibility of the manufacturer.

Product(s):
Anti-HLA-DR-Pacific Blue, ref. B36291

EMDN Code: W010308

BUDI- DI: 150995903B36291S5

Risk Class: Class C, Rule 3 e), h) (Article 47 in accordance with Annex VIII)

Intended Purpose:
Intended use: The anti HLA-DR-Pacific Blue antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the HLA-DR antigen present in human **biological sample using flow cytometry (see section "Samples" below).**

Intended user: This product is intended for laboratory professional use.

Clinical relevance: The Anti-HLA-DR-Pacific Blue is an anti-HLA-DR antibody used to identify and characterize cells expressing the HLA-DR antigen by flow cytometry. This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.
When used in combination with other markers, this product can be used in one or more of the following functions:

- To aid in diagnosis of patients with suspected immunodeficiency and monitor patients with known immunodeficiency.
- To aid in the differential diagnosis of hematologically abnormal patients suspected of having hematopoietic neoplasm and to monitor patients with known hematopoietic neoplasm.
- To monitor patients with known autoimmune disease or disorder.
- To monitor transplantation process or results.

Sample: Venous blood (as described in IFU)

Common Specification(s)
None

Conformity Assessment Procedure

Conformity Assessment is based on a Quality Management System and on Assessment of Technical Documentation (Article 48 in accordance with Annex IX)

Signed for and on behalf of Immunotech SAS, the Legal Manufacturer

Date 8 Nov 2021

Legal manufacturer BU RA delegate
Name: Sophie ROQUES-VIOLIN
Title: PRRC: Person Responsible for Regulatory Compliance
Senior Manager Quality Assurance & Regulatory Affairs
Place of Issue: Marseille, France

Notified Body
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M.
Keynesplein 9, 1066 EP
Amsterdam, Netherlands
Phone: +31 (0)20 346 07 80
Email: info.nl@bsigroup.com

Notified Body number: 2797

Immunotech SAS
A Beckman Coulter Company
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
France
+(33) 4 91 17 27 27
Manufacturer SRN: FR-MF-000011121
IVDR Certificate Number: IVDR-738451

Document Control	
Issue Date:	03 Nov 2021
Revision Level:	1
Starting Lot:	200501
DoC Filename:	B36291-TF-810

English — English

Declaration of Conformity

Immunotech SAS hereby ensures and declares that the product(s) listed below comply with the requirement of the *In-Vitro* Diagnostic Medical Devices Regulation 2017/746.

This EU Declaration of Conformity is issued under the sole responsibility of the manufacturer.

Product(s):
CD15-FITC, ref. B36298

EMDN Code: W010308

BUDI- DI: 150995903B36298SK

Risk Class: Class C, Rule 3 e), h) (Article 47 in accordance with Annex VIII)

Intended Purpose:
Intended use: The CD15-FITC antibody allows the qualitative and non-automated identification of cell populations expressing the CD15 antigen present in human biological sample using flow cytometry. (see section "Samples" below).

Intended user: This product is intended for laboratory professional use.

Clinical relevance: CD15-FITC is a CD15 antibody used to identify and characterize cells expressing the CD15 antigen by flow cytometry.
This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.
When used in combination with other markers, this product can be used in one or more of the following functions:

- To aid in the differential diagnosis of hematologically abnormal patients suspected of having hematological disorder and to monitor patients with known hematological disorder.
- To monitor transplantation process or results.
- To aid in the prognosis of patients having hematopoietic neoplasm.

Sample: Venous blood (as described in IFU)

Common Specification(s)
None

Conformity Assessment Procedure

Conformity Assessment is based on a Quality Management System and on Assessment of Technical Documentation (Article 48 in accordance with Annex IX)

Signed for and on behalf of Immunotech SAS, the Legal Manufacturer

Date 8 Nov 2021

Legal manufacturer BU RA delegate
Name: Sophie ROQUES-VIOLIN
Title: PRRC: Person Responsible for Regulatory Compliance
Senior Manager Quality Assurance & Regulatory Affairs
Place of Issue: Marseille, France

Notified Body
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M.
Keynesplein 9, 1066 EP
Amsterdam, Netherlands
Phone: +31 (0)20 346 07 80
Email: info.nl@bsigroup.com

Notified Body number: 2797

Immunotech SAS
A Beckman Coulter Company
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
France
+(33) 4 91 17 27 27
Manufacturer SRN: FR-MF-000011121
IVDR Certificate Number: IVDR-738451

Document Control

Issue Date:	03 Nov 2021
Revision Level:	1
Starting Lot:	200501
DoC Filename:	B36298-TF-810

DECLARATION OF CONFORMITY

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, assure et déclare par la présente que le(s) produit(s) listé(s) ci-dessous sont conformes aux exigences de la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, ensures and declares that the product(s) listed bellow comply with the requirements of the European Union In Vitro Diagnostic Medical Device Directive 98/79/CE.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, versichent und erklärt hiermit, daß die im Folgenden aufgeführten Produkte den Auflagen der IVD-Richtlinie für In-Vitro-Diagnostika der Europäischen Union (98/79/EC) entsprechen.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, dichiara ed assicura che i prodotti qui elencati sono conformi ai requisiti della direttiva comunitaria 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, asegura y declara que los productos listados a continuación cumplen con los requicitos establecidos en la directiva 98/79/CE de la Comunidad Europea para dispositivos médicos de diagnóstico in vitro.

Produit(s) / Product(s) / Produkt(e) / Prodotto(i) / Producto(s) :

Anti-TCR PAN γ δ-FITC (B49175)

Marie-Hélène PUXEDDU
MHP Senior Engineer
Quality Assurance
And Regulatory Affairs

P/o:

Rémi Dumas
Manager
Quality Assurance & Regulatory Affairs

Date : 13 MARS 2017

Conformity Assessment Procedure
Annex III

Document Control

Issue Date :	October 01, 2015
Revision Lev :	02
Revision Date :	March 13, 2017
Starting Lot # :	01
File Name	B49175 dec CE rev 02

IMMUNOTECH S.A.S.
130 Avenue de Lattre de Tassigny - BP177
13276 Marseille cedex 9, France

DECLARATION OF CONFORMITY

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, assure et déclare par la présente que le(s) produit(s) listé(s) ci-dessous sont conformes aux exigences de la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, ensures and declares that the product(s) listed bellow comply with the requirements of the European Union In Vitro Diagnostic Medical Device Directive 98/79/CE.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, versichent und erklärt hiermit, daß die im Folgenden aufgeführten Produkte den Auflagen der IVD-Richtlinie für In-Vitro-Diagnostika der Europäischen Union (98/79/EC) entsprechen.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, dichiara ed assicura che i prodotti qui elencati sono conformi ai requisiti della direttiva comunitaria 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, asegura y declara que los productos listados a continuación cumplen con los requicitos establecidos en la directiva 98/79/CE de la Comunidad Europea para dispositivos médicos de diagnóstico in vitro.

Produit(s) / Product(s) / Produkt(e) / Prodotto(i) / Producto(s) :

Anti-TCR PAN α β-PE (B49177)

Marie-Hélène PUXEDDU
MHP Senior Engineer
Quality Assurance
And Regulatory Affairs

P/o:

Rémi Dumas
Manager
Quality Assurance & Regulatory Affairs

Date : 13 MARS 2017

Conformity Assessment Procedure
Annex III

Document Control

Issue Date :	September 21, 2015
Revision Lev :	02
Revision Date :	March 13, 2017
Starting Lot # :	01
File Name	B49177 dec CE rev 02

IMMUNOTECH S.A.S.
130 Avenue de Lattre de Tassigny - BP177
13276 Marseille cedex 9, France

DECLARATION OF CONFORMITY

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, assure et déclare par la présente que le(s) produit(s) listé(s) ci-dessous sont conformes aux exigences de la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, ensures and declares that the product(s) listed bellow comply with the requirements of the European Union In Vitro Diagnostic Medical Device Directive 98/79/CE.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, versichent und erklärt hiermit, daß die im Folgenden aufgeführten Produkte den Auflagen der IVD-Richtlinie für In-Vitro-Diagnostika der Europäischen Union (98/79/EC) entsprechen.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, dichiara ed assicura che i prodotti qui elencati sono conformi ai requisiti della direttiva comunitaria 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, asegura y declara que los productos listados a continuación cumplen con los requicitos establecidos en la directiva 98/79/CE de la Comunidad Europea para dispositivos médicos de diagnóstico in vitro.

Produit(s) / Product(s) / Produkt(e) / Prodotto(i) / Producto(s) :

CD57-FITC, (B49188)

Rémi Dumas
Manager
Quality Assurance & Regulatory Affairs

Date : 21-9-2015

Conformity Assessment Procedure
Annex III

Document Control

Issue Date :	September 21, 2015
Revision Lev :	01
Revision Date :	September 21, 2015
Starting Lot # :	01
File Name	B49188 dec CE rev 01

IMMUNOTECH S.A.S.
130 Avenue de Lattre de Tassigny - BP177
13276 Marseille cedex 9, France

English — English

Declaration of Conformity

Immunotech SAS hereby ensures and declares that the product(s) listed below comply with the requirement of the *In-Vitro* Diagnostic Medical Devices Regulation 2017/746.

This EU Declaration of Conformity is issued under the sole responsibility of the manufacturer.

Product(s):
CD20-Pacific Blue, ref. B49208

EMDN Code: W010308

BUDI- DI: 150995903B49208SQ

Risk Class: Class C, Rule 3 h) (Article 47 in accordance with Annex VIII)

Intended Purpose:
Intended use: The CD20-Pacific Blue antibody allows the qualitative and non-automated identification of cell populations expressing the CD20 antigen present in human biological **sample using flow cytometry. (see section "Samples" below).**

Intended user: This product is intended for laboratory professional use.

Clinical relevance: The CD20-Pacific Blue is a CD20 antibody used to identify and characterize cells expressing the CD20 antigen by flow cytometry.
This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.
When used in combination with other markers, this product can be used in one or more of the following functions:

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

Sample: Venous blood (as described in IFU)

Common Specification(s)
None

Conformity Assessment Procedure

Conformity Assessment is based on a Quality Management System and on Assessment of Technical Documentation (Article 48 in accordance with Annex IX)

Signed for and on behalf of Immunotech SAS, the Legal Manufacturer

Date 8 Nov 2021

Legal manufacturer BU RA delegate
Name: Sophie ROQUES-VIOLIN
Title: PRRC: Person Responsible for Regulatory Compliance
Senior Manager Quality Assurance & Regulatory Affairs
Place of Issue: Marseille, France

Notified Body
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M.
Keynesplein 9, 1066 EP
Amsterdam, Netherlands
Phone: +31 (0)20 346 07 80
Email: info.nl@bsigroup.com

Notified Body number: 2797

Immunotech SAS
A Beckman Coulter Company
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
France
+(33) 4 91 17 27 27
Manufacturer SRN: FR-MF-000011121
IVDR Certificate Number: IVDR-738451

Document Control

Issue Date:	03 Nov 2021
Revision Level:	1
Starting Lot:	200501
DoC Filename:	B49208-TF-810

BECKMAN COULTER

Table of Contents

English — English 2
Brazilian Portuguese — Português do Brasil 3
Bulgarian — Български 4
Chinese — 中文 5
Chinese Traditional — 繁體中文 6
Croatian — hrvatski 7
Czech — Čeština 8
Danish — Dansk 9
Dutch — Nederlands 10
Estonian — eesti keel 11
Finnish — Suomi 12
French — Français 13
German — Deutsch 14
Greek — Ελληνικά 15
Hungarian — Magyar 16
Italian — Italiano 17
Japanese — 日本語 18
Korean — 한국어 19
Latvian — Latviski 20
Lithuanian — lietuvių k. 21
Norwegian — Norsk 22
Polish — Polski 23
Portuguese — Português 24
Romanian — Română 25
Russian — Русский 26
Serbian — srpski 27
Slovak — Slovensky 28
Slovenščina — Slovenščina 29
Spanish — Español 30
Swedish — Svenska 31
Turkish — Türkçe 32
Ukrainian — Українська 33
Vietnamese — Tiếng Việt 34

BECKMAN COULTER

English — English

Declaration of Conformity

Immunotech SAS hereby ensures and declares that the product(s) listed below comply with the requirement of the *In-Vitro* Diagnostic Medical Devices Regulation 2017/746.

This EU Declaration of Conformity is issued under the sole responsibility of the manufacturer.

Product(s):
CD10-APC, ref. B92400

Device Group: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI- DI: 150995903B92400SQ

Risk Class: Class C, Rule 3 (Article 47 in accordance with Annex VIII)

Intended Purpose:
Intended use: The CD10-APC antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the CD10 antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

Intended user: This product is intended for laboratory professional use.

Clinical relevance: The CD10-APC is an CD10 antibody used to identify and characterize cells expressing the CD10 antigen by flow cytometry.
This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.
When used in combination with other markers, this product can be used in one or more of the following functions:

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

Sample: Venous blood (as described in IFU)

Common Specification(s)
None

Conformity Assessment Procedure

Conformity Assessment is based on a Quality Management System and on Assessment of Technical Documentation (Article 48 in accordance with Annex IX Chapters I and III)

Signed for and on behalf of Immunotech SAS, the Legal Manufacturer

Date 23 March 2022

Name: Claudio Canino
Title: Quality Assurance & Regulatory Affairs manager, PRRC deputy.
Place of Issue: Marseille, France

Notified Body
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Netherlands
Phone: +31 (0)20 346 07 80
Email: info.nl@bsigroup.com

Notified Body number: 2797

Immunotech SAS
A Beckman Coulter Company
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
France
+(33) 4 91 17 27 27
Manufacturer SRN: FR-MF-000011121
IVDR Certificate Number: IVDR-738451

Document Control

Issue Date:	23 Mar 2022
Revision Level:	1
Starting Lot:	200501
DoC Filename:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Brazilian Portuguese — Português do Brasil

Declaração de conformidade

A Immunotech SAS garante e declara, pelo presente documento, que o(s) produto(s) listado(s) a seguir está(ão) em conformidade com os requisitos do Regulamento 2017/746 relativo aos dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*.

Esta Declaração de conformidade na UE é publicada sob a responsabilidade exclusiva do fabricante.

Produto(s):
CD10-APC, ref. B92400

Grupo de dispositivo: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI-DI: 150995903B92400SQ

Classe de risco: classe C, norma 3 (artigo 47, em conformidade com o Anexo VIII)

Finalidade prevista:
Uso previsto: o anticorpo CD10-APC permite a identificação qualitativa e não automatizada das populações de células que expressam o antígeno CD10 presentes em amostras biológicas humanas utilizando a citometria de fluxo (consulte a seção "Amostras" a seguir).

Usuário previsto: este produto destina-se ao uso laboratorial profissional.

Relevância clínica: o CD10-APC é um anticorpo para CD10 usado para identificar e caracterizar, por citometria de fluxo, as células que expressam o antígeno CD10.
Este produto por si só não pode e não se destina a originar qualquer conclusão diagnóstica.
Quando usado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser usado com uma ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com anormalidades hematológicas com suspeita de terem neoplasia hematopoiética e para monitorar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.
- Para auxiliar no prognóstico de pacientes que possuem neoplasia hematopoiética.

Amostra: sangue venoso (conforme descrito nas Instruções de uso)

Especificações comuns
Nenhuma

Procedimento de avaliação de conformidade

A avaliação de conformidade se baseia em um Sistema de gerenciamento da qualidade e na Avaliação da documentação técnica (artigo 48, em conformidade com o anexo IX, capítulos I e III)

Assinado por e em nome da Immunotech SAS, o fabricante legal

Data 12 OCT. 2022

Nome: Claudio Canino
Cargo: Gerente de Garantia de qualidade e Assuntos Regulatórios, representante da PRRC.
Local de publicação: Marselha, França

Órgão notificado
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Países Baixos
Telefone: +31 (0)20 346 07 80
E-mail: info.nl@bsigroup.com

Número do órgão notificado: 2797

Immunotech SAS
Uma empresa da Beckman Coulter
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
França
+(33) 4 91 17 27 27
SRN do fabricante: FR-MF-000011121
Número do certificado de IVDR: IVDR-738451

Controle de documentos

Data de publicação:	23 de março de 2022
Nível de revisão:	1
Lote inicial:	200501
Nome do arquivo DoC:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Bulgarian — Български

Декларация за съответствие

С настоящото Immunotech SAS гарантира и декларира, че продуктът(ите), описан(и) по-долу, отговаря(т) на изискването на Регламент (ЕС) 2017/746 за медицинските изделия за *ин витро* диагностика.

Настоящата Декларация за съответствие на ЕС се издава единствено на отговорността на производителя.

Продукт(и):
CD10-APC, реф. № B92400

Група на изделието: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI-DI: 150995903B92400SQ

Клас на риска: Клас C, Правило 3 (Член 47 в съответствие с Приложение VIII)

Предназначение:
Предвидена употреба: CD10-APC антитялото позволява качествена и неавтоматизирана идентификация с помощта на поточна цитометрия на клетъчни популации, експресиращи CD10 антиген, присъстващ в човешки биологични проби (вижте раздел „Проби" по-долу).

Предвиден потребител: Този продукт е предназначен за професионална лабораторна употреба.

Клинична значимост: CD10-APC е CD10 антитяло, използвано за идентифициране и характеризиране с помощта на поточна цитометрия на клетки, експресиращи CD10 антиген.
Този продукт не може и не е предназначен самостоятелно да генерира каквото и да е диагностично заключение.
Когато се използва в комбинация с други маркери, този продукт може да се използва в една или повече от следните функции:

- Като помощно средство при поставяне на диференциална диагноза на хематологично абнормни пациенти, суспектни за хематопоетично новообразувание, и за проследяване на пациенти с известно хематопоетично новообразувание.
- Като помощно средство при създаване на прогноза за пациенти с хематопоетично новообразувание.

Проба: Венозна кръв (както е описано в инструкциите за употреба, IFU)

Общи спецификации
Няма

Процедура за оценка на съответствието

Оценката на съответствието се основава на система за управление на качеството и на оценка на техническата документация (Член 48 в съответствие с Приложение IX, Глава I и III)

Подписано за и от името на Immunotech SAS – официален производител

Дата 12 ОСТ. 2022

Име: Клаудио Канино
Длъжност: Мениджър Осигуряване на качеството и регулаторни въпроси, заместник PRRC.
Място на издаване: Марсилия, Франция

Нотифициран орган
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Нидерландия
Телефон: +31 (0)20 346 07 80
Имейл: info.nl@bsigroup.com

Номер на нотифициран орган: 2797

Immunotech SAS
Компания Beckman Coulter
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 – 13276 Marseille, Cedex 9
Франция
+(33) 4 91 17 27 27
SRN на производителя: FR-MF-000011121
Номер на сертификат на IVDR: IVDR-738451

Контрол на документа

Дата на издаване:	23 март 2022 г.
Ниво на проверка:	1
Начална партида:	200501
Име на файла на Декларацията за съответствие:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Chinese — 中文

符合性声明

Immunotech SAS 特此声明：下列产品符合*体外*诊断医疗设备法规要求 2017/746。

此欧盟符合性声明由制造商单独负责发布。

产品：
CD10-APC, ref. B92400

设备组 EMDN：W010308，IVP3006

BUDI- DI: 150995903B92400SQ

风险等级：等级 C，规则 3（第 47 条，符合附录 VIII）

预期目的：
预期用途：这种 CD10-APC 抗体混合物可使用流式细胞分析对人类生物样本中存在的表达 CD10 抗原的细胞群进行定性和非自动化鉴别（参阅下文“样本”部分）。

预期用户：本产品的目标用户为实验室专业人员。

临床意义：CD10-APC 是一种 CD10 抗体，用于通过流式细胞分析鉴定和表征表达 CD10 抗原的细胞。
单独使用此产品不能产生任何诊断结论，这也并非其预期用途。
与其他标志物结合使用时，本产品可用于以下一种或多种用途：

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

样本：静脉血（如 IFU 中所述）

通用规格
无

符合性评估流程

符合性评估基于质量管理体系与技术文档评估（第 48 条，符合附录 IX 章节 I 和 III）

代表法定制造商 Immunotech SAS 签字

日期 12 OCT. 2022

名称：Claudio Canino
职衔：质量保证和监管事务 PRRC 副经理。
发行地：法国马赛

认证机构
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
荷兰阿姆斯特丹
电话：+31 (0)20 346 07 80
电子邮件：info.nl@bsigroup.com

认证机构编号：2797

Immunotech SAS 是
Beckman Coulter 旗下公司，地址：
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
法国
+(33) 4 91 17 27 27
制造商 SRN：FR-MF-000011121
IVDR 认证号码：IVDR-738451

文档控制

发行日期：	2022 年 3 月 23 日
修订级别：	1
初始批次号：	200501
文件名称：	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Chinese Traditional — 繁體中文

符合聲明

Immunotech SAS 特此保證及聲明：下列產品符合*體外*診斷醫療裝置法規要求 2017/746。

此歐盟符合聲明由製造商單獨負責發佈。

產品：
CD10-APC，參考編號 B92400

裝置群：EMDN：W010308、IVP3006

BUDI- DI: 150995903B92400SQ

風險等級：等級 C，規則 3（第 47 條，符合附錄 VIII）

目的：
預期用途：CD10-APC 抗體可利用流式細胞分析儀器對人體生物檢體中出現的表現 CD10 抗原的細胞群進行定性和非自動化鑑定（請參閱下列「檢體」一節）。

預期使用者：本產品適合實驗室專業人員使用。

臨床相關性：CD10-APC 是一種 CD10 抗體，用於透過流式細胞分析儀器辨識表現 CD10 抗原的細胞並鑑別其特徵。
單獨使用此產品並不足以診斷出任何結果。
本產品搭配其他標誌物使用時，可發揮以下一或多個功能：

- 可輔助疑似罹患造血組織腫瘤之血液異常患者的鑑別診斷，並可監測已知罹患造血組織腫瘤的患者。
- 有助於罹患造血組織腫瘤之患者的預後情況。

檢體：靜脈血（如 IFU 中所描述）

通用規範
無

符合性評估步驟

符合性評估基於品質管理系統和技術文件評估（第 48 條，符合附錄 IX 和章節 I 和 III）

代表法定製造商 Immunotech SAS 簽名

日期 12 OCT. 2022

姓名：Claudio Canino
職稱：品質保障與監管事務經理，副 PRRC
發佈地：法國馬賽

公告機構
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
荷蘭阿姆斯特丹
電話：+31 (0)20 346 07 80
電子郵箱：info.nl@bsigroup.com

公告機構號碼：2797

Immunotech SAS 是
Beckman Coulter 旗下公司，地址
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
法國
+(33) 4 91 17 27 27
製造商 SRN：FR-MF-000011121
IVDR 認證碼：IVDR-738451

文件質控

發佈日期：	2022 年 3 月 23 日
修訂等級：	1
初始批號：	200501
文件名稱：	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Croatian — hrvatski

Izjava o sukladnosti

Immunotech SAS ovime jamči i izjavljuje da proizvodi navedeni u nastavku ispunjavaju zahtjev Uredbe o *in vitro* dijagnostičkim medicinskim proizvodima 2017/746.

Za izdavanje ove izjave EU-a o sukladnosti odgovoran je isključivo proizvođač.

Proizvodi:
CD10-APC, ref. B92400

Grupa uređaja: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI-DI: 150995903B92400SQ

Klasa rizika: klasa C, pravilo 3. (članak 47. u skladu s prilogom VIII.)

Namjena:
Namjena: antitijelo CD10-APC omogućuje kvalitativnu i neautomatiziranu identifikaciju populacija stanica koje eksprimiraju antigen CD10 prisutan u humanim biološkim uzorcima pomoću protočne citometrije (pogledajte odjeljak „Uzorci" u nastavku).

Ciljni korisnik: ovaj je proizvod namijenjen za profesionalno korištenje u laboratoriju.

Klinička relevantnost: CD10-APC antitijelo je za CD10 namijenjeno za identifikaciju i karakterizaciju stanica koje eksprimiraju antigen CD10 protočnom citometrijom.
Samo na temelju primjene ovog proizvoda ne mogu se donositi dijagnostički zaključci niti je on za to namijenjen.
Kada se koristi u kombinaciji s drugim markerima, ovaj se proizvod može koristiti u jednoj ili više sljedećih funkcija:

- kao pomoć pri postavljanju diferencijalne dijagnoze u hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu te za praćenje pacijenata s poznatom hematopoetskom neoplazmom
- kao pomoć pri određivanju prognoze za bolesnike s hematopoetskom neoplazmom

Uzorak: venska krv (kao što je opisano u uputama za uporabu)

Zajedničke specifikacije
None (Nema)

Postupak ocjenjivanja sukladnosti

Procjena sukladnosti temelji se na sustavu upravljanja kvalitetom i ocjeni tehničke dokumentacije (članak 48. u skladu s Prilogom IX., poglavljima I. i III.)

Potpisano za i u ime tvrtke Immunotech SAS, pravnog proizvođača

Datum 12 OCT. 2022

Ime i prezime: Claudio Canino
Funkcija: rukovoditelj za osiguranje kvalitete i regulatorne poslove, zamjenik osobe zadužene za usklađenost s propisima
Mjesto izdavanja: Marseille, Francuska

Prijavljeno tijelo
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Nizozemska
Telefon: +31 (0)20 346 07 80
E-pošta: info.nl@bsigroup.com

Broj prijavljenog tijela: 2797

Immunotech SAS
Tvrtka iz grupacije Beckman Coulter
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
Francuska
+(33) 4 91 17 27 27
Jedinstveni registracijski broj proizvođača: FR-MF-000011121
Broj certifikata IVDR: IVDR-738451

Kontrola dokumenata

Datum izdavanja:	23. ožujka 2022.
Razina revizije:	1
Početna serija:	200501
Naziv datoteke DoC:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Czech — Čeština

Prohlášení o shodě

Společnost Immunotech SAS tímto zaručuje a prohlašuje, že níže uvedený produkt (produkty) splňuje požadavky Nařízení 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích *in vitro*.

Toto Prohlášení o shodě EU je vydáno na výhradní odpovědnost výrobce.

Produkt(y):
CD10-APC, ref. B92400

Skupina prostředku: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI-DI: 150995903B92400SQ

Třída rizika: Třída C, pravidlo 3 (článek 47 v souladu s přílohou VIII)

Určený účel:
Zamýšlené použití: Protilátka CD10-APC umožňuje kvalitativní a neautomatizovanou identifikaci populací buněk exprimujících antigen CD10 přítomný v lidských biologických vzorcích (viz část „Vzorky" níže) pomocí průtokové cytometrie.

Cílový uživatel: Tento produkt je určený pro profesionální laboratorní použití.

Klinický význam: CD10-APC je protilátka proti CD10 používaná k identifikaci a charakterizaci buněk exprimujících antigen CD10 pomocí průtokové cytometrie.
Produkt sám o sobě nemůže a nemá vytvářet žádné diagnostické závěry.
Při použití v kombinaci s dalšími markery lze tento produkt použít k jedné nebo více z následujících funkcí:

- Jako pomůcka pro diferenciální diagnostiku pacientů s hematologickými abnormalitami, u kterých je podezření na hematopoetickou neoplazii, a k monitorování pacientů se známou hematopoetickou neoplazií.
- Jako pomůcka pro stanovení prognózy u pacientů s hematopoetickou neoplazií.

Vzorek: Žilní krev (dle popisu v návodu k použití)

Společné specifikace
Žádné

Postup posuzování shody

Posouzení shody je založené na systému řízení kvality a na posouzení technické dokumentace (článek 48 v souladu s přílohou IX, kapitoly I a III)

Podepsáno jménem a za společnost Immunotech SAS, oficiální výrobce

_____ **Datum** 12 OCT. 2022

Jméno: Claudio Canino
Pracovní pozice: Manažer pro zajištění kvality a regulační záležitosti, zástupce PRRC
Místo vydání: Marseille, Francie

Obeznámený orgán
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Nizozemsko
Tel.: +31 (0)20 346 07 80
Email: info.nl@bsigroup.com

Číslo oznámeného subjektu: 2797

Immunotech SAS
Společnost Beckman Coulter
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
Francie
+(33) 4 91 17 27 27
SRN výrobce: FR-MF-000011121
Číslo certifikátu IVDR: IVDR-738451

Kontrola dokumentu

Datum vydání:	23. března 2022
Úroveň revize:	1
Počáteční šarže:	200501
Název souboru DoC:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Danish — Dansk

Overensstemmelseserklæring

Immunotech SAS forsikrer og erklærer hermed, at nedenstående produkt(er) er i overensstemmelse med kravene i forordning 2017/746 om medicinsk udstyr til *in vitro*-diagnostik.

Denne EU-kontraktdeklaration er udelukkende udstedt under leverandørens ansvar.

Produkt(er):
CD10-APC, ref. B92400

Udstyrsgruppe: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI-DI: 150995903B92400SQ

Risikoklasse: Klasse C, regel 3 (artikel 47 i overensstemmelse med bilag VIII)

Tilsigtet formål:
Tilsigtet anvendelse: CD10-APC-antistoffet muliggør kvalitativ og ikke-automatisk identifikation af cellepopulationer, der udtrykker tilstedeværelsen af CD10-antigenet i humane biologiske prøver ved anvendelse af flowcytometri (se afsnittet "Prøver" nedenfor).

Tilsigtet bruger: Dette produkt er beregnet til professionel brug i laboratorier.

Klinisk relevans: CD10-APC er et CD10-antistof, der anvendes til at identificere og karakterisere celler, der udtrykker CD10-antigenet, ved flowcytometri.
Dette produkt, anvendt alene, kan ikke og er ikke beregnet til at generere nogen diagnostisk konklusion.
Anvendt i kombination med andre markører, kan dette produkt benyttes i en eller flere af følgende funktioner:

- Til hjælp ved differentialdiagnosticering af hæmatologisk unormale patienter ved formodning om hæmatopoietisk neoplasme, samt til overvågning af patienter med kendt hæmatopoietisk neoplasme.
- Til hjælp i prognosen af patienter med hæmatopoietisk neoplasme.

Prøve: Venøst blod (som beskrevet i IFU)

Generel(le) specifikation(er)
Ingen

Procedure for overensstemmelsesvurdering

Overensstemmelsesvurderingen er baseret på et kvalitetsstyringssystem og vurdering af teknisk dokumentation (artikel 48 i henhold til bilag IX, kapitler I og III)

Underskrevet for og på vegne af Immunotech SAS, den juridiske producent

Dato 12 OCT. 2022

Navn: Claudio Canino
Titel: Chef for kvalitetssikring og lovgivningsmæssige anliggender, PRRC-fuldmægtig.
Udstedelsessted: Marseille, Frankrig

Bemyndiget organ
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Holland
Telefon: +31 (0)20 346 07 80
E-mail: info.nl@bsigroup.com

Nummer på det bemyndigede organ: 2797

Immunotech SAS
En Beckman Coulter-virksomhed
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
Frankrig
+(33) 4 91 17 27 27
Leverandørens SRN-nr.: FR-MF-000011121
IVDR-certificeringsnummer: IVDR-738451

Kontrol af dokument

Udstedelsesdato:	23. marts 2022
Revisionsniveau:	1
Start-lot:	200501
DoC-filnavn:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Dutch — Nederlands

Conformiteitsverklaring

Immunotech SAS verklaart hierbij dat de hieronder vermelde producten voldoen aan de vereisten van de Verordening 2017/746 betreffende medische hulpmiddelen voor *in-vitro* diagnostiek.

Deze EU-conformiteitsverklaring wordt afgegeven onder de volledige verantwoordelijkheid van de fabrikant.

Product(en):
CD10-APC, ref. B92400

Hulpmiddelengroep: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI-DI: 150995903B92400SQ

Risicoklasse: Klasse C, regel 3 (artikel 47 overeenkomstig Bijlage VIII)

Beoogd gebruik:
Beoogd gebruik: Met de CD10-APC-antilichamen kunnen celpopulaties die de CD10-antigenen tot expressie brengen, kwalitatief en niet-geautomatiseerd worden geïdentificeerd in menselijke biologische monsters met behulp van flowcytometrie (zie het gedeelte 'Monsters' hieronder).

Beoogde gebruiker: Dit product is bedoeld voor professioneel gebruik in het laboratorium.

Klinische relevantie: De CD10-APC is een CD10-antilichaam dat wordt gebruikt om cellen te identificeren en te karakteriseren die het CD10-antigeen tot expressie brengen door middel van flowcytometrie.
Dit product kan op zichzelf geen diagnostische conclusie bieden en is daar ook niet voor bedoeld.
Bij gebruik in combinatie met andere markers kan dit product worden gebruikt in een of meer van de volgende functies:

- als hulpmiddel bij de differentiële diagnose van hematologisch abnormale patiënten bij wie een hematopoëtisch neoplasma wordt vermoed en ter bewaking van patiënten met een bekend hematopoëtisch neoplasma;
- om te helpen bij de prognose van patiënten met hematopoëtisch neoplasma.

Monster: Veneus bloed (zoals beschreven in de gebruiksinstructies (IFU))

Algemene specificatie(s)
Geen

Conformiteitsbeoordelingsprocedure

De conformiteitsbeoordeling is gebaseerd op een kwaliteitszorgsysteem en op de beoordeling van de technische documentatie (artikel 48 in overeenstemming met bijlage IX hoofdstuk I en III)

Ondertekend voor en namens Immunotech SAS, de wettelijke fabrikant

Datum 12 OCT. 2022

Naam: Claudio Canino
Titel: Manager Kwaliteitsgarantie en regelgeving, plaatsvervangend PRRC.
Plaats van uitgifte: Marseille, Frankrijk

Aangemelde instantie
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Nederland
Telefoon: +31 (0)20 346 07 80
E-mail: info.nl@bsigroup.com

Nummer aangemelde instantie: 2797

Immunotech SAS
Een bedrijf van Beckman Coulter
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
Frankrijk
+(33) 4 91 17 27 27
Fabrikant SRN: FR-MF-000011121
IVDR-certificaatnummer: IVDR-738451

Documentcontrole

Uitgiftedatum:	23 mrt 2022
Versie:	1
Vanaf batch:	200501
Bestandsnaam conformiteits-verklaring:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Estonian — eesti keel

Vastavusdeklaratsioon

Immunotech SAS tagab ja kinnitab, et toode/tooted, mis on allpool loetletud, vastab/vastavad *in vitro* diagnostikameditsiiniseadmete määrusele 2017/746.

See ELi vastavusdeklaratsioon on välja antud tootja ainuvastutusel.

Toode (tooted):
CD10-APC, viide B92400

Seadmerühm: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI-DI: 150995903B92400SQ

Ohuklass: klass C, eeskiri 3 (artikkel 47 kooskõlas lisaga VIII)

Sihtotstarve
Kasutusotstarve: CD10-APC antikeha võimaldab voolutsütomeetriaga kvalitatiivselt ja mitteautomatiseeritult tuvastada rakupopulatsioone, mis sünteesivad inimese bioloogilises proovis CD10 antigeeni (vt allpool osa „Proovid").

Sihtkasutaja: toode on ette nähtud kutseliseks laboratoorseks kasutamiseks.

Kliiniline tähtsus: CD10-APC on CD10 antikeha, mida kasutatakse antigeeni CD10 sünteesivate rakkude voolutsütomeetriaga tuvastamiseks ja kirjeldamiseks.
See toode üksi ei saa olla ega ole mõeldud ühegi diagnostilise otsuse tegemiseks.
Koos teiste markeritega kasutades saab seda toodet kasutada ühes või mitmes järgmistest funktsioonidest:

- lihtsustamaks diferentsiaaldiagnoosi panemist hematoloogiliste ebanormaalsustega patsientidele, kellel kahtlustatakse vereloome neoplasmi esinemist, ja teadaoleva vereloome neoplasmiga patsientide monitoorimiseks;
- vereloome neoplasmiga patsientide prognoosimise hõlbustamiseks.

Proov: venoosne veri (nagu on kirjeldatud kasutusjuhendis)

Tavaline (tavalised) spetsifikatsioon(id)
Puuduvad

Vastavushindamine

Kvaliteedijuhtimissüsteemil ja tehniliste dokumentide hindamine põhineb vastavushindamisel (artikkel 48 kooskõlas lisaga IX, peatükid I ja III)

Allkirjastatud ettevõtte Immunotech SAS, seadusliku tootja jaoks ja nimel

Kuupäev 12 OCT. 2022

Nimi: Claudio Canino
Ametikoht: Kvaliteedi tagamise ja regulatiivsete küsimuste juht, PRRC asetäitja.
Väljaandmise koht: Marseille, Prantsusmaa

Teavitatud asutus
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Holland
Telefon: +31 (0) 20 346 07 80
E-post: info.nl@bsigroup.com

Teavitatud asutuse number: 2797

Immunotech SAS
Ettevõte Beckman Coulter
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 – 13276 Marseille, Cedex 9
Prantsusmaa
+(33) 4 91 17 27 27
Tootja unikaalne registreerimisnumber: FR-MF-000011121
***In vitro* diagnostika määruse sertifitseerimisnumber:** IVDR-738451

Dokumendikontroll

Väljaandmise kuupäev:	23. märts 2022
Redaktsioon:	1
Algpartii:	200501
Dokumendi failinimi:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Finnish — Suomi

Vaatimustenmukaisuusvakuutus

Immunotech SAS vakuuttaa ja ilmoittaa täten, että seuraavassa luetellut tuotteet täyttävät *in vitro* -diagnostiikkaan tarkoitetuista lääkinnällisistä laitteista annetun direktiivin 2017/746 vaatimukset.

Tämä EU-vaatimustenmukaisuusvakuutus on annettu ainoastaan valmistajan vastuulla.

Tuote/tuotteet:
CD10-APC, viite B92400

Laiteryhmä: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI- DI: 150995903B92400SQ

Riskiluokitus: Luokka C, sääntö 3 (artikla 47 liitteen VIII mukaisesti)

Käyttötarkoitus:
Tarkoitettu käyttö: CD10-APC-vasta-aineen avulla voidaan virtaussytometriaa käyttäen tunnistaa kvalitatiivisesti ja ei-automatisoiduilla menetelmillä solupopulaatioita, jotka ilmentävät ihmisen biologisissa näytteissä esiintyvää CD10-antigeeniä (katso kohta "Näytteet" jäljempänä).

Suunniteltu käyttäjä: Tämä tuote on tarkoitettu ammattimaiseen laboratoriokäyttöön.

Kliininen merkitys: CD10-APC on CD10-vasta-aine, jota käytetään CD10-antigeeniä ilmentävien solujen tunnistamiseen ja karakterisointiin virtaussytometrian avulla.
Diagnostisia johtopäätöksiä ei voi eikä pidä tehdä yksin tämän tuotteen avulla.
Kun tuotetta käytetään yhdessä muiden markkereiden kanssa, sitä voidaan käyttää yhteen tai useaan seuraavista toiminnoista:

- Erotusdiagnostiikan apuna hematologisesti poikkeavilla potilailla, joilla epäillään olevan hematopoieettisia kasvaimia, ja seurannan apuna potilailla, joilla tiedetään olevan tällaisia kasvaimia.
- Apuna prognoosin laatimisessa potilaille, joilla on hematopoieettinen kasvain.

Näyte: laskimoveri (käyttöohjeissa kuvatulla tavalla)

Yhteiset eritelmät
Ei ole

Vaatimustenmukaisuuden arviointimenettely

Vaatimustenmukaisuuden arviointi perustuu laadunhallintajärjestelmään ja teknisten asiakirjojen arviointiin (artikla 48 liitteen IX lukujen I ja III mukaisesti)

Allekirjoittanut valmistajan eli Immunotech SAS:n puolesta

Päivämäärä 12 OCT. 2022

Nimi: Claudio Canino
Titteli: Laadunvarmistuksesta ja sääntelyasioista vastaava johtaja, PRRC-varahenkilö.
Julkaisupaikka: Marseille, Ranska

Ilmoitettu laitos
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Alankomaat
Puhelin: +31 (0)20 346 07 80
Sähköposti: info.nl@bsigroup.com

Ilmoitetun laitoksen numero: 2797

Immunotech SAS
Beckman Coulter -yhtiö
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
Ranska
+(33) 4 91 17 27 27
Valmistajan sarjanro: FR-MF-000011121
IVDR:n mukaisen sertifikaatin nro: IVDR-738451

Asiakirjojen valvonta

Julkaisupäivä:	23. maa 2022
Version taso:	1
Ensimmäinen erä:	200501
Vaatimusten-mukaisuus-vakuutuksen tiedostonimi:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

French — Français

Déclaration de conformité

Immunotech SAS assure et déclare par le présent document que le ou les produits listés ci-dessous sont conformes à l'exigence du règlement 2017/746 sur les dispositifs médicaux de diagnostic *In vitro*.

La présente déclaration de conformité de l'UE est délivrée sous la seule responsabilité du fabricant.

Produit(s) :
CD10-APC, réf. B92400

Groupe de dispositifs : EMDN : W010308, IVP3006

BUDI-DI : 150995903B92400SQ

Classe de risque : Classe C, règle 3 (article 47 conformément à l'annexe VIII)

Fonction prévue :
Utilisation prévue : L'anticorps CD10-APC permet l'identification qualitative et non automatisée des populations cellulaires exprimant l'antigène CD10 présent dans des échantillons biologiques humains par cytométrie en flux (voir la section « Échantillons » ci-dessous).

Utilisateur prévu : Ce produit est destiné à un usage en laboratoire professionnel.

Pertinence clinique : CD10-APC est un anticorps CD10 utilisé pour identifier et caractériser les cellules exprimant l'antigène CD10 par cytométrie en flux.
Ce produit seul ne peut pas et n'est pas destiné à tirer des conclusions diagnostiques.
Lorsqu'il est utilisé conjointement avec d'autres marqueurs, ce produit peut être utilisé pour l'une ou plusieurs des fonctions suivantes :

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

Échantillon : Sang veineux (comme décrit dans le mode d'emploi)

Spécification(s) commune(s)
Néant

Procédure d'évaluation de la conformité

L'évaluation de la conformité est basée sur un système de gestion de la qualité et sur l'évaluation de la documentation technique (article 48 conformément à l'annexe IX des chapitres I et III)

Signé pour et au nom d'Immunotech SAS, le fabricant légal

Date 12 OCT. 2022

Nom : Claudio Canino
Titre : Responsable de l'assurance de la qualité et des affaires réglementaires, adjoint PRRC.
Lieu d'émission : Marseille, France

Organisme notifié
Groupe BSI Pays-Bas B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Pays-Bas
Téléphone : +31 (0)20 346 07 80
Courriel : info.nl@bsigroup.com

Numéro de l'organisme notifié : 2797

Immunotech SAS
Une entreprise de Beckman Coulter
130 avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 – 13276 Marseille Cedex 9
France
(33) 4 91 17 27 27
Fabricant SRN : FR-MF-000011121
Numéro de certificat IVDR : IVDR-738451

Contrôle des documents

Date d'émission :	Le 23 mars 2022
Niveau de révision :	1
Lot de départ :	200501
Nom de fichier DoC :	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

German — Deutsch

Konformitätserklärung

Immunotech SAS versichert und erklärt hiermit, dass das/die nachstehend aufgeführte(n) Produkt(e) die Anforderungen der Verordnung 2017/746 über *In-vitro*-Diagnostika erfüllt/erfüllen.

Die Ausgabe dieser EU-Konformitätserklärung liegt in der alleinigen Verantwortung des Herstellers.

Produkt(e):
CD10-APC, Ref. B92400

Gerätegruppe: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI-DI: 150995903B92400SQ

Risikoklasse: Klasse C, Regel 3 (Artikel 47 in Übereinstimmung mit Anhang VIII)

Vorgesehener Zweck:
Vorgesehene Verwendung: Der CD10-APC-Antikörper ermöglicht mithilfe der Durchflusszytometrie eine qualitative und nicht automatisierte Identifikation von Zellpopulationen, die das CD10-Antigen exprimieren, das in biologischen Proben menschlicher Herkunft vorhanden ist (siehe Abschnitt „Proben" unten).

Vorgesehener Benutzer: Dieses Produkt ist für den professionellen Gebrauch im Labor vorgesehen.

Klinische Relevanz: CD10-APC ist ein CD10-Antikörper zur durchflusszytometrischen Identifikation und Charakterisierung von Zellen, die das CD10-Antigen exprimieren.
Es ist weder möglich noch vorgesehen, alleine anhand dieses Produkts zu einer diagnostischen Schlussfolgerung zu kommen.
Bei Verwendung in Verbindung mit anderen Markern kann dieses Produkt für einen oder mehrere der folgenden Zwecke eingesetzt werden:

- Als Hilfsmittel zur Differenzialdiagnose von hämatologisch anormalen Patienten mit Verdacht auf ein hämatopoetisches Neoplasma und zur Überwachung von Patienten mit bestätigtem hämatopoetischen Neoplasma.
- Als Hilfsmittel zur Prognose von Patienten mit hämatopoetischem Neoplasma.

Probe: Venöses Blut (wie in der Gebrauchsanweisung beschrieben)

Gängige Spezifikation(en)
Keine

Konformitätsbewertungsverfahren

Konformitätsbewertung beruht auf einem Qualitätsmanagementsystem und auf der Bewertung der technischen Dokumentation (Artikel 48 in Übereinstimmung mit Anhang IX, Kapitel I und III)

Unterzeichnet für und im Namen von Immunotech SAS, dem rechtmäßigen Hersteller

Datum 12 OCT. 2022

Name: Claudio Canino
Position: Leiter Qualitätssicherung und Zulassungen, PRRC-Stellvertreter.
Ausstellungsort: Marseille, Frankreich

Benachrichtigte Stelle
BSI Group Niederlande B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Niederlande
Tel.: +31 (0)20 346 07 80
E-Mail: info.nl@bsigroup.com

Nummer der benannten Stelle: 2797

Immunotech SAS
Ein Beckman Coulter-Unternehmen
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 – 13276 Marseille, Cedex 9
Frankreich
+(33) 4 91 17 27 27
SRN Hersteller: FR-MF-000011121
IVDR-Zertifikatsnummer: IVDR-738451

Dokumentenlenkung

Ausstellungsdatum:	23. März 2022
Revisionsstufe:	1
Start-Charge:	200501
DoC-Dateiname:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Greek — Ελληνικά

Δήλωση συμμόρφωσης

Η Immunotech SAS διασφαλίζει και δηλώνει, διά της παρούσης, ότι τα προϊόντα που παρατίθενται παρακάτω συμμορφώνονται με τις απαιτήσεις του Κανονισμού 2017/746 για τα *in vitro* διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα.

Η παρούσα δήλωση συμμόρφωσης της ΕΕ εκδίδεται με αποκλειστική ευθύνη του κατασκευαστή.

Προϊόντα:
CD10-APC, ref. B92400

Ομάδα συσκευών: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI-DI: 150995903B92400SQ

Κατηγορία κινδύνου: Κατηγορία Γ, Κανόνας 3 (Άρθρο 47, σύμφωνα με το Παράρτημα VIII)

Προβλεπόμενος σκοπός:
Προβλεπόμενη χρήση: Το αντίσωμα CD10-APC επιτρέπει την ποιοτική και μη αυτοματοποιημένη ταυτοποίηση των κυτταρικών πληθυσμών που εκφράζουν το αντιγόνο CD10, το οποίο απαντάται σε ανθρώπινα βιολογικά δείγματα, με χρήση κυτταρομετρίας ροής (δείτε την ενότητα «Δείγματα» παρακάτω).

Προβλεπόμενος χρήστης: Το παρόν προϊόν προορίζεται για επαγγελματική εργαστηριακή χρήση.

Κλινική σημασία: Το CD10-APC είναι ένα αντίσωμα CD10 που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό κυττάρων που εκφράζουν το αντιγόνο CD10 με κυτταρομετρία ροής.
Αυτό το προϊόν από μόνο του δεν μπορεί να παράγει οποιοδήποτε διαγνωστικό συμπέρασμα και δεν προορίζεται για αυτήν τη χρήση.
Όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλους δείκτες, αυτό το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μία ή περισσότερες από τις ακόλουθες λειτουργίες:

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

Δείγμα: Φλεβικό αίμα (όπως περιγράφεται στις Οδηγίες χρήσης)

Κοινές προδιαγραφές
Καμία

Διαδικασία αξιολόγησης της συμμόρφωσης

Η αξιολόγηση συμμόρφωσης βασίζεται σε ένα σύστημα διαχείρισης ποιότητας και αξιολόγησης της τεχνικής τεκμηρίωσης (Άρθρο 48 σύμφωνα με το Παράρτημα IX Κεφάλαια I και III)

Υπογράφεται εκ μέρους και για λογαριασμό της Immunotech SAS, του Νόμιμου κατασκευαστή

Ημερομηνία 12 OCT. 2022

Όνομα: Claudio Canino
Τίτλος: Διευθυντής Διασφάλισης Ποιότητας και Ρυθμιστικών Υποθέσεων, αναπληρωτής PRRC.
Τοποθεσία έκδοσης: Μασσαλία, Γαλλία

Κοινοποιημένος οργανισμός
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Ολλανδία
Τηλέφωνο: +31 (0)20 346 07 80
Email: info.nl@bsigroup.com

Αριθμός Κοινοποιημένου οργανισμού: 2797

Immunotech SAS
Εταιρεία της Beckman Coulter
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
Γαλλία
+(33) 4 91 17 27 27
SRN κατασκευαστή: FR-MF-000011121
Αριθμός πιστοποιητικού IVDR: IVDR-738451

Έλεγχος εγγράφων

Ημερομηνία έκδοσης:	23 Μαρτίου 2022
Επίπεδο αναθεώρησης:	1
Παρτίδα έναρξης:	200501
Όνομα αρχείου DoC:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Hungarian — Magyar

Megfelelőségi nyilatkozat

Az Immunotech SAS ezúton kijelenti és szavatolja, hogy az alábbiakban felsorolt termék(ek) megfelel(nek) a 2017/746-os számú, *in vitro* diagnosztikai orvostechnikai eszközökről szóló rendelet követelményeinek.

Ezt az EU-megfelelőségi nyilatkozatot a gyártó kizárólagos felelőssége mellett adják ki.

Termék(ek):
CD10-APC, ref. B92400

Eszközcsoport: EMDN: W010308, IVP3006

Alapvető egyedi eszközazonosító (BUDI-DI): 150995903B92400SQ

Kockázati osztály: C osztály, 3. szabály (47. cikk, a VIII. mellékletnek megfelelően)

Rendeltetés:
Alkalmazási terület: A CD10-APC antitest lehetővé teszi a humán biológiai mintákban a CD10 antigént expresszáló sejtpopulációk áramlási citometriával végzett kvalitatív és nem automatizált azonosítását (lásd lentebb a „Minta" című részt).

Célfelhasználó: Ez a termék laboratóriumi szakemberek általi használatra készült.

Klinikai jelentőség: A CD10-APC a CD10 antigént expresszáló sejtek áramlási citometriával végzett azonosítására és jellemzésére szolgáló CD10 antitest.
Ez a termék önmagában nem alkalmas bármilyen diagnosztikai következtetés levonására, és nem is erre a célra lett kialakítva.
Más markerekkel együtt alkalmazva ez a termék az alábbiak közül egy vagy több célra használható:

- azon rendellenes vérképű betegek differenciáldiagnózisának segítésére, akiknél hematopoietikus neoplázia gyanítható, valamint az ismerten hematopoietikus neoplazmás betegek monitorozására;
- a hematopoietikus neoplazmás betegek prognózisa felállításának segítésére;

Minta: Vénás vér (a használati utasításban leírtaknak megfelelően)

Egységes előírás(ok)
Nincs

Megfelelőségértékelési eljárás

A megfelelőségértékelés a minőségirányítási rendszeren, valamint a műszaki dokumentáció áttekintésén alapul (48. cikk, a IX. melléklet I. és III. fejezetének megfelelően)

A nyilatkozatot az Immunotech SAS mint törvényes gyártó nevében és megbízásából aláírta:

Dátum: 12 OCT. 2022

Név: Claudio Canino
Beosztás: Minőségbiztosítási és szabályozási menedzser, PRRC képviselő.
A kiállítás helye: Marseille, Franciaország

Bejelentett szervezet
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Hollandia
Telefon: +31 (0)20 346 07 80
E-mail: info.nl@bsigroup.com

Bejelentett szervezet száma: 2797

Immunotech SAS
A Beckman Coulter egyik vállalata
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
Franciaország
+(33) 4 91 17 27 27
Gyártó egyedi regisztrációs száma (SRN): FR-MF-000011121
IVDR-tanúsítvány száma: IVDR-738451

Dokumentumkezelés

Kiállítás dátuma:	2022. március 23.
Átdolgozási szint:	1
Kezdő tételszám:	200501
DoC fájlnév:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Italian — Italiano

Dichiarazione di conformità

Con la presente, Immunotech SAS assicura e dichiara che i prodotti elencati di seguito sono conformi ai requisiti del Regolamento 2017/746 relativo ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro*.

La presente Dichiarazione di conformità UE viene rilasciata sotto l'esclusiva responsabilità del produttore.

Prodotti:
CD10-APC, rif. B92400

Gruppo di dispositivi: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI-DI: 150995903B92400SQ

Classe di rischio: Classe C, Norma 3 (Articolo 47 conformemente all'Allegato VIII)

Scopo previsto:
Uso previsto: l'anticorpo CD10-APC consente l'identificazione qualitativa e non automatizzata di popolazioni cellulari che esprimono l'antigene CD10 presente in campioni biologici umani mediante citometria a flusso (vedere la seguente sezione "Campione").

Utente previsto: il prodotto è destinato all'utilizzo professionale in laboratorio.

Rilevanza clinica: CD10-APC è un anticorpo CD10 utilizzato per identificare e caratterizzare le cellule che esprimono l'antigene CD10 mediante citometria a flusso. Questo prodotto da solo non può e non intende generare alcuna conclusione diagnostica. Se impiegato in combinazione con altri marcatori, questo prodotto può essere utilizzato con una o più delle seguenti funzioni:

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

Campione: sangue venoso (come descritto nelle istruzioni per l'uso)

Specifiche comuni
Nessuna

Procedura di valutazione della conformità

La valutazione della conformità è basata su un sistema di gestione della qualità e sulla valutazione della documentazione tecnica (articolo 48 in conformità all'allegato IX, capitoli I e III)

Firmato in nome e per conto di Immunotech SAS, il Produttore legale.

Data 12 OCT. 2022

Nome: Claudio Canino
Titolo: Quality Assurance & Regulatory Affairs Manager, PRRC Deputy.
Luogo di emissione: Marsiglia, Francia

Organismo notificato
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Paesi Bassi
Tel.: +31 (0)20 346 07 80
E-mail: info.nl@bsigroup.com

Numero dell'organismo notificato: 2797

Immunotech SAS
Una società Beckman Coulter
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
Francia
+(33) 4 91 17 27 27
SRN del produttore: FR-MF-000011121
Numero del certificato IVDR: IVDR-738451

Controllo del documento

Data di emissione:	23 marzo 2022
Livello di revisione:	1
N. lotto iniziale:	200501
Nome file DoC:	B92400-TF-810

Japanese — 日本語

適合宣言書

Immunotech SAS は、以下の製品が *体外*診断用医療機器規則 2017/746 の要件に適合していることをここに保証し、宣言します。

この EU 適合宣言は、製造業者のみの責任において発行されています。

製品:
CD10-APC、製品番号 B92400

デバイス群：EMDN: W010308、IVP3006

BUDI- DI：150995903B92400SQ

リスククラス：クラス C、ルール 3（附属書 VIII に従った第 47 条）

使用目的:
使用目的: この CD10-APC 抗体により、フローサイトメトリーを用いた、ヒト生物サンプルに存在する CD10 抗原を発現する細胞集団の定性的かつ非自動での同定が可能になります（以下の「サンプル」の項を参照）。

対象となるユーザー：この製品は、検査室の専門家が使用することを目的としています。

臨床的意義: CD10-APC は、CD10 抗原を発現する細胞を、フローサイトメトリーで同定および特性評価するために使用する CD10 抗体です。
本製品だけでは、診断上の結論を出すことはできず、またそれを意図したものでもありません。
本製品は、他のマーカーと組み合わせて使用する場合、次の機能の 1 つまたは複数で使用できます。

- 造血系新生物が疑われる血液学的異常患者の分類診断を補助し、既知の造血系新生物を有する患者をモニタリングする。
- 造血系新生物を有する患者の予後推定を補助する。

サンプル: 静脈血（IFU に記載のとおり）

共通仕様
なし

適合性評価手順

適合性評価は、品質管理システムと技術文書の評価に基づいています（附属書 IX の I および III 章に従った第 48 条）

法律上の製造業者である Immunotech SAS を代表して署名されています

日付 12 OCT. 2022

名前：クラウディオ・カニーノ
役職：品質保証および規制事務マネージャー、PRRC 代理。
発行場所：マルセイユ、フランス

認証機関
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
アムステルダム、オランダ
電話：+31 (0)20 346 07 80
電子メール： info.nl@bsigroup.com

通知された本体番号を追加: 2797

Immunotech SAS
Beckman Coulter 株式会社
130 avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille Cedex 9
フランス
+(33) 4 91 17 27 27
製造業者 SRN: FR-MF-000011121
IVDR 証明書番号: IVDR-738451

文書管理

発行日:	2022 年 3 月 23 日
改訂レベル：	1
開始ロット：	200501
文書のファイル名：	B92400-TF-810

Korean — 한국어

자기적합성선언

Immunotech SAS 는 아래 나열된 제품이 *체외* 진단 의료 기기 규정 2017/746 의 요구 사항을 준수함을 보장하고 선언합니다.

본 EU 자기적합성선언은 전적으로 제조업체의 책임하에 발행됩니다.

제품:
CD10-APC, 참조 B92400

기기 그룹: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI- DI: 150995903B92400SQ

위험 등급: C 등급, 규칙 3 (부록 VIII 에 따른 47 조)

사용 목적:
용도: CD10-APC 항체 사용 시 유세포 분석법으로 인체 유래 검체에서 CD10 항원을 발현하는 세포 개체군의 정성적 동정 및 비자동 동정을 수행할 수 있습니다(아래 "검체" 섹션 참조).

대상 사용자: 이 제품은 실험실 전문가용으로 고안되었습니다.

임상 관련성: CD10-APC 는 CD10 항원을 발현하는 세포를 유세포 분석법으로 동정하고 특성을 분석하는 데 사용되는 CD10 항체입니다.
본 제품만 사용하여 진단 결론을 내릴 수 없으며, 해당 용도로 사용해서도 안 됩니다.
다른 표지자와 함께 사용하는 경우 이 제품은 다음 중 하나 이상의 기능에 사용할 수 있습니다.

- 조혈세포성 종양이 의심되고 혈액학적 이상을 동반하는 환자의 감별 진단을 위한 보조 수단으로 활용하거나 알려진 조혈세포성 종양을 가진 환자를 모니터링하는 데 사용합니다.
- 조혈세포성 종양을 가진 환자를 진단하는 데 사용합니다.

검체: 정맥혈(IFU 에 명시)

공통 사양
없음

적합성 평가 절차

적합성 평가는 품질 관리 시스템 및 기술 문서 평가를 기반으로 합니다(부록 IX I 장 및 III 장에 따른 제 48 조).

법적 제조업체인 Immunotech SAS 를 대신하여 서명

날짜 12 OCT. 2022

이름: Claudio Canino
직위: 품질 보증 및 규제 업무 관리자, PRRC 대행.
발행 날짜: 마르세유, 프랑스

인증기관
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
암스테르담, 네덜란드
전화번호: +31 (0)20 346 07 80
이메일: info.nl@bsigroup.com

인증기관 번호: 2797

Immunotech SAS
Beckman Coulter 회사
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
프랑스
+(33) 4 91 17 27 27
제조업체 SRN: FR-MF-000011121
IVDR 인증서 번호: IVDR-738451

문서 관리

발행일:	2022 년 3 월 23 일
개정 수준:	1
시작 로트:	200501
문서 파일 이름:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Latvian — Latviski

Atbilstības deklarācija

Immunotech SAS ar šo nodrošina un paziņo, ka tālāk minētais izstrādājums(-i) atbilst *in vitro* diagnostikas medicīnisko ierīču regulas 2017/746 prasībām.

Par šīs ES atbilstības deklarācijas izdošanu ir atbildīgs tikai un vienīgi ražotājs.

Izstrādājums(-i):
CD10-APC, atsauce B92400

Ierīču grupa: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI- DI: 150995903B92400SQ

Riska klase: C klase, 3. noteikums (47. pants saskaņā ar VIII pielikumu)

Paredzētais nolūks:
Paredzētais lietojums: CD10-APC antiviela ļauj kvalitatīvi un neautomatizēti identificēt CD10 antigēnu ekspresējošas šūnu populācijas, kas atrodas cilvēka bioloģiskajos paraugos, izmantojot plūsmas citometriju (skatīt sadaļu „Paraugi" tālāk).

Paredzētais lietotājs: Šis produkts ir paredzēts profesionālai lietošanai laboratorijā.

Klīniskais nozīmīgums: CD10-APC ir CD10 antiviela, ko izmanto, lai identificētu un raksturotu CD10 antigēnu ekspresējošas šūnas, izmantojot plūsmas citometriju.
Šo produktu nevar izmantot vienu pašu, un tas nav paredzēts diagnostisku secinājumu izdarīšanai.
Izmantojot kopā ar citiem marķieriem, šo izstrādājumu var lietot vienai vai vairākām tālāk norādītajām funkcijām:

- Lai palīdzētu veikt diferenciāldiagnostiku pacientiem ar hematoloģiskām patoloģijām, kuriem ir aizdomas par hematopoētisku neoplazmu, un lai kontrolētu pacientus ar zināmu hematopoētisku neoplazmu.
- Lai palīdzētu veikt prognozes pacientiem ar hematopoētisku neoplazmu.

Paraugs: Venozās asinis (kā aprakstīts IFU)

Kopējā specifikācija(-as)
Nav

Atbilstības novērtēšanas procedūra

Atbilstības novērtēšana, pamatojoties uz kvalitātes pārvaldības sistēmu un tehniskās dokumentācijas novērtēšanu (48. pants atbilstoši IX pielikuma I un III nodaļai)

Parakstīts *Immunotech SAS*, juridiskā ražotāja, vārdā un uzdevumā

Datums 12 OCT. 2022

Vārds, uzvārds: Klaudio Kanino (Claudio Canino)
Amata nosaukums: Kvalitātes nodrošināšanas un normatīvo jautājumu nodaļas vadītājs, PRRC vadītāja vietnieks.
Izdošanas vieta: Marseļa, Francija

Paziņotā iestāde
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdama, Nīderlande
Tālrunis: +31 (0)20 346 07 80
E-pasts: info.nl@bsigroup.com

Pievienots paziņotās struktūras numurs: 2797

Immunotech SAS
Beckman Coulter uzņēmums
130 avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 – 13276 Marseļa, Cedex 9
Francija
+(33) 4 91 17 27 27
Ražotāja SRN: FR-MF-000011121
IVDR sertifikāta numurs: IVDR-738451

Dokumentu kontrole

Izdošanas datums:	2022. gada 23. marts
Pārskates līmenis:	1
Sākuma partijas:	200501
DoC faila nosaukums:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Lithuanian — lietuvių k.

Atitikties deklaracija

„Immunotech SAS" užtikrina ir pareiškia, kad toliau nurodytas (-i) gaminys (-iai) atitinka *in vitro* diagnostikos medicinos priemonių reglamento 2017/746 reikalavimus.

Ši ES atitikties deklaracija išduota tik gamintojo atsakomybe.

Gaminys (-iai):
CD10-APC, kat. Nr. B92400

Prietaiso grupė: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI- DI: 150995903B92400SQ

Rizikos klasė: C klasė, 3 taisyklė (47 straipsnis pagal VIII priedą)

Numatytoji paskirtis
Paskirtis. Naudojant CD10-APC, srauto citometrijos būdu galima kokybiškai ir neautomatizuotai identifikuoti ląstelių populiacijas, išreiškiančias CD10 antigeną, esantį žmogaus biologiniuose mėginiuose (žr. tolesnį skyrių „Mėginiai").

Numatomas naudotojas. Šis gaminys skirtas naudoti specialistams laboratorijose.

Klinikinė svarba. CD10-APC yra CD10 antikūnas, naudojamas ląstelėms, išreiškiančioms CD10 antigeną, srauto citometrijos būdu identifikuoti ir apibūdinti.
Naudojant vien šį gaminį negalima padaryti jokios diagnostinės išvados ir jis nėra tam skirtas.
Kartu su kitais žymenimis šis gaminys gali būti naudojamas vienu ar keliais iš toliau nurodytų tikslų:

- hematologiškai nenormalių pacientų, kuriems įtariama kraujodaros sistemos neoplazma, diferencinei diagnozei palengvinti ir pacientams, kuriems jau nustatyta kraujodaros sistemos neoplazma, stebėti;
- padėti prognozuoti pacientų, kuriems nustatyta kraujodaros sistemos neoplazma, būklę.

Mėginys: veninis kraujas (kaip aprašyta NI)

Bendroji (-osios) specifikacija (-os)
Nėra

Atitikties vertinimo procedūra

Atitikties vertinimas yra pagrįstas kokybės valdymo sistema ir techninių dokumentų vertinimu (48 straipsnis pagal IX priedo I ir III skyrius)

Pasirašo teisėto gamintojo „Immunotech SAS" vardu

_____ Data 12 OCT. 2022

Vardas, pavardė: Claudio Canino
Pareigos: kokybės užtikrinimo ir norminių reikalavimų skyriaus vadovas, už atitiktį reikalavimams atsakingo asmens (ARAA) pavaduotojas.
Išleidimo vieta: Marselis, Prancūzija

Notifikuotoji įstaiga
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Nyderlandai
Tel. +31 (0)20 346 07 80
El. paštas info.nl@bsigroup.com

Notifikuotosios įstaigos numeris: 2797

Immunotech SAS
„Beckman Coulter" įmonė
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
Prancūzija
+(33) 4 91 17 27 27
Gamintojo SRN: FR-MF-000011121
IVDR sertifikato numeris: IVDR-738451

Dokumentų kontrolė

Išleidimo data:	2022 m. kovo 23 d.
Peržiūros lygis:	1
Pradinė partija:	200501
DoC failo pavadinimas:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Norwegian — Norsk

Samsvarserklæring

Immunotech SAS forsikrer at produkter angitt nedenfor samsvarer med kravene i forordning 2017/746 om *in vitro*-diagnostisk medisinsk utstyr.

Denne EU-samsvarserklæringen publiseres på produsentens eget ansvar.

Produkt(er):
CD10-APC, ref. B92400

Enhetsgruppe: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI- DI: 150995903B92400SQ

Risikoklasse: Klasse C, regel 3 (artikkel 47 i samsvar med vedlegg VIII)

Tiltenkt formål:
Tiltenkt bruk: CD10-APC-antistoffet muliggjør kvalitativ og ikke-automatisert identifisering av cellepopulasjoner som uttrykker CD10-antigenet som finnes i humane biologiske prøver, ved hjelp av flowcytometri (se avsnittet «Prøver» nedenfor).

Tiltenkt bruker: Dette produktet er beregnet for bruk på profesjonelle laboratorier.

Klinisk relevans: CD10-APC er et CD10-antistoff som brukes til å identifisere og karakterisere celler som uttrykker CD10-antigenet, ved hjelp av flowcytometri.
Dette produktet alene kan ikke og er ikke ment å generere en diagnostisk konklusjon.
Når dette produktet brukes i kombinasjon med andre markører, kan det brukes i én eller flere av følgende funksjoner:

- Bistå ved differensialdiagnostisering av hematologisk unormale pasienter med mistenkt hematopoietisk neoplasi og følge opp pasienter med kjent hematopoietisk neoplasi.
- Bistå ved prognostisering av pasienter som har hematopoietisk neoplasi.

Prøve: Venøst blod (som beskrevet i bruksanvisningen)

Vanlige spesifikasjoner
Ingen

Prosedyre for samsvarsvurdering

Samsvarsvurdering er basert på et kvalitetsstyringssystem og på vurdering av teknisk dokumentasjon (artikkel 48 i samsvar med vedlegg IX, kapittel I og III)

Signert for på vegne av Immunotech SAS, juridisk produsent

Dato 12 OCT. 2022

Navn: Claudio Canino
Tittel: Leder for kvalitetssikring og juridisk avdeling, PRRC-representant.
Publiseringssted: Marseille, Frankrike

Teknisk kontrollorgan
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Nederland
Telefon: +31 (0)20 346 07 80
E-post: info.nl@bsigroup.com

Nummer på teknisk kontrollorgan: 2797

Immunotech SAS
Et Beckman Coulter-selskap
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
Frankrike
+(33) 4 91 17 27 27
Produsent-SRN: FR-MF-000011121
IVDR-sertifikatnummer: IVDR-738451

Dokumentkontroll

Utstedelsesdato:	23. mars 2022
Revisjonsnivå:	1
Startlot:	200501
DoC-filnavn:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Polish — Polski

Deklaracja zgodności

Firma Immunotech SAS niniejszym zapewnia i deklaruje, że wymienione poniżej produkty spełniają wymogi rozporządzenia 2017/746 w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki *in vitro*.

Niniejsza deklaracja zgodności UE została wydana na wyłączną odpowiedzialność producenta.

Produkt(y):
CD10-APC, nr ref. B92400

Grupa wyrobów: EMDN: W010308, IVP3006

Identyfikator BUDI-DI: 150995903B92400SQ

Klasa ryzyka: Klasa C, reguła 3 (art. 47, zgodnie z załącznikiem VIII)

Przewidziane zastosowanie:
Przeznaczenie: Przeciwciało CD10-APC umożliwia jakościową i niezautomatyzowaną identyfikację populacji komórek, które wykazują ekspresję antygenu CD10 i są obecne w ludzkich próbkach biologicznych, metodą cytometrii przepływowej (zobacz punkt „Próbki" poniżej).

Użytkownik docelowy: Niniejszy produkt jest przeznaczony do profesjonalnego użytku laboratoryjnego.

Znaczenie kliniczne: CD10-APC jest przeciwciałem przeciwko CD10 stosowanym do identyfikowania i charakteryzowania komórek wykazujących ekspresję antygenu CD10 za pomocą cytometrii przepływowej.
Ten produkt nie może samodzielnie generować wniosków diagnostycznych i nie jest przeznaczony do ich samodzielnego generowania.
W połączeniu z innymi markerami produkt ten może służyć do jednego lub kilku z następujących zastosowań:

- do wspomagania diagnostyki różnicowej pacjentów z nieprawidłowym obrazem hematologicznym i podejrzeniem nowotworu układu krwiotwórczego oraz do monitorowania pacjentów ze stwierdzonym nowotworem układu krwiotwórczego;
- jako pomoc w ustaleniu rokowania u pacjentów z nowotworem układu krwiotwórczego.

Próbka: Krew żylna (jak opisano w IFU)

Wspólna specyfikacja
Brak

Procedura oceny zgodności

Ocena zgodności jest oparta na systemie zarządzania jakością i ocenie dokumentacji technicznej (art. 48, zgodnie z załącznikiem IX, rozdziały I i III)

Podpisano w imieniu i na rzecz firmy Immunotech SAS będącej legalnym producentem

_____ **Data** 12 OCT. 2022

Imię i nazwisko: Claudio Canino
Stanowisko: Menedżer ds. zapewnienia jakości i rejestracji, zastępca osoby odpowiedzialnej za zgodność regulacyjną
Miejsce wydania: Marsylia, Francja

Jednostka notyfikowana
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Holandia
Tel.: +31 (0)20 346 07 80
E-mail: info.nl@bsigroup.com

Numer jednostki notyfikowanej: 2797

Immunotech SAS
Firma należąca do Beckman Coulter
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
Francja
+(33) 4 91 17 27 27
Numer SRN producenta: FR-MF-000011121
Numer certyfikatu IVDR: IVDR-738451

Kontrola dokumentu

Data wydania:	23 marca 2022 r.
Wersja dokumentu:	1
Nr partii początkowej:	200501
Nazwa pliku deklaracji zgodności:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Portuguese — Português

Declaração de conformidade

A Immunotech SAS vem por este meio garantir e declarar que o(s) produto(s) listado(s) abaixo cumpre(m) os requisitos do Regulamento 2017/746 relativo a Dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*.

A presente Declaração de conformidade da UE é emitida sob a exclusiva responsabilidade do fabricante.

Produto(s):
CD10-APC, ref.ª B92400

Grupo de dispositivo: Código da Nomenclatura Europeia de Dispositivos Médicos (EMDN): W010308, IVP3006

UDI-DI básico: 150995903B92400SQ

Classe de risco: Classe C, norma 3 (artigo 47.º em conformidade com o anexo VIII)

Fim previsto:
Utilização prevista: o anticorpo CD10-APC permite a identificação qualitativa e não automatizada de populações de células que expressam o antigénio CD10 presente em amostras biológicas humanas, utilizando citometria de fluxo (consulte a secção «Amostras» abaixo).

Utilizador previsto: este produto destina-se à utilização profissional em laboratório.

Relevância clínica: o CD10-APC é um anticorpo de CD10 utilizado para identificar e caracterizar, por citometria de fluxo, as células que expressam o antigénio CD10.
Este produto, por si só, não pode e não se destina a gerar qualquer conclusão de diagnóstico.
Quando utilizado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser utilizado numa ou mais das seguintes funções:

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

Amostra: sangue venoso (conforme descrito nas instruções de utilização)

Especificação(ões) comum(ns)
Nenhuma

Procedimento de avaliação de conformidade

A avaliação de conformidade é baseada num sistema de gestão de qualidade e na avaliação de documentação técnica (artigo 48.º, em conformidade com o anexo IX, Capítulos I e III)

Assinado por e em nome da Immunotech SAS., o fabricante legal

Data 12 OCT. 2022

Nome: Claudio Canino
Função: Gestor de garantia de qualidade e assuntos regulamentares, Pessoa responsável pela observância da regulamentação.
Local de emissão: Marselha, França

Organismo notificado
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Países Baixos
Telefone: +31 (0)20 346 07 80
E-mail: info.nl@bsigroup.com

Número do organismo notificado: 2797

Immunotech SAS
Uma empresa da Beckman Coulter
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177-13276 Marseille, Cedex 9
França
+(33) 4 91 17 27 27
SRN do fabricante: FR-MF-000011121
Número de certificado de IVDR: IVDR-738451

Controlo de documentos

Data de emissão:	23 de março de 2022
Nível de revisão:	1
Lote inicial:	200501
Nome do ficheiro da Declaração de conformidade (DoC):	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Romanian — Română

Declarație de conformitate

Prin prezenta, Immunotech SAS asigură și declară că produsul (produsele) indicat(e) mai jos este (sunt) în conformitate cu cerința Regulamentului 2017/746 privind dispozitivele medicale pentru diagnostic *in-vitro*.

Această declarație de conformitate UE este emisă pe răspunderea exclusivă a producătorului.

Produsul (Produsele):
CD10-APC, ref. B92400

Grup de dispozitive: EMDN (Nomenclatorul european al dispozitivelor medicale):
W010308, IVP3006

BUDI-DI (Identificarea unică de bază a dispozitivului – Identificarea dispozitivului):
150995903B92400SQ

Clasa de risc: Clasa C, Regula 3 (Articolul 47 în conformitate cu Anexa VIII)

Scopul prevăzut:
Domeniul de utilizare: Anticorpul CD10-APC permite identificarea calitativă și non-automată a populațiilor de celule care exprimă antigenul CD10 prezent în probele biologice umane, utilizând citometrie în flux (consultați secțiunea „Probe" de mai jos).

Utilizatorul prevăzut: Acest produs este destinat utilizării profesionale în laborator.

Relevanța clinică: CD10-APC este un anticorp CD10 utilizat pentru identificarea și caracterizarea celulelor care exprimă antigenul CD10, utilizând citometrie în flux.
Individual, acest produs nu poate genera concluzii cu rol de diagnostic și nu este conceput în acest scop.
Când este utilizat în combinație cu alți markeri, acest produs poate fi utilizat cu una sau mai multe dintre următoarele funcții:

- Pentru a ajuta la obținerea unui diagnostic diferențial în cazul pacienților cu anomalii hematologice suspectați de neoplasm hematopoietic și pentru a monitoriza pacienții cu neoplasm hematopoietic diagnosticat.
- Pentru a ajuta la prognosticul pacienților cu neoplasm hematopoietic.

Probă: Sânge venos (conform descrierii din instrucțiunile de utilizare)

Specificație (Specificații) comună (comune)
Nu există

Procedura de evaluare a conformității

Evaluarea conformității se bazează pe un sistem de management al calității și pe evaluarea documentației tehnice (Articolul 48 în conformitate cu Anexa IX, Capitolele I și III)

Document semnat pentru compania Immunotech SAS, producătorul autorizat, și în numele acesteia

Data 12 OCT. 2022

Nume: Claudio Canino
Funcție: Manager principal responsabil de asigurarea calității și de aspectele privind reglementările, delegat responsabil de conformitatea cu reglementările.
Locul emiterii: Marseille, Franța

Organism notificat
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Țările de Jos
Telefon: +31 (0)20 346 07 80
E-mail: info.nl@bsigroup.com

Numărul organismului notificat: 2797

Immunotech SAS
O companie Beckman Coulter
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
Franța
+(33) 4 91 17 27 27
Codul unic de înregistrare al producătorului: FR-MF-000011121
Numărul certificatului de conformitate cu Regulamentul privind dispozitivele medicale pentru diagnostic *in vitro*: IVDR-738451

Control document

Data emiterii:	23 martie 2022
Nivel de revizuire:	1
Lot inițial:	200501
Denumirea fișierului DoC:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Russian — Русский

Декларация соответствия

Настоящим Immunotech SAS гарантирует и заявляет, что перечисленные ниже продукты соответствуют требованиям Регламента о медицинских устройствах для диагностики *in vitro* 2017/746.

Настоящая Декларация соответствия ЕС выдается исключительно под ответственность производителя.

Изделие(-я):
CD10-APC, ссылочный номер B92400

Группа изделий: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI- DI: 150995903B92400SQ

Класс риска: Класс C, Правило 3 (Статья 47 в соответствии с Приложением VIII)

Предусмотренное назначение:
Предусмотренное применение: Это антитело CD10-APC позволяет с использованием проточной цитометрии выполнить качественное и не автоматизированное определение клеточных популяций, экспрессирующих антиген CD10, который присутствует в биологических пробах человека (см. раздел «Пробы» ниже).

Конечный пользователь: Этот продукт предназначен для профессионального использования в лаборатории.

Клиническое значение: CD10-APC является антителом CD10, используемым для идентификации и описания клеток, экспрессирующих антиген CD10, методом проточной цитометрии.
Этот продукт отдельно от других исследований не может приводить к принятию каких-либо диагностических решений и не предназначен для этого.
При использовании в сочетании с другими маркерами этот продукт может использоваться в следующих целях.

- Для использования при дифференциальной диагностике пациентов с отклонениями гематологических результатов (при подозрении на наличие гемопоэтических новообразований), а также для мониторинга пациентов с известным гемопоэтическим новообразованием.
- Для содействия в прогнозировании пациентов с гемопоэтическим новообразованием.

Проба: Венозная кровь (как описано в IFU)

Общие спецификации
Нет

Процедура оценки соответствия

Оценка соответствия основана на Системе управления качеством и оценке технической документации (Статья 48 в соответствии с Приложением IX, главы I и III)

Подписано от имени Immunotech SAS, официального изготовителя

_____ **Дата** 12 ОСТ. 2022

Фамилия, имя: Claudio Canino
Должность: Менеджер по обеспечению качества и регулированию, заместитель лица, ответственного за соблюдение нормативных требований.
Место выдачи: Marseille, Франция

Уполномоченный орган
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Нидерланды
Тел.: +31 (0)20 346 07 80
Электронная почта:
info.nl@bsigroup.com

Номер уполномоченного органа: 2797

Immunotech SAS
Компания Beckman Coulter
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
Франция
+(33) 4 91 17 27 27
Серийный номер изготовителя: FR-MF-000011121
Номер сертификата IVDR: IVDR-738451

Контроль документа

Дата выдачи:	23 марта 2022 г.
Статус изменения:	1
Начальная серия:	200501
Имя файла документа:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Serbian — srpski

Deklaracija o usaglašenosti

Immunotech SAS ovim putem obezbeđuje i izjavljuje da proizvod(i) navedeni u nastavku ispunjavaju uslove Uredbe 2017/746 o medicinskim uređajima za *In-Vitro* dijagnostiku.

Ova EU Deklaracija o usaglašenosti je izdata pod isključivom odgovornošću proizvođača.

Proizvod(i):
CD10-APC, ref. B92400

Grupa uređaja: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI- DI: 150995903B92400SQ

Klasa rizika: Klasa C, pravilo 3 (član 47. u skladu sa aneksom VIII)

Predviđena namena:
Namena: Antitelo CD10-APC omogućava kvalitativnu i neautomatizovanu identifikaciju ćelijskih populacija koje eksprimiraju antigen CD10 prisutan u humanim biološkim uzorcima pomoću protočne citometrije (pogledajte odeljak „Uzorci" u nastavku).

Predviđeni korisnik: Ovaj proizvod je namenjen za upotrebu od strane laboratorijskih stručnjaka.

Klinička relevantnost: CD10-APC je CD10 antitelo koje se koristi za identifikaciju i karakterizaciju ćelija koje eksprimiraju antigen CD10 pomoću protočne citometrije.
Ovaj proizvod sam po sebi ne može da se koristi za donošenje bilo kog dijagnostičkog zaključka niti je za to namenjen.
Kada se koristi u kombinaciji sa drugim markerima, ovaj proizvod može da se koristi kod jedne ili više od sledećih funkcija:

- Kao pomoć u diferencijalnoj dijagnozi kod hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu i za nadgledanje pacijenata sa poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć u prognozi kod pacijenata koji imaju hematopoetsku neoplazmu.

Uzorak: Venska krv (kako je opisano u uputstvu za upotrebu (IFU))

Opšte specifikacije
Ne postoje

Postupak procene usaglašenosti

Procena usaglašenosti se zasniva na sistemu upravljanja kvalitetom i na proceni tehničke dokumentacije (član 48. u skladu sa aneksom IX, poglavlja I i III)

Potpisano za i u ime legalnog proizvođača Immunotech SAS

Datum 12 OCT. 2022

Ime: Claudio Canino
Zvanje: Menadžer za osiguranje kvaliteta i regulatorne poslove, zamenik lica odgovornog za usaglašenost sa propisima (PRRC).
Mesto izdavanja: Marseille, Francuska

Nadležni organ
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Holandija
Telefon: +31 (0)20 346 07 80
E-adresa: info.nl@bsigroup.com

Broj nadležnog organa: 2797

Immunotech SAS
Kompanija Beckman Coulter
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
Francuska
+(33) 4 91 17 27 27
Jedinstveni registarski broj proizvođača: FR-MF-000011121
Broj IVDR sertifikata: IVDR-738451

Upravljanje dokumentom/ kontrola dokumenta

Datum izdavanja:	23.3.2022.
Nivo revizije:	1
Početna serija:	200501
Naziv datoteke:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Slovak — Slovensky

Vyhlásenie o zhode

Spoločnosť Immunotech SAS týmto uisťuje a vyhlasuje, že nižšie uvedené produkty spĺňajú požiadavky Nariadenia 2017/746 o diagnostických zdravotníckych pomôckach *in vitro*.

Toto vyhlásenie o zhode v EÚ sa vydáva na výhradnú zodpovednosť výrobcu.

Produkty:
CD10-APC, ref. B92400

Skupina pomôcok: EMDN: W010308, IVP3006

Základný identifikátor BUDI-DI: 150995903B92400SQ

Trieda rizika: Trieda C, pravidlo 3 (článok 47 v súlade s prílohou VIII)

Určený účel:
Určené použitie: Protilátka CD10-APC umožňuje pomocou prietokovej cytometrie vykonávať kvalitatívnu a neautomatizovanú identifikáciu populácií buniek exprimujúcich antigén CD10 prítomných v ľudských biologických vzorkách (pozri časť „Vzorky" nižšie).

Určený používateľ: Tento produkt je určený na profesionálne laboratórne použitie.

Klinický význam: CD10-APC je protilátka proti antigénu CD10 slúžiaca na identifikáciu a charakterizáciu buniek exprimujúcich antigén CD10 prietokovou cytometriou.
Tento produkt sám osebe nemôže a ani nemá slúžiť na vyvodzovanie akýchkoľvek diagnostických záverov.
Pri použití v kombinácii s inými markermi možno tento produkt použiť na jeden alebo viacero z týchto účelov:

- Ako pomôcka pri diferenciálnej diagnostike hematologicky abnormálnych pacientov s podozrením na hematopoetickú neoplazmu a na monitorovanie pacientov so známou hematopoetickou neoplazmou.
- Ako pomôcka pri prognóze pacientov s hematopoetickou neoplazmou.

Vzorka: Venózna krv (ako opisuje Návod na použitie)

Spoločné špecifikácie
Žiadne

Postup posudzovania zhody

Posúdenie zhody je založené na systéme riadenia kvality a na posúdení technickej dokumentácie (článok 48 v súlade s kapitolami I a III prílohy IX)

Podpísané za a v mene oficiálneho výrobcu Immunotech SAS

Dátum 12 OCT. 2022

Meno: Claudio Canino
Funkcia: Manažér pre zaistenie kvality a regulačné záležitosti, zástupca osoby zodpovednej za dodržiavanie regulačných požiadaviek.
Miesto vydania: Marseille, Francúzsko

Notifikovaný orgán
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Holandsko
Telefón: +31 (0)20 346 07 80
E-mail: info.nl@bsigroup.com

Číslo notifikovaného subjektu: 2797

Immunotech SAS
Spoločnosť skupiny Beckman Coulter
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 – 13276 Marseille, Cedex 9
Francúzsko
+(33) 4 91 17 27 27
Kód SRN výrobcu: FR-MF-000011121
Číslo certifikátu IVDR: IVDR-738451

Kontrola dokumentácie

Dátum vydania:	23. marec 2022
Úroveň revízie:	1
Počiatočná šarža:	200501
Názov súboru s vyhlásením o zhode:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Slovenščina — Slovenščina

Izjava o skladnosti

Družba Immunotech SAS zagotavlja in izjavlja, da spodaj našteti izdelki ustrezajo zahtevam Uredbe o medicinskih pripomočkih za diagnostiko *in vitro* 2017/746.

Za to izjavo EU o skladnosti je odgovoren izključno proizvajalec.

Izdelki:
CD10-APC, ref. B92400

Skupina pripomočkov: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI-DI: 150995903B92400SQ

Razred tveganja: Razred C, pravilo 3 (člen 47 v skladu s Prilogo VIII)

Predvidena uporaba:
Predvideni namen: Protitelo CD10-APC omogoča kvalitativno in neavtomatizirano identifikacijo celičnih populacij, ki izražajo antigen CD10, prisoten v človeških bioloških vzorcih, z uporabo pretočne citometrije (glejte poglavje »Vzorci« spodaj).

Predvideni uporabnik: Izdelek je namenjen profesionalni laboratorijski uporabi.

Klinični pomen: CD10-APC je protitelo proti antigenu CD10, ki se uporablja za identifikacijo in opredelitev celic, ki izražajo antigen CD10, s pretočno citometrijo.
Ta izdelek sam ne more ustvariti in ni namenjen za ustvarjanje kakršnih koli diagnostičnih zaključkov.
Če se izdelek uporablja v kombinaciji z drugimi označevalci, se lahko uporablja v eni ali več naslednjih funkcij:

- Kot pripomoček pri diferencialnem diagnosticiranju hematološko neobičajnih bolnikov, pri katerih obstaja sum, da imajo hematopoetsko neoplazmo, in za spremljanje bolnikov z znano hematopoetsko neoplazmo.
- Za pomoč pri prognozi bolnikov s hematopoetsko neoplazmo.

Vzorec: Venska kri (kot je opisano v navodilih za uporabnika)

Skupne specifikacije
Jih ni

Postopek ugotavljanja skladnosti

Ugotavljanje skladnosti temelji na sistemu za upravljanje kakovosti in oceni tehnične dokumentacije (člen 48 v skladu s Prilogo IX v poglavjih I in III)

Podpisano za in v imenu družbe Immunotech SAS, zakonitega proizvajalca

Datum 12 OCT. 2022

Ime: Claudio Canino
Naziv: Direktor, zagotavljanje kakovosti in regulativne zadeve, namestnik PRRC.
Kraj izdaje: Marseille, Francija

Priglašeni organ
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Nizozemska
Telefon: +31 (0)20 346 07 80
E-naslov: info.nl@bsigroup.com

Številka priglašenega organa: 2797

Immunotech SAS
Del družbe Beckman Coulter
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
Francija
+(33) 4 91 17 27 27
Reg. št. proizvajalca: FR-MF-000011121
Številka potrdila IVDR: IVDR-738451

Nadzor dokumentov

Datum izdaje:	23. mar. 2022
Raven revizije:	1
Začetni lot:	200501
Ime datoteke DoC:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Spanish — Español

Declaración de conformidad

Immunotech SAS garantiza y declara por la presente que el/los producto(s) enumerado(s) a continuación cumple(n) con los requisitos del Reglamento 2017/746 sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*.

Esta declaración de conformidad de la UE se publica bajo la responsabilidad exclusiva del fabricante.

Producto(s):
CD10-APC, ref. B92400

Grupo de dispositivo: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI-DI: 150995903B92400SQ

Clase de riesgo: Clase C, regla 3 (artículo 47 de acuerdo con el anexo VIII)

Objetivo previsto:
Utilidad prevista: El anticuerpo CD10-APC permite la identificación cualitativa y no automatizada de poblaciones celulares que expresan el antígeno CD10 presente en muestras biológicas humanas utilizando citometría de flujo (consulte la sección "Muestras" a continuación).

Usuario previsto: Este producto está previsto para el uso profesional en laboratorio.

Relevancia clínica: CD10-APC es un anticuerpo CD10 utilizado para identificar y caracterizar células que expresan el antígeno CD10 mediante citometría de flujo.
Este producto por sí solo no puede generar y no está diseñado para generar una conclusión diagnóstica.
Cuando se combina con otros marcadores, este producto puede utilizarse en las siguientes funciones:

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

Muestra: Sangre venosa (como se describe en las instrucciones de uso)

Especificación(es) común(es)
Ninguna

Procedimiento de evaluación de la conformidad

La evaluación de conformidad se basa en un sistema de gestión de calidad y en la evaluación de la documentación técnica (Artículo 48, de conformidad con los capítulos I y III del anexo IX)

Firmado por y en nombre de Immunotech SAS, el fabricante legal

Fecha 12 OCT. 2022

Nombre: Claudio Canino
Cargo: Director de calidad y asuntos normativos, adjunto de PRRC.
Lugar de la publicación: Marsella, Francia

Organismo notificado
Grupo BSI Países Bajos B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Ámsterdam, Países Bajos
Teléfono: +31 (0)20 346 07 80
Correo electrónico:
info.nl@bsigroup.com

Número de organismo notificado: 2797

Immunotech SAS
Una compañía de Beckman Coulter
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
Francia
+(33) 4 91 17 27 27
SRN del fabricante: FR-MF-000011121
Número de certificado IVDR: IVDR-738451

Control de documentos

Fecha de publicación:	23 de marzo de 2022
Nivel de revisión:	1
N.º de lote inicial:	200501
Nombre del archivo DoC:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Swedish — Svenska

Försäkran om överensstämmelse

Immunotech SAS säkerställer och förklarar härmed att den/de produkt(er) som anges nedan uppfyller kraven i förordning 2017/746 om medicintekniska produkter för *in vitro*-diagnostik.

Denna EU-försäkran om överensstämmelse utfärdas på tillverkarens eget ansvar.

Produkt(er):
CD10-APC, ref. B92400

Produktgrupp: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI-DI: 150995903B92400SQ

Riskklass: Klass C, regel 3 (artikel 47 i enlighet med bilaga VIII)

Avsett ändamål:
Avsedd användning: CD10-APC-antikroppen möjliggör kvalitativ och icke-automatiserad identifiering av cellpopulationer som uttrycker CD10-antigenen som förekommer i humana biologiska prover med användning av flödescytometri (se avsnittet "Prov" nedan).

Avsedd användare: Den här produkten är avsedd för yrkesmässigt bruk vid laboratorier.

Klinisk relevans: CD10-APC är CD10-antikropp som används för att identifiera och egenskapsbestämma celler som uttrycker CD10-antigenen med hjälp av flödescytometri. Enbart denna produkt kan inte och är inte avsedd för att ta fram en diagnostisk slutsats. Vid användning i kombination med andra markörer kan denna produkt användas i en eller flera av de följande funktionerna:

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

Prov: Venöst blod (enligt beskrivningen i bruksanvisningen (IFU))

Allmän(na) specifikation(er)
Inga

Förfarande för bedömning av överensstämmelse

Bedömning av överensstämmelse baseras på ett kvalitetsledningssystem och på bedömning av teknisk dokumentation (artikel 48 i enlighet med bilaga IX, kapitel I och III)

Undertecknad för och på uppdrag av tillverkaren Immunotech SAS, den juridiska tillverkaren

Datum 12 OCT. 2022

Namn: Claudio Canino
Titel: Chef för kvalitetssäkring och regulatoriska frågor, biträdande PRRC-representant.
Plats för utfärdande: Marseille, Frankrike

Anmält organ
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Nederländerna
Telefon: +31 (0)20 346 07 80
Email: info.nl@bsigroup.com

Nummer för anmält organ: 2797

Immunotech SAS
Ett Beckman Coulter företag
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
Frankrike
+(33) 4 91 17 27 27
Tillverkare SRN: FR-MF-000011121
IVDR-certifikatnummer: IVDR-738451

Dokumentkontroll

Utfärdandedatum:	23 mars 2022
Revisionsnivå:	1
Startparti nr:	200501
DoC-filnamn:	B92400-TF-810

BECKMAN COULTER

Turkish — Türkçe

Uygunluk Beyanı

Immunotech SAS bu belgeyle, aşağıda listelenen ürünlerin, *In Vitro* Diyagnostik Medikal Cihaz Yönetmeliği 2017/746'daki gerekliliğe uygun olduğunu temin ve beyan eder.

Bu AB Uygunluk Beyanı yalnızca üreticinin sorumluluğunda verilmektedir.

Ürünler:
CD10-APC, ref. B92400

Cihaz Grubu: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI- DI: 150995903B92400SQ

Risk Sınıfı: Sınıf C, Kural 3 (Madde 47, Ek VIII uyarınca)

Kullanım Amacı:
Amaçlanan kullanım: CD10-APC antikoru, insan biyolojik örneklerinde bulunan ve CD10 antijenini eksprese eden hücre popülasyonları için akış sitometrisi kullanılarak otomatik olmayan ve kalitatif tanımlama yapılmasına olanak tanır (aşağıdaki "Örnekler" bölümüne bakın).

Hedef kullanıcı: Bu ürün, laboratuvar uzmanlarının kullanımı içindir.

Klinik anlamlılık: CD10-APC, CD10 antijenini eksprese eden hücreleri akış sitometrisi ile tanımlamak ve karakterize etmek için kullanılan bir CD10 antikorudur.
Bu ürün tek başına, herhangi bir tanı sonucu oluşturamaz ve tanı sonucu oluşturmak üzere tasarlanmamıştır.
Bu ürün, diğer belirteçlerle birlikte kullanıldığında aşağıdaki işlevlerden biri veya daha fazlası için kullanılabilir:

- Hematopoietik neoplazmı olduğundan şüphelenilen, hematolojik olarak anormal hastalarda ayırıcı tanıya yardımcı olmak ve bilinen hematopoietik neoplazmı olan hastaları izlemek.
- Hematopoietik neoplazmı olan hastaların prognozuna yardımcı olmak.

Örnek: Venöz kan (IFU'da tanımlandığı gibi)

Ortak Spesifikasyonlar
Yok

Uygunluk Değerlendirme Prosedürü

Uygunluk Değerlendirmesi bir Kalite Yönetim Sistemini ve Teknik Belge Değerlendirmesini temel alır (Madde 48, Ek IX Bölüm I ve III uyarınca)

Yasal Üretici olan Immunotech SAS için ve onun adına imzalanmıştır

Tarih 12 OCT. 2022

Ad: Claudio Canino
Unvan: Kalite Güvence ve Ruhsatlandırma yöneticisi, PRRC yardımcısı.
Yayınlandığı Yer: Marsilya, Fransa

Onaylı Kuruluş
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Hollanda
Telefon: +31 (0)20 346 07 80
E-posta: info.nl@bsigroup.com

Onaylı Kuruluş numarası: 2797

Immunotech SAS
Bir Beckman Coulter Şirketi
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
Fransa
+(33) 4 91 17 27 27
Üretici SRN: FR-MF-000011121
IVDR Sertifika Numarası: IVDR-738451

Belge Kontrolü

Verilme Tarihi:	23 Mart 2022
Revizyon Düzeyi:	1
Başlangıç Lotu:	200501
DoC Dosya adı:	B92400-TF-810

Ukrainian — Українська

Декларація відповідності

Immunotech SAS цим гарантує та заявляє, що продукт(-и), перелічені нижче, відповідають вимогам Регламенту 2017/746 щодо медичних пристроїв для діагностики *in vitro*.

Ця Декларація відповідності вимогам ЄС видається під виключну відповідальність виробника.

Продукт(-и):
CD10-APC, арт. B92400

Група пристроїв: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI- DI: 150995903B92400SQ

Клас ризику: Клас C, правило 3 (стаття 47 згідно з додатком VIII)

Цільове призначення:
Призначення: Антитіло CD10-APC забезпечує якісну та неавтоматизовану ідентифікацію популяцій клітин, що експресують антиген CD10, присутній у біологічних пробах людини, за допомогою проточної цитометрії (див. розділ «Проби» нижче).

Цільовий користувач: Цей продукт призначений для професійного використання в лабораторії.

Клінічна значимість: CD10-APC — це антитіло до CD10, яке використовується для ідентифікації та характеристики клітин, що експресують антиген CD10, за допомогою проточної цитометрії.
Цей продукт сам по собі не може генерувати будь-який діагностичний висновок і не призначений для цього.
Під час використання разом з іншими маркерами цей продукт можна використовувати в одному або декількох з нижченаведених застосувань:

- як допоміжний засіб під час проведення диференціальної діагностики в пацієнтів з відхиленнями в результатах гематологічних досліджень із підозрою на наявність гематопоетичного новоутворення, а також для моніторингу пацієнтів з відомим гематопоетичним новоутворенням;
- як допоміжний засіб у прогнозуванні перебігу захворювання в пацієнтів з гематопоетичним новоутворенням.

Проба: венозна кров (як описано в Інструкції з використання)

Загальна(-і) специфікація(-ії)
Немає

Процедура підтвердження відповідності

Підтвердження відповідності базується на Системі управління якістю та на Оцінці технічної документації (стаття 48 згідно з Розділами I і III Додатку IX)

Підписано від імені та за дорученням Immunotech SAS, офіційного виробника

Дата 12 ОСТ. 2022

Ім'я: Claudio Canino
Посада: Менеджер із забезпечення якості й регуляторних питань, заступник PRRC.
Місце видачі: Марсель, Франція

Нотифікований орган
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Нідерланди
Номер телефону: +31 (0)20 346 07 80
Адреса електронної пошти:
info.nl@bsigroup.com

Додано номер нотифікованого органу: 2797

Immunotech SAS
Компанія Beckman Coulter
130 avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 — 13276 Marseille Cedex 9
Франція
+(33) 4 91 17 27 27
Серійний номер виробника: FR-MF-000011121
Номер сертифіката IVDR: IVDR-738451

Контроль документів

Дата видачі:	23 березня 2022 р.
Статус зміни:	1
Вихідна серія:	200501
Назва файлу DoC:	B92400-TF-810

Vietnamese — Tiếng Việt

Tuyên bố về tính tuân thủ

Immunotech SAS bảo đảm và tuyên bố rằng (các) sản phẩm được liệt kê dưới đây tuân thủ yêu cầu về Quy định đối với các thiết bị y tế chẩn đoán *In-Vitro* số 2017/746.

Việc đưa ra tuyên bố về tính tuân thủ của Liên minh Châu Âu (EU) là trách nhiệm của riêng nhà sản xuất.

Sản phẩm:
CD10-APC, số tham chiếu B92400

Nhóm thiết bị: EMDN: W010308, IVP3006

BUDI- DI: 150995903B92400SQ

Nhóm nguy cơ: Nhóm C, Quy tắc 3 (Điều 47 trong Phụ lục VIII)

Mục đích sử dụng:
Mục đích sử dụng: Kháng thể CD10-APC cho phép xác định theo phương thức định tính và không tự động các quần thể tế bào biểu hiện kháng nguyên CD10 có trong mẫu sinh học của người bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy (xem phần "Mẫu" bên dưới).

Đối tượng sử dụng: Sản phẩm này chỉ dùng cho mục đích chuyên môn trong phòng xét nghiệm.

Tính thích hợp về lâm sàng: CD10-APC là kháng thể CD10 dùng để xác định và biểu thị đặc điểm của những tế bào biểu hiện kháng nguyên CD10 bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy.
Chỉ riêng sản phẩm này không thể và không nhằm tạo ra bất kỳ kết luận chẩn đoán nào.
Khi kết hợp với các chỉ dấu khác, có thể dùng sản phẩm này trong một hoặc nhiều chức năng sau:

- Hỗ trợ chẩn đoán phân biệt những bệnh nhân bị bất thường về huyết học nghi ngờ mắc ung thư máu và theo dõi những bệnh nhân đã được xác định là mắc ung thư máu.
- Hỗ trợ tiên lượng bệnh nhân ung thư máu.

Mẫu: Máu từ tĩnh mạch (theo mô tả trong IFU)

Thông số cơ bản
Không có

Quy trình đánh giá tuân thủ

Quy trình đánh giá tuân thủ dựa trên Hệ thống quản lý chất lượng và Đánh giá tài liệu kỹ thuật (Điều 48 trong Phụ lục IX của Chương I và III)

Ký và đại diện cho Immunotech SAS, Nhà sản xuất hợp pháp

Ngày 12 OCT. 2022

Tên: Claudio Canino
Chức danh: Quản lý Đảm bảo chất lượng và Tuân thủ quy đinh, Chuyên viên phụ trách Tuân thủ quy định (PRRC).
Nơi phát hành: Marseille, Pháp

Tổ chức chứng nhận
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Netherlands
Số điện thoại: +31 (0)20 346 07 80
Email: info.nl@bsigroup.com

Mã của Tổ chức chứng nhận: 2797

Immunotech SAS
Công ty trực thuộc Beckman Coulter
130 avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille Cedex 9
Pháp
+(33) 4 91 17 27 27
SRN của nhà sản xuất: FR-MF-000011121
Mã chứng nhận IVDR: IVDR-738451

Quản lý tài liệu

Ngày phát hành:	23/03/2022
Mức độ sửa đổi:	1
Lô bắt đầu:	200501
Tên tệp DoC:	B92400-TF-810

DECLARATION OF CONFORMITY

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, assure et déclare par la présente que le(s) produit(s) listé(s) ci-dessous sont conformes aux exigences de la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, ensures and declares that the product(s) listed bellow comply with the requirements of the European Union In Vitro Diagnostic Medical Device Directive 98/79/CE.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, versichent und erklärt hiermit, daß die im Folgenden aufgeführten Produkte den Auflagen der IVD-Richtlinie für In-Vitro-Diagnostika der Europäischen Union (98/79/EC) entsprechen.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, dichiara ed assicura che i prodotti qui elencati sono conformi ai requisiti della direttiva comunitaria 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro.

Immunotech S.A.S., a Beckman Coulter Company, asegura y declara que los productos listados a continuación cumplen con los requicitos establecidos en la directiva 98/79/CE de la Comunidad Europea para dispositivos médicos de diagnóstico in vitro.

Produit(s) / Product(s) / Produkt(e) / Prodotto(i) / Producto(s) :

Anti-NG2-PE (B92429)

Marie-Hélène PUXEDDU
Senior Engineer
Quality Assurance
And Regulatory Affairs

P/O:

Rémi Dumas
Manager
Quality Assurance & Regulatory Affairs

Date : 13 MARS 2017

Conformity Assessment Procedure
Annex III

Document Control

Issue Date :	December 13th , 2016
Revision Lev :	02
Revision Date :	March 13, 2017
Starting Lot # :	01
File Name	B92429 dec CE rev 02

IMMUNOTECH S.A.S.
130 Avenue de Lattre de Tassigny - BP177
13276 Marseille cedex 9, France

BECKMAN COULTER

English — English

Declaration of Conformity

Immunotech SAS hereby ensures and declares that the product(s) listed below comply with the requirement of the *In-Vitro* Diagnostic Medical Devices Regulation 2017/746.

This EU Declaration of Conformity is issued under the sole responsibility of the manufacturer.

Product(s):
CD10-PE, ref. A07760

EMDN Code: W010308

BUDI- DI: 150995903A07760RC

Risk Class: Class C, Rule 3 h) (Article 47 in accordance with Annex VIII)

Intended Purpose:
Intended use: The CD10-PE antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the CD10 antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

Intended user: This product is intended for laboratory professional use.

Clinical relevance: The CD10-PE is an CD10 antibody used to identify and characterize cells expressing the CD10 antigen by flow cytometry.
This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.
When used in combination with other markers this product can be used in one or more of the following functions:

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

Sample : Venous blood (as described in IFU)

Common Specification(s)
None

Conformity Assessment Procedure

Conformity Assessment is based on a Quality Management System and on Assessment of Technical Documentation (Article 48 in accordance with Annex IX)

Signed for and on behalf of Immunotech SAS, the Legal Manufacturer

Date 10 FEB 2022

Legal manufacturer BU RA delegate
Name: Sophie ROQUES-VIOLIN
Title: PRRC : Person Responsible for Regulatory Compliance
Senior Manager Quality Assurance & Regulatory Affairs
Place of Issue: Marseille, France

Notified Body
BSI Group The Netherlands B.V.
Say Building, John M. Keynesplein 9,
1066 EP
Amsterdam, Netherlands
Phone : +31 (0)20 346 07 80
Email : info.nl@bsigroup.com

Notified Body number : 2797

Immunotech SAS
A Beckman Coulter Company
130 Avenue de Lattre de Tassigny
B.P. 177 - 13276 Marseille, Cedex 9
France
+(33) 4 91 17 27 27
Manufacturer SRN: FR-MF-000011121
IVDR Certificate Number: IVDR-738451

Document Control

Issue Date:	10 Fev 2022
Revision Level:	2
Starting Lot :	200501
DoC Filename:	A07760-TF-810

EuroFlow panel marker list:

Reference antibodies and alternative antibodies for hematological malignancies panels

Version 1.14 (February 2024)

This version is updated with: (Updates in blue boxes)

- correction of typing errors
- removal and substitution of discontinued references

Disclaimer on EuroFlow reference reagents and equivalent reagents

EuroFlow reference reagents, obtained from multiple different companies, have been tested for usage at specific concentrations in the EuroFlow antibody combinations as reported in the EuroFlow documents. The recommended reagents aim to have comparable results in the (inter-laboratory) standardized EuroFlow staining procedures. However, EuroFlow cannot be responsible for any change in the manufacturing of the reagents, such as concentration, purity, dye/protein ratio, or any other factor that may affect the performance of these products both as single reagents and in the combinations in which they are included.

The so-called “equivalent reagents” have been tested as single reagents in comparison with the EuroFlow reference reagents. Performance of equivalent reagents in each of the individual EuroFlow 8-color combinations or modifications in the performance characteristics of equivalent reagents (e.g. in different lots) is out of the EuroFlow control.

Marker	Reference/ Alternative	Fluorochrome	Clone	Source	Catalogue number	Application in EuroFlow Panel
CD1a	Reference	APC	HI149	BD Biosciences	559775	T-ALL
CD2	Reference	FITC	RPA-2.10	BD Biosciences	555326	T-ALL
CD2	Reference	PacB	TS1/8	BioLegend	309216	NK-CLPD
CD2	*Alternative*	*HV450*	*S5.2*	*BD Biosciences*	*644485*	*See Footnote**
CD2	Reference	PE Cy7	L303.1	BD Biosciences	335821	T-CLPD
cyCD3	Reference	PacB	UCHT1	BD Biosciences	558117	ALOT, T-ALL
cyCD3	*Alternative*	*HV450*	*UCHT1*	*BD Biosciences*	*560365*	*See Footnote**
cyCD3	*Alternative*	*PacB*	*UCHT1*	*Dako*	*PB98201-8*	*See Footnote**
cyCD3	*Alternative*	*PacB*	*UCHT1*	*Beckman Coulter*	*B49204*	*See Footnote**
smCD3	Reference	APC	SK7	BD Biosciences	345767	LST, SST, B-CLPD
smCD3	*Alternative*	*APC*	*UCHT1*	*Beckman Coulter*	*IM2467*	*See Footnote**
smCD3	Reference	APC H7	SK7	BD Biosciences	641415	ALOT, T-ALL
smCD3	Reference	PerCP Cy5.5	SK7	BD Biosciences	332771	T-CLPD, NK-CLPD
CD4	Reference	APC H7	SK3	BD Biosciences	641398	AML
CD4	Reference	PacB	RPA-T4	BioLegend	300521	LST, B-CLPD, T-CLPD
CD4	*Alternative*	*HV450*	*RPA-T4*	*BD Biosciences*	*560345*	*See Footnote**
CD4	*Alternative*	*HV450*	*SK3*	*BD Biosciences*	*651849*	*See Footnote**
CD4	*Alternative*	*PacB*	*13B8.2*	*Beckman Coulter*	*B49197*	*See Footnote**
CD4	Reference	PerCP Cy5.5	SK3	BD Biosciences	332772	T-ALL
CD4	Reference	PerCP Cy5.5	SK3	Cytognos	CYT-SLPC4-50 part of SST mixture	SST
CD5	Reference	APC	L17F12	BD Biosciences	345783	NK-CLPD
CD5	Reference	FITC	L17F12	BD Biosciences	345781	T-CLPD
CD5	Reference	PerCP Cy5.5	L17F12	BD Biosciences	341109	LST, T-ALL, B-CLPD
CD7	Reference	APC	124-1D1	eBioscience	17-0079-42	ALOT, T-ALL, AML
CD7	*Alternative*	*APC*	*M-T701*	*BD Biosciences*	*653311*	*See Footnote**
CD7	*Alternative*	*APC*	*8H8.1*	*Beckman Coulter*	*A97050*	*See Footnote**
CD7	Reference	FITC	4H9	BD Biosciences	347483	T-CLPD, NK-CLPD
CD8	Reference	APC H7	SK1	BD Biosciences	641400	T-CLPD
CD8	Reference	FITC	UCH-T4	Cytognos	CYT-SLPC-50 part of LST mixture	LST, B-CLPD
CD8	Reference	FITC	UCH-T4	Cytognos	CYT-SLPC4-50 part of SST mixture	SST
CD8	*Alternative*	*FITC*	*SK1*	*BD Biosciences*	*345772*	*See Footnote**
CD8	*Alternative*	*FITC*	*DK25*	*Dako*	*F0765*	*See Footnote**
CD8	Reference	PE Cy7	SFCI21Thy2D3	Beckman Coulter	737661	T-ALL
CD9	Reference	APC H7	M-L13	BD Biosciences	655409	AML
CD9	Reference	PacB	MEM-61	Exbio	PB-208-T100	BCP-ALL
CD9	*Alternative*	*HV450*	*M-L13*	*BD Biosciences*	*658167*	*See Footnote**
CD10	Reference	APC	HI10A	BD Biosciences	332777	BCP-ALL, BCP-ALL MRD
CD10	Reference	APC H7	HI10A	BD Biosciences	EU: 655404 US: 655426	AML
CD10	Reference	PE	ALB1	Beckman Coulter	A07760	B-CLPD
CD10	*Alternative*	*PE*	*MEM-78*	*BD Biosciences*	*658366*	*See Footnote**

Marker	Reference/ Alternative	Fluorochrome	Clone	Source	Catalogue number	Application in EuroFlow Panel
CD10	Reference	PE Cy7	HI10A	BD Biosciences	341112	T-ALL
CD11b	Reference	APC	D12	BD Biosciences	333143	AML
CD11c	Reference	APC	S-HCL-3	BD Biosciences	333144	T-CLPD, NK-CLPD
CD11c	Reference	PerCP Cy5.5	B-Ly6	BD Biosciences	658330	B-CLPD
CD13	Reference	PE	L138	BD Biosciences	347406	BCP-ALL, T-ALL, AML
CD13	*Alternative*	*PE*	*366*	*Beckman Coulter*	*6602989*	*See Footnote**
CD13	*Alternative*	*PE*	*SJ1D1*	*Beckman Coulter*	*A07762*	*See Footnote**
CD13	*Alternative*	*PE*	*WM53*	*BioLegend*	*982802*	*See Footnote**
CD14	Reference	APC	MΦP9	BD Biosciences	345787	SST
CD14	Reference	APC H7	MΦP9	BD Biosciences	641394	AML
CD15	Reference	FITC	MMA	BD Biosciences	332778	BCP-ALL, AML
CD16	Reference	FITC	CLB-Fc-gran/1	BD Biosciences	656146	AML
CD16	Reference	PacB	3G8	BioLegend	302032	NK-CLPD
CD16	*Alternative*	*HV450*	*3G8*	*BD Biosciences*	*644489*	*See Footnote**
CD16	Reference	PE Cy7	3G8	BD Biosciences	557744	T-CLPD
CD19	Reference	APC H7	SJ25C1	BD Biosciences	641395	AML, NK-CLPD
CD19	Reference	PE Cy7	J3-119	Beckman Coulter	IM3628	ALOT, LST, SST, BCP-ALL, PCD, B-CLPD, MM-MRD, BCP-ALL MRD
CD20	Reference	PacB	2H7	BioLegend	302320	LST, SST, BCP-ALL, B-CLPD, BCP-ALL MRD
CD20	*Alternative*	*HV450*	*L27*	*BD Biosciences*	*655872*	*See Footnote**
CD20	*Alternative*	*PacB*	*B9E9*	*Beckman Coulter*	*B49208*	*See Footnote**
CD21	Reference	PacB	LT21	Exbio	PB-306-T100	BCP-ALL
CD21	*Alternative*	*HV450*	*B-Ly4*	*BD Biosciences*	*658169*	*See Footnote**
CD22	Reference	APC	S-HCL-1	BD Biosciences	333145	BCP-ALL, AML
CD22	Reference	PerCP Cy5.5	S-HCL-1	BD Biosciences	658329	B-CLPD
CD23	Reference	FITC	MHM6	Dako	F706201-02	B-CLPD
CD23	*Alternative*	*FITC*	*EBVCS-5*	*BD Biosciences*	*656148*	*See Footnote**
CD23	*Alternative*	*FITC*	*9P25*	*Beckman Coulter*	*IM0529*	*See Footnote**
CD24	Reference	APC H7	ML5	BD Biosciences	658331	BCP-ALL
CD25	Reference	PE	2A3	BD Biosciences	341011	AML, T-CLPD, NK-CLPD
CD26	Reference	PE	L272	BD Biosciences	340423	T-CLPD, NK-CLPD
CD27	Reference	APC	L128	BD Biosciences	337169	B-CLPD
CD27	*Alternative*	*APC*	*1A4CD27*	*Beckman Coulter*	*B09983*	*See Footnote**
CD27	Reference	FITC	L128	BD Biosciences	340424	T-CLPD
CD27	Reference	PerCP Cy5.5	L128	BD Biosciences	EU: 656643 US: 655429	PCD
CD27	Reference	BV510	O323	BioLegend	302835	MM-MRD
CD28	Reference	APC	CD28.2	BD Biosciences	559770	T-CLPD
CD28	Reference	PE	L293	BD Biosciences	348047	PCD
CD30	Reference	PE	BerH8	BD Biosciences	550041	T-CLPD
CD31	Reference	FITC	WM59	BD Biosciences	555445	B-CLPD
CD31	*Alternative*	*FITC*	*5.6E*	*Beckman Coulter*	*IM1431U*	*See Footnote**
CD33	Reference	APC	P67.6	BD Biosciences	345800	AML
CD33	Reference	PE	P67.6	BD Biosciences	345799	BCP-ALL

Marker	Reference/ Alternative	Fluorochrome	Clone	Source	Catalogue number	Application in EuroFlow Panel
CD33	Reference	PerCP Cy5.5	P67.6	BD Biosciences	333146	T-ALL
CD34	Reference	PerCP Cy5.5	8G12	BD Biosciences	347222	ALOT, BCP-ALL, AML, BCP-ALL MRD
CD35	Reference	FITC	E11	BD Biosciences	555452	AML
CD36	Reference	FITC	CLB-IVC7	BD Biosciences	656151	AML
CD38	Reference	APC A750	LS198-4-3	Beckman Coulter	B49200	BCP-ALL MRD
CD38	Reference	APC H7	HB7	BD Biosciences	EU: 656646 US: 653314	LST, SST, BCP-ALL, AML, B-CLPD
CD38**	Reference	FITC	HB7	BD Biosciences	340909	PCD
CD38	Reference	FITC	Multi-epitope	Cytognos	CYT-38F2	MM-MRD
CD39	Reference	PE	TÜ66	BD Biosciences	555464	B-CLPD
CD39	*Alternative*	*PE*	*BA54*	*Beckman Coulter*	*B55384*	*See Footnote**
CD41a	Reference	FITC	HIP8	BD Biosciences	EU: 333147 US: 340929	AML
CD41	*Alternative*	*FITC*	*HIP8*	*BD Biosciences*	*333147*	*See Footnote**
CD42a	Reference	FITC	GRP-P	Serotec	MCA1227F	AML
CD42a	*Alternative*	*FITC*	*Beb1*	*BD Biosciences*	*348083*	*See Footnote**
CD42b	Reference	APC	HIP1	BD Biosciences	551061	AML
CD43	Reference	APC H7	IG10	BD Biosciences	EU: 655407 US: 655430	B-CLPD
CD44	Reference	FITC	L178	BD Biosciences	347943	T-ALL
CD45	Reference	PacB	T29/33	Dako	PB98601-8	PCD
CD45	*Alternative*	*HV450*	*2D1*	*BD Biosciences*	*642275*	*See Footnote**
CD45	Reference	PacO	HI30	Invitrogen	MHCD4530	ALOT, LST, SST, BCP-ALL, T-ALL, AML, B-CLPD, T-CLPD, NK-CLPD, BCP-ALL MRD
CD45	*Alternative*	*OC515*	*HI30*	*Immunostep*	*45OC2-100T*	*See Footnote**
CD45	*Alternative*	*PacO*	*HI30*	*Exbio*	*PO-684-T100*	*See Foornote**
CD45	*Alternative*	*PacO*	*2D1*	*Exbio*	*PO-160-T100*	*See Foornote**
CD45	*Alternative*	*PacO*	*2D1*	*Exbio*	*ED7094*	*See Foornote**
CD45	*Alternative*	*KrO*	*J.33*	*Beckman Coulter*	*B36294*	*See Foornote**
CD45	*Alternative*	*V500-C*	*2D1*	*BD Biosciences*	*653806 (Custom)*	*See Footnote* and #*
CD45	Reference	PerCP Cy5.5	HI30	BioLegend	304028	MM-MRD
CD45RA	Reference	APC	HI100	BD Biosciences	550855	T-CLPD
CD45RA	Reference	PE Cy7	L48	BD Biosciences	337186	T-ALL
CD45RO	Reference	PE Cy7	UCHL1	BD Biosciences	337168	T-CLPD
CD49d	Reference	APC H7	9F10	BD Biosciences	658332	B-CLPD
CD56	Reference	PE	C5.9	Cytognos	CYT-56PE	PCD, AML, MM-MRD
CD56	Reference	PE	C5.9	Cytognos	CYT-SLPC-50 part of LST mixture	LST, B-CLPD
CD56	Reference	PE	C5.9	Cytognos	CYT-SLPC4-50 part of SST mixture	SST
CD56	*Alternative*	*PE*	*My31*	*BD Biosciences*	*345810*	*See Footnote**
CD56	Reference	PE Cy7	N901	Beckman Coulter	A21692	T-ALL, NK-CLPD
CD57	Reference	FITC	HNK-1	BD Biosciences	333169	T-CLPD, NK-CLPD
CD58	Reference	FITC	1C3	BD Biosciences	555920	BCP-ALL

Marker	Reference/ Alternative	Fluorochrome	Clone	Source	Catalogue number	Application in EuroFlow Panel
CD61	Reference	FITC	RUU-PL7F12	BD Biosciences	347407	AML
CD62L	Reference	FITC	SK11	BD Biosciences	347443	B-CLPD
CD62L	*Alternative*	*FITC*	*DREG56*	*Beckman Coulter*	*IM1231U*	*See Footnote**
CD64	Reference	PE	10.1	BD Biosciences	644385	AML
CD64	*Alternative*	*PE*	*10.1*	*Serotec*	*MCA756PE*	*See Footnote**
CD64	*Alternative*	*PE*	*10.1*	*BioLegend*	*982802*	*See Footnote**
CD64	*Alternative*	*PE*	*10.1*	*Immunostep*	*64PE-100T*	*See Footnote**
CD65	Reference	FITC	88H7	Beckman Coulter	B36299	BCP-ALL
CD66c	Reference	PE	KOR-SA3544	Beckman Coulter	IM2357U	BCP-ALL, BCP-ALL MRD
CD71	Reference	APC H7	M-A712	BD Biosciences	EU: 655408 US: 655431	AML
CD73	Reference	PE	AD-2	BD Biosciences	550257	BCP-ALL MRD
cyCD79a	Reference	PE	HM57	Dako	R715901-2	ALOT
cyCD79a	*Alternative*	*PE*	*HM47*	*Beckman Coulter*	*IM2221*	*See Footnote**
CD79b	Reference	PerCP Cy5.5	SN8	BD Biosciences	656644	B-CLPD
CD81	Reference	APC H7	JS-81	BD Biosciences	EU: 656647 US: 656154	BCP-ALL, PCD, B-CLPD
CD81	Reference	APC C750	M38	Cytognos	CYT-81AC750	MM-MRD
CD81	Reference	FITC	JS-81	BD Biosciences	551108	BCP-ALL MRD
CD94	Reference	APC	HP-3D9	BD Biosciences	559876	T-CLPD, NK-CLPD
CD95	Reference	PE	DX2	BD Biosciences	555674	B-CLPD
CD99	Reference	PE	Tü12	BD Biosciences	555689	T-ALL
CD103	Reference	FITC	Ber-ACT8	BD Biosciences	333155	B-CLPD
CD105	Reference	PE	266	BD Biosciences	560839	AML
CD117	Reference	APC	104D2	BD Biosciences	333233	PCD, BCP-ALL, MM-MRD
CD117	*Alternative*	*APC*	*104D2*	*Dako*	*C724401-2*	*See Footnote**
CD117	Reference	PE	104D2	BD Biosciences	332785	T-ALL
CD117	Reference	PE Cy7	104D2D1	Beckman Coulter	EU: B49221 IM3698	AML
CD123	Reference	APC	AC145	Miltenyi Biotec	130-113-322	AML, BCP-ALL, T-ALL
CD123	*Alternative*	*APC*	*6H6*	*BioLegend*	*306012*	*See Footnote**
CD123	*Alternative*	*APC*	*9F5*	*BD Biosciences*	*658171*	*See Footnote**
CD123	Reference	PE	AC145	Miltenyi Biotec	130-108-356	BCP-ALL MRD
CD138	Reference	PacO	MI15	Exbio	PO-814-T100	PCD
CD138	*Alternative*	*HV500-C*	*MI15*	*BD Biosciences*	*650659*	*See Footnote**
CD138	Reference	BV421	MI15	BD Biosciences	562935	MM-MRD
CD185	Reference	APC	51505	R&D Systems	FAB190A	B-CLPD
CD185	*Alternative*	*APC*	*J252D4*	*Immunostep*	*P185A-100T*	*See Footnote**
CD185	*Alternative*	*APC*	*REA103*	*Miltenyi Biotec*	*130-122-926*	*See Footnote**
CD197	Reference	PE	2L1A	BD Biosciences	566741	T-CLPD
CD197	*Alternative*	*PE*	*3D12*	*eBioscience*	*12-1979*	*See Footnote**
CD200	Reference	APC	OX104	eBioscience	17-9200-42	B-CLPD
CD200	*Alternative*	*APC*	*OX104*	*BD Biosciences*	*655406*	*See Footnote**
CD203c	Reference	PE	97A6	Beckman Coulter	B92404	AML
CD279	Reference	PE	MIH4	BD Biosciences	557946	T-CLPD
CD300e	Reference	APC	UP-H2	Immunostep	IREM2A-T100	AML

Marker	Reference/ Alternative	Fluorochrome	Clone	Source	Catalogue number	Application in EuroFlow Panel
CD300e	*Alternative*	*APC*	*UP-H2*	*BD Biosciences*	*656158*	*See Footnote**
CD304	Reference	PE	12C2	BioLegend	354504	BCP-ALL MRD
CD305 (LAIR1)	Reference	PE	DX26	BD Biosciences	550811	B-CLPD
β2micro**	Reference	PerCP Cy5.5	Tü99	BD Biosciences	EU: 656645 US: 655435	PCD
CyGranzymeB	Reference	PE	QA16A02	BioLegend	372208	T-CLPD, NK-CLPD
cyGranzymeB	*Alternative*	*PE*	*GB11*	*BD Biosciences*	*561142*	*T-CLPD, NK-CLPD*
HLADR	Reference	PacB	L243	BioLegend	307624	AML, NK-CLPD
HLADR	*Alternative*	*HV450*	*L243*	*BD Biosciences*	*655874*	*See Footnote**
HLADR	Reference	PE Cy7	L243	BD Biosciences	335830	T-CLPD
HLADR	Reference	PerCP Cy5.5	L243	BD Biosciences	339216	T-ALL, B-CLPD
cyIgK	Reference	APC	Polyclonal (rabbit serum)	Dako	C022201-2	PCD, MM-MRD
smIgK	Reference	PacB	A8B5	Exbio	PacB-504-T100	BCP-ALL
smIgK	*Alternative*	*HV450*	*TB28-2*	*BD Biosciences*	*658286*	*See Footnote*
smIgK	Reference	PE	Polyclonal	Cytognos	CYT-SLPC-50 part of LST mixture	LST, B-CLPD
smIgK	Reference	PE	Polyclonal	Cytognos	CYT-SLPC4-50 part of SST mixture	SST
smIgK	*Alternative*	*PE*	*TB28-2*	*BD Biosciences*	*347246*	*See Footnote**
cy/smIgλ	Reference	APC C750	Polyclonal (rabbit serum)	Immunostep	LAC7502-100T	PCD, BCP-ALL, MM-MRD
cy/smIgλ	*Alternative*	*APC Fire750*	*MHL-38*	*BioLegend*	*316625*	*PCD, BCP-ALL, MM-MRD*
cy/smIgλ	*Alternative*	*APC H7*	*1-155-2*	*BD Biosciences*	*656648*	*PCD, BCP-ALL, MM-MRD*
smIgλ	Reference	FITC	Polyclonal	Cytognos	CYT-SLPC-50 part of LST mixture	LST, B-CLPD
smIgλ	Reference	FITC	Polyclonal	Cytognos	CYT-SLPC4-50 part of SST mixture	SST
smIgλ	*Alternative*	*FITC*	*1-155-2*	*BD Biosciences*	*347247*	*See Footnote**
cyIgλ	Reference	FITC	Polyclonal (rabbit serum)	Dako	F005801-2	BCP-ALL
smIgλ	*Alternative*	*FITC*	*Polyclonal*	*BD Biosciences*	*332788*	*See Footnote**
smIgM	Reference	APC	G20-127	BD Biosciences	551062	BCP-ALL, B-CLPD
cyMPO	Reference	FITC	MPO-7	Dako	F071401-2	ALOT
cyMPO	*Alternative*	*FITC*	*CLB-MPO-1*	*Beckman Coulter*	*IM1874*	*See Footnote**
NG2	Reference	PE	7.1	Beckman Coulter	B92429	BCP-ALL, AML
cyPerforin	Reference	FITC	δG9	BD Biosciences	556577	T-CLPD, NK-CLPD
cyTCL1	Reference	APC	eBio1-21	eBioscience	17-6699	T-CLPD
TCRαβ	Reference	PE	IP26A	Beckman Coulter	A39499	T-ALL
cyTCRβ	Reference	APC	8A3 (βF1)	BD Biosciences	CYT-BF1AP	T-ALL
TCRγδ	Reference	FITC	IMMU510	Beckman Coulter	IM1571U	T-ALL
TCRγδ	Reference	PE Cy7	11F2	BD Biosciences	EU: 655410 US: 655434	LST, B-CLPD
TCRγδ	*Alternative*	***PE Cy7***	*IMMU510*	*Beckman Coulter*	*B10247*	*LST, B-CLPD*
nuTdT	Reference	FITC	HT6	Dako	F713950-2	BCP-ALL, T-ALL, AML

*This reagent is only tested as single reagent. Application of this reagent in full 8-color tubes requires further testing of large number of samples.
** The antibody concentration of the conjugated antibodies has changed in such a way that it is not anymore needed to use the antibody in a mixture with the unconjugated antibodies as used previously.
# This specific catalogue reference for CD45-HV500-C has been adjusted to show equivalent performance. Other formats might behave differently.

EuroFlow approved ALOT kits

Name	Description	Source / Catalogue number
BD OneFlow™ ALOT	CD3 (UCHT1)-BD Horizon™ V450 / CD45 (2D1)-BD Horizon™ V500-C/ CyMPO (MPO-7)-FITC / CyCD79a (HM57)-PE / CD34 (8G12)-PerCPCy™5.5 / CD19 (SJ25C1)-PE Cy™7 / CD7 (M-T701)-APC / CD3 (SK7)-APC H7	BD Biosciences / 660228

EuroFlow approved LST kits

Name	Description	Source / Catalogue number
BD OneFlow™ LST	CD20 (L27)-BD Horizon™V450 / CD4(SK3)-BD Horizon™ V450 / CD45 (2D1)-BD Horizon™ V500-C SmIgLambda light chain (1-155-2)-FITC / CD8 (SK1)-FITC / SmIgKappa light chain (TB28-2)-PE / CD56 (MY31)-PE / CD5(L17F12)-PerCP Cy™5.5 / TCRγδ(11F2)-PE Cy™7 / CD19-PE Cy™7 / CD3 (SK7)-APC / CD38 (HB7)-APC H7	BD Biosciences / 658619

EuroFlow approved PCST/PCD kits

Name	Description	Source / Catalogue number
BD OneFlow™ PCST	CD45 (2D1)-Horizon™V450 / CD138 (MI15)-Horizon™V500-C CD38 (HB7)-FITC / CD56 (MY31)-PE / β2-microglobulin (TÜ99)-PerCP Cy™5.5 / CD19 (SJ25C1)-PE Cy™7 CyIgKappa light chain (TB28-2)-APC / CyIgLambda light chain (1-555-2)-APC H7	BD Biosciences / 659912
BD OneFlow™ PCD	CD45 (2D1)-Horizon™V450 / CD138 (MI15)-Horizon™ V500-C CD38 (HB7)-FITC / CD28 (L293)-PE / CD27 (L128)-PerCP Cy™5.5 / CD19 (SJ25C1)-PE Cy™7 CD81 (JS-81)-APC H7 / CD117 (104D2)-APC	BD Biosciences / 659913

EuroFlow approved B-CLPD kit

Name	Description	Source / Catalogue number
BD OneFlow™ B-CLPD T1	CD20 (L27)-BD Horizon™ V450 / CD45 (2D1)-BD Horizon™ V500-C CD23 (EBVCS-5)-FITC / CD10 (MEM-78)-PE / CD79b (3A2-2E7)-PerCP Cy™5.5 / CD19 (SJ25C1)-PE Cy™7 CD200 (MRC OX-104)-APC / CD43 (1G10)-APC H7	BD Biosciences / 659293

EuroFlow approved Multiple Myeloma MRD kit

Name	Description	Source / Catalogue number
Next Generation Flow™ MM MRD	Tube 1: CD138 (MI15)-BV421™ / CD27 (O323)-BV510™ CD38 (multi-epitope)-FITC / CD56 (C5.9)-PE / CD45 (EO1)-PerCP Cyanine5.5 / CD19 (SA287)-PE Cyanine7 / CD117 (104D2)-APC / CD81 (M38)-APC C750 ™ Tube 2: CD138 (MI15)-BV421™ / CD27 (O323)-BV510™ CD38 (multi-epitope)-FITC / CD56 (C5.9)-PE / CD45 (EO1)-PerCP Cyanine5.5 / CD19 (SA287)-PECyanine7 / CyIgKappa (polyclonal)-APC/ CyIgLambda (polyclonal)-APC C750™	BD Biosciences / CYT-MM-MRD8[a]

[a]Please contact Cytognos SL, for further information on the appropriate catalogue number in your case

EuroFlow approved BCP-ALL MRD kit

Name	Description	Source / Catalogue number
Next Generation Flow™ BCP-ALL MRD[a]	Tube 1: CD20 (2H7)-Pacific Blue™ / CD45 (GA90)-OC515™ CD81 (M38)-FITC / CD66c+CD123 (12+6G6)-PE / CD34 (581)-PerCP Cyanine5.5 / CD19 (SA287)- PE Cyanine7 / CD10 (HI10a)-APC / CD38 (LD38)-APC C750™ Tube 1: CD20 (2H7)-Pacific Blue™ / CD45 (GA90)-OC515™ CD81 (M38)-FITC / CD73+CD304 (AD-2+12C2)-PE / CD34 (581)-PerCP Cyanine5.5 / CD19 (SA287)-PE Cyanine7 / CD10 (HI10a)-APC / CD38 (LD38)-APC C750™	BD Biosciences / CYT-BCP-ALL-MRD or CYT-BCP-ALL-MRD-R[a]

[a]Please contact Cytognos SL, for further information on the appropriate catalogue number in your case

Lichid teacă IsoFlow

REF 8546859 – 1 x 10 l

PN C77143-AA

CE BECKMAN COULTER

Utilizare pentru diagnosticare *in vitro*

DOMENIUL DE UTILIZARE
O soluţie electrolitică echilibrată fără azidă, nefluorescentă, pentru utilizare cu citometrele în flux COULTER cu difuzare a luminii şi aplicaţii fluorescente.

UTILIZATOR PREVĂZUT
Acest produs este destinat utilizării profesionale în laborator.

REZUMAT
În citometrele în flux, celulele sunt ghidate sub forma unui şir unic printr-un fascicul laser, folosind un proces denumit focalizare hidrodinamică. Acesta se realizează când celulele sunt injectate într-un flux de diluant teacă sub presiune, direcţionat printr-o celulă de curgere pentru analiză. Lichidul de teacă IsoFlow este produs pentru fundalul cu particule și fluorescență reduse în scopul asigurării unor măsurători superioare ale raportului semnal/zgomot pe parcursul procesului de analiză definit de utilizator (neautomat).

PRINCIPIU
Diluantul are următoarea compoziţie chimică:
- Clorură de sodiu, care îi permite diluantului să se transforme într-un electrolit capabil să transporte curentul electric într-un analizor electric şi, împreună cu sărurile de fosfat, asigură tamponul pentru echilibrul pH-ului.

INGREDIENTE REACTIVE
Clorură de sodiu	7,93 g/l
EDTA disodic	0,38 g/l
Clorură de potasiu	0,40 g/l
Fosfat monosodic	0,19 g/l
Fosfat disodic	1,95 g/l
Fluorură de sodiu	0,30 g/l

Notă: Conține un ingredient conservant nereactiv.

PROCEDURĂ
Monitorizaţi periodic performanţa sistemului, conform specificaţiilor din procedurile pas cu pas prezentate în instrucţiunile de utilizare ale instrumentului.

DEPOZITARE, STABILITATE ŞI ELIMINARE
Utilizaţi produsul la temperaturile indicate în manualele instrumentelor. Nu utilizaţi produsul după data de expirare sau dacă produsul a fost contaminat. ELIMINAŢI PRODUSUL DACĂ A ÎNGHEŢAT. Eliminaţi deşeurile, produsele neutilizate şi ambalajele contaminate în conformitate cu reglementările federale, naţionale şi locale.

AVERTISMENTE

SDS Fişa tehnică de securitate este disponibilă la ***beckman.com/techdocs***.

A nu se inhala şi/sau ingera. A se evita contactul cu ochii şi pielea. În caz de contact cu ochii sau pielea, spălaţi zona afectată cu apă din abundenţă timp de cel puţin 15 minute.

A NU SE REUTILIZA RECIPIENTUL.

PREGĂTIRE
Nu este necesară niciun fel de preparare. Amorsaţi instrumentul după adăugarea reactivului, înainte de utilizare.

DISPONIBILITATEA PRODUSULUI
Lichid teacă IsoFlow
REF 8546859 – 1 x 10 l

Pentru informații suplimentare sau în cazul în care ați primit un produs degradat, apelați serviciul pentru clienți Beckman Coulter la numărul de telefon 800-742-2345 (SUA sau Canada) ori contactați reprezentantul local Beckman Coulter.

Pentru un pacient / un utilizator / o terță parte din Uniunea Europeană și în țările cu regim de reglementare identic (Regulamentul 2017/746/UE privind dispozitivele medicale de diagnosticare in vitro); dacă, în timpul utilizării acestui dispozitiv sau ca rezultat al utilizării acestuia, a avut loc un incident grav, raportați-l producătorului și/sau reprezentantului său autorizat și autorității dvs. naționale.

Glossary of Symbols (Glosarul de simboluri) este disponibil la adresa beckman.com/techdocs (PN C05838).

Beckman Coulter, Inc.
250 S. Kraemer Blvd.
Brea, CA 92821 U.S.A.
www.beckman.com

EC REP
Beckman Coulter Ireland Inc.
Lismeehan
O'Callaghan's Mills
Co. Clare, Ireland 353 (0)65 683 1100
www.beckman.com

© 2021 Beckman Coulter, Inc.
Toate drepturile rezervate.

Istoricul revizuirilor

Revizia AA, 04/2021

- Ediție inițială

BECKMAN COULTER
MADE IN France

CE 2797

IOTest
Conjugated Antibody
CD5-PC5

REF A07754 100 tests; 1 mL, 10 µL / test

TABLE OF CONTENTS

English . . . 2
Français (France) (fr-fr) . . . 6
Deutsche (de-de) . . . 10
Italiano (it-it) . . . 14
Español (es-es) . . . 18
Português (Portugal) (pt-pt) . . . 22
Dansk (da-dk) . . . 26
Svenska (sv-se) . . . 30
Norsk (nb-no) . . . 34
Suomi (fi-fi) . . . 38
Ελληνικά (el-gr) . . . 42
日本語 (ja-jp) . . . 46
中文（中国）(zh-cn) . . . 50
Lietuvių (lt-lt) . . . 54
Magyar (hu-hu) . . . 58
Polski (pl-pl) . . . 62
Čeština (cs-cz) . . . 66
Slovák (sk-sk) . . . 70
한국어 (ko-kr) . . . 74
Türkçe (tr-tr) . . . 78
Русский (ru-ru) . . . 82
Eestlane (et-ee) . . . 87
Hrvatski (hr-hr) . . . 91
Български (bg-bg) . . . 95
中文（台灣）(zh-tw) . . . 99
Română (ro-ro) . . . 103
Slovenščina (sl-si) . . . 107
Srpski (sr-rs) . . . 111
Latviešu (lv-lv) . . . 115
Українська (uk-ua) . . . 119
Português (Brasil) (pt-br) . . . 123
Nederlands (nl-nl) . . . 127
Tiếng Việt (vi-vn) . . . 131
Қазақша (kk-kz) . . . 135
APPENDIX . . . 139
REFERENCES . . . 140

© 2024 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

	Specifications
Specificity	CD5
Clone	BL1a
Hybridoma	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobulin	IgG2a
Species	Mouse
Purification	Affinity Chromatography
Fluorochrome	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molar ratio	PC5 / Ig: 0.5 - 1.5
λ excitation	488 nm
Emission Peak	670 nm
Buffer	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA and 0.1% NaN_3

IOTest
Conjugated Antibody
CD5-PC5

REF A07754 100 tests; 1 mL, 10 µL / test

For *In Vitro* Diagnostic Use

INTENDED USE

This fluorochrome-conjugated antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the CD5 antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

PRINCIPLE

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

Specific staining of the leucocytes is performed by incubating the sample with the IOTest reagent. The red cells are then removed by lysis and the leucocytes, which are unaffected by this process, are analyzed by flow cytometry.

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

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

INTENDED USER

This product is intended for laboratory professional use.

CLINICAL RELEVANCE

The CD5-PC5 is a CD5 antibody used to identify and characterize cells expressing the CD5 antigen by flow cytometry. This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.

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

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

See following references :

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

SAMPLES

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

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

The samples must be analyzed within 24 hours of venipuncture.

CONCENTRATION

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

WARNING AND PRECAUTIONS

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

6. Antibody solutions containing sodium azide (NaN_3) should be handled with care. Do not take internally and avoid all contact with the skin, mucosa and eyes.

   Moreover, in an acid medium, sodium azide can form the potentially dangerous hydrazoic acid. If it needs to be disposed of, it is recommended that the reagent be diluted in a large volume of water before pouring it into the drainage system so as to avoid the accumulation of sodium azide in metal pipes and to prevent the risk of explosion.
7. All blood samples must be considered as potentially infectious and must be handled with care (in particular: the wearing of protective gloves, gowns and goggles).
8. Never pipet by mouth, and avoid all contact of the samples with the skin, mucosa and eyes.
9. Blood tubes and disposable material used for handling should be disposed of in ad hoc containers intended for incineration.
10. Reagents and waste should be eliminated according to local requirements.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

SDS Safety Data Sheet is available at beckmancoulter.com/techdocs

STORAGE AND STABILITY

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

Closed vial shelf life per stability study: 1095 days.

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

EVIDENCE OF DETERIORATION

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

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

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).
To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

MATERIALS NEEDED BUT NOT SUPPLIED WITH KIT:

- Sampling tubes and material necessary for sampling.
- Automatic pipettes with disposable tips for 10, 100 and 500 µL.
- Plastic haemolysis tubes.
- Red cell lysis reagent with washing stage after lysis. For example: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leucocyte fixation reagent. For example : IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800).
- Isotype control PC5 : IOTest reagent (Ref. A09148).
- Buffer (PBS: 0.01 M sodium phosphate; 0.145 M sodium chloride; pH 7.2).
- Centrifuge.
- Automatic agitator (Vortex type).
- Flow cytometer.

PROCEDURE WITH VERSALYSE REAGENT

For each sample analyzed, in addition to the test tube, one control tube can be added in which the cells are mixed in the presence of the isotype control (Ref. A09148).

1. Add 10 µL of specific IOTest conjugated antibody to each test tube and if necessary, 10 µL of the isotype control to each control tube.
2. Add 100 µL of the test sample to each tube. Vortex the tubes gently.
3. Incubate for 15 to 20 minutes at room temperature (18 – 25°C), protected from light.
4. Then perform lysis of the red cells. Refer to VersaLyse (Ref. A09777) leaflet and follow preferably the procedure called “with concomitant fixation”, which consists of adding 1 mL of the “Fix-and-Lyse” mixture prepared extemporaneously. Vortex immediately for one second and incubate for 10 minutes at room temperature, protected from light.
5. Centrifuge for 5 minutes at 150 x g at room temperature.
6. Remove the supernatant by aspiration.
7. Resuspend the cell pellet using 3 mL of PBS.
8. Repeat step 5.
9. Remove the supernatant by aspiration and resuspend the cell pellet using:

- 0.5 mL or 1 mL of PBS plus 0.1% of formaldehyde if the preparations are to be kept less than 24 hours. (A 0.1% formaldehyde PBS can be obtained by diluting 12.5 µL of the IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800) at its 10X concentration in 1 mL of PBS).
- 0.5 mL or 1 mL of PBS without formaldehyde, if the preparations are to be analyzed within 2 hours.

Note: In all cases, keep the preparations between 2 and 8°C and protected from light.

EXPECTED VALUES

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

Positive Target	Number	Mean (%)	SD	CV (%)
Lymphocytes	25	71.40	9.45	13.23

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

PERFORMANCE

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

SPECIFICITY

The CD5 molecule is expressed at the surface of mature T lymphocytes, by the majority of thymocytes and by a sub-population of B lymphocytes (11,12,13). CD5 is expressed in a subset of IgM secreting B cells due to the lack of the enzyme terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) appearing to mitigate the activation of BSR and therefore reducing auto reactivity (autoimmune-reaction). On the contrary, T cells express higher levels of CD5 than B cells. CD5 is up regulated on T cells upon strong activation. In the thymus, there is a correlation with CD5 expression and strength of the interaction of the T cell towards self-peptides. CD5 expression is not found in granulocytes, monocytes and platelets (13). The monoclonal antibody BL1a was assigned to CD5 during the 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens, held in Oxford, England, in 1986 (Code WS: 520, Section T) (11,12).

PRECISION

The percent positive values were determined using Whole Blood. Each sample was run 4 times, twice a day for 1 day on 2 instruments using 2 lots of CD5-PC5 Monoclonal Antibody Reagents. Measurements (% positive) were made on Navios flow cytometer. Analysis was conducted based on the CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.

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

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

Lymphocytes							
Number of positive events (Mean) = 2823							
	Inter-Operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-run	Intra-run	Total
CV (%)	0.23	0.40	1.00	0.22	0.63	0.73	1.10
RESULTS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURACY

The accuracy of CD5-PC5 was assessed by comparing the results with a reference reagent as the predicate on a set of whole blood samples run on a Navios flow cytometer. The bias between test and reference reagent was determined based on the difference between test results. If the bias is within the allowable error range or the p-value indicates no significant difference (> 0.05), then test results for the two reagents are considered as equivalent.

The results obtained are summarized in the following table below:

Number of donors = 25				
Positive Target	Mean Δ	Δ % Cell criteria	p-value	RESULTS
Lymphocytes	0.90	<5	0.001	PASS

LIMIT OF BLANK AND LIMIT OF DETECTION

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

Positive Target	Limit of Blank (cell/µL)	Limit of Detection (cell/µL)
Lymphocytes	4	6

LIMITATIONS

1. Flow cytometry may produce false results if the cytometer has not been aligned perfectly, if fluorescence leaks have not been correctly compensated for and if the regions have not been carefully positioned.
2. It is preferable to use a RBC lysis technique with a washing step, as this reagent has not been optimized for "no wash" lysis techniques.
3. Accurate and reproducible results will be obtained as long as the procedures used are in accordance with the technical insert leaflet and compatible with good laboratory practices.
4. The conjugated antibody of this reagent is calibrated so as to offer the best specific signal/non-specific signal ratio. Therefore, it is important to adhere to the reagent volume/sample volume ratio in every test.
5. In the case of a hyperleucocytosis, dilute the blood in PBS so as to obtain a value of approximately 5 x 10^9 leucocytes/L (14).
6. In certain disease states, such as severe renal failure or haemoglobinopathies, lysis of red cells may be slow, incomplete or even impossible. In this case, it is recommended to isolate mononucleated cells using a density gradient (Ficoll, for example) prior to staining (15).
7. Due to the tandem structure of the fluorochrome, PC5 also emits light at 575 nm. This secondary emission peak varies from lot-to-lot of PC5. Therefore, for multi-color analysis, the compensation matrix should be carefully checked when changing the lot of a -PC5 conjugate.
8. In patients treated with anti-human monoclonal antibody therapies, detection of the specific targeted antigens may be diminished or absent due to partial or complete blocking by the therapeutic antibody.
9. The CD5-PC5 results should be interpreted in light of the total clinical presentation of the patient, including: symptoms, clinical history, data from additional tests, and other appropriate information.

See the Appendix for examples and references.

TRADEMARKS

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

ADDITIONAL INFORMATION

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

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

REVISION HISTORY

REVISION AC:	Release date : October 2019

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

REVISION	**Release Date**
AX	April 2023
Updated sections	Add Kazakh
Updated sections	Storage and stability

Revised Version	AY
Revised Date	May 2024
Updated Translations	**Clinical relevance :**
Updated sections	Revision History

Revised Version	AZ
Revised Date	July 2024
Updated sections	Revision History

Symbols Key

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

	Spécifications
Spécificité	CD5
Clone	BL1a
Hybridome	SP2/0 x balb/c
Immunogène	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobuline	IgG2a
Espèce	Souris
Purification	Chromatographie d'affinité
Fluorochrome	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Rapport molaire	PC5/Ig : 0,5 - 1,5
Excitation λ	488 nm
Pic d'émission	670 nm
Solution tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA et 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticorps conjugué CD5-PC5

REF A07754 100 tests ; 1 mL, 10 µL / test

Pour une utilisation en Diagnostic *In Vitro*

UTILISATION

Cet anticorps conjugué-fluorochrome permet l'identification qualitative non automatisée des populations de cellules exprimant l'antigène CD5 présent dans les échantillons biologiques humains à l'aide d'une cytométrie en flux (voir la section « Échantillons » ci-dessous).

PRINCIPE

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

Une coloration spécifique des leucocytes est effectuée en incubant l'échantillon avec le réactif IOTest. Les globules rouges sont ensuite supprimés par lyses et les leucocytes, qui ne sont pas affectés par cette procédure, sont analysés par cytométrie en flux.

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

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

UTILISATEUR PRÉVU

Ce produit est destiné à un usage professionnel en laboratoire.

PERTINENCE CLINIQUE

Le CD5-PC5 est un anticorps CD5 utilisé pour identifier et caractériser les cellules exprimant l'antigène CD5 par cytométrie en flux. Ce produit seul ne peut pas et n'est pas destiné à générer une quelconque conclusion diagnostique.

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

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

Voir les références suivantes :

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

ÉCHANTILLONS

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

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

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

CONCENTRATION

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

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Ne pas utiliser le réactif au-delà de la date de péremption.
2. Ne pas congeler.
3. Laisser le réactif passer à la température ambiante (18–25 °C) avant de l'utiliser.
4. Minimiser l'exposition à la lumière.
5. Éviter la contamination microbienne des réactifs, ou des résultats erronés peuvent se produire.
6. Les solutions d'anticorps contenant de l'azide de sodium (NaN_3) doivent être manipulées avec précautions. Ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau, les muqueuses et les yeux.

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

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

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux

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

CONSERVATION ET STABILITÉ

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

Durée de conservation du flacon fermé selon l'étude de stabilité : 1095 jours.

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

PREUVE DE DÉTÉRIORATION

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

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

CONTENU

Les agents de conservation à base d'azide de sodium peuvent former des composés explosifs dans les conduites d'évacuation métalliques. Voir le bulletin NIOSH : Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Dangers d'explosion de l'azide).
Pour éviter l'accumulation potentielle des composés d'azide, rincer les tuyaux d'évacuation à l'eau après l'élimination de réactifs non dilués. L'élimination de l'azide de sodium doit se faire conformément aux réglementations locales en vigueur.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI AVEC CE COFFRET:

- Les tubes d'échantillonnage et le matériel nécessaires pour l'échantillonnage.
- Pipettes automatiques aux embouts jetables pour 10, 100 et 500 µL.
- Tubes d'hémolyse en plastique.
- Réactif de lyse des érythrocytes avec étape de lavage post-lyse. Par exemple : VersaLyse (Réf. A09777).
- Réactif de fixation de leucocyte. Par exemple : Solution fixative IOTest 3 (Réf. A07800).
- Contrôle d'isotype PC5 : Réactif IOTest (Réf. A09148).
- Tampon (PBS : 0,01 M phosphate de sodium ; 0,145 M chlorure de sodium ; pH 7,2).
- Centrifugeuse.
- Agitateur automatique (type vortex).
- Cytomètre en flux.

PROCÉDURE AVEC RÉACTIF VERSALYSE

Pour chaque échantillon analysé, en plus du tube de test, un tube de contrôle peut être ajouté dans lequel les cellules sont mélangées en présence du contrôle isotypique (Réf. A09148).

1. Ajouter 10 µL d'anticorps conjugué spécifique IOTest à chaque tube de test et si nécessaire,10 µL de contrôle isotypique dans chaque tube de contrôle.
2. Ajouter 100 µL de l'échantillon à tester dans chaque tube. Vortexer doucement les tubes.
3. Incuber pendant 15 à 20 minutes à température ambiante (18–25 °C), à l'abri de la lumière.
4. Puis effectuer la lyse des globules rouges. Consulter la notice VersaLyse (Réf. A09777) et suivre de préférence la procédure appelée « with concomitant fixation » (avec fixation concomitante), qui consiste à ajouter 1 mL du mélange « Fixer et Lyser » préparé à n'importe quel moment. Vortexer immédiatement pendant une seconde et incuber pendant 10 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière.
5. Centrifuger pendant 5 minutes à 150 x g à température ambiante.
6. Retirer le surnageant par aspiration.
7. Remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant 3 mL de PBS.
8. Répéter l'étape 5.
9. Éliminer le liquide surnageant par aspiration et remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant :

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS plus 0,1 % de formaldéhyde si les préparations doivent être conservées moins de 24 heures. (Un PBS à 0,1 % de formaldéhyde peut être obtenu en diluant 12,5 µL de solution de fixation IOTest 3 (Réf. A07800) à 10 fois sa concentration dans 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sans formaldéhyde, si les préparations doivent être analysées dans les 2 heures.

Remarque : dans tous les cas, conserver les préparations entre 2 et 8 °C et à l'abri de la lumière.

VALEURS ATTENDUES

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

Cible positive	Nombre	Moyenne (%)	ET (Écart type)	CV (%)
Lymphocytes	25	71,40	9,45	13,23

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

PERFORMANCE

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

SPÉCIFICITÉ

La molécule CD5 est exprimée à la surface de lymphocytes T matures, par la majorité des thymocytes et par une sous-population de lymphocytes B (11,12,13). Le CD5 est exprimé dans un sous-ensemble de cellules B secrétant de l'IgM en raison du déficit en enzyme désoxynucléotidyl transférase terminale (TdT) qui semble atténuer l'activation de BSR et réduisant, par conséquent, l'autoréactivité (réaction auto-immune). À l'inverse, les cellules T expriment des niveaux plus élevés de CD5 que les cellules B. Le CD5 est soumis à une régulation positive sur les cellules T lors d'une forte activation. Dans le thymus, il existe une corrélation entre l'expression du CD5 et le niveau de l'interaction de la cellule T envers les peptides du soi. Aucune expression du CD5 n'est détectée dans les granulocytes, monocytes et plaquettes (13). L'anticorps monoclonal BL1a a été assigné au CD5 au cours de 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3e HLDA Workshop sur les Antigènes de Différenciation des Leucocytes Humains), qui s'est tenu à Oxford, en Angleterre, en 1986 (Code WS : 520, Section T) (11,12).

PRÉCISION

Les valeurs de percentile positives ont été déterminées à l'aide de sang total. Chaque échantillon a été analysé 4 fois, deux fois par jour pendant 1 jour sur 2 instruments à l'aide de 2 lots de réactifs d'anticorps monoclonal CD5-PC5. Les mesures (% positif) ont été effectuées sur le cytomètre en flux Navios. L'analyse a été conduite conformément au document CLSI Méthode EP5-A2 : Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Évaluation de la performance de précision des méthodes de mesures quantitatives).

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

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

Lymphocytes							
Nombre d'événements positifs (Moyenne) = 2823							
	Inter-opérateur	Inter-cytomètre	Intra-lot	Inter-lot	Inter-analyse	Intra-analyse	Total
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
RÉSULTATS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUDE

L'exactitude de CD5-PC5 a été évaluée en comparant les résultats avec un réactif de référence comme prédicat sur un ensemble d'échantillons de sang total analysé sur un cytomètre en flux Navios. L'écart systématique entre le test et le réactif de référence a été déterminé en fonction de la différence entre les résultats du test. Si l'écart systématique se situe dans la plage d'erreurs autorisée ou que la valeur p n'indique aucune différence significative (> 0,05), alors les résultats du test pour les deux réactifs sont considérés comme équivalent.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Nombre de donneurs = 25				
Cible positive	Moyenne Δ	Critères de cellules Δ %	Valeur-p	RÉSULTATS
Lymphocytes	0,90	<5	0,001	PASS

LIMITE DU BLANC ET LIMITE DE DÉTECTION

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

Positive Target	Limite du blanc (cellules/µL)	Limite de détection (cellules/µL)
Lymphocytes	4	6

LIMITES

1. La cytométrie en flux peut produire des résultats erronés si le cytomètre n'a pas été parfaitement aligné, si les fuites de fluorescence n'ont pas été correctement compensées et si les régions n'ont pas été soigneusement positionnées.
2. Il est préférable d'utiliser une technique de lyse des GR comprenant une étape de lavage, comme ce réactif n'a pas été optimisé pour les techniques de lyse « sans lavage ».
3. Des résultats précis et reproductibles seront obtenus tant que les procédures utilisées sont en conformité avec la notice technique et compatibles avec les bonnes pratiques de laboratoire.
4. L'anticorps conjugué de ce réactif est étalonné de manière à offrir le meilleur ratio de signal spécifique/signal non spécifique. Par conséquent, il est important de respecter le ratio de volume de réactif/volume d'échantillon à chaque test.
5. En cas d'hyperleucocytose, diluer le sang dans du PBS de façon à obtenir une valeur d'approximativement 5 x 10^9 leucocytes/L (14).

6. Dans certains états pathologiques, tels qu'une grave insuffisance rénale ou une hémoglobinopathie, la lyse des globules rouges peut être lente, incomplète ou même impossible. Dans ce cas, il est recommandé d'isoler les cellules mononucléées à l'aide d'un gradient de densité (Ficoll, par exemple) avant la coloration (15).
7. En raison de la structure en tandem du fluorochrome, PC5 émet également de la lumière à 575 nm. Ce second pic d'émission varie entre les lots de PC5. Par conséquent, pour une analyse multi-colore, la matrice de compensation doit être soigneusement vérifiée lors du changement du lot d'un conjugué -PC5.
8. Chez les patients traités par thérapie d'anticorps monoclonal anti-humain, la détection d'antigènes ciblés spécifiques peut être diminuée ou absente en raison d'un blocage partiel ou total par l'anticorps thérapeutique.
9. Les résultats de CD5-PC5 doivent être interprétés à la lumière du tableau clinique complet du patient, y compris : les symptômes, l'anamnèse, les résultats de tests supplémentaires et toute autre information appropriée.

Voir l'annexe pour des exemples et des références.

MARQUES

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

INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES

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

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

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

RÉVISION AC :	Date de publication : octobre 2019

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

RÉVISION	**Date de publication**
AX	Avril 2023
Sections mises à jour	Ajouter le kazakh
Sections mises à jour	Conservation et stabilité

Version révisée	AY
Date de révision	Mai 2024
Traductions mises à jour	**Pertinence clinique :**
Sections mises à jour	Historique des révisions

Version révisée	AZ
Date de révision	Juillet 2024
Sections mises à jour	Historique des révisions

Légende des symboles

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

	Spezifikationen
Spezifität	CD5
Klon	BL1a
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunglobulin	IgG2a
Spezies	Maus
Aufreinigung	Affinitätschromatografie
Fluorochrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molverhältnis	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
λ-Anregung	488 nm
Emissionspeak	670 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA und 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugierter Antikörper CD5-PC5

REF A07754 100 Tests ; 1 mL, 10 µL / test

Zur Verwendung als *In vitro*-Diagnostikum

VERWENDUNGSZWECK

Dieser mit einem Fluorochrom konjugierte Antikörper ermöglicht mithilfe der Durchflusszytometrie eine qualitative und nicht automatisierte Identifikation von Zellpopulationen, die das CD5-Antigen exprimieren, das in biologischen Proben menschlicher Herkunft vorhanden ist (siehe den Abschnitt „Proben“ unten).

PRINZIP

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

Die spezifische Färbung der Leukozyten erfolgt durch Inkubation der Probe mit dem IOTest-Reagenz. Die Erythrozyten können dann mittels Lyse entfernt werden. Die von diesem Vorgang unberührten Leukozyten werden mittels Durchflusszytometrie analysiert.

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

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

VORGESEHENER BENUTZER

Dieses Produkt ist für den Einsatz durch Laborfachkräfte vorgesehen.

KLINISCHE RELEVANZ

CD5-PC5 ist ein CD5-Antikörper zur durchflusszytometrischen Identifikation und Charakterisierung von Zellen, die das CD5-Antigen exprimieren. Es ist weder möglich noch vorgesehen, alleine anhand dieses Produkts zu einer diagnostischen Schlussfolgerung zu kommen.

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

- Als Hilfsmittel zur Differenzialdiagnose von hämatologisch anormalen Patienten mit Verdacht auf ein hämatopoetisches Neoplasma und zur Überwachung von Patienten mit bestätigtem hämatopoetischem Neoplasma.
- Als Hilfsmittel bei der Prognose für Patienten mit hämatopoetischem Neoplasma.

Siehe die nachstehenden Literaturhinweise:

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

PROBEN

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

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

Die Proben müssen innerhalb von 24 Stunden analysiert werden.

KONZENTRATION

Siehe das chargenspezifische Analysezertifikat unter www.beckman.com.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Das Reagenz nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden.
2. Nicht einfrieren.
3. Vor der Verwendung auf Raumtemperatur (18–25 °C) bringen.
4. Vor Licht schützen.
5. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien muss vermieden werden, damit kein falsches Ergebnis erzielt wird.
6. Antikörperlösungen, die Natriumazid (NaN_3) enthalten, vorsichtig handhaben. Nicht einnehmen und Berührungen mit Haut, Schleimhäuten und Augen vermeiden.

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

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

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft

SDS Das Sicherheitsdatenblatt ist auf beckmancoulter.com/techdocs verfügbar.

LAGERUNG UND STABILITÄT

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

Haltbarkeit der geschlossenen Durchstechflasche gemäß Stabilitätsstudie: 1095 Tage.

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

VERFALLSANZEICHEN

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

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

INHALT

Natriumazid als Konservierungsmittel kann in metallischen Abflussleitungen explosive Verbindungen bilden. Siehe NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (NIOSH-Bulletin: Gefahr durch explosive Azide).
Um eine mögliche Akkumulation von Azidverbindungen zu vermeiden, die Abwasserrohre nach der Entsorgung von unverdünntem Reagenz mit Wasser spülen. Natriumazid muss entsprechend den örtlichen behördlichen Vorschriften entsorgt werden.

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT IM KIT ENTHALTENE ARTIKEL:

- Probenahmeröhrchen und für die Probenahme benötigte Materialien.
- Automatische Pipetten mit Einwegspritzen für 10, 100 und 500 µL.
- Hämolyseröhrchen aus Kunststoff.
- Reagenz zur Lyse der Erythrozyten mit Waschstufe nach der Lyse. Beispiel: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagenz zur Leukozytenfixierung. Beispiel: IOTest 3-Fixierungslösung (Ref. A07800).
- Isotypkontrolle PC5: IOTest-Reagenz (Ref. A09148).
- Puffer (PBS: 0,01 M Natriumphosphat; 0,145 M Natriumchlorid; pH 7,2).
- Zentrifuge.
- Automatisches Mischgerät (Typ Vortex-Mischer).
- Durchflusszytometer.

VERFAHREN MIT VERSALYSE-REAGENZ

Für jede analysierte Probe kann zusätzlich zum Teströhrchen noch ein Kontrollröhrchen verwendet werden, in dem die Zellen in Gegenwart der Isotypkontrolle (Ref. A09148) gemischt werden.

1. 10 µL des spezifischen konjugierten IOTest-Antikörpers in jedes Teströhrchen und bei Bedarf 10 µL der Isotypkontrolle in jedes Kontrollröhrchen geben.
2. 100 µL der Testprobe in jedes Röhrchen geben. Die Röhrchen sachte mittels Vortex-Mischer mischen.
3. Bei Raumtemperatur (18–25 °C) 15 bis 20 Minuten lang lichtgeschützt inkubieren.
4. Im Anschluss die Erythrozyten lysieren. Das Merkblatt für VersaLyse (Ref. A09777) beachten und vorzugsweise das Verfahren mit dem Titel „with concomitant fixation“ (mit gleichzeitiger Fixierung) befolgen, das eine Zugabe von 1 mL des spontan zubereiteten „Fix-and-Lyse“(Fixierung und Lyse)-Gemisches vorsieht. Sofort eine Sekunde lang auf dem Vortex-Mischer mischen und 10 Minuten lang lichtgeschützt bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Bei 150 x g 5 Minuten lang bei Raumtemperatur zentrifugieren.
6. Den Überstand absaugen.
7. Das Zellpellet in 3 mL PBS resuspendieren.
8. Schritt 5 wiederholen.
9. Den Überstand absaugen und das Zellpellet resuspendieren mit:

- 0,5 mL oder 1 mL PBS plus 0,1 % Formaldehyd, wenn die Präparate weniger als 24 Stunden aufbewahrt werden sollen. (Ein 0,1%iges Formaldehyd-PBS-Gemisch kann hergestellt werden, indem 12,5 µL der IOTest 3-Fixierlösung (Ref. A07800) bei 10-facher Konzentration in 1 mL PBS verdünnt werden.)
- 0,5 mL oder 1 mL PBS ohne Formaldehyd, wenn die Präparate innerhalb von weniger als 2 Stunden analysiert werden sollen.

Hinweis: Die Präparate in jedem Fall zwischen 2 und 8 °C und vor Licht geschützt aufbewahren.

ERWARTETE WERTE

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

Positives Ziel	Nummer	Mittelwert (%)	SD	VK (%)
Lymphozyten	25	71,40	9,45	13,23

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

LEISTUNG

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

SPEZIFITÄT

Das CD5-Molekül wird auf der Oberfläche von reifen T-Lymphozyten, durch die Mehrheit der Thymozyten und durch eine Unterpopulation von B-Lymphozyten exprimiert (11,12,13). CD5 wird aufgrund eines Mangels des terminalen Desoxyribonukleotidyltransferase-Enzyms (TdT–Enzym) in einer Untergruppe von IgM-ausscheidenden B-Zellen exprimiert und scheint die Aktivierung von BSR zu vereinfachen und daher die Autoreaktivität (Autoimmun-Reaktion) zu reduzieren. Im Gegensatz dazu exprimieren T-Zellen höhere Mengen an CD5 als B-Zellen. Bei starker Aktivierung wird CD5 in T-Zellen nach oben reguliert. Im Thymus besteht ein Zusammenhang zwischen der CD5-Expression und der Stärke der Interaktion der T-Zelle mit Selbst-Peptiden. In Granulozyten, Monozyten und Blutplättchen ist keine CD5-Expression festzustellen (13). Der monoklonale Antikörper Blatt wurde 1986 auf dem 3. HILDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (HILDA-Workshop über die Differenzierungsantigene der menschlichen Leukozyten) in Oxford, England (WS Code: 520, Sektion T) dem Molekül CD5 zugeordnet (11,12).

PRÄZISION

Die prozentualen positiven Werte wurden unter Verwendung von Vollblut bestimmt. Jede Probe wurde zweimal täglich 1 Tag lang unter Verwendung von 2 Chargen der Reagenzien mit dem monoklonalen Antikörper CD5-PC5 4 Mal auf 2 Instrumenten analysiert. Messungen (% positiv) wurden mit dem Navios-Durchflusszytometer vorgenommen. Die Analyse folgte den Vorgaben der CLSI-Methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Beurteilung der Präzisionsleistung von quantitativen Messmethoden).

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

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

Lymphozyten							
Anzahl der positiven Ereignisse (Mittelwert) = 2823							
	Zwischen Bedienern	Zwischen Durchflusszytometern	Innerhalb einer Charge	Zwischen Chargen	Zwischen Läufen	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
VK (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
ERGEBNISSE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit von CD5-PC5 wurde anhand eines Vergleichs der Ergebnisse mit einem Referenzreagenz als Prädikat für einen Satz aus Vollblutproben bewertet, die auf einem Navios-Durchflusszytometer analysiert wurden. Die Abweichung zwischen Test- und Referenzreagenz wurde auf der Grundlage der Differenz zwischen Testergebnissen bestimmt. Sollte die Abweichung innerhalb des zulässigen Fehlerbereichs liegen oder der p-Wert keine signifikante Differenz (> 0,05) nahelegen, gelten die Testergebnisse für die beiden Reagenzien als gleichwertig.

Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Anzahl der Spender = 25				
Positives Ziel	Mittelwert Δ	Δ % Zellkriterien	p-Wert	ERGEBNISSE
Lymphozyten	0,90	<5	0,001	PASS

GRENZWERT FÜR LEERWERT UND NACHWEISGRENZE

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

Positive Target	Grenzwert für Leerwert (Zelle/µL)	Nachweisgrenze (Zelle/µL)
Lymphozyten	4	6

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Die Durchflusszytometrie kann falsche Ergebnisse liefern, wenn das Zytometer nicht perfekt ausgerichtet wurde, wenn Fluoreszenzlecks nicht korrekt kompensiert wurden und wenn die Bereiche nicht sorgfältig positioniert wurden.
2. Vorzugsweise sollte eine ERY-Lysetechnik mit einem Waschschritt angewandt werden, da dieses Reagenz nicht für Lysetechniken ohne Waschen optimiert wurde.
3. Genaue und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, sofern die verwendeten Verfahren der technischen Packungsbeilage entsprechen und mit der guten Laborpraxis kompatibel sind.
4. Der konjugierte Antikörper dieses Reagenzes ist so kalibriert, dass er das beste Verhältnis von spezifischem zu unspezifischem Signal bietet. Daher ist es wichtig, das Verhältnis Reagenzvolumen/Probenvolumen bei jedem Test einzuhalten.

5. Im Falle einer Hyperleukozytose das Blut in PBS verdünnen, um einen Wert von ungefähr 5 x 10^9 Leukozyten/L zu erhalten(14).
6. Bei bestimmten Krankheitszuständen, beispielsweise einem schweren Nierenversagen oder Hämoglobinopathien, kann die Lyse der Erythrozyten möglicherweise nur langsam oder unvollständig erfolgen oder sogar unmöglich sein. In diesem Fall empfiehlt es sich, vor dem Färben einkernige Zellen mittels eines Dichtegradienten (beispielsweise Ficoll) zu isolieren (15).
7. Aufgrund der Tandemstruktur des Fluorochroms emittiert PC5 auch Licht bei 575 nm. Diese sekundäre Emissionsspitze variiert bei PC5 von Charge zu Charge. Daher sollte bei einer Mehrfarbanalyse die Kompensationsmatrix sorgfältig geprüft werden, wenn die Charge eines PC5-Konjugats gewechselt wird.
8. Bei Patienten, die sich Therapien mit anti-humanen monoklonalen Antikörpern unterziehen, kann das Nachweisvermögen für die spezifischen anvisierten Antigene aufgrund einer teilweisen oder vollständigen Blockierung durch die therapeutischen Antikörper vermindert sein oder gänzlich ausbleiben.
9. Die Ergebnisse für CD5-PC5 müssen unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde für den Patienten interpretiert werden, einschließlich Symptomen, klinischer Vorgeschichte, Daten zusätzlicher Tests sowie sonstiger relevanter Informationen.

Beispiele und Literaturhinweise siehe Anhang.

MARKEN

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

WEITERE INFORMATIONEN

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

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

REVISIONSVERLAUF

REVISION AC:	Freigabedatum: Oktober 2019

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

REVISION	**Freigabedatum**
AX	April 2023
Aktualisierte Abschnitte	Kasachisch hinzufügen
Aktualisierte Abschnitte	Lagerung und Stabilität

Überarbeitete Version	AY
Überarbeitungsdatum	Mai 2024
Aktualisierte Übersetzungen	**Klinische Relevanz:**
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Überarbeitete Version	AZ
Überarbeitungsdatum	Juli 2024
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Liste der Symbole

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

	Specifiche
Specificità	CD5
Clone	BL1a
Ibridoma	SP2/0 x balb/c
Immunogeno	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobulina	IgG2a
Specie	Topo
Purificazione	Cromatografia di affinità
Fluorocromo	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Rapporto molare	PC5 / Ig: 0,5 - 1,5
Eccitazione λ	488 nm
Picco di emissione	670 nm
Tampone	PBS pH 7,2 più 2 mg/mL di BSA e NaN_3 0,1%

IOTest

Anticorpo coniugato CD5-PC5

REF A07754 100 test; 1 mL, 10 µL / test

Per uso diagnostico *in vitro*

USO PREVISTO

Questo anticorpo coniugato con fluorocromo consente l'identificazione qualitativa e non automatizzata di popolazioni cellulari che esprimono l'antigene CD5 presente nei campioni biologici umani mediante citometria a flusso (vedere la sezione "Campioni" di seguito).

PRINCIPIO

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

La colorazione specifica dei leucociti viene eseguita incubando il campione con il reagente IOTest. Gli eritrociti vengono quindi rimossi tramite lisi e i leucociti, non interessati da questo processo, vengono analizzati tramite citometria a flusso.

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

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

UTENTE PREVISTO

Questo prodotto è destinato all'uso professionale in laboratorio.

RILEVANZA CLINICA

CD5-PC5 è un anticorpo CD5 utilizzato per identificare e caratterizzare le cellule che esprimono l'antigene CD5 mediante citometria a flusso. Questo prodotto da solo non può e non intende generare alcuna conclusione diagnostica.

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

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

Vedere i riferimenti seguenti:

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

CAMPIONI

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

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

I campioni devono essere analizzati entro 24 ore dalla venipuntura.

CONCENTRAZIONE

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

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza.
2. Non congelare.
3. Prima dell'uso, portare a temperatura ambiente (18-25 °C).
4. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce.
5. Evitare la contaminazione microbica dei reagenti, poiché potrebbe falsare i risultati.
6. Le soluzioni di anticorpi che contengono sodio azide (NaN_3) devono essere maneggiate con cura. Non ingerire ed evitare qualsiasi contatto con cute, mucose e occhi.

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

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

CLASSIFICAZIONE DEI PERICOLI GHS

Classificato come non pericoloso

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

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

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

Durata di conservazione della fiala chiusa secondo studi di stabilità: 1095 giorni.

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

INDICI DI DETERIORAMENTO

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

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

SOMMARIO

Il conservante sodio azide può formare composti esplosivi nelle tubazioni metalliche di scarico. Vedere il bollettino NIOSH: Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Bollettino dell'Istituto Nazionale per la Sicurezza e la Salute sul Lavoro: Rischio di esplosione del sodio azide).
Per evitare il possibile accumulo di azidi, lavare i tubi di scarico con acqua dopo lo smaltimento del reagente puro. Il sodio azide deve essere eliminato conformemente alle normative locali applicabili.

COMPONENTI NECESSARI MA NON FORNITI CON IL KIT:

- Provette per campioni e materiale necessario per il campionamento.
- Pipette automatiche con punte monouso per 10, 100 e 500 µL.
- Provette per emolisi in plastica.
- Reagente per lisi degli eritrociti con fase di lavaggio successiva alla lisi. Ad esempio: VersaLyse (Rif. A09777).
- Reagente di fissaggio dei leucociti. Ad esempio: Soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800).
- Controllo di isotipo PC5: reagente IOTest (Rif. A09148).
- Tampone (PBS: 0,01 M di fosfato di sodio, 0,145 M di cloruro di sodio, pH 7,2).
- Centrifugare.
- Agitatore automatico (tipo Vortex).
- Citometro a flusso.

PROCEDURA CON REAGENTE VERSALYSE

Per ogni campione analizzato, oltre alla provetta del test, si può aggiungere una provetta di controllo in cui miscelare le cellule in presenza di controllo di isotipo (Rif. A09148).

1. Aggiungere 10 µL di anticorpo coniugato IOTest specifico in ogni provetta del test e, se necessario, 10 µL di controllo di isotipo in ogni provetta di controllo.
2. Aggiungere 100 µL di campione del test in ogni provetta. Agitare delicatamente le provette con Vortex.
3. Incubare a temperatura ambiente (18-25 °C) per 15-20 minuti, al riparo dalla luce.
4. Quindi eseguire la lisi degli eritrociti. Consultare il foglietto illustrativo di VersaLyse (Rif. A09777) e seguire preferibilmente la procedura denominata "with concomitant fixation" (con fissazione concomitante), che consiste nell'aggiungere 1 mL della miscela fissante e lisante preparata estemporaneamente. Miscelare immediatamente con Vortex per un secondo e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente, al riparo dalla luce.
5. Centrifugare per 5 minuti a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Rimuovere il surnatante mediante aspirazione.
7. Risospendere il pellet cellulare utilizzando 3 mL di PBS.
8. Ripetere il passaggio 5.
9. Eliminare il surnatante tramite aspirazione e risospendere il pellet cellulare tramite:

- 0,5 mL o 1 mL di PBS più 0,1% di formaldeide, se i preparati devono essere conservati per meno di 24 ore. È possibile ottenere PBS con formaldeide allo 0,1% diluendo 12,5 µL di soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800) alla sua concentrazione di 10X in 1 mL di PBS.
- 0,5 mL o 1 mL di PBS senza formaldeide, se i preparati devono essere analizzati entro 2 ore.

Nota: in tutti i casi, mantenere i preparati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce.

VALORI ATTESI

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

Target positivo	Numero	Media (%)	SD	CV (%)
Linfociti	25	71,40	9,45	13,23

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

PRESTAZIONI

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

SPECIFICITÀ

La molecola CD5 è espressa sulla superficie dei linfociti T maturi dalla maggioranza dei timociti e da una sottopopolazione di linfociti B (11,12,13). CD5 è espresso da un sottogruppo di cellule B che secernono IgM a causa della mancanza dell'enzima deossinucleotidil transferasi terminale (TdT) che sembra mitighi l'attivazione di BSR riducendo quindi l'autoreattività (reazione autoimmune). Al contrario, le cellule T esprimono livelli più elevati di CD5 rispetto alle cellule B. CD5 è sovraregolato sulle cellule T dopo forte attivazione. Nel timo esiste una correlazione tra l'espressione di CD5 e la forza di interazione delle cellule T verso i propri peptidi. Non si è osservata espressione di CD5 nei granulociti, nei monociti e nelle piastrine (13). L'anticorpo monoclonale BL1a è stato riconosciuto come specifico per l'antigene CD5 nel corso del 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3° workshop HLDA sugli antigeni di differenziazione dei leucociti umani), tenutosi a Oxford, Inghilterra, nel 1986 (Codice WS: 520, Sezione T) (11,12).

PRECISIONE

I valori percentuali positivi sono stati determinati utilizzando sangue intero. Ogni campione è stato analizzato 4 volte, due volte al giorno per 1 giorno su 2 strumenti utilizzando 2 lotti di reagenti per anticorpi monoclonali CD5-PC5. Le misurazioni (% positive) sono state eseguite sul citometro a flusso Navios. L'analisi è stata condotta secondo il metodo EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Valutazione delle prestazioni di precisione dei metodi di misurazione quantitativa).

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

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

Linfociti							
Numero di eventi positivi (media) = 2823							
	Inter-operatore	Inter-citometro	Intra-lotto	Inter-lotto	Inter-analisi	Intra-analisi	Totale
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
RISULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURATEZZA

L'accuratezza di CD5-PC5 è stata valutata confrontando i risultati con un reagente di riferimento come predicato su una serie di campioni di sangue intero eseguiti su un citometro a flusso Navios. La distorsione tra il reagente in esame e quello di riferimento è stata determinata in base alla differenza tra i risultati del test. Se la distorsione rientra nell'intervallo di errore consentito o il valore p indica che non vi è una differenza significativa (> 0,05), allora i risultati dei test per i due reagenti sono considerati equivalenti.

I risultati ottenuti sono riepilogati nella tabella seguente:

Numero di donatori = 25				
Target positivo	Δ medio	Criteri cellulari Δ %	Valore p	RISULTATI
Linfociti	0,90	<5	0,001	PASS

LIMITE DEL BIANCO E LIMITE DI RILEVAZIONE

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

Positive Target	Limite del bianco (cellula/µL)	Limite di rilevazione (cellula/µL)
Linfociti	4	6

LIMITAZIONI

1. La citometria a flusso può produrre falsi risultati se il citometro non viene allineato perfettamente, le perdite di fluorescenza non vengono correttamente compensate e le regioni non vengono posizionate attentamente.
2. È preferibile utilizzare una tecnica di lisi RBC con una fase di lavaggio, in quanto il reagente non è stato ottimizzato per tecniche di lisi "senza lavaggio".
3. Seguendo le procedure descritte nel foglietto illustrativo con le informazioni tecniche, compatibili con le buone pratiche di laboratorio, è possibile ottenere risultati accurati e riproducibili.
4. L'anticorpo coniugato di questo reagente è calibrato in modo da offrire un rapporto segnale specifico/segnale non specifico ottimale. Di conseguenza, è importante rispettare il rapporto fra volume di reagente e volume di campione in tutti i test.
5. In caso di iperleucocitosi, diluire il sangue in PBS in modo da ottenere un valore di circa 5 x 10^9 leucociti/L (14).
6. In alcuni stati patologici, come insufficienza renale grave o emoglobinopatie, la lisi degli eritrociti può risultare lenta, incompleta o persino impossibile. In questo caso, è consigliabile isolare le cellule mononucleate usando un gradiente di densità (ad esempio, Ficoll) prima della colorazione (15).
7. A causa della struttura tandem del fluorocromo, PC5 emette anche luce a 575 nm. Questo picco di emissione secondaria varia in base al lotto di PC5. Pertanto, per l'analisi multicolore, la matrice di compensazione deve essere attentamente verificata quando si cambia il lotto di un coniugato a -PC5.

8. In pazienti trattati con terapie a base di anticorpi monoclonali anti-umani, il rilevamento di antigeni specifici può essere minore o assente a causa del blocco parziale o completo da parte dell'anticorpo terapeutico.
9. I risultati CD5-PC5 devono essere interpretati alla luce del quadro clinico completo del paziente che comprende: sintomatologia, anamnesi clinica, risultati di altri test e altre informazioni appropriate.

Per esempi e riferimenti, vedere l'appendice.

MARCHI COMMERCIALI

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

INFORMAZIONI AGGIUNTIVE

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

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

CRONOLOGIA REVISIONI

REVISIONE AC:	Data di pubblicazione: Ottobre 2019

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

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AX	Aprile 2023
Sezioni aggiornate	Aggiungere la lingua kazaka
Sezioni aggiornate	Conservazione e stabilità

Versione revisionata	AY
Data di revisione	Maggio 2024
Traduzioni aggiornate	**Rilevanza clinica:**
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Versione revisionata	AZ
Data di revisione	Luglio 2024
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Legenda dei simboli

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

	Especificaciones
Especificidad	CD5
Clon	BL1a
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Inmunógeno	Lymphocytes from human thoracic duct
Inmunoglobulina	IgG2a
Especie	Ratón
Purificación	Cromatografía de afinidad
Fluorocromo	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Proporción molar	PC5 / Ig: 0,5 - 1,5
Excitación λ	488 nm
Pico de emisión	670 nm
Tampón	PBS pH 7,2 más 2 mg/mL BSA y 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticuerpo conjugado CD5-PC5

REF A07754 100 determinaciones; 1 mL, 10 µL / test

Para uso diagnóstico *in vitro*

USO PREVISTO

Este anticuerpo conjugado con un fluorocromo permite la identificación cualitativa y no automatizada de poblaciones de células que expresan el antígeno CD5 presente en muestras biológicas humanas mediante citometría de flujo (véase la sección «Muestras» más adelante).

PRINCIPIO

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

La tinción específica de los leucocitos se realiza incubando la muestra con el reactivo IOTest. A continuación, se eliminan los eritrocitos mediante lisis y los leucocitos, que no se ven afectados por este proceso, se analizan mediante citometría de flujo.

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

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

USUARIO PREVISTO

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

IMPORTANCIA CLÍNICA

El reactivo CD5-PC5 es un anticuerpo frente a CD5 utilizado para identificar y caracterizar células que expresan el antígeno CD5 mediante citometría de flujo. Este producto por sí solo no puede y no está diseñado para generar una conclusión diagnóstica.

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

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

Consulte las siguientes referencias:

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

MUESTRAS

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

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

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

CONCENTRACIÓN

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

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. No use el reactivo después de la fecha de caducidad.
2. No lo congele.
3. Déjelo a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su utilización.
4. Minimice el tiempo de exposición a la luz.
5. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, ya que esto puede provocar resultados falsos.

6. Las soluciones de anticuerpo que contienen azida sódica (NaN_3) deben manipularse con precaución. No ingerir y evitar todo contacto con la piel, la mucosa y los ojos.

   Asimismo, en un medio ácido, la azida sódica puede formar ácido hidrazoico potencialmente peligroso. Cuando se vaya a desechar, se recomienda diluir el reactivo en abundante agua antes de verterlo en el sistema de drenaje para evitar la acumulación de azida sódica en tubos metálicos y el riesgo de explosión.
7. Todas las muestras sanguíneas deben considerarse posiblemente infecciosas y deben manipularse con cuidado (en especial, hay que llevar guantes, bata y gafas de protección).
8. No pipetee nunca con la boca y evite todo contacto de las muestras con la piel, las mucosas y los ojos.
9. Los tubos para sangre y el material desechable utilizados para la manipulación deben eliminarse en recipientes especiales previstos para la incineración.
10. Los reactivos y los desechos deben eliminarse de acuerdo con los requisitos locales.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico

SDS La ficha de datos de seguridad está disponible en beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

Vida útil del vial cerrado según estudio de estabilidad: 1095 días.

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

SIGNOS DE DETERIORO

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

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

CONTENIDO

El conservante de azida sódica puede formar compuestos explosivos en las tuberías metálicas del desagüe. Véase el NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Boletín de NIOSH: Peligro de explosión con la azida) (16/8/76).
Para evitar la posible acumulación de compuestos de azida, limpie con agua los tubos de desagüe tras la eliminación del reactivo sin diluir. Para desechar la azida sódica deben seguirse las normativas locales adecuadas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS CON EL KIT:

- Tubos y material de muestras necesarios para el muestreo.
- Pipetas automáticas para puntas desechables de 10, 100 y 500 µL.
- Tubos de hemólisis de plástico.
- Reactivo de lisis de glóbulos rojos con estado de lavado después de la lisis. Por ejemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reactivo de fijación de leucocitos. Por ejemplo: Solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800).
- Control de isotipo PC5: Reactivo IOTest (Ref. A09148).
- Tampón (PBS: 0,01 M de fosfato de sodio; 0,145 M de cloruro sódico; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de flujo.

PROCEDIMIENTO CON EL REACTIVO VERSALYSE

Para cada muestra analizada, además del tubo de ensayo, se puede añadir un tubo de control en el que se mezclan las células en presencia de los controles de isotipo (Ref. A09148).

1. Añadir 10 µL de anticuerpos conjugados específicos IOTest a cada tubo de muestra problema y, si es necesario, 10 µL del control de isotipo a cada tubo de control.
2. Añadir 100 µL de la muestra problema a cada tubo. Mezclar suavemente los tubos en el Vórtex.
3. Incube entre 15 y 20 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C) y protegido de la luz.
4. A continuación, lleve a cabo la lisis de los eritrocitos. Consulte la ficha técnica VersaLyse (Ref. A09777) y siga preferiblemente el procedimiento denominado «with conconmitant fixation» (con fijación concomitante), que consiste en añadir 1 mL de la mezcla «Fijar y lisar» preparada extemporáneamente. Agite inmediatamente con vórtex durante un segundo e incube durante 10 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Elimine el sobrenadante mediante aspiración.
7. Vuelva a suspender el sedimento celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita el paso 5.
9. Retire el sobrenadante mediante aspiración y vuelva a suspender el sedimento celular con:

- 0,5 mL o 1 mL de PBS más el 0,1 % de formaldehído si las preparaciones deben conservarse menos de 24 horas. (Se puede obtener un 0,1 % de PBS de formaldehído mediante la dilución de 12,5 µL de la solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800) a su concentración de 10x en 1 mL de PBS).

- 0,5 mL o 1 mL de PBS sin formaldehído si las preparaciones deben analizarse en un plazo de 2 horas.

Nota: En todos los casos, mantenga las preparaciones protegidas de la luz entre 2 y 8 °C.

VALORES ESPERADOS

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

Objetivo positivo	Cantidad	Media (%)	DE	CV (%)
Linfocitos	25	71,40	9,45	13,23

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

RENDIMIENTO

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

ESPECIFICIDAD

La molécula CD5 se expresa en la superficie de los linfocitos T maduros mediante la mayoría de los timocitos y una subpoblación de linfocitos B (11,12,13). La CD5 se expresa en un subconjunto de células B secretoras de IgM debido a la ausencia de la enzima desoxinucleotidil transferasa terminal (TdT) que aparece para reducir la activación de BSR y, por tanto, reducir la autorreactividad (reacción autoinmune). Por el contrario, las células T expresan niveles más altos de CD5 que las células B. La CD5 se regula en las células T mediante una activación intensa. En el timo, existe una correlación con la expresión de CD5 y la intensidad de la interacción de la célula T con los autopéptidos. La expresión de CD5 no se encuentra en los granulocitos, los monocitos y las plaquetas (13). El anticuerpo monoclonal BL1a fue asignado a la CD5 en el transcurso del 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3er Taller de HLDA sobre los Antígenos de Diferenciación de los Leucocitos Humanos), Oxford, Inglaterra, en 1986 (Código WS: 520, Sección T) (11,12).

PRECISIÓN

Los valores porcentuales positivos se determinaron utilizando sangre total. Cada muestra se procesó 4 veces, dos veces al día durante 1 día en 2 instrumentos utilizando 2 lotes de reactivos de anticuerpo monoclonal CD5-PC5. Las mediciones (% de positivos) se realizaron en un citómetro de flujo Navios. El análisis se realizó según el método EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluación del rendimiento de la precisión de los métodos de medición cuantitativos).

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

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

Linfocitos							
Número de eventos positivos (media) = 2823							
	Entre operadores	Entre citómetros	Intralote	Entre lotes	Entre análisis	Intraanálisis	Total
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUD

La exactitud de CD5-PC5 se evaluó comparando los resultados con un reactivo de referencia como valor previsto en un conjunto de muestras de sangre total procesadas en un citómetro de flujo Navios. El sesgo entre la muestra problema y el reactivo de referencia se determinó en función de la diferencia entre los resultados de la prueba. Si el sesgo está dentro del rango de error permitido o el valor p indica una diferencia no significativa (> 0,05), entonces los resultados de la prueba de los dos reactivos se consideran equivalentes.

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

Número de donantes = 25				
Objetivo positivo	Δ medio	Criterios de Δ % de células	Valor p	RESULTADOS
Linfocitos	0,90	<5	0,001	PASS

LÍMITE DE BLANCO Y LÍMITE DE DETECCIÓN

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

Positive Target	Límite de Blanco (células/µL)	Límite de Detección (células/µL)
Linfocitos	4	6

LIMITACIONES

1. La citometría de flujo puede producir resultados falsos si el citómetro no se ha alineado a la perfección, si las fugas de fluorescencia no se han compensado correctamente y si las regiones no se han colocado con atención.
2. Es preferible utilizar una técnica de lisis de ERIT con un paso de lavado, ya que este reactivo no se ha optimizado para técnicas de lisis «sin lavado».
3. Se obtendrán resultados exactos y reproducibles siempre que los procedimientos utilizados sean conformes al folleto técnico y compatibles con las prácticas correctas de laboratorio.
4. El anticuerpo conjugado de este reactivo se calibra para ofrecer la mejor relación de señal específica/señal no específica. Por lo tanto, es importante cumplir la relación de volumen del reactivo/volumen de la muestra en cada prueba.
5. En caso de hiperleucocitosis, diluya la sangre en PBS para obtener un valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucocitos/L (14).

6. En algunos estados de la enfermedad, como el fallo renal grave o las hemoglobinopatías, la lisis de los eritrocitos puede ser lenta, incompleta o incluso imposible. En este caso, se recomienda aislar las células mononucleares por gradiente de densidad (por ejemplo, Ficoll) antes de la tinción (15).
7. Debido a la estructura en tándem del fluorocromo, PC5 también emite luz a 575 nm. Este pico secundario de emisión varía de un lote a otro de PC5. Por consiguiente, para el análisis multicolor, debe comprobarse cuidadosamente la matriz de compensación cuando se cambie el lote de un conjugado con PC5.
8. En pacientes tratados con terapias con anticuerpos monoclonales anti-humanos, la detección de los antígenos diana específicos puede estar disminuida o ausente debido al bloqueo parcial o completo por el anticuerpo terapéutico.
9. Los resultados de CD5-PC5 deben interpretarse a la luz del cuadro clínico total del paciente, incluidos: síntomas, historial clínico, datos de pruebas adicionales y demás información pertinente.

Consulte el anexo para ver ejemplos y referencias.

MARCAS COMERCIALES

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

INFORMACIÓN ADICIONAL

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

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

HISTORIAL DE REVISIONES

REVISIÓN AC:	Fecha de publicación: Octubre de 2019

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

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AX	Abril 2023
Se han actualizado las secciones	Añadir kazajo
Se han actualizado las secciones	Conservación y Estabilidad

Versión revisada	AY
Fecha de revisión	Mayo 2024
Traducciones actualizadas	**Relevancia clínica:**
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Versión revisada	AZ
Fecha de revisión	Julio 2024
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Lista de símbolos

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

	Especificações
Especificidade	CD5
Clone	BL1a
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunogénio	Lymphocytes from human thoracic duct
Imunoglobulina	IgG2a
Espécie	Rato
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Razão molar	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	670 nm
Tampão	PBS com pH 7,2 mais 2 mg/mL de ASB e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado CD5-PC5

REF A07754 100 testes; 1 mL, 10 µL / test

Para fins de diagnóstico *in vitro*

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Este anticorpo conjugado com fluorocromos permite a identificação qualitativa e não automatizada de populações de células que expressam o antigénio CD5 presente em amostras biológicas humanas utilizando citometria de fluxo (consulte a secção «Amostras» abaixo).

PRINCÍPIO

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

A coloração específica dos leucócitos é realizada incubando a amostra com o reagente IOTest. Em seguida, os glóbulos vermelhos são removidos por lise e os leucócitos, que não são afetados por este processo, são analisados por citometria de fluxo.

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

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

UTILIZADOR PREVISTO

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

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD5-PC5 é um anticorpo de CD5 utilizado para identificar e caracterizar células que expressam o antigénio CD5 por citometria de fluxo. Este produto, por si só, não pode e não se destina a gerar qualquer conclusão de diagnóstico.

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

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

Consulte as seguintes referências:

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

AMOSTRAS

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

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

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

CONCENTRAÇÃO

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

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não utilize o reagente depois da data de validade.
2. Não congele.
3. Aguarde que fique à temperatura ambiente (18–25 °C) antes da utilização.
4. Evite a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, caso contrário, poderão ocorrer falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos que contêm azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não ingira e evite qualquer contacto com a pele, as mucosas e os olhos.

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

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

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

Não classificado como perigoso

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

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

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

Vida útil em frasco fechado para estudo de estabilidade: 1095 dias.

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

EVIDÊNCIA DE DEGRADAÇÃO

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

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

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em sistemas de canalizações metálicas. Consulte o boletim do NIOSH: Explosive Azide Hazards (Perigos de explosão da azida) (16-8-76).
Para evitar a possível acumulação de compostos de azida, enxague as condutas de resíduos com água após a eliminação do reagente não diluído. A eliminação de azida sódica deve ser efetuada de acordo com os regulamentos locais adequados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostras e materiais necessários para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 10, 100 e 500 µL.
- Tubos de plástico para hemólise.
- Reagente de lise de glóbulos vermelhos com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controlo de isotipo PC5 de : reagente IOTest (Ref. A09148).
- Tampão (PBS: 0,01 M de fosfato de sódio; 0,145 M de cloreto de sódio; pH 7,2).
- Centrifugue.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM REAGENTE VERSALYSE

Além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controlo a cada amostra analisada, no qual as células são misturadas na presença do controlo de isotipo (Ref. A09148).

1. Adicione 10 µL de anticorpo conjugado com IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 10 µL dos controlos de isotipo a cada tubo de controlo.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos à temperatura ambiente (18–25 °C), protegido da luz.
4. Em seguida, realize a lise dos glóbulos vermelhos. Consulte o folheto VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento denominado «with concomitant fixation» (com fixação concomitante) que consiste em adicionar 1 mL da mistura de «Fixação e lise» preparada extemporaneamente. Agite imediatamente em vórtex durante um segundo e incube durante 10 minutos à temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g à temperatura ambiente.
6. Remova o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular com 3 mL de PBS.
8. Repita o passo 5.
9. Remova o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular com o seguinte:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído se as preparações se destinarem a ser mantidas por menos de 24 horas. (É possível obter PBS com 0,1% de formaldeído diluindo 12,5 µL de solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na respetiva concentração de 10X em 1 mL de SSTF).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído se as preparações se destinarem a ser analisadas no prazo de 2 horas.

Nota: Mantenha sempre as preparações entre 2 e 8 °C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

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

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP	CV (%)
Linfócitos	25	71,40	9,45	13,23

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

DESEMPENHO

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

ESPECIFICIDADE

A molécula CD5 é expressa na superfície de linfócitos T maduros, pela maioria dos timócitos e por uma subpopulação de linfócitos B (11,12,13). O CD5 é expresso num subconjunto de células B secretoras de IgM devido à falta da enzima deoxinucleotidil transferase terminal (TdT), presente para mitigar a ativação de BSR e, assim, reduzir a autorreatividade (reação autoimune). Por outro lado, as células T apresentam níveis mais elevados de CD5 do que células B. O CD5 é suprarregulado em células T após uma forte ativação. No timo, existe uma correlação entre a expressão de CD5 e a intensidade da interação da célula T com peptídeos próprios. A expressão de CD5 não existe em granulócitos, monócitos e plaquetas (13). O anticorpo monoclonal BL1a foi atribuído a CD5 durante o 3.º HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Workshop HLDA sobre antigénios de diferenciação de leucócitos humanos), em Oxford, Inglaterra, em 1986 (Código WS: 520, Secção T) (11,12).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados utilizando sangue total. Cada amostra foi executada 4 vezes, duas vezes por dia para 1 dia em 2 instrumentos, utilizando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD5-PC5. As medições (% de positivos) foram realizadas no citómetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação do desempenho de precisão dos métodos de medição quantitativos).

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

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

Linfócitos							
Número de eventos positivos (média) = 2823							
	Interoperador	Intercitómetro	Intralote	Interlote	Interprocessamento	Intraprocessamento	Total
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD5-PC5 foi avaliada através da comparação dos resultados com um reagente de referência como equivalente, num conjunto de amostras de sangue total executadas num citómetro de fluxo Navios. A tendência entre o teste e o reagente de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados do teste. Se a tendência se encontrar dentro do intervalo de erro permitido ou o valor p não indicar uma diferença significativa (>0,05), os resultados do teste de ambos os reagentes são considerados equivalentes.

Os resultados obtidos encontram-se resumidos na tabela abaixo:

Número de dadores = 25				
Alvo positivo	Δ médio	Critérios celulares de % Δ	Valor p	RESULTADOS
Linfócitos	0,90	<5	0,001	PASS

LIMITE DO BRANCO E LIMITE DE DETEÇÃO

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

Positive Target	Limite do branco (célula/µL)	Limite de deteção (célula/µL)
Linfócitos	4	6

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo poderá produzir falsos resultados se o citómetro não tiver sido perfeitamente alinhado, se as fugas de fluorescência não tiverem sido compensadas corretamente e se as regiões não tiverem sido cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível utilizar uma técnica de lise de RBC com um passo de lavagem, uma vez que este reagente não foi otimizado para técnicas de lise «sem lavagem».
3. Serão obtidos resultados exatos e reprodutíveis desde que os procedimentos utilizados estejam de acordo com o folheto técnico e cumpram as boas práticas laboratoriais.
4. O anticorpo conjugado deste reagente é calibrado para proporcionar a melhor relação entre sinal específico/sinal não específico. Por conseguinte, é importante respeitar a relação entre volume do reagente/volume da amostra em todos os testes.
5. No caso de uma hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (14).
6. Em determinados estados de doença, como insuficiência renal grave ou hemoglobinopatias, a lise de glóbulos vermelhos poderá ser lenta, incompleta ou até impossível. Neste caso, recomenda-se isolar células mononucleadas utilizando um gradiente de densidade (por exemplo, Ficoll) antes da coloração (15).

7. Devido à estrutura em tandem do fluorocromo, o PC5 também emite luz a 575 nm. Este pico de emissão secundário varia conforme o lote de PC5. Portanto, para análise multicolor, a matriz de compensação deve ser cuidadosamente verificada ao alterar o lote de um conjugado de PC5.
8. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a deteção dos antigénios específicos visados pode ser reduzida ou inexistente devido ao bloqueio parcial ou total causado pelo anticorpo terapêutico.
9. Os resultados de CD5-PC5 devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, historial clínico, dados de testes adicionais e outras informações relevantes.

Consulte o Anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

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

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

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

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

HISTÓRICO DE REVISÕES

REVISÃO AC:	Data de lançamento: Outubro de 2019

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

REVISÃO	**Data de lançamento**
AX	Abril 2023
Secções atualizadas	Adicionar cazaque
Secções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revista	AY
Data de revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Versão revista	AZ
Data de revisão	Julho 2024
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Legenda dos símbolos

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

	Specifikationer
Specificitet	CD5
Klon	BL1a
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobulin	IgG2a
Arter	Mus
Oprensning	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molarforhold	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
λ-magnetisering	488 nm
Emissionsspids	670 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA og 0,1% NaN_3

IOTest

Konjugeret antistof CD5-PC5

REF A07754 100 tests; 1 mL, 10 µL / test

Til *in vitro*-diagnostisk brug

TILSIGTET BRUG

Dette fluorokromkonjugerede antistof muliggør, ved hjælp af flowcytometri, kvalitativ og ikke-automatiseret identifikation af cellepopulationer, der udtrykker CD5-antigenet, som findes i humane biologiske prøver (se afsnittet ”Prøver” forneden).

PRINCIP

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

Den specifikke farvning af leukocytterne udføres ved inkubation af prøven med IOTest-reagenset. Erytrocytterne fjernes derefter med lysering, og leukocytterne, som ikke påvirkes af denne proces, analyseres ved flowcytometri.

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

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

TILSIGTET BRUGER

Dette produkt er beregnet til professionel brug i laboratoriet.

KLINISK RELEVANS

CD5-PC5 er et CD5-antistof, der anvendes til at identificere og karakterisere celler, der udtrykker CD5-antigenet ved flowcytometri. Dette produkt, anvendt alene, kan ikke og er ikke beregnet til at generere nogen diagnostisk konklusion.

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

- Til hjælp ved differentialdiagnosticering af hæmatologisk unormale patienter ved formodning om hæmatopoietisk neoplasme, samt til overvågning af patienter med kendt hæmatopoietisk neoplasme.
- Til hjælp ved prognosticering af patienter med hæmatologisk neoplasi.

Se følgende referencer:

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

PRØVER

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

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

Prøverne skal behandles inden for 24 timer efter venepunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analysecertifikat på www.beckman.com.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Brug ikke reagenset efter udløbsdatoen.
2. Må ikke nedfryses.
3. Bring det til stuetemperatur (18-25 °C) før brug.
4. Minimér eksponering for lys.
5. Undgå mikrobiel kontaminering reagenserne, idet det kan føre til fejlagtige resultater.
6. Antistofopløsninger, der indeholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsigtighed. Må ikke indtages, og undgå enhver kontakt med hud, slimhinder og øjne.

I syremedier kan natriumazid desuden danne den potentielt farlige hydrogenazid. Hvis det skal bortskaffes, anbefales det, at reagenset fortyndes i en stor mængde vand, inden det hældes i kloakken, for at undgå ophobning af natriumazid i metalrør og dermed forebygge risikoen for eksplosioner.

7. Alle blodprøver skal anses som potentielt smittefarlige og skal behandles forsigtigt (husk især at bruge beskyttelseshandsker, forklæde og beskyttelsesbriller).
8. Sug aldrig med munden, og undgå at prøverne kommer i kontakt med hud, slimhinde og øjne.
9. Blodprøvetagningsrør og engangsmateriale, der bruges i forbindelse med håndteringen, skal bortskaffes i ad hoc-beholdere, der er beregnet til bortskaffelse.
10. Reagenser og affald skal bortskaffes i henhold til gældende lokale krav.

GHS FAREKLASSIFIKATION

Ikke klassificeret som farlig

SDS Sikkerhedsdatablad er tilgængelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPBEVARING OG HOLDBARHED

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

Stabilitet i lukket hætteglas: 1095 dage.

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

TEGN PÅ FORRINGELSE

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

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

INDHOLD

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

PÅKRÆVEDE MATERIALER, SOM IKKE LEVERES MED SÆT:

- Prøvetagningsrør og materiale, der er påkrævet til prøvetagning.
- Automatiske pipetter med engangsspidser til 10, 100 og 500 µL.
- Plasthæmolyserør.
- Reagens til lysering af erytrocytter med vaskefase efter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens til leukocytfiksering. For eksempel: IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800).
- IsotypekontrolPC5: IOTest-reagens (ref. A09148).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumphosphat; 0,145 M natriumchlorid; pH 7,2).
- Centrifuge
- Automatisk omrører (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MED VERSALYSE-REAGENS

Der kan tilføjes et kontrolrør for hvert prøverør, der analyseres, hvormed cellerne blandes under isotype-kontrollerne (ref. A09148).

1. Tilføj 10 µL specifikt IOTest-konjugeret antistof til hvert prøverør og, om nødvendigt, 10 µL negativ kontrol til hvert kontrolprøverør.
2. Tilføj 100 µL af prøven til hvert prøverør. Vortex rørene forsigtigt.
3. Inkubér i 15 til 20 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C), beskyttet mod lys.
4. Udfør derefter analyse af de røde celler. Se brochure fra VersaLyse (ref. A09777) og følg den foretrukne procedure kaldet “med sideløbende fiksering”, som består i at tilsætte 1 mL af blandingen “Fix-and-Lyse”, der fremstilles samtidig. Vortex øjeblikkeligt i et sekund, og inkubér i 10 minutter ved stuetemperatur, beskyttet imod lys.
5. Centrifugér i 5 minutter ved 150 x g ved stuetemperatur.
6. Fjern supernatanten via aspiration.
7. Resuspender cellepelleten med 3 mL PBS.
8. Gentag trin 5.
9. Fjern supernatanten vha. aspiration, og resuspender cellepelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyd, hvis præparaterne skal opbevares mindre end 24 timer. (En formaldehyd-PBS på 0,1% kan opnås ved fortynding af 12,5 µL af IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800) ved dets 10X koncentration i 1 mL af PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uden formaldehyd, hvis præparaterne skal analyseres inden for 2 timer.

Bemærk: Præparaterne skal under alle omstændigheder beskyttes mod lys og opbevares ved 2-8 °C.

FORVENTEDE VÆRDIER

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

Positivt mål	Antal	Middelværdi (%)	SD	CV (%)
Lymfocytter	25	71,40	9,45	13,23

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

YDEEVNE

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

SPECIFICITET

CD5-molekylet udtrykkes på overfladen af modne T-lymfocytter af de fleste thymocytter og af en underpopulation af B-lymfocytter (11,12,13). CD5 udtrykkes i en delmængde af IgM-udskillende B-celler på grund af manglen af enzymet TdT (terminal deoxynukleotidyl-transferase), der synes at mildne aktiveringen af BSR og dermed reducere autoreaktiviteten (autoimmunreaktionen). Derimod udtrykker T-celler højere niveauer af CD5 end B-celler. CD5 opreguleres på T-celler ved stærk aktivering. Der er i thymus en korrelation med CD5-udtrykket og styrken af T-cellens interaktion mod selvpeptider. CD5-udtryk ses ikke i granulocytter, monocytter og trombocytter (13). Det monoklonale antistof BL1a blev tildelt CD5 under den 3. HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (HLDA-workshop om differentiering af humane leukocyt-antigener), der blev afholdt i Oxford, England, i 1986 (WS-kode: 520, afsnit T) (1112).

PRÆCISION

De procentvise positive værdier blev bestemt ved anvendelse af fuldblod. Hver prøve blev kørt 4 gange, to gange dagligt i 1 dag, på 2 instrumenter med CD5-PC5 monoklonale antistofreagenser fra 2 lots. Målingerne (% positiv) blev foretaget på Navios-flowcytometer. Analysen blev udført i henhold til CLSI-protokollen EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering af kvantitative målemetoders præcisionsevne).

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

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

Lymfocytter							
Antal positive hændelser (middelværdi) = 2823							
	Inter-operatør	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-kørsel	Intra-kørsel	I alt
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØJAGTIGHED

Nøjagtigheden af CD5-PC5 blev vurderet ved sammenligning af resultaterne med et referencereagens som prædikat på et sæt fuldblodsprøver, kørt på et Navios-flowcytometer. Bias mellem test- og referencereagens blev bestemt på basis af forskellen mellem testresultaterne. Hvis bias er inden for det tilladte fejlområde, eller hvis p-værdien ikke indikerer nogen signifikant forskel (> 0,05), anses testresultaterne for de to reagenser for at være ækvivalente.

De opnåede resultater opsummeres i nedenstående tabel:

Antal donorer = 25				
Positivt mål	Middelværdi Δ	Δ % cellekriterie	p-værdi	RESULTATER
Lymfocytter	0,90	<5	0,001	PASS

GRÆNSE FOR BLANK OG DETEKTIONSGRÆNSE

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

Positive Target	Grænse for blank (celle/µL)	Detektionsgrænse (celle/µL)
Lymfocytter	4	6

BEGRÆNSNINGER

1. Flowcytometri kan give forkerte resultater, hvis cytometeret ikke er perfekt justeret, hvis der ikke er blevet kompenseret korrekt for fluorescenslækager, eller hvis områderne ikke er blevet placeret omhyggeligt.
2. Det anbefales at anvende en RBC-lyseringsteknik med et vasketrin, da dette reagens ikke er blevet optimeret til ”no wash”-lyseringsteknikker.
3. Der genereres nøjagtige og reproducerbare resultater, så længe de anvendte procedurer er i overensstemmelse med de tekniske anvisninger på indlæsgssedlen og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerede antistof for dette reagens kalibreres for at kunne tilbyde det bedste specifikke forhold mellem signal/ikke-specifikt signal. Det er derfor vigtigt at overholde forholdet mellem reagensvolumen og prøvevolumen i hver enkelt test.
5. I tilfælde af en hyperleukocytose skal blodet fortyndes i PBS for at opnå en værdi på ca. 5 x 10^9 leukocytter/L (14).
6. I visse sygdomstilstande, f.eks. alvorligt nyresvigt eller hæmoglobinopatier, kan lysering af røde celler være langsom, ufuldstændig eller endog umulig. I dette tilfælde anbefales det at isolere enkernede celler ved hjælp af en densitetsgradient (f.eks. Ficoll) forud for farvningen (15).
7. På grund af fluorokromets tandemstruktur udsender PC5 også lys ved 575 nm. Dette sekundære peak i emissionen varierer mellem PC5-lots. Kompensationsmatrixen for flerfarvet analyse bør derfor kontrolleres grundigt, når der ændres lot for et -PC5-konjugat.
8. Hos patienter behandlet med anti-humane monoklonale antistofterapier, kan påvisning af de respektive specifikke antigener være formindsket eller fraværende, på grund af delvis eller fuldstændig blokering af det terapeutiske antistof.
9. CD5-PC5-resultaterne bør fortolkes i lyset af patientens samlede kliniske præsentation, herunder symptomer, sygehistorie, data fra andre tests samt anden relevant information.

Se Tillæg for eksempler og referencer.

VAREMÆRKER

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

YDERLIGERE OPLYSNINGER

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

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

REVISIONSHISTORIK

REVISION AC:	Frigivelsesdato: Oktober 2019

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

REVISION	**Udgivelsesdato**
AX	April 2023
Opdaterede afsnit	Kasakhisk er blevet tilføjet
Opdaterede afsnit	Opbevaring og holdbarhed

Revideret version	AY
Revisionsdato	Maj 2024
Opdaterede oversættelser	**Klinisk relevans:**
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Revideret version	AZ
Revisionsdato	Juli 2024
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Symbolnøgle

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

	Specifikationer
Specificitet	CD5
Klon	BL1a
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunglobulin	IgG2a
Arter	Mus
Rening	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molförhållande	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
λ excitering	488 nm
Emissionstopp	670 nm
Buffert	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA och 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugerad antikropp CD5-PC5

REF A07754 100 tester; 1 mL, 10 µL / test

För *in vitro*-diagnostik

AVSEDD ANVÄNDNING

Denna fluorokromkonjugerade antikropp möjliggör kvalitativ och ej automatiserad identifiering av cellpopulationer som uttrycker CD5-antigenet som förekommer i humana biologiska prover med användning av flödescytometri (se avsnittet ”Prov” nedan).

PRINCIP

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

Specifik färgning av leukocyterna utförs genom att inkubera provet med IOTest-reagenset. De röda cellerna avlägsnas sedan via lysering och leukocyterna, som inte påverkas av denna process, analyseras med flödescytometri.

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

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

AVSEDD ANVÄNDARE

Denna produkt är avsedd för yrkesmässig laboratorieanvändning.

KLINISK RELEVANS

CD5-PC5 är en CD5-antikropp som används för att identifiera och egenskapsbestämma celler som uttrycker CD5-antigenen med hjälp av flödescytometri. Denna produkt kan inte och är inte avsedd för att ta fram en diagnostisk slutsats.

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

- Som hjälp vid differentialdiagnostisering av hematologiskt onormala patienter som misstänks ha en hematopoetisk tumör eller för övervakning av patienter med känd hematopoetisk tumör.
- Som hjälp vid prognostisering av patienter med blodsjukdomar.

Se följande referenser:

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

PROV

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

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

Proverna måste analyseras inom 24 timmar efter venpunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analyscertifikat på www.beckman.com.

VARNING OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Använd inte reagenset efter utgångsdatumet.
2. Får ej frysas.
3. Låt den komma till rumstemperatur (18–25 °C) före användning.
4. Minimera exponering för ljus.
5. Undvik mikrobiell kontaminering av reagens. Det kan leda till felaktiga resultat.
6. Antikroppslösningar som innehåller natriumazid (NaN_3) bör hanteras med försiktighet. Inta inte internt och undvik all kontakt med hud, slemhinnor och ögon.

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

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

RISKKLASSIFICERING ENLIGT GHS

Ej klassat som farligt

SDS Säkerhetsdatablad finns tillgängligt på beckmancoulter.com/techdocs

FÖRVARING OCH STABILITET

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

Hållbarhet för sluten ampull per stabilitetsstudie: 1095 dagar.

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

TECKEN PÅ FÖRSÄMRING

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

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

INNEHÅLL

Konserveringsmedlet natriumazid kan bilda explosiva föreningar i avloppsledningar av metall. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (76-8-16) (Bulletin från den amerikanska motsvarigheten till arbetsmiljöverket: Fara för azidexplosion).
För att undvika risken för ansamling av azidföreningar ska avloppsrören spolas igenom med vatten efter att outspädda reagenser har kasserats. Kassering av natriumazid måste ske i enlighet med tillämpliga lokala regler.

MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE FÖLJER MED KITET:

- Provrör och nödvändigt material för provtagning.
- Automatiska pipetter med engångsspetsar för 10, 100 och 500 µL.
- Hemolysrör av plast.
- Lyseringsreagens för röda blodceller med tvätt efter lyseringen. Till exempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens för leukocytfixering. Till exempel: IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800).
- Isotyp-kontroll PC5: IOTest-reagens (ref. A09148).
- Buffert (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Centrifugera.
- Automatisk omrörare (Vortex-typ).
- Flödescytometer.

PROCEDUR MED VERSALYSE-REAGENS

För varje analyserat prov kan förutom provröret ett kontrollprovrör läggas till i vilket cellerna blandas i närvaro av isotypkontrollerna (ref. A09148).

1. Tillsätt 10 µL av specifik IOTest-konjugerad antikropp till varje provrör och vid behov 10 µL av isotypkontroll till varje kontrollprovrör.
2. Tillsätt 100 µL av testprovet i varje provrör. Vortexblanda provrören försiktigt.
3. Inkubera i 15 till 20 minuter vid rumstemperatur (18–25 °C) och skyddat mot ljus.
4. Utför sedan lysering av de röda blodkropparna. Se bladet VersaLyse (ref. A09777) och följ företrädesvis proceduren som benämns ”med samtidig fixering”, som består av att tillsätta 1 mL av ”Fixera-och-lysera”-blandningen som beretts strax innan. Vortexblanda omedelbart i en sekund och inkubera i 10 minuter vid rumstemperatur och skyddat mot ljus.
5. Centrifugera i 5 minuter vid 150 x g vid rumstemperatur.
6. Avlägsna ytskiktet genom aspiration.
7. Återsuspendera cellpelleten med 3 mL PBS.
8. Upprepa steg 5.
9. Avlägsna ytskiktet genom aspiration och återsuspendera cellpelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL av PBS plus 0,1 % formaldehyd om preparaten är avsedda att förvaras mindre än 24 timmar. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan erhållas genom spädning av 12,5 µL av IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800) i dess 10X-koncentration i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS utan formaldehyd, om preparaten är avsedda att analyseras inom 2 timmar.

Anmärkning: Behåll i samtliga fall beredningarna vid 2 till 8 °C och skyddade från ljus.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

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

Positivt mål	Nummer	Medelvärde (%)	SD	CV (%)
Lymfocyter	25	71,40	9,45	13,23

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

PRESTANDA

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

SPECIFICITET

CD5-molekylen uttrycks på ytan av mogna T-lymfocyter, av de flesta tymocyter och en undergrupp av B-lymfocyter (11,12,13). CD5 uttrycks i en delmängd av B-celler som utsöndrar IgM på grund av brist på enzymet terminal deoxinukleotidyltransferas (TdT) som ser ut att minska aktivering av BSR och därmed minska autoreaktivitet (autoimmun reaktion). Däremot uttrycker T-celler högre nivåer av CD5 än B-celler. CD5 uppregleras på T-celler vid stark aktivering. I tymus finns det en korrelation med CD5-uttryck och styrkan i T-cellens interaktion mot självpeptider. CD5-uttryck återfinns inte i granulocyter, monocyter och blodplättar (13). Den monoklonala antikroppen BL1a tilldelades till CD5 under 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3:e HLDA workshop om differentieringsantigener på humana leukocyter) som hölls i Oxford, England, 1986 (kod WS: 520, sektion T) (11,12).

PRECISION

Procentvärdet för positiva värden bestämdes med helblod. Varje prov kördes 4 gånger, två gånger om dagen under 1 dag på 2 instrument med 2 loter CD5-PC5 monoklonala antikroppsreagens. Mätningar (% positiva) utfördes på Navios flödescytometer. Analys utfördes baserat på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Utvärdering av precisionsprestanda för kvantitativa mätmetoder).

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

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

Lymfocyter							
Antal positiva händelse (medelvärde) = 2823							
	Mellan operatörer	Mellan cytometrar	Inom lot	Mellan loter	Mellan körningar	Inom körning	Totalt
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
RESULTAT	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NOGGRANNHET

Noggrannheten hos CD5-PC5 bedömdes genom att jämföra resultaten med en referensreagens som predikat på en uppsättning helblodsprov körda på en Navios flödescytometer. Bias mellan test- och referensreagens bestämdes baserat på skillnaden mellan testresultat. Om bias ligger inom tillåtet felintervall eller p-värdet anger att det inte finns någon signifikant skillnad (> 0,05), så anses testresultaten för de två reagenserna vara likvärdiga.

Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell nedan:

Antal donatorer = 25				
Positivt mål	Medelvärde Δ	Δ % cellkriterier	p-värde	RESULTAT
Lymfocyter	0,90	<5	0,001	PASS

BLANKGRÄNS OCH DETEKTIONSGRÄNS

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

Positive Target	Blankgräns (cell/µL)	Detektionsgräns (cell/µL)
Lymfocyter	4	6

BEGRÄNSNINGAR

1. Flödescytometri kan ge falska resultat om cytometern inte har justerats perfekt, om fluorescensläckor inte har kompenserats korrekt och om regionerna inte har placerats noggrant.
2. Det är bäst att använda en RBC-lyseringsteknik med ett tvättsteg, eftersom denna reagens inte optimerats för lyseringstekniker ”utan tvätt”.
3. Noggranna och reproducerbara resultat kommer att erhållas så länge de förfaranden som används är i enlighet med den tekniska bipacksedeln och förenliga med god laboratoriepraxis.
4. Den konjugerade antikroppen för detta reagens är kalibrerad för att erbjuda det bästa specifik signal/icke-specifik signal-förhållandet. Därför är det viktigt att följa reagensvolym/provvolym-förhållandet i varje test.
5. Vid hyperleukocytos, späd blodet i PBS för att erhålla ett värde på cirka 5 x 10^9 leukocyter/L (14).
6. Vid vissa sjukdomstillstånd, såsom vid mycket svår njursvikt eller hemoglobinopatier, kan lysering av röda celler vara långsam, ofullständig eller till och med omöjlig. I detta fall är det rekommenderat att isolera mononukleära celler med användning av en densitetsgradient (till exempel Ficoll) innan färgningen (15).
7. På grund av fluorokromets tandemstruktur avger PC5 även ljus med 575 nm. Denna sekundära emissionstopp varierar från lot till lot av PC5. För flerfärgsanalys ska kompenseringsmatrisen därför noggrant kontrolleras vid byte av lot för ett PC5-konjugat.
8. Hos patienter som behandlas med anti-human monoklonala antikroppar kan detektering av de specifika eftersökta antigenerna minska eller utebli på grund av delvis eller fullständig blockering från behandlingens antikropp.
9. Resultat för CD5-PC5 bör tolkas med tanke på patientens totala kliniska bild, inklusive: symptom, anamnes, information från övriga test och annan lämplig information.

Se bilagan för exempel och referenser.

VARUMÄRKEN

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

YTTERLIGARE INFORMATION

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

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

REVISIONSHISTORIK

REVIDERING AC:	Publiceringsdatum: Oktober 2019

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

REVISION	**Publiceringsdatum**
AX	April 2023
Uppdaterade avsnitt	Lägg till kazakiska
Uppdaterade avsnitt	Förvaring och hållbarhet

Reviderad version	AY
Datum för revidering	Maj 2024
Uppdaterade översättningar	**Klinisk relevans:**
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Reviderad version	AZ
Datum för revidering	Juli 2024
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Teckenförklaring för symboler

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

	Spesifikasjoner
Spesifisitet	CD5
Klon	BL1a
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobulin	IgG2a
Art	Mus
Rensing	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molart forhold	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
λ-eksitasjon	488 nm
Strålingstopp	670 nm
Buffer	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/mL BSA og 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugert antistoff CD5-PC5

REF A07754 100 tester; 1 mL, 10 µL / test

For *in vitro*-diagnostisk bruk

TILTENKT BRUK

Dette fluorokromkonjugerte antistoffet muliggjør kvalitativ og ikke-automatisert identifisering av cellepopulasjoner som uttrykker CD5-antigenet som finnes i humane biologiske prøver, ved hjelp av flowcytometri (se avsnittet «Prøver» nedenfor).

PRINSIPP

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

Spesifikk farging av leukocyttene utføres ved inkubering av prøven med IOTest-reagenset. De røde cellene fjernes deretter ved lysering, og leukocyttene, som er uberørt av denne prosessen, analyseres ved flowcytometri.

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

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

TILTENKT BRUKER

Dette produktet skal brukes av profesjonelle brukere på laboratorier.

KLINISK RELEVANS

CD5-PC5 er et CD5-antistoff som brukes til å identifisere og karakterisere celler som uttrykker CD5-antigenet, ved hjelp av flowcytometri. Dette produktet alene kan ikke og er ikke ment å generere en diagnostisk konklusjon.

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

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

Se følgende referanser:

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

PRØVER

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

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

Prøvene må analyseres innen 24 timer etter venepunksjon.

KONSENTRASJON

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

ADVARSEL OG FORHOLDSREGLER

1. Reagenset må ikke brukes etter utløpsdatoen.
2. Må ikke fryses.
3. La det nå romtemperatur (18–25 °C) før bruk.
4. Bør ikke utsettes for lys.
5. Unngå mikrobiell kontaminering av reagensene, ellers kan det gi feil resultater.
6. Antistoffløsninger som inneholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsiktighet. Ikke til innvortes bruk. Unngå all kontakt med hud, slimhinner og øyne.

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

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

GHS-FAREKLASSIFISERING

Ikke klassifisert som farlig

SDS Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPPBEVARING OG STABILITET

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

Holdbarhet i lukket flaske ifølge stabilitetsstudie: 1095 dager.

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

TEGN PÅ FORRINGELSE

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

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

INNHOLD

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

NØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE FØLGER MED SETTET:

- Prøvetakingsrør og materiale nødvendig for prøvetaking.
- Automatiske pipetter med engangsspisser til 10, 100 og 500 µL.
- Hemolyserør av plast.
- Rød cellelyseringsreagens med vasketrinn etter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Leukocytt-fikseringsreagens. For eksempel: IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800).
- -isotypekontroll PC5: IOTest-reagens (ref. A09148).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Sentrifuger.
- Automatisk omrører (vortekstype).
- Flytcytometer.

PROSEDYRE MED VERSALYSE-REAGENS

For hver prøve som analyseres, kan det i tillegg til testrøret legges til ett kontrollrør hvor cellene er blandet med tilstedeværelse av isotypekontrollen (ref. A09148).

1. Tilsett 10 µL spesifikt IOTest-konjugert antistoff i hvert testrør og ved behov 10 µL av isotypekontrollen i hvert kontrollrør.
2. Tilsett 100 µL av testprøven i hvert rør. Vorteks rørene forsiktig.
3. Inkuber i 15 til 20 minutter ved romtemperatur (18–25 °C), beskyttet mot lys.
4. Utfør deretter lysering av de røde blodcellene. Les brosjyren VersaLyse (ref. A09777), og prøv å følge prosedyren kalt «with concomitant fixation» (med samtidig fiksering) som består av å tilsette 1 mL av «fikserings- og lyseringsblandingen» som klargjøres prompte. Bland på vorteksmikser umiddelbart i ett sekund, og inkuber i 10 minutter ved romtemperatur, beskyttet mot lys.
5. Sentrifugeres i 5 minutter ved 150 x g ved romtemperatur.
6. Fjern supernatanten ved aspirasjon.
7. Resuspender cellepelleten i 3 mL PBS.
8. Gjenta trinn 5.
9. Fjern supernatanten ved aspirasjon, og resuspender cellepelleten ved hjelp av:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS pluss 0,1 % formaldehyd hvis preparatene skal oppbevares i mindre enn 24 timer. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan oppnås ved å fortynne 12,5 µL IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800) ved 10X konsentrasjon i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uten formaldehyd hvis preparatene skal analyseres innen 2 timer.

Merk: I alle tilfeller skal preparatene oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttet mot lys.

FORVENTEDE VERDIER

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

Positivt mål	Nummer	Gjennomsnitt (%)	SD	VK (%)
Lymfocytter	25	71,40	9,45	13,23

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

YTELSE

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

SPESIFISITET

CD5-molekylet uttrykkes på overflaten av modne T-lymfocytter, av flertallet av thymocytter og av en underpopulasjon av B-lymfocytter (11,12,13). CD5 uttrykkes i en undergruppe av IgM-utskillende B-celler på grunn av mangel på enzymet terminal deoksynukleotidyltransferase (TdT) som synes å redusere aktiveringen av BSR og derfor redusere autoreaktivitet (autoimmunreaksjon). Tvert imot uttrykker T-celler høyere nivåer av CD5 enn B-celler. CD5 er oppregulert på T-celler ved sterk aktivering. I thymus er det en korrelasjon med CD5-uttrykk og styrken av interaksjonen av T-cellen mot selvpeptider. CD5-uttrykk er ikke blitt funnet i granulocytter, monocytter og blodplater (13). Det monoklonale antistoffet BL1a ble tildelt til CD5 under 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3. HLDA-workshop for humane leukocyttdifferenseringsantigener), avholdt i Oxford, England, i 1986 (kode WS: 520, avsnitt T) (11,12).

PRESISJON

Prosentandelen positive verdier ble bestemt med fullblod. Hver prøve ble kjørt 4 ganger, to ganger om dagen i 1 dag på 2 instrumenter med 2 partier CD5-PC5 monoklonale antistoffreagenser. Målinger (% positiv) ble foretatt på et Navios-flytcytometer. Analysen ble utført basert på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering av presisjonsytelse ved kvantitative målemetoder).

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

- Hvis positiv hendelse < 1 500, VK < 15 %
- Hvis positiv hendelse > 1 500, VK < 10 %

Lymfocytter							
Antall positive hendelser (gjennomsnitt) = 2823							
	Mellom operatører	Mellom cytometere	Innenfor samme lot	Mellom loter	Mellom kjøringer	Innenfor samme kjøring	Total
VK (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØYAKTIGHET

Nøyaktigheten til CD5-PC5 ble vurdert ved å sammenligne resultatene med et referansereagens som predikatet på et sett med fullblodsprøver kjørt på et Navios-flytcytometer. Skjevheten mellom test- og referansereagens ble bestemt basert på forskjellen mellom testresultater. Hvis skjevheten er innenfor det tillatte feilområdet eller p-verdien angir ingen vesentlig forskjell (> 0,05), anses testresultatene for de to reagensene som tilsvarende.

De oppnådde resultatene er oppsummert i den følgende tabellen:

Antall donorer = 25				
Positivt mål	Gjennomsnittlig Δ	Δ % cellekriterier	p-verdi	RESULTATER
Lymfocytter	0,90	<5	0,001	PASS

GRENSE FOR BLANKPRØVE OG DETEKSJONSGRENSE

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

Positive Target	Grense for blankprøve (celle/µL)	Deteksjonsgrense (celle/µL)
Lymfocytter	4	6

BEGRENSNINGER

1. Flowcytometri kan gi falske resultater hvis cytometeret ikke har blitt justert nøyaktig, hvis fluorescenslekkasjer ikke er kompensert riktig, og hvis regionene ikke er nøye plassert.
2. Det er best å bruke en RBC-lyseringsteknikk med et vasketrinn, ettersom dette reagenset ikke er optimert for lyseringsteknikker uten vask.
3. Nøyaktige og reproduserbare resultater vil oppnås så lenge de anvendte prosedyrene er i samsvar med det tekniske pakningsvedlegget og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerte antistoffet til dette reagenset er kalibrert for å oppnå best mulig forhold mellom spesifikt signal og ikke-spesifikt signal. Derfor er det viktig å overholde forholdet mellom reagensvolum og prøvevolum i hver test.
5. Ved hyperleukocytose fortynnes blodet i PBS for å oppnå en verdi på omtrent 5 x 10^9 leukocytter/L (14).
6. Ved visse sykdomstilstander, for eksempel alvorlig nyresvikt eller hemoglobinopatier, kan lyseringen av røde celler være langsom, ufullstendig eller til og med umulig. I dette tilfellet anbefales det å isolere mononukleærerte celler ved hjelp av en densitetsgradient (for eksempel Ficoll) før farging (15).
7. På grunn av fluorokromets tandemstruktur utstråler PC5 også lys ved 575 nm. Denne andre strålingstoppen varierer fra lot til lot for PC5. Derfor bør kompensasjonsmatrisen for flerfargeanalyse kontrolleres nøye ved bytte av loten med et -PC5-konjugat.
8. Hos pasienter som behandles med antihumane, monoklonale antistoffbehandlinger, kan deteksjon av bestemte målantigener reduseres eller være fraværende på grunn av delvis eller fullstendig blokkering av det terapeutiske antistoffet.
9. CD5-PC5-resultatene skal tolkes i lys av den totale kliniske vurderingen av pasienten, inkludert: symptomer, klinisk historie, data fra flere tester og annen aktuell informasjon.

Se vedlegget for eksempler og referanser.

VAREMERKER

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

TILLEGGSINFORMASJON

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

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

REVISJONSHISTORIE

REVISJON AC:	Utgivelsesdato: Oktober 2019

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

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AX	april 2023
Oppdaterte avsnitt	Lagt til kasakhisk
Oppdaterte avsnitt	Oppbevaring og stabilitet

Revidert versjon	AY
Revisjonsdato	mai 2024
Oppdatert oversettelser	**Klinisk relevans:**
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Revidert versjon	AZ
Revisjonsdato	juli 2024
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Symbolforklaring

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

	Tekniset tiedot
Spesifisyys	CD5
Klooni	BL1a
Hybridooma	SP2/0 x balb/c
Immunogeeni	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobuliini	IgG2a
Lajit	Hiiri
Puhdistus	Affiniteettikromatografia
Fluorokromi	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Moolisuhde	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
λ-viritys	488 nm
Säteilyhuippu	670 nm
Puskuri	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA:ta ja 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugoitunut vasta-aine CD5-PC5

REF A07754 100 testiä; 1 ml, 10 µl / test

Diagnostiseen *In Vitro* -käyttöön

KÄYTTÖTARKOITUS

Tämän fluorokromikonjugoidun vasta-aineen avulla voidaan kvalitatiivisesti ja muilla kuin automaattisilla tavoilla tunnistaa solupopulaatioita, jotka ilmentävät ihmisen biologisissa näytteissä esiintyvää CD5-antigeeniä virtaussytometriaa käyttämällä (katso jäljempää kohta Näytteet).

PERIAATE

Testi perustuu tiettyjen monoklonaalisten vasta-aineiden kykyyn sitoutua leukosyyttien ilmentämiin antigeenideterminantteihin.

Leukosyyttien spesifinen värjäys tehdään inkuboimalla näyte IOTest-reagenssilla. Punasolut poistetaan sen jälkeen lyysaamalla, ja leukosyytit, joihin tämä prosessi ei vaikuta, analysoidaan virtaussytometrialla.

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

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

AIOTTU KÄYTTÄJÄ

Tämä tuote on tarkoitettu ammattimaiseen laboratoriokäyttöön.

KLIININEN RELEVANSSI

CD5-PC5 on CD5-vasta-aine, jonka avulla tunnistetaan ja karakterisoidaan CD5-antigeenia ilmentävät solut virtaussytometrialla. Tämä tuote yksinään ei voi eikä sen ole tarkoitus tuottaa mitään diagnostisia johtopäätöksiä.

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

- Erotusdiagnostiikan tueksi hematologisesti poikkeavilla potilailla, joilla epäillään olevan hematopoieettisia kasvaimia, ja sellaisten potilaiden seurantaan, joilla tiedetään olevan hematopoieettisia kasvaimia.
- Avuksi ennusteen tekemiseen potilaista, joilla on hematopoieettinen neoplasma.

Katso seuraavat viitteet:

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

NÄYTTEET

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

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

Näytteet on analysoitava 24 tunnin sisällä laskimopunktiosta.

PITOISUUS

Katso eräkohtainen analyysitodistus osoitteesta www.beckman.com.

VAROITUS JA VAROTOIMET

1. Älä käytä reagenssia viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
2. Ei saa jäätyä.
3. Anna sen lämmetä huoneenlämpöiseksi (18–25 °C) ennen käyttöä.
4. Minimoi altistuminen valolle.
5. Vältä reagenssien mikrobikontaminaatiota, muutoin vaarana ovat virheelliset tulokset.
6. Natriumatsidia (NaN_3) sisältäviä vasta-aineliuoksia tulee käsitellä varoen. Sitä ei saa niellä, ja sen joutumista iholle, limakalvoille ja silmiin on vältettävä.

Lisäksi happamassa liuoksessa natriumatsidi voi muodostaa mahdollisesti vaarallista hydratsoehappoa. Jos reagenssi on hävitettävä, se on suositeltavaa laimentaa suureen vesimäärään ennen sen kaatamista viemäriin, jotta natriumatsidia ei pääse kertymään metalliputkiin ja vältetään räjähdysvaara.

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

GHS-VAARALUOKITUS

Ei luokiteltu vaaralliseksi

SDS Käyttöturvallisuustiedote on saatavana osoitteessa beckmancoulter.com/techdocs

SÄILYTYS JA STABILITEETTI

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

Suljetun ampullin säilyvyysaika stabiliteettitutkimuksen mukaan: 1095 päivää.

Avatun ampullin stabiliteetti: reagenssi on stabiili 180 päivän ajan.

MERKIT PILAANTUMISESTA

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

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

SISÄLTÖ

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

TARVITTAVAT MATERIAALIT, JOITA EI TOIMITETA SARJAN MUKANA:

- Näytteenottoon tarvittavat näytteenottoputket ja materiaalit.
- Automaattiset pipetit, joissa kertakäyttökärjet 10, 100 ja 500 µl.
- Muoviset hemolyysiputket.
- Punasolujen lyysireagenssi ja pesuvaihe lyysin jälkeen. Esimerkiksi: VersaLyse (viite A09777).
- Leukosyyttien kiinnitysreagenssi. Esimerkiksi: IOTest 3 -fiksatiiviliuos (viite A07800).
- Isotyyppinen kontrolli PC5: IOTest-reagenssi (viite A09148).
- Puskuri (PBS: 0,01 M natriumfosfaattia, 0,145 M natriumkloridia, pH 7,2).
- Sentrifugi.
- Automaattinen sekoitin (Vortex-/pyörretyyppinen).
- Virtaussytometri.

VERSALYSE-REAGENSSIN MENETTELY

Jokaiselle analysoidulle näytteelle voidaan lisätä testiputken lisäksi yksi kontrolliputki, jossa solut sekoitetaan käyttämällä isotyyppistä kontrollia (ref. A09148).

1. Lisää 10 µl spesifisiä IOTest-konjugoituja vasta-aineita jokaiseen testiputkeen ja tarvittaessa 10 µl isotyyppistä kontrollia jokaiseen kontrolliputkeen.
2. Lisää 100 µl testinäytettä kuhunkin putkeen. Sekoita putkia vorteksilla varovaisesti.
3. Inkuboi 15–20 minuuttia huoneenlämmössä (18–25 °C), valolta suojattuna.
4. Tee sitten punasolujen lyysaus. Tutustu VersaLyse (viite A09777) -selosteeseen ja noudata mieluiten menettelyä, jonka nimessä on maininta ”rinnakkaiskiinnityksen kanssa” ja johon sisältyy ohje lisätä 1 ml kiinnitys- ja lyysiseosta, joka on valmistettu kyseistä tapausta varten. Sekoita välittömästi vorteksilla yhden sekunnin ajan ja inkuboi 10 minuuttia huoneenlämmössä, valolta suojattuna.
5. Sentrifugoi 150 x g 5 minuutin ajan huoneenlämmössä.
6. Poista supernatantti aspiroimalla.
7. Suspendoi solupelletti uudelleen käyttämällä 3 ml PBS:ää.
8. Toista vaihe 5.
9. Poista supernatantti aspiroimalla ja suspendoi solupelletti käyttämällä:

- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää plus 0,1 % formaldehydiä, jos valmisteet aiotaan säilyttää alle 24 tuntia. (0,1 % formaldehydiä sisältävä PBS saadaan laimentamalla 12,5 µl IOTest 3 -fiksatiiviliuosta (viite A07800) sen 10-kertaisella pitoisuudella 1 ml:aan PBS:ää).
- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää ilman formaldehydiä, jos valmisteet tullaan analysoimaan 2 tunnin sisällä.

Huomautus: Pidä valmisteet kaikissa tapauksissa 2–8 °C:n lämpötilassa ja valolta suojattuna.

ODOTETUT ARVOT

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

Positiivinen kohde	Lukumäärä	Keskiarvo (%)	SD	CV (%)
Lymfosyytit	25	71,40	9,45	13,23

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

SUORITUSKYKY

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

SPESIFISYYS

CD5-molekyyliä ilmennetään kypsien T-lymfosyyttien pinnalla, useimmissa tymosyyteissä ja B-lymfosyyttien alipopulaatiossa (11,12,13). CD5-antigeeniä ilmennetään IgM:ää erittävien B-solujen alijoukossa entsyymiterminaalisen deoksinukleotiditransferaasin (TdT) puuttumisen vuoksi, mikä vaikuttaa lieventävän BSR-solujen aktivointia ja näin ollen vähentää autoreaktiivisuutta (autoimmuunireaktio). Sitä vastoin T-solut ilmentävät korkeampia CD5-pitoisuuksia kuin B-solut. CD5:n määrä lisääntyy T-soluissa voimakkaan aktivoinnin yhteydessä. Kateenkorvassa CD5:n ilmentäminen korreloi T-solujen omapeptideihin kohdistuvan vuorovaikutuksen voimakkuuden kanssa. CD5-antigeeniä ei ilmennetä granulosyyteissä, monosyyteissä ja verihiutaleissa (13). Monoklonaalinen vasta-aine BL1a määritettiin kuuluvaksi ryhmään CD5 kolmannessa ihmisleukosyyttien differentiaatioantigeenejä käsitelleessä seminaarissa (Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens, HLDA), joka pidettiin Oxfordissa, Englannissa, vuonna 1986 (WS-koodi: 520, kohta T) (11,12).

TARKKUUS

Prosentuaaliset positiiviset arvot määritettiin käyttämällä kokoverta. Jokainen näyte käsiteltiin 4 kertaa, kahdesti päivässä päivänä 1 2 laitteessa käyttämällä 2 erää CD5-PC5 monoklonaalisia vasta-ainereagensseja. Mittaukset (% positiivisia) tehtiin Navios-virtaussytometrillä. Analyysi tehtiin perustuen CLSI:n menetelmään EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivisten mittausmenetelmien tarkkuussuorituskyvyn arviointi).

Hyväksyntäkriteerimme on riippuvainen kussakin populaatiossa mitattujen positiivisten tapahtumien määrästä:

- Jos tapahtuma on positiivinen < 1 500, CV < 15 %
- Jos tapahtuma on positiivinen > 1 500, CV < 10 %

Lymfosyytit							
Positiivisten näytteiden lukumäärä (keskiarvo) = 2823							
	Käyttäjien välinen	Sytometrin sisäinen	Erän sisäinen	Erien välinen	Ajojen välinen	Ajon sisäinen	Yhteensä
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
TULOKSET	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ULKOINEN TARKKUUS

Kohteen CD5-PC5 tarkkuus arvioitiin vertaamalla tuloksia viitereagenssiin, joka toimi Navios-virtaussytometrilla käsitellyn kokoverinäytesarjan predikaattina. Testireagenssin ja vertailureagenssin välinen poikkeama määritettiin testitulosten välisen eron perusteella. Jos poikkeama on sallitun virhealueen rajoissa tai p-arvo ei osoita merkityksellistä eroa (> 0,05), näiden kahden reagenssin testituloksia pidetään vastaavina.

Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Luovuttajien määrä = 25				
Positiivinen kohde	Keskiarvo Δ	Δ % -solukriteeri	p-arvo	TULOKSET
Lymfosyytit	0,90	<5	0,001	PASS

NOLLAMITTAUKSEN YLÄRAJA JA MITTAUKSEN ALARAJA

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

Positive Target	Nollamittauksen yläraja (solu/µl)	Mittauksen alaraja (solu/µl)
Lymfosyytit	4	6

RAJOITUKSET

1. Virtaussytometrialla saadut tulokset voivat olla virheellisiä, jos sytometri on kohdistettu epätarkasti, jos fluoresenssivuotoja ei ole kompensoitu oikein ja jos alueita ei ole sijoitettu tarkasti.
2. On suositeltavaa käyttää punasolujen lyysaukseen pesuvaiheen sisältävää tekniikkaa, koska tätä reagenssia ei ole optimoitu lyysaustekniikoille, joihin ei sisälly pesua.
3. Tulokset oivat tarkkoja ja toistettavissa, kunhan käytetyt menetelmät ovat teknisen selosteen mukaisia ja noudattavat hyviä laboratoriokäytäntöjä.
4. Tämän reagenssin konjugoitu vasta-aine kalibroidaan siten, että saadaan paras spesifisen signaalin ja epäspesifisen signaalin suhde. Siksi on tärkeää noudattaa reagenssin tilavuuden / näytteen suhdetta jokaisessa testissä.
5. Jos kyseessä on hyperleukosytoosi, laimenna veri PBS:ään siten, että saat arvoksi noin 5 x 10^9 leukosyyttiä/l (14).
6. Tietyissä sairaustiloissa, kuten vaikeassa munuaisten vajaatoiminnassa tai hemoglobinopatioissa, punasolujen hajoaminen voi olla hidasta, epätäydellistä tai jopa mahdotonta. Tässä tapauksessa yksitumaiset solut on suositeltavaa eristää käyttämällä tiheysgradienttia (esimerkiksi Ficoll) ennen värjäystä (15).
7. Fluorokromin tandemrakenteen vuoksi PC5 säteilee valoa myös aallonpituudella 575 nm. Tämä sekundäärinen emissiohuippu vaihtelee PC5-erien välillä. Siksi monivärianalyysissä kompensaatiomatriisi on tarkistettava huolellisesti, kun -PC5-konjugaatin erää vaihdetaan.
8. Potilailla, joita on hoidettu muun kuin ihmisen monoklonaalisilla vasta-aineilla, kohdeantigeenin havaitseminen voi heikentyä tai estyä osittain tai kokonaan hoidossa käytetyn vasta-aineen vaikutuksesta.

9. CD5-PC5-tulosten tulkinnassa on otettava huomioon potilaan kaikki kliiniset tiedot, mukaan lukien oireet, kliininen historia, lisätestien tiedot ja muut asianmukaiset tiedot.

Katso esimerkkejä ja viitteitä liitteestä.

TAVARAMERKIT

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

LISÄTIETOJA

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

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

TARKISTUSHISTORIA

VERSIO AC:	Julkaisupäivä: Lokakuu 2019

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

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AX	Huhtikuu 2023
Päivitetyt osat	Lisää kazakki
Päivitetyt osat	Säilytys ja stabiliteetti

Tarkistettu versio	AY
Tarkistuksen päivämäärä	Toukokuu 2024
Päivitetyt käännökset	**Kliininen merkitys:**
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Tarkistettu versio	AZ
Tarkistuksen päivämäärä	Heinäkuu 2024
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Symboliluettelo

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

	Προδιαγραφές
Ειδικότητα	CD5
Κλώνος	BL1a
Υβρίδωμα	SP2/0 x balb/c
Ανοσογόνο	Lymphocytes from human thoracic duct
Ανοσοσφαιρίνη	IgG2a
Είδος	Μυς
Κάθαρση	Χρωματογραφία συγγένειας
Φθορόχρωμα	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Γραμμομοριακή αναλογία	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
διέγερση λ	488 nm
Μέγιστη τιμή εκπομπών	670 nm
Ρυθμιστικό Διάλυμα	PBS pH 7,2 συν 2 mg/mL BSA και 0,1% NaN_3

IOTest
Συζευγμένο αντίσωμα
CD5-PC5

REF A07754 100 δοκιμασίες, 1 mL, 10 µL / test

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Αυτό το συζευγμένο με φθοροχρώματα αντίσωμα επιτρέπει την ποιοτική και μη αυτοματοποιημένη ταυτοποίηση των κυτταρικών πληθυσμών που εκφράζουν το αντιγόνο CD5 που απαντάται σε ανθρώπινα βιολογικά δείγματα, με χρήση κυτταρομετρίας ροής (δείτε την παρακάτω ενότητα «Δείγματα»).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

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

Η ειδική χρώση των λευκοκυττάρων πραγματοποιείται μέσω της επώασης του δείγματος με το αντιδραστήριο IOTest. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια αφαιρούνται στη συνέχεια με λύση και τα λευκοκύτταρα, τα οποία δεν επηρεάζονται από αυτήν τη διαδικασία, αναλύονται με κυτταρομετρία ροής.

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

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

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΟΣ ΧΡΗΣΤΗΣ

Αυτό το προϊόν προορίζεται για επαγγελματική εργαστηριακή χρήση.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΝΑΦΕΙΑ

Το CD5-PC5 είναι ένα αντίσωμα CD5 που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό κυττάρων που εκφράζουν το αντιγόνο CD5 με κυτταρομετρία ροής. Αυτό το προϊόν από μόνο του δεν μπορεί να παράγει οποιοδήποτε διαγνωστικό συμπέρασμα και δεν προορίζεται για αυτήν τη χρήση.

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

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

Δείτε τις ακόλουθες παραπομπές:

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

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

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

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

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

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ

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

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

1. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης.
2. Μην καταψύχετε.
3. Αφήστε το να περιέλθει σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) πριν από τη χρήση.
4. Ελαχιστοποιήστε την έκθεση στο φως.

5. Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διαφορετικά ενδέχεται να προκύψουν ψευδή αποτελέσματα.
6. Να χειρίζεστε τα διαλύματα αντισωμάτων που περιέχουν αζίδιο του νατρίου (NaN_3) με προσοχή. Μην εισπνέετε και αποφεύγετε κάθε επαφή με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.

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

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ GHS

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο

SDS Το δελτίο δεδομένων ασφάλειας διατίθεται στη διεύθυνση beckmancoulter.com/techdocs

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

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

Διάρκεια ζωής κλειστού φιαλιδίου ανά μελέτη σταθερότητας: 1095 ημέρες.

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

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ

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

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

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Το συντηρητικό αζιδίου του νατρίου μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικές ενώσεις στους μεταλλικούς αποχετευτικούς αγωγούς. Δείτε το ενημερωτικό δελτίο του NIOSH: Explosive Azide Hazard (Κίνδυνος έκρηξης αζιδίου) (16/8/76)
Για να αποφύγετε την ενδεχόμενη συσσώρευση ενώσεων αζιδίου, να εκπλένετε τους σωλήνες αποβλήτων με νερό μετά την απόρριψη μη αραιωμένου αντιδραστηρίου. Η απόρριψη του αζιδίου του νατρίου πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους αντίστοιχους τοπικούς κανονισμούς.

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΚΙΤ:

- Σωλήνες δειγματοληψίας και υλικό που είναι απαραίτητο για τη δειγματοληψία.
- Αυτόματες πιπέτες με ρύγχη μιας χρήσης για 10, 100 και 500 µL.
- Πλαστικά σωληνάρια αιμόλυσης.
- Αντιδραστήριο λύσης ερυθροκυττάρων με στάδιο πλύσης μετά τη λύση. Για παράδειγμα: VersaLyse (Ref. A09777).
- Αντιδραστήριο μονιμοποίησης λευκοκυττάρων. Για παράδειγμα: Διάλυμα μονιμοποίησης IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ισοτυπικός μάρτυρας PC5: Αντιδραστήριο IOTest (Ref. A09148).
- Ρυθμιστικό διάλυμα (PBS: 0,01 M φωσφορικό νάτριο, 0,145 M χλωριούχο νάτριο, pH 7,2).
- Φυγόκεντρος.
- Αυτόματος αναδευτήρας (τύπου περιδίνησης).
- Κυτταρόμετρο ροής.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ VERSALYSE

Για κάθε δείγμα που αναλύεται, εκτός του σωληναρίου εξέτασης, μπορεί να προστεθεί ένα σωληνάριο μάρτυρα μέσα στο οποίο αναμειγνύονται τα κύτταρα παρουσία του ισοτυπικού μάρτυρα (Ref. A09148).

1. Προσθέστε 10 µL ειδικού συζευγμένου αντισώματος IOTest σε κάθε δοκιμαστικό σωληνάριο και, εάν απαιτείται, 10 µL του ισοτυπικού μάρτυρα σε κάθε σωληνάριο μάρτυρα.
2. Προσθέστε 100 µL του αναλυόμενου δείγματος σε κάθε σωληνάριο. Περιδινήστε απαλά τα σωληνάρια.
3. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) για 15 έως 20 λεπτά, προστατεύοντας από το φως.
4. Στη συνέχεια, πραγματοποιήστε λύση των ερυθροκυττάρων. Ανατρέξτε στο φύλλο οδηγιών του VersaLyse (Ref. A09777) και ακολουθήστε κατά προτίμηση τη διαδικασία «με ταυτόχρονη μονιμοποίηση», που περιλαμβάνει την προσθήκη 1 mL μείγματος «μονιμοποίησης και λύσης», το οποίο παρασκευάστηκε πρόχειρα. Περιδινήστε αμέσως επί ένα δευτερόλεπτο και επωάστε επί 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, προστατεύοντας από το φως.
5. Φυγοκεντρήστε για 5 λεπτά στα 150 x g σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση.
7. Πραγματοποιήστε επαναιώρηση του κυτταρικού ιζήματος με 3 mL PBS.
8. Επαναλάβετε το βήμα 5.
9. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση και επαναιωρήστε το κυτταρικό ίζημα με:

- 0,5 mL ή 1 mL PBS συν 0,1% φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να φυλαχθούν για λιγότερο από 24 ώρες. (Μπορείτε να παρασκευάσετε διάλυμα 0,1% φορμαλδεΰδης/PBS με αραίωση 12,5 μL του μονιμοποιητικού διαλύματος IOTest 3 (Ref. A07800) 10πλάσιας συγκέντρωσης σε 1 mL PBS).
- 0,5 mL ή 1 mL PBS χωρίς φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να αναλυθούν εντός 2 ωρών.

Σημείωση: Σε κάθε περίπτωση, φυλάσσετε τα παρασκευάσματα προστατευμένα από το φως, σε θερμοκρασία μεταξύ 2 και 8 °C.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

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

Θετικός στόχος	Αριθμός	Μέση τιμή (%)	SD	CV (%)
Λεμφοκύτταρα	25	71,40	9,45	13,23

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

ΑΠΟΔΟΣΗ

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

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Το μόριο CD5 εκφράζεται στην επιφάνεια των ώριμων Τ λεμφοκυττάρων από τα περισσότερα θυμοκύτταρα και από έναν υποπληθυσμό των Β λεμφοκυττάρων (11,12,13). Το CD5 εκφράζεται σε μια υποομάδα Β κυττάρων που εκκρίνουν IgM, λόγω έλλειψης του ενζύμου τελική δεοξυνουκλεοτιδυλοτρανσφεράση (TdT) που φαίνεται ότι περιορίζει την ενεργοποίηση της BSR και κατά συνέπεια ελαττώνει την αυτοαντιδραστικότητα (αυτοάνοση αντίδραση). Τα Τ κύτταρα, αντιθέτως, εκφράζουν υψηλότερα επίπεδα CD5 από τα Β κύτταρα. Η έκφραση του CD5 από τα Τ κύτταρα αυξάνεται μετά από ισχυρή ενεργοποίηση. Στον θύμο αδένα παρατηρείται συσχέτιση της έκφρασης του CD5 με την ένταση της αλληλεπίδρασης των Τ κυττάρων με τα ίδια πεπτίδια. Έκφραση του CD5 δεν παρατηρείται στα κοκκιοκύτταρα, τα μονοκύτταρα και τα αιμοπετάλια (13). Το μονοκλωνικό αντίσωμα BL1a αντιστοιχίστηκε στο CD5 κατά τη διάρκεια του 3ου συνεδρίου HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Συνάντηση εργασίας για τα αντιγόνα διαφοροποίησης των ανθρώπινων λευκοκυττάρων), που πραγματοποιήθηκε στην Οξφόρδη του Ηνωμένου Βασιλείου το 1986 (Κώδικας WS: 520, ενότητα Τ) (11,12).

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Οι ποσοστιαίες θετικές τιμές προσδιορίστηκαν με χρήση ολικού αίματος. Κάθε δείγμα αναλύθηκε 4 φορές, δύο φορές την ημέρα για 1 ημέρα σε 2 όργανα με χρήση 2 παρτίδων αντιδραστηρίων μονοκλωνικού αντισώματος CD5-PC5. Οι μετρήσεις (% θετικών) πραγματοποιήθηκαν σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με βάση τη μέθοδο CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Αξιολόγηση της απόδοσης ακρίβειας για μεθόδους ποσοτικής μέτρησης).

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

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

Λεμφοκύτταρα							
Αριθμός θετικών συμβάντων (μέσος όρος) = 2823							
	Μεταξύ χειριστών	Μεταξύ κυτταρόμετρων	Εντός παρτίδας	Μεταξύ παρτίδων	Μεταξύ αναλύσεων	Εντός ανάλυσης	Σύνολο
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ακρίβεια του CD5-PC5 αξιολογήθηκε με σύγκριση των αποτελεσμάτων με ένα αντιδραστήριο αναφοράς ως μέσο πρόγνωσης, σε ένα σύνολο δειγμάτων ολικού αίματος που αναλύθηκε σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Το συστηματικό σφάλμα μεταξύ εξέτασης και αντιδραστηρίου αναφοράς προσδιορίστηκε με βάση τη διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δοκιμής. Εάν το συστηματικό σφάλμα βρίσκεται εντός του επιτρεπόμενου εύρους σφαλμάτων ή η τιμή p δεν υποδεικνύει καμία σημαντική διαφορά (>0,05), τα αποτελέσματα δοκιμών για τα δύο αντιδραστήρια θεωρούνται ισοδύναμα.

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον πίνακα που ακολουθεί:

Αριθμός δοτών = 25				
Θετικός στόχος	Μέση τιμή Δ	Κριτήρια κυττάρων Δ %	Τιμή p	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
Λεμφοκύτταρα	0,90	<5	0,001	PASS

ΟΡΙΟ ΤΥΦΛΟΥ ΚΑΙ ΟΡΙΟ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

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

Positive Target	Όριο τυφλού (κύτταρο/μL)	Όριο ανίχνευσης (κύτταρο/μL)
Λεμφοκύτταρα	4	6

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Η κυτταρομετρία ροής ενδέχεται να παράγει ψευδή αποτελέσματα αν το κυτταρόμετρο δεν είναι σωστά ευθυγραμμισμένο, αν οι διαρροές φθορισμού δεν έχουν αντισταθμιστεί σωστά και αν οι περιοχές δεν έχουν τοποθετηθεί προσεκτικά.
2. Η τεχνική λύσης RBC είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται με ένα βήμα πλύσης, καθώς το συγκεκριμένο αντιδραστήριο δεν έχει βελτιστοποιηθεί για τεχνικές λύσης «χωρίς πλύση».

3. Ακριβή και επαναλήψιμα αποτελέσματα προκύπτουν στο μέτρο που οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι σύμφωνες με το ένθετο τεχνικών οδηγιών και συμβατές με τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές.
4. Το συζευγμένο αντίσωμα αυτού του αντιδραστηρίου είναι βαθμονομημένο ώστε να προσφέρει την καλύτερη αναλογία ειδικής σήμανσης/μη ειδικής σήμανσης. Γι' αυτό είναι σημαντικό να τηρείτε την αναλογία όγκου αντιδραστηρίου/όγκου δείγματος σε κάθε εξέταση.
5. Σε περίπτωση υπερλευκοκυττάρωσης, αραιώστε το αίμα σε PBS ώστε να επιτευχθεί τιμή περίπου 5 x 10^9 λευκοκύτταρα/L (14).
6. Σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις, όπως η σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια ή οι αιμοσφαιρινοπάθειες, η λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων ενδέχεται να είναι αργή, ατελής ή και ανέφικτη. Σε αυτήν την περίπτωση, συνιστάται η απομόνωση των μονοπύρηνων κυττάρων με διαβάθμιση πυκνότητας (για παράδειγμα Ficoll) πριν από τη χρώση (15).
7. Λόγω της διαδοχικής δομής του φθοροχρώματος, PC5 εκπέμπεται επίσης φως στα 575 nm. Η κορυφή αυτών των δευτερογενών εκπομπών διαφέρει από παρτίδα σε παρτίδα PC5. Ως εκ τούτου, στην ανάλυση πολλών χρωμάτων, θα πρέπει να ελέγχεται προσεκτικά η μήτρα αντιστάθμισης κατά την αλλαγή της παρτίδας ενός συζεύγματος -PC5.
8. Σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπείες με αντι-ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα, η ανίχνευση των ειδικών στοχευόμενων αντιγόνων ενδέχεται να είναι μειωμένη ή να απουσιάζει λόγω μερικού ή πλήρους αποκλεισμού από το θεραπευτικό αντίσωμα.
9. Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων του CD5-PC5 θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η συνολική κλινική εικόνα του ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων των συμπτωμάτων, του κλινικού ιστορικού, των δεδομένων πρόσθετων εξετάσεων και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Δείτε το Παράρτημα για παραδείγματα και παραπομπές.

ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ

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

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

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

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

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΕΩΝ

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ AC:	Ημερομηνία έκδοσης: Οκτώβριος 2019

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

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AX	Απρίλιος 2023
Ενημερωμένες ενότητες	Προσθήκη Καζακικών
Ενημερωμένες ενότητες	Φύλαξη και σταθερότητα

Αναθεωρημένη έκδοση	AY
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Μάιος 2024
Ενημέρωση μεταφράσεων	**Κλινική συνάφεια:**
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθεωρημένη έκδοση	AZ
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Ιούλιος 2024
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Υπόμνημα συμβόλων

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

	仕様
特異性	CD5
クローン	BL1a
ハイブリドーマ	SP2/0 x balb/c
免疫原	Lymphocytes from human thoracic duct
免疫グロブリン	IgG2a
動物種	マウス
精製	アフィニティークロマトグラフィー
蛍光色素	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
モル比	PC5 / Ig： 0.5 - 1.5
λ励起	488 nm
発光のピーク	670 nm
緩衝化剤	PBS(pH 7.2) + 2 mg/mL BSAおよび0.1% NaN_3

IOTest

コンジュゲート抗体

CD5-PC5

REF A07754 100 試験、1 mL, 10 µL / test

***体外*診断用医薬品**

用途

この蛍光色素結合抗体混合物により、フローサイトメトリーを用いてヒト生物検体に存在するCD5抗原を発現する細胞集団の定性的かつ非自動での同定が可能になります（以下の「検体」の項を参照）。

原理

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

白血球の特異的染色は、検体をIOTest試薬とインキュベートすることによって行います。次に、赤血球を溶解によって除去し、このプロセスの影響を受けない白血球をフローサイトメトリーによって分析します。

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

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

対象ユーザー

本製品は、検査室での専門的な使用を目的としています。

臨床的妥当性

CD5-PC5は、フローサイトメトリーでCD5抗原を発現する細胞を同定および特性評価するために使用する抗体です。CD5この製品だけで診断の結論を下すことはできず、そのように意図されていません。

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

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

以下の参考文献を参照してください。

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

検体

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

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

この検体は、静脈穿刺から24時間以内に分析する必要があります。

濃度

www.beckman.comでロット固有の分析証明書を参照してください。

警告および注意

1. 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
2. 凍結しないでください。
3. 使用前に室温（18～25°C）にしてください。
4. 露光をできるだけ避けてください。
5. 試薬の微生物汚染を避けてください。誤った結果の原因となる場合があります。
6. アジ化ナトリウム（NaN_3）を含む抗体溶液は慎重に扱う必要があります。体内に摂取してはならず、皮膚、粘膜および眼との接触はすべて避けてください。

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

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

GHSハザード分類

危険有害物質には分類されない

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

保管および安定性

この試薬は、バイアル開封の前後に2～8℃で保管し、遮光する必要があります。

各安定性試験におけるクローズドバイアルの保存期間：1095日間

開封後のバイアル：試薬は180日間安定しています。

変質や劣化の兆候

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

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

内容

保存剤のアジ化ナトリウムは、金属製排水管内で爆発性化合物を生成するおそれがあります。 NIOSH Bulletinを参照してください: アジド爆発危険性（76/8/16）
アジド化合物が蓄積する可能性を回避するため、未希釈の試薬を廃棄した後は排水管を水で洗い流します。アジ化ナトリウムは地方自治体の規定に従い適切に廃棄してください。

ご用意いただくもの:

- サンプリングに必要なサンプリングチューブと材料。
- 使い捨てチップ付き自動ピペット（100および500 µL用）。10
- プラスチックの溶血チューブ。
- 溶血処理後に洗浄操作した赤血球溶血試薬。例：VersaLyse（製品番号A09777）。
- 白血球固定試薬。例：IOTest 3固定液（製品番号A07800）。
- アイソタイプ対照PC5：IOTest試薬（製品番号A09148）。
- 緩衝化剤（PBS：0.01 Mリン酸ナトリウム、0.145 M塩化ナトリウム、pH 7.2）。
- 遠心機
- 自動アジテーター（ボルテックスタイプ）。
- フローサイトメーター

VERSALYSE試薬による手順

測定する各検体について、テストチューブのほか、アイソタイプ対照存在下で細胞を混合した対照チューブ1本を追加することができます（製品番号A09148）。

1. 各テストチューブに10 µLの特異的IOTest結合抗体を加え、必要に応じて10 µLのアイソタイプ対照を各対照チューブに加えます。
2. 各チューブに100 µLのテスト検体を添加します。チューブを穏やかに攪拌します。
3. 遮光した状態で、室温（18～25°C）で15～20分間インキュベートします。
4. 次に、赤血球の溶解を行います。VersaLyse(製品番号A09777)のリーフレットを参照し、できれば「同時固定」と呼ばれる手順に従います。この手順では、その場で調製した「固定/溶解」混合液1 mLを加えます。直ちに1秒間撹拌し、室温、遮光下で10分間インキュベートします。
5. 室温で5分間遠心分離（150 x g）します。
6. 吸引により上清を除去します。
7. 3 mLのPBSを用いて細胞ペレットを懸濁します。
8. ステップ5を繰り返します。
9. 吸引により上清を除去し、以下により細胞ペレットを再懸濁します。

- 調製液の保存期間が24時間未満の場合、ホルムアルデヒド0.1％を含むPBS 0.5 mLまたは1 mL。（0.1%ホルムアルデヒドを含むPBSは、12.5 µLの10倍濃度のIOTest 3固定液（製品番号A07800）を1 mLのPBSに希釈して作製できます）。
- 調製液を2時間以内に分析する場合、ホルムアルデヒドを含まないPBS 0.5 mLまたは1 mL。

注記：いかなる場合でも、調製液は2～8°Cに保ち、遮光してください。

期待値

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

陽性標的細胞	番号	平均（%）	SD	CV（%）
リンパ球	25	71.40	9.45	13.23

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

性能

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

特異性

CD5分子は、大部分の胸腺細胞およびBリンパ球の部分集団において、成熟Tリンパ球表面に発現しています（11、12、13）。CD5は、ターミナルデオキシヌクレオチジルトランスフェラーゼ（TdT）酵素の欠損に起因して、IgM分泌B細胞のサブセットにおいて発現し、BSRの活性化を緩和し、したがって自己反応性（自己免疫反応）を低減すると思われます。逆に、T細胞では、B細胞よりも高レベルのCD5が発現しています。CD5は、強力に活性化した際に、T細胞上で上方制御されます。胸腺中では、CD5発現とT細胞 - 自己ペプチド相互作用強度との間で相関関係が認められます。CD5の発現は、果粒球、単球、および血小板では認められません（13）。1986年に、英国のオックスフォードで開催された3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens（第3回ヒト白血球分化抗原に関するHLDAワークショップ）において、モノクロナール抗体BL1aが、CD5にアサインされました（WSコード：520、セクションT）（11、12）。

精密性

陽性値の割合は、全血を使用して決定しました。各検体について、2つの装置で各4回を1日に2回、2ロットのCD5-PC5モノクローナル抗体試薬を使用して測定しました。Naviosフローサイトメーターで測定（%陽性）しました。CLSIメソッドEP5-A2に基づいて分析しました。Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.（定量的測定メソッドの精密性性能の評価。）

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

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

リンパ球							
陽性イベント数（平均）= 2823							
	オペレータ間	血球計算器間	ロット内	ロット間	測定間	測定内	総計
CV（%）	0.23	0.40	1.00	0.22	0.63	0.73	1.10
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

正確性

CD5-PC5の正確度は、一連の全血検体についてNaviosフローサイトメーターで測定した規準としての参照試薬と、結果を比較して評価しました。テスト試薬と参照試薬との間のバイアスは、テスト結果の差に基づいて決定しました。バイアスが許容誤差範囲内にある場合、またはp値が有意差を示さない場合（> 0.05）、2つの試薬のテスト結果は同等と見なされます。

得られた結果を、下表にまとめます。

ドナー数 = 25				
陽性標的細胞	平均Δ	Δ % 細胞基準	p値	結果
リンパ球	0.90	<5	0.001	PASS

ブランク上限と検出限界

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

Positive Target	ブランク上限（細胞/µL）	検出限界（細胞/µL）
リンパ球	4	6

制限事項

1. フローサイトメトリーは、血球計数器が完全に配列されていない場合、蛍光リークが正しく相殺されていない場合、および領域が慎重に配置されていない場合、誤った結果を示す可能性があります。
2. この試薬は「洗浄なし」溶解手法用に最適化されていないため、洗浄ステップでRBC溶解法を使用することをお勧めします。
3. 取扱説明書および対応する検査室の実施基準に従って作業する限り、正確かつ再現性のある結果が得られます。
4. この試薬の結合抗体は、特異的シグナル/非特異的シグナル比が最適となるようにキャリブレーションされています。そのため、各テストでは、試薬量/検体量比を順守することが重要です。
5. 白血球増加症の場合、白血球数がおよそ5 x 10^9個/Lとなるよう、血液をPBSで希釈してください（14）。
6. 重度の腎不全やヘモグロビン異常など、特定の疾患状態では、赤血球の溶解が遅くなったり、不完全になったり、あるいは溶解できないことさえあります。この場合、染色する前に密度勾配（Ficollなど）を使用して単核細胞を分離することを推奨します（15）。
7. 蛍光色素のタンデム構造のため、PC5も575 nmで発光します。この二次放出ピークは、PC5のロットごとに異なります。したがって、マルチカラー分析では、-PC5コンジュゲートのロットを変更する際に補正マトリックスを慎重にチェックする必要があります。
8. 抗ヒトモノクローナル抗体療法で治療を受けた患者では、治療用抗体による部分的または完全な遮断により、特定の標的抗原の検出が減少または消失する場合があります。
9. CD5-PC5の結果は、患者の総合的な臨床像、例えば諸症状、病歴、他のテストデータ、その他の該当情報などを踏まえて解釈する必要があります。

附録にある例および参考文献を参照してください。

商標

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

その他

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

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

改訂履歴

改訂番号 AC：	発売日：2019年10月

改訂	**発行日**
AW	2022年5月
ベックマン・コールターのグローバルラベリングポリシーおよびIVD-R（EU）2017/746の要件に準拠するための更新：	
セクションの追加	BSI 2797番号、対象ユーザー、臨床関連性、濃度、精度、正確度、ブランク上限および検出限界、その他、改訂履歴。
情報を追加	「制限事項」のセクションを参照してください
言い回しまたはタイプミスの更新	「手順」、「性能」、「制限」、「警告および注意」、「保管および安定性」のセクションを参照してください。
セクションの削除	臨床応用の例、試薬、検査室内再現性、直線性
セクションの更新	用途、GHSハザード分類、変質や劣化の兆候、手順、附録。

改訂	**発行日**
AX	4月 2023
セクションの更新	カザフ語を追加
セクションの更新	コントロールの調製

改訂版	AY
改訂日	5月 2024
更新された翻訳	**臨床的妥当性：**
セクションの更新	保管および安定性

改訂版	AZ
改訂日	7月 2024
セクションの更新	保管および安定性

記号凡例

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

	规格
特异性	CD5
克隆	BL1a
杂交瘤	SP2/0 x balb/c
免疫原	Lymphocytes from human thoracic duct
免疫球蛋白	IgG2a
种类	小鼠
纯化	亲和色谱法
荧光染料	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
摩尔比率	PC5/Ig： 0.5 - 1.5
λ 激励	488 nm
辐射峰值	670 nm
缓冲液	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 和 0.1% NaN_3

IOTest

结合抗体
CD5-PC5

REF A07754 100 测试；1 mL, 10 µL / test

供体外 *诊断*使用

预期用途

此种荧光染料结合抗体可通过流式细胞术对人体生物样本中存在的 CD5 抗原表达细胞群进行定性和非自动化鉴别（参阅下文“样本”部分）。

原理

该测试以特异性单克隆抗体能够与白细胞表达的抗原决定簇相结合这一特性为基础。

将样本与 IOTest 试剂一起培育，以便进行白细胞的特异性染色。然后通过裂解去除红细胞，再使用流式细胞术分析不受裂解过程影响的白细胞。

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

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

预期用户

本产品的预期用户为实验室专业人员。

临床意义

CD5-PC5 是一种 CD5 抗体，这些抗体用于通过流式细胞术鉴定和表征表达 CD5 抗原的细胞。单独使用此产品不能产生任何诊断结论，这也并非其预期用途。

与其他标志物结合使用时，本产品可用于以下一种或多种用途：

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

参阅以下参考文献：

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

样本

必须使用含有 EDTA 盐作为抗凝血剂的无菌试管采集静脉血。

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

样本必须在静脉采血后的 24 小时内分析。

浓度

请参阅 www.beckman.com 上的特定批次分析证书。

警告和注意事项

1. 请勿使用已过失效日期的试剂。
2. 切勿冷冻。
3. 使用前使其达到室温 (18–25°C)。
4. 尽量减少曝光。
5. 避免试剂受到微生物污染，否则可能出现错误结果。
6. 应小心处理含有叠氮化钠 (NaN_3) 的抗体溶液。请勿内服，并避免接触皮肤、粘膜和眼睛。

   此外，在中度酸性条件下，叠氮化钠可形成具有潜在危害的叠氮酸。若需要对其进行处置，建议您在将试剂倒入排污系统前用大量清水将其稀释，以避免叠氮化钠在金属管中累积并预防爆炸。
7. 所有血样都必须被视为具有潜在传染性，并且必须小心处理（具体地讲：穿戴防护手套、防护服和护目镜）。
8. 不得通过嘴巴移液，并避免样本以任何方式接触皮肤、黏膜和眼睛。

9. 用于处理的血液试管和一次性材料应丢弃于专门用于焚化的容器中。
10. 应根据当地要求处置试剂和废物。

GHS 危险等级分类

未被归为危险品

SDS 化学品安全技术说明书发布在 beckmancoulter.com/techdocs 上

存储和稳定性

在开瓶前后，必须将此试剂保存在 2-8°C 环境下，并注意避免光照。

根据稳定性研究的开封前保质期：1095 天。

已开瓶试剂的稳定性：试剂可稳定保存 180 天。

变质的迹象

试剂物理外观的任何变化都可能表明试剂变质，此时不应使用试剂。

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

目录

叠氮化钠防腐剂可在金属下水管道中形成易爆化合物。 请参阅 NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76)（美国国家职业安全与卫生研究所公报：易爆的叠氮化物危险品 [76/8/16]）。
为避免可能产生的叠氮化合物堆积，请在丢弃未经稀释的试剂后用水冲洗排污管。对叠氮化钠的丢弃必须符合当地的相关规定。

试剂盒中未提供的必需材料：

- 采样所需的采样管和材料。
- 可吸取 10100 和 500 µL 试剂的带有一次性吸头的自动移液器。
- 塑料溶血管。
- 红细胞溶解试剂在溶解后清洗。例如：VersaLyse（REF A09777）。
- 白细胞固定剂。例如：IOTest 3 固定剂（REF A07800）。
- 同型质控品 PC5：IOTest 试剂（REF A09148）。
- 缓冲液（PBS：0.01 M 磷酸钠；0.145 M 氯化钠；pH 7.2）。
- 离心处理。
- 自动搅动器（旋涡型）。
- 流式细胞仪。

VERSALYSE 试剂的使用程序

对于分析的每种样本，除使用分析测试试管外，还可增加一个质控品试管，以在其中混合细胞与同型质控品（REF A09148）。

1. 将 10 µL 特异性 IOTest 结合抗体添加到每个分析测试试管中，并视需要将 10 µL 同型质控品添加到每个质控品试管中。
2. 添加 100 µL 测试样本到每个试管中。轻轻摇动试管。
3. 在室温 (18–25°C) 下避光孵育 15-20 分钟。
4. 然后进行红细胞裂解。请参阅 VersaLyse（REF A09777）说明书，最好按照名为“同时固定”的程序实施：加入 1 mL 临时配制的“固定-裂解”混合液。立即摇动 1 秒，并在室温条件下培育 10 分钟，注意避光。
5. 在室温下以 150 x g 离心处理 5 分钟。
6. 通过吸样去除上层清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新悬浮细胞微粒。
8. 重复第 5 步。
9. 通过吸样去除上层清液并使用以下溶液重新悬浮细胞微粒：

- 0.5 mL 或 1 mL PBS 与 0.1% 甲醛，若备品的保存时间低于 24 小时。（可通过在 1 mL PBS 中稀释 10 倍浓度的 12.5 µL IOTest 3 固定剂 [REF A07800] 获取含 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 0.5 mL 或 1 mL PBS，无甲醛，若制剂将在 2 小时内分析。

注释：任何情况下，制备试剂均需在 2-8°C 下避光保存。

预计值

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

阳性目标	数量	平均值 (%)	标准差	CV (%)
淋巴细胞	25	71.40	9.45	13.23

这些值仅供参考。各实验室应通过当地正常供体群体确定自己的预期值。

性能

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

特异性

CD5 分子由大多数胸腺细胞和一部分 B 淋巴细胞在成熟 T 淋巴细胞表面表达 (11,12,13)。CD5 因缺乏末端脱氧核苷酸转移酶 (TdT) 而在一部分 IgM 分泌 B 细胞中表达，此举会降低 BSR 的活化，进而降低自身反应性（自身免疫反应）。相反，T 细胞比 B 细胞表达的 CD5 水平更高。强活化后，CD5 在 T 细胞上被上调。在胸腺中，CD5 表达与 T 细胞对自身肽的相互作用强度有关。粒细胞、单核细胞和血小板中未发现 CD5 表达 (13)。在 1986 年于英国牛津举办的 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens（第 3 届 HLDA 人类白细胞分化抗原会议）上，单克隆抗体 BL1a 被分配到 CD5（WS代码：520，T 部分）(11,12)。

精度

阳性百分比值用全血测定。每份样本使用 2 个批次的 CD5-PC5 单克隆抗体试剂，在 2 台仪器上运行 4 次，每天 2 次，持续 1 天。使用 Navios 流式细胞仪进行测量（阳性 %）。分析基于 CLSI method EP5-A2：Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：定量测量方法精度性能的评估）。

我们的接受限取决于针对每个群体所测得的阳性颗粒数：

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

淋巴细胞							
阳性颗粒数（平均值） = 2823							
	操作人员间	细胞仪间	批次内	批次间	运行间	运行内	总数
CV (%)	0.23	0.40	1.00	0.22	0.63	0.73	1.10
结果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

准确性

评估 CD5-PC5 的准确性的方法为：将其与参考试剂分别应用于一组全血样本，然后用 Navios 流式细胞仪进行检测，之后比较结果。该测试与参考试剂之间的偏差根据测试结果的差异而确定。如果偏差在允许的错误范围内，或者 p 值没有显著差异 (> 0.05)，则认为这两种试剂的测试结果是等效的。

所得结果如下表所示：

献血人次 = 25				
阳性目标	平均值 Δ	Δ % 细胞标准	p 值	结果
淋巴细胞	0.90	<5	0.001	PASS

空白检测限和检测限

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

Positive Target	空白检测限（个细胞/µL）	检测限（个细胞/µL）
淋巴细胞	4	6

限制

1. 若流式细胞术未完全校准、荧光泄漏未得到正确补偿或未在该区域谨慎定位，则流式细胞术可能会产生错误结果。
2. 最好使用包含洗涤步骤的 RBC 裂解技术，因为该试剂未针对“无洗涤”裂解技术进行优化。
3. 只要所使用的程序符合技术插页说明书并遵守实验室管理规范，就可以获得准确和可重现的结果。
4. 校准该试剂的结合抗体，以提供最佳的特异性信号/非特异性信号比率。因此，在每次测试中都务必遵从此试剂体积/样本体积比率。
5. 如果白细胞过多，请在 PBS 中稀释血液，使白细胞浓度降低到约 5 x 10^9 个/L (14)。
6. 在严重肾衰竭、血红蛋白病等特定疾病状态中，红细胞裂解会变得缓慢、不完全，甚至无法实现。在这种情况下，建议在染色前通过密度梯度（例如聚蔗糖）隔离单核细胞 (15)。
7. 由于荧光染料的混合结构，PC5 也会发射 575 nm 的光。此二次辐射峰值因 PC5 的批次而异。因此，对于多色分析，在更换 -PC5 结合物的批次时，应仔细检查补偿基质。
8. 接受抗人单克隆抗体治疗的患者可能会因治疗抗体的部分或完全阻断而难以或无法检测特定的靶抗原。
9. 在判读 CD5-PC5 结果时，需参照患者的整体临床表现，包括：症状、临床病史、其他检查数据和其他适用的信息。

请参阅附录中的示例和参考文献。

商标

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

其他信息

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

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

修订历史

修订版本 AC：	发布日期：2019 年 10 月

修订	**发布日期**
AW	2022 年 5 月

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

修订	**发布日期**
AX	4 月 2023
更新后章节	添加哈萨克语
更新后章节	储存及稳定性

修订版本	AY
修订日期	5 月 2024
更新的翻译	**临床意义：**
更新后章节	修订历史

修订版本	AZ
修订日期	7 月 2024
更新后章节	修订历史

符号注解

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

	Specifikacijos
Specifiškumas	CD5
Klonas	BL1a
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunogenas	Lymphocytes from human thoracic duct
Imunoglobulinas	IgG2a
Rūšis	Pelė
Išgryninimas	Gimininguмo chromatografija
Fluorochromas	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molinis santykis	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
λ žadinimas	488 nm
Spinduliuotės smailė	670 nm
Buferinis tirpalas	7,2 pH fosfato buferinis tirpalas plius 2 mg/ml GSA ir 0,1 % NaN_3

„IOTest“
Konjuguotas antikūnas CD5-PC5

REF A07754 100 testų; 1 ml, 10 µl / test

***In vitro* diagnostiniam naudojimui**

NAUDOJIMO PASKIRTIS

Naudojant šį su fluorochromu konjuguotą antikūną, srauto citometrijos būdu galima kokybiškai ir neautomatizuotu būdu identifikuoti ląstelių populiacijas, išreiškiančias CD5 antigeną, esantį žmogaus biologiniuose mėginiuose (žr. paskesnį skyrių „Mėginiai“).

PRINCIPAS

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

Specifinis leukocitų dažymo procesas atliekamas mėginį inkubuojant reagentu „IOTest“. Tada lizuojant pašalinami eritrocitai ir srauto citometrijos būdu analizuojami leukocitai, kurie per šį etapą nepaveikiami.

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

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

NUMATOMAS NAUDOTOJAS

Šis gaminys skirtas naudoti specialistams laboratorijose.

KLINIKINĖ SVARBA

CD5-PC5 yra CD5 antikūnas, naudojamas CD5 antigeną ekspresuojančioms ląstelėms identifikuoti ir charakterizuoti srauto citometrijos būdu. Naudojant vien šį gaminį negalima padaryti jokios diagnostinės išvados ir jis nėra tam skirtas.

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

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

Žr. šias nuorodas:

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

MĖGINIAI

Veninio kraujo mėginius reikia imti į sterilius mėgintuvėlius su EDTA druska kaip antikoaguliantu.

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

Mėginiai turi būti išanalizuoti per 24 valandas po venų punkcijos.

KONCENTRACIJA

Žr. konkrečios partijos analizės sertifikatą, pateikiamą interneto svetainėje www.beckman.com.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. Reagento nenaudoti pasibaigus galiojimo laikui.
2. Neužšaldyti.
3. Prieš naudojant reikia leisti sušilti iki kambario temperatūros (18–25 °C).
4. Laikykite kuo mažiau apšviestoje vietoje.
5. Saugokite, kad reagentai nebūtų užteršti mikrobais, nes antraip gali būti gaunami klaidingi rezultatai.
6. Su antikūnų tirpalais, kurių sudėtyje yra natrio azido (NaN_3), reikia elgtis atsargiai. Nevartokite į vidų ir saugokitės, kad nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.

Be to, rūgščioje terpėje natrio azidas gali išskirti potencialiai pavojingą hidrazo rūgštį. Jei jį reikia pašalinti, prieš pilant į nutekėjimo sistemą, reagentą rekomenduojama praskiesti dideliu vandens kiekiu, kad būtų išvengta natrio azido kaupimosi metaliniuose vamzdžiuose ir išvengta sprogimo pavojaus.

7. Visi kraujo mėginiai turi būti laikomi potencialiai užkrečiamais ir su jais turi būti elgiamasi atsargiai (itin svarbu dėvėti apsaugines pirštines, apsiaustus ir akinius).
8. Jokiu būdu nesiurbkite burna ir saugokitės, kad mėginių nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.
9. Panaudoti kraujo mėgintuvėliai ir vienkartinės medžiagos turėtų būti išmetami į sudeginamas ad hoc talpyklas.
10. Reagentai ir atliekos turi būti šalinami pagal vietinius reikalavimus.

GHS PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Neklasifikuojama kaip pavojinga

SDS Saugos duomenų lapą galima gauti interneto svetainėje beckmancoulter.com/techdocs

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Prieš atidarant ir atidarius buteliuką reagentas turi būti laikomas 2–8 °C temperatūroje ir saugomas nuo šviesos.

Uždaryto buteliuko tinkamumo naudoti laikas pagal stabilumo tyrimą: 1095 d.

Atidaryto buteliuko stabilumas: reagentas lieka stabilus 180 d.

KOKYBĖS PABLOGĖJIMO POŽYMIAI

Bet koks reagentų fizinės išvaizdos pokytis gali reikšti pablogėjusias gaminio savybes, todėl tokio reagento naudoti negalima.

Prireikus papildomos informacijos arba gavę sugadintą gaminį skambinkite į „Beckman Coulter“ klientų aptarnavimo skyrių telefonu 800-742-2345 (JAV arba Kanadoje) arba susisiekite su vietiniu „Beckman Coulter“ atstovu.

TURINYS

Natrio azido konservantas metalo vamzdynuose gali sudaryti sprogiuosius junginius. Žr. „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (Nacionalinio darbų saugos ir sveikatos instituto biuletenį: sprogstamojo azido pavojus) (76-8-16).
Norėdami išvengti galimo azido junginių susikaupimo, išpylę į kanalizacijos sistemą neatskiesto reagento, vandeniu praplaukite nutekamuosius vamzdžius. Natrio azidas turi būti šalinamas pagal taikomų vietos reglamentų reikalavimus.

REIKALINGOS, BET SU RINKINIU NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS

- Mėginiams imti reikalingi mėginių ėmimo mėgintuvėliai ir medžiagos.
- Automatinės pipetės su vienkartiniais antgaliais, skirtos 10, 100 ir 500 µl tūrio mėginiams.
- Plastikiniai hemolizės mėgintuvėliai.
- Raudonųjų kraujo kūnelių lizavimo reagentas su plovimo etapu baigus lizuoti. Pavyzdys: „VersaLyse“ (kat. nr. A09777).
- Leukocitų fiksavimo reagentas. Pavyzdys: fiksavimo tirpalas „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800).
- Izotipų kontrolinė medžiaga PC5: „IOTest“ reagentas (kat. Nr. A09148).
- Buferinis tirpalas (fosfato buferinis tirpalas: 0,01 M natrio fosfato; 0,145 M natrio chlorido; pH 7,2).
- Nucentrifuguokite.
- Automatinis maišytuvas (sūkurinio tipo).
- Srauto citometras.

PROCEDŪRA NAUDOJANT REAGENTĄ „VERSALYSE“

Analizuojant kiekvieną mėginį, be tiriamojo mėgintuvėlio galima naudoti vieną kontrolinį mėgintuvėlį, kuriame ląstelės sumaišytos su izotipine kontroline medžiaga (kat. Nr. A09148).

1. Į kiekvieną tiriamąjį mėgintuvėlį įpilkite po 10 µl specifinio su „IOTest“ konjuguoto antikūno ir prireikus į kiekvieną kontrolinį mėgintuvėlį įpilkite po 10 µl kiekvieno izotipo kontrolinės medžiagos.
2. Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite po 100 µl tiriamojo mėginio. Mėgintuvėlius atsargiai išmaišykite sūkuriniu būdu.
3. 15–20 minučių inkubuokite kambario temperatūroje (18–25 °C), saugodami nuo šviesos.
4. Tai padarę sulizuokite eritrocitus. Žr. „VersaLyse“ (kat. Nr. A09777) informacinį lapelį; rekomenduojama laikytis procedūros, vadinamos „su vienalaikiu fiksavimu“, kurios metu įpilama 1 ml prieš pat naudojant paruošto fiksavimo ir lizavimo mišinio. Tuojau pat vieną sekundę maišykite sūkuriniu būdu ir 10 minučių inkubuokite kambario temperatūroje, saugodami nuo šviesos.
5. 5 minutes centrifuguokite veikiant 150 x g jėgai kambario temperatūroje.
6. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą.
7. Iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami 3 ml fosfato buferinį tirpalą.
8. Pakartokite 5 veiksmą.
9. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą ir iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami toliau nurodytas medžiagas.

- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo ir 0,1 % formaldehido, jeigu preparatai bus laikomi mažiau nei 24 val. (0,1 % formaldehido fosfato buferinio tirpalo galima gauti 12,5 µl 10X koncentracijos fiksavimo tirpalo „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800) atskiedus 1 ml fosfato buferinio tirpalo.)
- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo be formaldehido, jeigu preparatai bus analizuojami per 2 val.

Pastaba. Visais atvejais preparatus laikykite 2–8 °C temperatūroje ir saugodami nuo šviesos.

TIKĖTINOS VERTĖS

Mūsų laboratorijose 25 tariamai sveikų donorų viso kraujo mėginiai buvo apdoroti pirmiau aprašytu reagentu. Toliau pateiktoje lentelėje nurodyti dominančių teigiamų įvykių skaičiaus rezultatai, gauti naudojant šį reagentą.

Teigiamas taikinys	Skaičius	Vidurkis (%)	SN	VK (%)
Limfocitai	25	71,40	9,45	13,23

Šios vertės tėra reprezentacinės. Kiekviena laboratorija turi iš vietinės normalių donorų populiacijos nustatyti savo numatomas vertes.

VEIKIMAS

Veikimo duomenys gauti, pirmiau aprašytą procedūrą atliekant su mažiau nei 24 val. senumo mėginiais, kurie buvo anksčiau paimti į sterilius mėgintuvėlius su antikoaguliantu EDTA druska. Analizė atliekama ne vėliau kaip 2 val. po imunodažymo.

SPECIFIŠKUMAS

CD5 molekulę subrendusių T limfocitų paviršiuje ekspresuoja dauguma timocitų ir B limfocitų subpopuliacija (11,12,13). IgM išskiriančių B ląstelių poaibyje CD5 ekspresuojama dėl fermento terminalinės deoksinukleotidiltransferazės (TdT) trūkumo, kompensuojant BSR aktyvinimą ir todėl mažinant autoreaktingumą (autoimuninę reakciją). Priešingai, T ląstelės ekspresuoja daugiau CD5 nei B ląstelės. Esant stipriam aktyvinimui, ant T ląstelių CD5 reguliuojamas didėjimo kryptimi. Čiobrialiaukėje yra koreliacija tarp CD5 raiškos ir T ląstelės sąveikos su savaisiais peptidais stiprio. CD5 raiškos neaptinkama granulocituose, monocituose ir trombocituose (13). Monokloninis antikūnas BL1a grupei CD5 buvo priskirtas per „3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens“ (3-iąją konferenciją dėl žmogaus leukocitų diferencijavimo antigenų (ŽLDA), vykusią Oksforde, Anglijoje, 1986 m. (WS kodas: 520, T skyrius) (11,12).

GLAUDUMAS

Procentinės teigiamosios vertės nustatytos naudojant visą kraują. Kiekvienas mėginys buvo analizuojamas 4 kartus: 1 dieną, po du kartus, naudojant 2 prietaisus ir 2 CD5-PC5 monokloninių antikūnų reagentų partijas. Matavimai (% teigiamų) buvo atlikti srauto citometru „Navios“. Analizė atlikta pagal „CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods“ (CLSI metodą EP5-A2 „Kiekybinių matavimo metodų glaudumo veikimo vertinimas“).

Mūsų priėmimo kriterijai priklauso nuo kiekvienoje populiacijoje nustatyto teigiamų įvykių skaičiaus:

- jeigu teigiamų įvykių < 1 500, VK < 15 %
- Jeigu teigiamų įvykių > 1 500, VK < 10 %

Limfocitai							
Teigiamų įvykių skaičius (vidurkis) = 2823							
	Skirtingų operatorių	Skirtingų citometrų	Tos pačios partijos	Skirtingų partijų	Skirtingų analizių	Tos pačios analizės	Iš viso
VK (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
REZULTATAI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TIKSLUMAS

CD5-PC5 tikslumas vertintas palyginant rezultatus su etaloniniu reagentu kaip patvirtinamąja priemone, srauto citometru „Navios“ analizuojant viso kraujo mėginių rinkinį. Bandomojo ir etaloninio reagentų paklaida nustatyta pagal tyrimo rezultatų skirtumą. Jeigu paklaida neviršija leidžiamojo paklaidų diapazono arba p reikšmė nerodo reikšmingo skirtumo (> 0,05), abiejų reagentų tyrimo rezultatai laikomi lygiaverčiais.

Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Donorų skaičius = 25				
Teigiamas taikinys	Vidurkis Δ	Δ % ląstelių kriterijai	p reikšmė	REZULTATAI
Limfocitai	0,90	<5	0,001	PASS

RUOŠINIO RIBA IR APTIKIMO RIBA

Pagal CLSI EP17-A2 dokumentą „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Klinikinių laboratorinių matavimų procedūrų aptikimo pajėgumų vertinimas) atliktas mokslinis tyrimas. Aptikimo riba (LOD) yra mažiausioji analitės koncentracija, kurią galima nuolat aptikti. Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Positive Target	Ruošinio riba (ląst./µl)	Aptikimo riba (ląst./µl)
Limfocitai	4	6

RIBOJIMAI

1. Atliekant srauto citometriją klaidingi rezultatai gali būti gauti tuo atveju, jei citometras nebuvo tiksliai sureguliuotas, fluorescencijos nuotėkiai nebuvo tinkamai kompensuoti ar regionai nebuvo kruopščiai išdėstyti.
2. Pageidautina taikant RBC lizavimo metodą atlikti plovimo etapą, nes šis reagentas nėra optimizuotas lizavimo „be plovimo“ metodikoms.
3. Tikslūs ir atkuriami rezultatai bus gaunami tol, kol naudojamos procedūros atitiks techniniame lapelyje pateiktą informaciją ir bus atliekamos laikantis geros laboratorijos praktikos.
4. Šio reagento konjuguotas antikūnas sukalibruotas taip, kad būtų gaunamas geriausias specifinio ir nespecifinio signalų santykis. Dėl šios priežasties atliekant kiekvieną tyrimą svarbu tiksliai laikytis nurodyto reagento ir mėginio tūrių santykio.
5. Hiperleukocitozės atveju kraują atskieskite fosfato buferiniu tirpalu, kad gautumėte maždaug 5 x 10^9 leukocitų/l koncentraciją (14).
6. Sergant kai kuriomis ligomis, pavyzdžiui, sunkiu inkstų nepakankamumu arba hemoglobinopatijomis, eritrocitai gali būti lėtai arba nevisiškai sulizuojami arba jų visai neįmanoma lizuoti. Tokiu atveju rekomenduojama prieš dažant atskirti vienbranduoles ląsteles tankio gradiento būdu (pavyzdžiui, Ficollo) (15).
7. Dėl dvigubos fluorochromo struktūros PC5 taip pat skleidžia 575 nm bangos ilgio šviesą. Ši antrinė spinduliuotė skiriasi priklausomai nuo konkrečios PC5 partijos. Dėl šios priežasties, atliekant daugelio spalvų analizę ir pakeitus -PC5 konjugato partiją reikia kruopščiai patikrinti kompensavimo matricą.

8. Jeigu pacientams atliekama žmogaus monokloninių antikūnų terapija, specifiniai tiksliniai antigenai gali būti aptinkami prasčiau arba visai neaptinkami dėl dalinio arba visiško terapinio antikūno blokavimo.
9. CD5-PC5 rezultatai turi būti interpretuojami remiantis bendra paciento klinikine būkle, atsižvelgiant į: simptomus, klinikinę anamnezę, papildomų tyrimų duomenis ir kitą atitinkamą informaciją.

Pavyzdžiai ir nuorodos pateikti priede.

PREKIŲ ŽENKLAI

„Beckman Coulter“, stilizuotas logotipas ir kiti šiame dokumente nurodyti „Beckman Coulter“ gaminių ir prekių ženklai yra „Beckman Coulter, Inc.“ prekių ženklai arba registruotieji prekių ženklai Jungtinėse Amerikos Valstijose ir kitose šalyse.

PAPILDOMA INFORMACIJA

Pacientams / naudotojams / trečiosioms šalims Europos Sąjungoje ir šalyse, kuriose galioja identiški reguliaciniai reikalavimai (Reglamentas (ES) 2017/746 dėl in vitro diagnostikos medicinos priemonių): jeigu naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko sunkus incidentas, apie jį praneškite gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui ir savo šalies nacionalinei institucijai.

„Summary of Safety and Performance“ (Saugos ir veikimo suvestinė) pateikiama EUDAMED interneto svetainėje ec.europa.eu/tools/eudamed.

PERŽIŪRŲ ISTORIJA

PERŽIŪRA AC:	Leidimo data: 2019 m. spalis

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AW	2022 m. gegužė
Atnaujinta pagal „Beckman Coulter“ visuotinių ženklinimo taisyklių ir IVD-R (ES)2017/746 reikalavimus.	
Pridėti skyriai	BSI 2797 numeris, „Numatomas naudotojas“, „Klinikinė svarba“, „Koncentracija“, „Glaudumas“, „Tikslumas“, „Ruošinio riba ir aptikimo riba“, „Papildoma informacija“, „Peržiūrų istorija“.
Pridėta informacija	Žr. skyrių „Ribojimai“
Frazavimo arba tipografiniai atnaujinimai	Žr. skyrius „Procedūra“, „Veikimas“, „Ribojimai“, „Įspėjimai ir atsargumo priemonės“, „Laikymas ir stabilumas“.
Pašalinti skyriai	„Klinikinio naudojimo pavyzdys“, „Reagentai“, „Laboratorijos vidaus atkartojamumas“, „Tiesiškumas“
Atnaujinti skyriai	„Paskirtis“, „Visuotiniai suderintos sistemos (GHS) pavojingumo klasifikacija“, „Kokybės pablogėjimo požymiai“, „Procedūra“, priedas.

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AX	Balandis 2023
Atnaujinti skyriai	Pridėta kazachų kalba
Atnaujinti skyriai	Laikymas ir stabilumas

Peržiūrėta versija	AY
Peržiūros data	Gegužė 2024
Atnaujintas vertimas	**Klinikinė svarba:**
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Peržiūrėta versija	AZ
Peržiūros data	Liepa 2024
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Simbolių sutartiniai ženklai

Simbolių terminų žodynas pateikiamas interneto svetainėje beckman.com/techdocs (dokumento numeris B60062).

	Specifikációk
Specificitás	CD5
Klón	BL1a
Hibridóma	SP2/0 x balb/c
Immunogén	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunglobulin	IgG2a
Faj	Egér
Tisztítás	Affinitáskromatográfia
Fluorokróm	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Moláris arány	PC5 / Ig: 0,5 - 1,5
λ gerjesztés	488 nm
Kibocsátási csúcs	670 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plusz 2 mg/mL BSA és 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugált antitest
CD5-PC5

REF A07754 100 teszt; 1 mL, 10 µL / test

***In vitro* diagnosztikai használatra.**

RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

Ez a fluorokrómmal konjugált antitest lehetővé teszi a humán biológiai mintákban a(z) CD5 antigént expresszáló sejtpopulációk áramlási citometriával végzett kvalitatív és nem automatizált azonosítását (lásd a „Minták” című alábbi fejezet).

MŰKÖDÉSI ELV

A vizsgálat azon alapul, hogy a specifikus monoklonális antitestek képesek-e kötődni a leukociták által expresszált antigén-determinánsokhoz.

A leukociták specifikus festése a mintának az IOTest reagenssel való inkubálásával történik. Az eritrocitákat ezután lízissel eltávolítják, és a leukocitákat, amelyekre nincs hatással ez a művelet, analizálni lehet áramlási citometriával.

Az áramlási citométer a sejtek fényszórását és fluoreszcenciáját méri. Ez lehetővé teszi a vizsgált populáció elhatárolását egy olyan elektronikus ablakon belül, amelyet a derékszögben szórt fény (oldalszóródás vagy SS) és a hegyes szögben szórt fény (előreszóródás vagy FS) intenzitását összehasonlító hisztogramon határoztak meg. Más, a citométer által mértek közül két paramétert kombináló hisztogramok használhatók kiegészítésként a kapuzási fázisban, a felhasználó által választott alkalmazástól függően.

Az elkülönített sejtek fluoreszcenciáját a rendszer elemzi a pozitívan festődött események megkülönböztetésére a nem festődöttektől. Az eredmények kifejezése a pozitív események százalékos arányaként történik a kapuzás által regisztrált összes eseményhez képest.

CÉLFELHASZNÁLÓ

Ez a termék laboratóriumi szakemberek általi használatra készült.

KLINIKAI JELENTŐSÉG

A CD5-PC5 egy CD5 antitest, amely a(z) CD5 antigént expresszáló sejtek áramlási citometriás azonosítására és jellemzésére szolgál. Ez a termék önmagában nem képes arra, és nem is arra a célra lett kialakítva, hogy bármilyen diagnosztikai következtetést generáljon.

Más markerekkel kombinált használata esetén ez a termék az alábbiak közül egy vagy több célra használható:

- Segít azon rendellenes vérképű betegek differenciáldiagnózisában, akiknél hemopoetikus neoplasia gyanítható, valamint segít az ismerten hemopoetikus neoplasiaval rendelkező betegek monitorozásában.
- Segít a hemopoetikus neoplasiaban szenvedő betegek prognózisának felállításában.

Lásd a következő hivatkozásokat:

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

MINTÁK

A vénás vért steril, alvadásgátlóként EDTA sóját tartalmazó csövekbe kell gyűjteni.

A mintákat szobahőmérsékleten (18–25 °C között) kell tárolni, és nem szabad felrázni. A tesztminta vétele előtt a mintákat homogenizálni kell óvatos rázással.

A minták elemzését a vénaszúráshoz képest 24 órán belül el kell végezni.

KONCENTRÁCIÓ

Lásd: www.beckman.com, tételspecifikus analitikai bizonylat.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

1. Ne használja a reagenst a lejárati időn túl.
2. Fagyasztani tilos.
3. Használat előtt hagyja felmelegedni szobahőmérsékletre (18–25 °C).
4. Minimalizálja a fényexpozíciót.
5. Kerülje el a reagensek mikrobiális kontaminációját, ebben az esetben hamis eredményeket kaphat.
6. A nátrium-azidot (NaN_3) tartalmazó antitestoldatokat körültekintően kell kezelni. A terméket nem szabad lenyelni, és nem érintkezhet bőrrel, nyálkahártyával vagy a szemmel.

Sőt, savas közegben a nátrium-azid potenciálisan robbanékony nitrogén-hidrogénsavat képez. Ha ártalmatlanítani kell, javasolt a reagenst nagy mennyiségű vízzel hígítani a szennyvízcsatornába öntés előtt, hogy ne halmozódhasson fel nátrium-azid a fémcsövekben, és ne keletkezzen robbanásveszély.

7. Minden vérmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és óvatosan kell kezelni (azaz védőkesztyűt, köpenyt és szemüveget viselve).
8. Soha ne pipettázzon szájjal, és a minták soha ne érintkezzenek szemmel, bőrrel vagy nyálkahártyával!
9. A vércsöveket és a kezeléshez használt, egyszer használatos anyagokat olyan ad hoc tartóedényben kell kidobni, amely égetésre szolgál.
10. A reagenseket és a hulladékot a helyi követelmények szerint kell ártalmatlanítani.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Nincs veszélyes anyagként besorolva

SDS A biztonsági adatlap megtalálható a következő weboldalon: beckmancoulter.com/techdocs

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A reagenst a fiola kibontása előtt és után is 2 és 8 °C között, fénytől védve kell tárolni.

A lezárt fiola eltarthatósági ideje a stabilitási vizsgálat alapján: 1095 nap.

A felbontott fiola stabilitása: a reagens 180 napig stabil.

A MINŐSÉGROMLÁS JELEI

A reagensek fizikai megjelenésének bármilyen megváltozása megromlásra utalhat, és a reagenst nem szabad felhasználni.

További információkért, illetve sérült termék kézhezvétele esetén hívja a Beckman Coulter ügyfélszolgálatát a 800-742-2345-es számon (az Amerikai Egyesült Államokban és Kanadában), vagy lépjen kapcsolatba a Beckman Coulter területileg illetékes képviselőjével.

A CSOMAG TARTALMA

A nátrium-azid tartósítószer robbanékony vegyületeket képezhet a fém lefolyócsövekben. Lásd az alábbi NIOSH-közleményt: Explosive Azide Hazard (Robbanékony azidokkal kapcsolatos veszélyek) (76. 8. 16.).
Az azidvegyületek esetleges felhalmozódásának elkerülése érdekében a hígítatlan reagens szennyvízlefolyóba történő kiöntése után a szennyvízvezetéket vízzel át kell öblíteni. A nátrium-azid ártalmatlanítását a vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell végezni.

SZÜKSÉGES, DE A KÉSZLETTEL NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK:

- Mintacsövek és a mintavételhez használt anyagok.
- Automata pipetták eldobható hegyekkel 10, 100 és 500 µL-hez.
- Műanyag hemolíziscsövek.
- Vörösvértesteket lizáló reagens, a lízis után mosási fázissal. Például: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leukocitafixáló reagens. Például: IOTest 3 fixálóoldat (Ref. A07800).
- Izotípus-kontroll PC5: IOTest reagens (Ref. A09148).
- Puffer (PBS: 0,01 M nátrium-foszfát; 0,145 M nátrium-klorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automata keverő (vortex típusú).
- Áramlási citométer.

ELJÁRÁS VERSALYSE REAGENS ESETÉN

Mindegyik analizált minta esetében a vizsgált mintacsövön kívül a vizsgálatot ki lehet egészíteni egy kontrollmintacsővel is, amelyben a sejtek az izotípus-kontroll jelenlétében vannak összekeverve (Ref. A09148).

1. Adjon mindegyik mintacsőhöz 10 µL specifikus IOTest konjugált antitestet, és szükség esetén mindegyik kontrollmintacsőhöz 10 µL izotípuskontrollt.
2. Adjon 100 µL tesztmintát mindegyik mintacsőhöz. Óvatosan vortexelje a mintacsöveket.
3. Inkubálja 15–20 percig szobahőmérsékleten (18–25 °C), fénytől védett helyen.
4. Ezután végezze el a vörösvértestek lízisét. Kövesse a VersaLyse (Ref. A09777) füzet utasításait és lehetőség szerint a „konkomittáns fixációval” nevű eljárást alkalmazza, amelynek során 1 mL, akkor és ott elkészített „Fix-and-Lyse” keveréket kell hozzáadni a mintához. Azonnal vortexelje egy másodpercig, majd inkubálja 10 percig szobahőmérsékleten, fénytől védve.
5. Centrifugálja 5 percig szobahőmérsékleten, 150 x g-vel.
6. Felszívás segítségével távolítsa el a felülúszót.
7. Reszuszpendálja a sejtpelletet 3 mL PBS-ben.
8. Ismételje meg az 5. lépést.
9. Felszívással távolítsa el a felülúszót, és reszuszpendálja a sejtpelletet az alábbi reagenssel:

- 0,1% formaldehidet tartalmazó 0,5 mL vagy 1 mL PBS, ha a készítményt kevesebb mint 24 óráig fogják tárolni. (0,1% formaldehidet tartalmazó PBS készítéséhez hígítson 12,5 µL IOTest 3 fixálóoldatot (Ref. A07800) a 10X koncentrációra 1 mL PBS-ben.)
- 0,5 mL vagy 1 mL PBS formaldehid nélkül, ha a preparátum elemzése 2 órán belül fog történni.

Megjegyzés: A készítményeket fénytől védve, 2 és 8 °C között kell tárolni.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

A laboratóriumainkban látszólag egészséges 25 donorok teljesvér-mintáit kezeltük a fent ismertetett reagenssel. Az ezzel a reagenssel kapott vizsgált pozitív események számolási eredményeit az alábbi táblázat tartalmazza:

Pozitív cél	Szám	Átlag (%)	SD	CV (%)
Limfociták	25	71,40	9,45	13,23

Ezek az értékek csak tájékoztatásul szolgálnak. Az egyes laboratóriumoknak meg kell határozniuk a saját várt értékeiket a helyi egészséges donorok populációjából.

TELJESÍTMÉNY

A teljesítményadatokat a fent leírt eljárás segítségével lehet megkapni az alvadásgátlóként EDTA-sót tartalmazó steril csövekbe levett vérmintákból a vérvételt követő kevesebb mint 24 órán belül. Az analízist az immunfestést követő 2 órán belül kell elvégezni.

SPECIFICITÁS

A CD5 molekula az érett T-limfociták felszínén, a timociták többségén és a B-limfociták egyik alcsoportján expresszálódik (11,12,13). A CD5 expresszálódik az IgM-termelő B-sejtek egyik alcsoportjában, mert a terminális dezoxinukleotid-transzferáz enzim (TdT) hiánya úgy tűnik, hogy csökkenti a BSR aktiválódását, és ezzel csökkenti az autoreaktivitást (az autoimmun reakciót). A T-sejteken viszont nagyobb mennyiségben expresszálódik a CD5, mint a B-sejteken. A T-sejteken erőteljes aktiváció hatására növekszik a CD5 expressziója. A thymusban összefüggés áll fenn a CD5 expressziója és a T-sejtek saját peptidekkel való kölcsönhatásának erőssége között. A CD5 nem expresszálódik a granulocitákon, a monocitákon és a vérlemezkéken (13). A BL1a monoklonális antitestet hozzárendelték a CD5-höz a 3. HLDA Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens (humán leukocita-differenciálódási antigén kutatási műhely) alkalmával (1986, Oxford, Nagy-Britannia) (WS kód: 520, T szekció) (11,12).

PRECIZITÁS

A százalékos pozitív értékeket teljes vér felhasználásával határozták meg. Mindegyik mintát 4-szer futtatták, naponta kétszer 1 napig, 2 berendezésen, a CD5-PC5 monoklonális antitest reagensek 2 gyártási tételének felhasználásával. A méréseket (pozitív %) Navios áramlási citométerrel végezték. Az analízist a CLSI által közzétett EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (A kvantitatív mérési módszerek precizitási teljesítményének értékelése) módszer alapján végezték.

Az elfogadhatósági kritériumaink az egyes populációknál mért pozitív események számától függ:

- Ha a pozitív esemény < 1500, CV < 15%
- Ha a pozitív esemény > 1500, CV < 10%

Limfociták							
Pozitív események száma (átlag) = 2823							
	Felhasználók közötti	Citométerek közötti	Egy gyártási tételen belüli	Eltérő gyártási tételek közötti	Futtatások közötti	Egy futtatáson belüli	Összes
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
EREDMÉNYEK	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PONTOSSÁG

A CD5-PC5 pontosságának értékeléséhez összevetették egy referencia reagens és a Navios áramlási citométeren futtatott teljesvér-minták eredményeit. A teszt- és a referenciareagens közötti torzítást a teszteredmények közötti különbségek alapján határozták meg. Ha a torzítás a megengedhető hibatartományon belül maradt, vagy ha a p-érték nem jelzett szignifikáns különbséget (> 0,05), akkor a két reagenssel kapott teszteredményeket egyenértékűnek tekintették.

Az eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Donorok száma = 25				
Pozitív cél	Átlag Δ	Δ % sejt kritériumok	p-érték	EREDMÉNYEK
Limfociták	0,90	<5	0,001	PASS

VAK HATÁRÉRTÉK ÉS KIMUTATHATÓSÁGI HATÁRÉRTÉK

Vizsgálatot végeztek a CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (A klinikai laboratóriumi mérési eljárások kimutatási képességének értékelése) útmutatónak megfelelően. Kimutathatósági határérték (LOD) – a vizsgált anyag következetesen kimutatható legalacsonyabb koncentrációja. A kapott eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Positive Target	Vak határérték (sejt/µL)	Kimutathatósági határérték (sejt/µL)
Limfociták	4	6

KORLÁTOZÁSOK

1. Az áramlási citometria hamis eredményeket adhat, ha a citométert nem igazítják tökéletesen, ha nem kompenzálják megfelelően a fluoreszcenciaszivárgást és ha a régiókat nem pozicionálják elég gondosan.
2. Érdemes egy mosási lépést is tartalmazó vörösvértest lizáló módszert alkalmazni, mivel ezt a reagenst nem optimalizálták „mosás nélküli” lizáló módszerekhez.
3. Pontos és megismételhető eredmények születnek, amennyiben az eljárásokat a műszaki tájékoztató szerint és a helyes laboratóriumi gyakorlattal összhangban végzik el.
4. A reagens konjugált antitestjét úgy kalibrálták, hogy a legjobb specifikus jel/nem specifikus jel arányt produkálja. Ezért fontos, hogy minden tesztnél betartsa a reagenstérfogat/mintatérfogat arányt.
5. Emelkedett leukocitaszám esetén hígítsa a vért annyi PBS hozzáadásával, hogy a fehérvérsejtek koncentrációja körülbelül 5 x 10^9 leukocita/L legyen (14).

6. Bizonyos betegségek, például súlyos veseelégtelenség vagy hemoglobinopátiák esetében előfordulhat, hogy a vörösvértestek lízise lassú, részleges, vagy akár lehetetlen. Ilyenkor javasolt a festés előtt a mononukleáris sejtek elkülönítése egy sűrűséggradiens alapján működő eljárással (ilyen például a Ficoll) (15).
7. A fluorokróm kettős (tandem) szerkezete miatt a PC5 575 nm-en is bocsát ki fényt. Ez a másodlagos emissziós csúcs különböző a(z) PC5 egyes gyártási tételei esetében. Ezért a -PC5 konjugátum új tételének használata esetén a többszínű analízishez gondosan ellenőrizni kell a kompenzációs mátrixot.
8. A humán antigén elleni monoklonális antitest terápiában részesülő betegek esetében a specifikus célantigén kimutatásának mértéke csökkenhet vagy sikertelen lehet az alkalmazott terápiás antitest által okozott részleges vagy teljes gátlás miatt.
9. Az CD5-PC5 eredményeket a beteg teljes klinikai képének fényében kell értelmezni, figyelembe véve a tüneteket, a kórtörténetet, más tesztek eredményeit és egyéb releváns adatokat.

A példákért és az irodalomjegyzékért lásd a Függeléket.

VÉDJEGYEK

A Beckman Coulter, a stilizált logó, valamint az itt említett Beckman Coulter termék- és szolgáltatásjegyek a Beckman Coulter, Inc. védjegyei vagy bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és más országokban.

TOVÁBBI INFORMÁCIÓK

Az Európai Unióban, illetve az EU-val azonos szabályozási rendszerrel (lásd: az EU 2017/746 rendelete az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökről) rendelkező országokban élő beteg/felhasználó/harmadik fél esetében: ha a jelen eszköz használata során vagy használata eredményeként súlyos váratlan esemény történik, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy hivatalos területi képviselőjének, valamint az illetékes nemzeti hatóságnak.

A Summary of Safety and Performance (A biztonság és a teljesítmény összefoglalása) című dokumentum elérhető az EUDAMED adatbázisban: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ÁTDOLGOZÁSOK

AC ÁTDOLGOZÁS:	Kiadás dátuma: 2019. október

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AW	2022. május
A Beckman Coulter globális címkézési szabályzatának megfelelő, valamint az IVD-R (EU) 2017/746 követelmények szerinti frissítések:	
Hozzáadott szakaszok	BSI 2797 szám, Célfelhasználó, Klinikai jelentőség, Koncentráció, Precizitás, Pontosság, Vak határérték és kimutathatósági határérték, További információk, Átdolgozások.
Új információk	Lásd a Korlátozások című részeket
Megfogalmazási vagy tipográfiai frissítések	Lásd az Eljárás, Teljesítmény, Korlátozások, Figyelmeztetések és óvintézkedések, Tárolás és stabilitás című részeket.
Eltávolított szakaszok	Példa klinikai alkalmazásra, Reagensek, Laboratóriumon belüli reprodukálhatóság, Linearitás
Frissített szakaszok	Rendeltetésszerű használat, GHS szerinti veszélyességi besorolás, A minőségromlás jelei, Eljárás, Függelék.

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AX	Április 2023
Frissített szakaszok	Kazak nyelv hozzáadása
Frissített szakaszok	Tárolás és stabilitás

Átdolgozott verzió	AY
Átdolgozás dátuma	Május 2024
Frissített fordítások	**Klinikai jelentőség:**
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Átdolgozott verzió	AZ
Átdolgozás dátuma	július 2024
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Szimbólumok listája

A szimbólumok jegyzéke elérhető a következő weboldalon: beckman.com/techdocs (dokumentumszám: B60062)

	Specyfikacje
Swoistość	CD5
Klon	BL1a
Hybrydoma	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobulina	IgG2a
Gatunek	Mysz
Oczyszczanie	Chromatografia powinowactwa
Fluorochrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Stosunek molowy	PC5 / Ig: 0,5 - 1,5
Wzbudzenie λ	488 nm
Pik emisji	670 nm
Bufor	PBS o pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Przeciwciało skoniugowane CD5-PC5

REF A07754 100 testów; 1 mL, 10 µL / test

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

PRZEZNACZENIE

To przeciwciało skoniugowane z fluorochromem umożliwia jakościową i niezautomatyzowaną identyfikację populacji komórek wykazujących ekspresję antygenu CD5 obecnego w ludzkich próbkach biologicznych metodą cytometrii przepływowej (zobacz część „Próbki" poniżej).

ZASADA DZIAŁANIA

Ten test jest oparty na zdolności swoistych przeciwciał monoklonalnych do wiązania się z determinantami antygenowymi ekspresjonowanymi przez lekukocyty.

Barwienie swoiste leukocytów jest wykonywane poprzez inkubację próbki z odczynnikiem IOTest. Krwinki czerwone są następnie usuwane poprzez lizę, a leukocyty, na które ta liza nie wpływa, są analizowane metodą cytometrii przepływowej.

Cytometr przepływowy mierzy rozpraszanie światła i fluorescencję komórek. Umożliwia to odgraniczenie populacji zainteresowania w elektronicznym oknie zdefiniowanym na histogramie, który koreluje ortogonalne rozpraszanie światła (rozpraszanie boczne — Side Scatter, w skrócie SS) i rozpraszanie światła pod wąskim kątem (rozpraszanie do przodu, Forward Scatter, w skrócie FS). Na etapie bramkowania, w zależności od zastosowania wybranego przez użytkownika, można używać innych histogramów łączących dwa z różnych parametrów dostępnych w cytometrze.

Fluorescencja odgraniczonych komórek jest analizowana w celu odróżnienia zdarzeń barwionych dodatnio od zdarzeń nieulegających barwieniu. Wyniki są wyrażane jako odsetek zdarzeń dodatnich względem wszystkich zdarzeń zarejestrowanych poprzez bramkowanie.

UŻYTKOWNIK DOCELOWY

Produkt jest przeznaczony do profesjonalnego użytku w laboratoriach.

ZNACZENIE KLINICZNE

CD5-PC5 to przeciwciało CD5 służące do identyfikowania i charakteryzowania komórek wykazujących ekspresję antygenu CD5 za pomocą cytometrii przepływowej. Ten produkt nie może samodzielnie generować i nie jest przeznaczony do generowania jakichkolwiek wniosków diagnostycznych.

W połączeniu z innymi markerami produkt ten może służyć do jednego lub kilku z następujących zastosowań:

- Do wspomagania diagnostyki różnicowej pacjentów z nieprawidłowym obrazem hematologicznym i podejrzeniem nowotworu układu krwiotwórczego oraz do monitorowania pacjentów ze stwierdzonym nowotworem układu krwiotwórczego.
- Jako pomoc w ustaleniu rokowania u pacjentów z nowotworem układu krwiotwórczego.

Zobacz poniższe piśmiennictwo:

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

PRÓBKI

Krew żylną należy pobierać do sterylnych probówek zawierających antykoagulant w postaci soli EDTA.

Próbki należy przechowywać w temperaturze pokojowej (18–25°C), bez wytrząsania. Przed pobraniem próbki do testu należy uzyskać jednorodną mieszaninę poprzez delikatne mieszanie.

Próbki muszą zostać zbadane w ciągu 24 godzin od pobrania krwi żylnej przez nakłucie.

STĘŻENIE

Zobacz świadectwo analizy właściwe dla serii pod adresem www.beckman.com.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Nie używać odczynników po upływie daty ważności.
2. Nie zamrażać.
3. Przed użyciem odczekać, aż osiągnie temperaturę pokojową (18–25°C).
4. Maksymalnie ograniczyć narażenie na działanie światła.
5. Nie dopuścić do skażenia mikrobiologicznego odczynników, gdyż może to spowodować uzyskanie fałszywych wyników.
6. Z roztworami przeciwciał zawierającymi azydek sodu (NaN_3) należy postępować ostrożnie. Nie spożywać i nie dopuszczać do kontaktu ze skórą, błoną śluzową oraz oczami.

Ponadto w środowisku kwaśnym azydek sodu może tworzyć potencjalnie niebezpieczny kwas azotowodorowy. W przypadku konieczności usunięcia zalecane jest rozcieńczenie odczynnika w dużej objętości wody przed wlaniem go do kanalizacji, aby uniknąć gromadzenia się azydku sodu w metalowych rurach i uniknąć ryzyka wybuchu.

7. Wszystkie próbki krwi należy uważać za potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi ostrożnie (w szczególności nosić ochronne rękawice, fartuchy i okulary).
8. Nigdy nie wolno pipetować ustami. Nie dopuszczać do kontaktu próbek ze skórą, błonami śluzowymi i oczami.
9. Probówki przeznaczone na krew i materiały jednorazowego użytku używane podczas procedury należy usuwać do pojemników ad hoc przeznaczonych do spalenia.
10. Odczynniki i odpady należy usuwać zgodnie z wymogami lokalnymi.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Produkt nie został sklasyfikowany jako niebezpieczny

SDS Karta charakterystyki jest dostępna pod adresem beckmancoulter.com/techdocs

MAGAZYNOWANIE I STABILNOŚĆ

Ten odczynnik musi być przechowywany w temperaturze 2–8°C z zapewnieniem ochrony przed światłem, zarówno przed otwarciem fiolki jak i po jej otwarciu.

W oparciu o wyniki badania stabilności dopuszczalny okres przechowywania w zamkniętej fiolce ustalono na: 1095 dni.

Stabilność otwartej fiolki: odczynnik zachowuje stabilność przez 180 dni.

OZNAKA POGORSZENIA WŁAŚCIWOŚCI

Wszelkie zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników mogą wskazywać na pogorszenie właściwości — odczynników takich nie należy używać.

W celu otrzymania dodatkowych informacji lub w przypadku otrzymania uszkodzonego produktu należy skontaktować się z działem obsługi klienta firmy Beckman Coulter pod numerem telefonu 800-742-2345 (USA lub Kanada) lub z miejscowym przedstawicielem firmy Beckman Coulter.

ZAWARTOŚĆ

Środek konserwujący, azydek sodu, może tworzyć związki wybuchowe w metalowych rurach kanalizacyjnych. Patrz NIOSH Bulletin (Biuletyn instytutu NIOSH): Explosive Azide Hazard (Niebezpieczeństwo wybuchu azydku) (16.8.76).
Po usunięciu nierozcieńczonego odczynnika należy przepłukać rury ściekowe wodą, aby uniknąć gromadzenia się azydków. Azydek sodu musi być usuwany zgodnie z odpowiednimi przepisami lokalnymi.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE Z ZESTAWEM:

- Probówki do pobierania próbek i materiały wymagane do pobierania próbek.
- Pipety automatyczne z jednorazowymi końcówkami na 10, 100 i 500 µL.
- Probówki z tworzywa sztucznego przeznaczone do hemolizy.
- Odczynnik do lizy erytrocytów, z etapem przemywania po etapie lizy. Przykład: VersaLyse (nr ref. A09777).
- Odczynnik do utrwalania limfocytów. Przykład: Roztwór utrwalający IOTest 3 (nr ref. A07800).
- Kontrola izotypowa PC5: Odczynnik IOTest (nr ref. A09148).
- Bufor (PBS: 0,01 M fosforan sodu; 0,145 M chlorek sodu; pH 7,2).
- Wirówka.
- Mieszadło automatyczne (typu worteks).
- Cytometr przepływowy.

PROCEDURA Z ODCZYNNIKIEM VERSALYSE

Do każdej badanej próbki, dodatkowo oprócz probówki testowej, można dodać jedną probówkę kontrolną, w której komórki są mieszane w obecności kontroli izotypowej (nr ref. A09148).

1. Dodać po 10 µL swoistego przeciwciała skoniugowanego IOTest do każdej probówki testowej i, w razie potrzeby, po 10 µL kontroli izotypowej do każdej probówki kontrolnej.
2. Do każdej probówki dodać 100 µL próbki testowej. Łagodnie worteksować probówki.
3. Inkubować przez 15–20 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C), chroniąc przed światłem.
4. Następnie przeprowadzić lizę krwinek czerwonych. Zapoznać się z ulotką VersaLyse (nr ref. A09777). Preferowane jest postępowanie zgodnie z procedurą „z towarzyszącym utrwalaniem”, która polega na dodaniu 1 mL przygotowanej wcześniej mieszaniny do utrwalania i lizy (Fix-and-Lyse). Bezzwłocznie worteksować przez jedną sekundę i inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej, chroniąc przed światłem.
5. Wirować przez 5 minut przy 150 x g w temperaturze pokojowej.
6. Usunąć supernatant poprzez zasysanie.
7. Zawiesić osad komórkowy w 3 mL PBS.
8. Powtórzyć etap 5.
9. Usunąć supernatant poprzez zasysanie i ponownie zawiesić osad komórkowy w:

- 0,5 mL lub 1 mL PBS oraz 0,1% formaldehydu, jeśli preparaty mają być przechowywane przez mniej niż 24 godz. (0,1% roztwór formaldehydu w PBS można uzyskać, rozcieńczając 12,5 µL roztworu utrwalającego IOTest 3 (nr ref. A07800) stężonego 10X w 1 mL PBS).
- 0,5 mL lub 1 mL PBS bez formaldehydu, jeśli preparaty zostaną poddane analizie w ciągu 2 godz.

Uwaga: Niezależnie od sytuacji preparaty należy przechowywać w temperaturze 2–8°C, chroniąc je przed światłem.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

W naszych laboratoriach próbki krwi pełnej od 25 dawców niewykazujących objawów chorobowych poddano obróbce z użyciem opisanego powyżej odczynnika. Uzyskane wyniki w zakresie liczby dodatnich zdarzeń zainteresowania w przypadku tego odczynnika podano w tabeli poniżej:

Dodatnie docelowe komórki	Liczba	Średnia (%)	SD	WZ (%)
Limfocyty	25	71,40	9,45	13,23

Wartości te są przeznaczone wyłącznie do celów poglądowych. Każde laboratorium powinno ustalić własne wartości oczekiwane z użyciem próbek reprezentatywnych dla lokalnej populacji zdrowych dawców.

WYDAJNOŚĆ

Dane dotyczące wydajności uzyskano z wykorzystaniem procedury opisanej powyżej na próbkach krwi mających mniej niż 24 godziny, uprzednio pobranych do sterylnych probówek z solą EDTA jako antykoagulantem. Badanie przeprowadzono w ciągu 2 godzin po barwieniu immunologicznym.

SWOISTOŚĆ

Cząsteczka CD5 występuje na powierzchni dojrzałych limfocytów T, w większości tymocytów i w podpopulacji limfocytów B (11,12,13). CD5 występuje w podzbiorze komórek B wydzielających IgM, co jest spowodowane brakiem enzymu terminalnej transferazy dezoksynukleotydowej (TdT), która prawdopodobnie osłabia aktywację BSR i z tego względu ogranicza autoreaktywność (reakcję autoimmunologiczną). Z drugiej strony w komórkach T ekspresja CD5 jest silniejsza niż w komórkach B. Na skutek silnej aktywacji ilość CD5 na komórkach T wzrasta. W grasicy występuje korelacja między ekspresją CD5 i siłą interakcji komórek T w stronę peptydów własnych. Ekspresja CD5 nie zachodzi w granulocytach, monocytach ani płytkach krwi (13). Przeciwciało monoklonalne BL1a zostało przypisane do antygenu CD5 podczas konferencji 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3. międzynarodowe warsztaty dotyczące antygenów różnicujących ludzkie leukocyty), w Oxfordzie, w Anglii, w roku 1986 (kod WS: 520, sekcja T) (11,12).

PRECYZJA

Odsetek wartości dodatnich określono przy użyciu krwi pełnej. Każdą próbkę oznaczano 4 razy, dwa razy na dobę przez 1 dzień na 2 analizatorach przy użyciu 2 serii odczynnika przeciwciała monoklonalnego CD5-PC5. Pomiary (% dodatnich) przeprowadzono na cytometrze przepływowym Navios. Badanie przeprowadzono na podstawie metody opisanej w wytycznych CLSI w dokumencie EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Ocena wydajności precyzji metody pomiarów ilościowych).

Nasze kryteria akceptacji są uzależnione od liczby zdarzeń dodatnich zmierzonych w każdej populacji:

- Jeśli zdarzenie dodatnie < 1500, WZ < 15%
- Jeśli zdarzenie dodatnie > 1500, WZ < 10%

Limfocyty							
Liczba zdarzeń dodatnich (średnia) = 2823							
	Między operatorami	Między cytometrami	W ramach serii	Między seriami	Między oznaczeniami	W ramach analizy	Łącznie
WZ (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
WYNIKI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOKŁADNOŚĆ

Dokładność odczynnika CD5-PC5 oceniano poprzez porównanie wyników uzyskanych za pomocą tego odczynnika z wynikami uzyskanymi za pomocą odczynnika referencyjnego, wykorzystywanego jako odniesienie, na zestawie próbek krwi pełnej oznaczanych na cytometrze przepływowym Navios. Odchylenie między odczynnikiem testowym i referencyjnym określono na podstawie różnicy między wynikami testu. Jeśli odchylenie mieści się w dopuszczalnym zakresie błędu lub wartość p wskazuje na brak istotnej różnicy (> 0,05), wyniki testu dla dwóch odczynników są uznawane za równoważne.

W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Liczba dawców = 25				
Dodatnie docelowe komórki	Średnia Δ	Kryteria Δ % komórki	Wartość p	WYNIKI
Limfocyty	0,90	<5	0,001	PASS

GRANICA PRÓBY ŚLEPEJ I GRANICA WYKRYWALNOŚCI

Przeprowadzono badanie zgodnie z dokumentem CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zdolności wykrywania dla procedur pomiarowych w laboratoriach medycznych). Granica wykrywalności (LOD) to najniższe stężenie analitu, które może być powtarzalnie wykrywane. W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Positive Target	Granica próby ślepej (l. komórek/µL)	Granica wykrywalności (l. komórek/µL)
Limfocyty	4	6

ORGANICZENIA

1. Wyniki cytometrii przepływowej mogą być zafałszowane, jeśli osiowanie cytometru nie było dokładne, przepuszczona fluorescencja nie została prawidłowo skompensowana, a regiony nie zostały starannie upozycjonowane.
2. Preferowane jest stosowanie techniki lizy RBC z etapem przemywania, ponieważ odczynnik ten nie został zoptymalizowany dla technik lizy „bez przemywania".
3. Uzyskane wyniki będą dokładne i odtwarzalne pod warunkiem, że stosowane będą procedury zgodne z informacjami zawartymi w ulotce z danymi technicznymi oraz z dobrymi praktykami laboratoryjnymi.
4. Skoniugowane przeciwciało zawarte w tym odczynniku zostało skalibrowane tak, aby zapewniać najlepszy stosunek sygnału swoistego do nieswoistego. Dlatego ważne jest przestrzeganie stosunku objętości odczynnika do objętości próbki w każdym teście.

5. W przypadku hiperleukocytozy należy rozcieńczyć krew w PBS, aby uzyskać wartość w przybliżeniu 5 x 10^9 leukocytów/L (14).
6. W niektórych stanach chorobowych, takich jak ciężka niewydolność nerek lub hemoglobinopatie, liza krwinek czerwonych może być powolna, niepełna lub nawet niemożliwa. W takich przypadkach przed barwieniem zalecane jest wyizolowanie komórek jednojądrzastych na gradiencie gęstości (na przykład Ficoll) (15).
7. Z powodu tandemowej struktury fluorochromu odczynnik PC5 emituje również światło o długości fali 575 nm. Pik tej emisji wtórnej różni się między seriami odczynnika PC5. Dlatego podczas badania wielobarwnego należy uważnie sprawdzić matrycę kompensacji przy zmianie serii koniugatu PC5.
8. U pacjentów poddawanych terapii anty-ludzkimi przeciwciałami monoklonalnymi, wykrywanie swoistych antygenów docelowych może być osłabione lub niemożliwe z powodu częściowego lub całkowitego zablokowania przez przeciwciało terapeutyczne.
9. Wyniki oznaczenia CD5-PC5 należy interpretować w świetle ogólnego obrazu klinicznego pacjenta, w tym objawów, historii klinicznej, danych z dodatkowych testów oraz innych właściwych informacji.

Przykłady i piśmiennictwo można znaleźć w załączniku.

ZNAKI TOWAROWE

Beckman Coulter, stylizowane logo oraz wymienione w tym dokumencie znaki produktów i usług firmy Beckman Coulter są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Beckman Coulter, Inc. w Stanach Zjednoczonych i innych krajach.

DODATKOWE INFORMACJE

Dotyczy pacjentów/użytkowników/stron trzecich w Unii Europejskiej i w krajach o identycznym systemie regulacyjnym (rozporządzenie 2017/746/UE w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro) — jeśli podczas lub w wyniku korzystania z tego wyrobu wystąpi poważny incydent, należy zgłosić go producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz odpowiedniemu organowi krajowemu.

Dokument The Summary of Safety and Performance (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania) jest dostępne w bazie danych EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIA ZMIAN

WERSJA AC:	Data wydania: październik 2019 r.

WERSJA	**Data wydania**
AW	Maj 2022 r.
Aktualizacje w celu zapewnienia zgodności z globalnymi zasadami oznakowania firmy Beckman Coulter i według wymogów rozporządzenia IVD-R (UE)2017/746:	
Dodano części	Numer BSI 2797, Użytkownik docelowy, Znaczenie kliniczne, Stężenie, Precyzja, Dokładność, Granica próby ślepej i granica wykrywalności, Informacje dodatkowe, Historia zmian.
Dodano informacje	Zobacz części Ograniczenia
Aktualizacje wyrażeń lub typograficzne	Zobacz części Procedura, Wydajność, Ograniczenia, Ostrzeżenia i środki ostrożności, Magazynowanie i stabilność.
Usunięte części	Przykłady zastosowań klinicznych, Odczynniki, Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna, Liniowość
Zaktualizowane części	Przeznaczenie, Klasyfikacja zagrożeń wg GHS, Dowód pogorszenia jakości, Procedura, Załącznik.

WERSJA	**Data wydania**
AX	Kwiecień 2023
Zaktualizowane części	Dodano język kazachski
Zaktualizowane części	Przechowywanie i stabilność

Wersja zmieniona	AY
Data zmiany	Maj 2024
Zaktualizowano tłumaczenia	**Znaczenie kliniczne:**
Zaktualizowane części	Historia zmian

Wersja zmieniona	AZ
Data zmiany	Lipiec 2024
Zaktualizowane części	Historia zmian

Legenda symboli

Słowniczek symboli jest dostępny pod adresem beckman.com/techdocs (numer dokumentu B60062)

	Specifikace
Specificita	CD5
Klon	BL1a
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Imunoglobulin	IgG2a
Druhy	Myš
Purifikace	Afinitní chromatografie
Fluorochrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molární poměr	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
Excitace λ	488 nm
Emisní vrchol	670 nm
Pufr	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugovaná protilátka CD5-PC5

REF A07754 100 testů; 1 ml, 10 µl / test

Pouze pro diagnostiku *in vitro*

URČENÉ POUŽITÍ

Tato protilátka konjugovaná s fluorochromem umožňuje kvalitativní a neautomatizovanou identifikaci buněčných populací exprimujících antigen CD5 v lidských biologických vzorcích (viz část „Vzorky“ níže) pomocí průtokové cytometrie.

PRINCIP

Tento test je založen na schopnosti monoklonálních protilátek specificky se vázat na antigenní determinanty exprimované na leukocytech.

Specifické značení leukocytů se provádí inkubováním vzorku s reagencií IOTest. Červené krvinky jsou poté odstraněny provedením lýzy a bílé krvinky, jež tímto procesem nejsou ovlivněny, jsou analyzovány na průtokovém cytometru.

Průtokový cytometr měří difúzi světla a fluorescenci buněk. Umožňuje oddělit zkoumanou populaci v rámci elektronického okna definovaného na histogramu, který je v korelaci s ortogonální difúzí světla (kolmý rozptyl) a s difúzí světla v úzkém úhlu (přímý rozptyl). Jako podporu ve fázi gatování lze, v závislosti na aplikaci zvolené uživatelem, použít další histogramy s kombinací dvou různých parametrů, které jsou v cytometru k dispozici.

Fluorescence oddělených buněk je analyzována s cílem odlišit pozitivně obarvené události od neobarvených. Výsledky jsou vyjádřeny jako procentní podíl pozitivních událostí ze všech událostí zjištěných gatováním.

ZAMÝŠLENÝ UŽIVATEL

Tento produkt je určen pro profesionální laboratorní použití.

KLINICKÁ VÝZNAMNOST

CD5-PC5 je protilátka CD5 používaná k identifikaci a charakterizaci buněk exprimujících antigen CD5 pomocí průtokové cytometrie. Tento produkt sám o sobě nevytváří a nemá vytvářet žádný diagnostický závěr.

Při použití v kombinaci s dalšími markery lze tento produkt použít k jedné nebo více z následujících funkcí:

- Jako pomůcka pro diferenciální diagnostiku pacientů s hematologickými abnormalitami, u kterých je podezření na hematopoetickou neoplazii, a k monitorování pacientů se známou hematopoetickou neoplazií.
- Jako pomůcka pro stanovení prognózy u pacientů s hematopoetickou neoplazií.

Viz následující odkazy:

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

VZORKY

Vzorky žilní krve musejí být odebrány do sterilních zkumavek obsahujících sůl EDTA jako antikoagulační činidlo.

Vzorky by měly být uchovávány při laboratorní teplotě (18–25 °C) a neměly by se protřepávat. Vzorek by měl být před odebráním vzorku k testování homogenizován mírným promícháním.

Vzorky je nutné analyzovat do 24 hodin od venepunkce.

KONCENTRACE

Viz certifikát o analýze specifický pro šarži na www.beckman.com.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagencii nepoužívejte po datu exspirace.
2. Nezmrazujte.
3. Před použitím nechte vytemperovat na laboratorní teplotu (18–25 °C).
4. Minimalizujte expozici světlu.
5. Zabraňte mikrobiologické kontaminaci reagencií, jinak mohou být výsledky chybné.
6. S roztoky protilátek obsahujícími azid sodný (NaN_3) je třeba manipulovat opatrně. Neužívejte vnitřně a zabraňte veškerému kontaktu s pokožkou, sliznicemi a očima.

V kyselém prostředí může azid sodný navíc vytvářet potenciálně nebezpečnou kyselinu azidovodíkovou. Při likvidaci se doporučuje před vylitím do odpadu reagencii zředit velkým objemem vody, aby nedocházelo k hromadění nebezpečného azidu sodného v kovovém potrubí a předešlo se tak riziku exploze.

7. Všechny vzorky krve je nutno považovat za potenciálně infekční a je nutné manipulovat s nimi opatrně (zvláště: používat ochranné rukavice, pláště a brýle).
8. Nikdy nepipetujte ústy a zabraňte tomu, aby se vzorky dostaly do kontaktu s kůží, sliznicí ani očima.
9. Zkumavky s krví a jednorázový materiál určený pro manipulaci je třeba likvidovat v kontejnerech ad hoc určených ke spálení.
10. Reagencie a odpad by měly být odstraňovány v souladu s místními požadavky.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Není klasifikované jako nebezpečné

SDS Bezpečnostní list je k dispozici na internetové adrese beckmancoulter.com/techdocs.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Před otevřením lahvičky a po jejím otevření musí být tato reagencie uchovávána při teplotě mezi 2 a 8 °C a chráněna před světlem.

Doba použitelnosti uzavřené lahvičky podle studie stability: 1095 dnů/dní.

Stabilita již jednou otevřené lahvičky: reagencie je stabilní po dobu 180 dní.

ZNÁMKY ZHORŠENÍ KVALITY

Jakákoli změna fyzického vzhledu reagencií může znamenat jejich znehodnocení a taková reagencie by se neměla používat.

Pokud potřebujete další informace nebo jste obdrželi poškozený produkt, zavolejte na telefonní číslo zákaznické služby společnosti Beckman Coulter 800-742-2345 (USA nebo Kanada) nebo se obraťte na místního zástupce společnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervační látka azid sodný může v kovovém odpadním potrubí vytvářet výbušné sloučeniny. Viz buletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečí výbušných azidů) (16.8.76).
Po vypuštění neředěné reagencie propláchněte odpadní potrubí vodou, aby se v něm nehromadily azidové sloučeniny. Likvidace azidu sodného musí být prováděna podle příslušných místních předpisů.

MATERIÁLY POTŘEBNÉ, ALE NEDODANÉ SE SOUPRAVOU:

- Zkumavky na odběr vzorků a materiál potřebný k odběru vzorků.
- Automatické pipety s jednorázovými špičkami pro 10, 100 a 500 µl.
- Plastové zkumavky na hemolýzu.
- Reagencie pro lýzu červených krvinek s fází promývání po lýze. Například: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagencie pro fixaci leukocytů. Například: Fixační roztok IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotypová kontrola PC5: Reagencie IOTest (ref. A09148).
- Pufr (PBS: 0,01 M fosforečnan sodný; 0,145 M chlorid sodný; pH 7,2).
- Odstředivka.
- Automatické míchadlo (typu vortex).
- Průtokový cytometr.

POSTUP S REAGENCIÍ VERSALYSE

Pro každý analyzovaný vzorek lze kromě testovací zkumavky přidat jednu kontrolní zkumavku, v níž jsou buňky promíchány v přítomnosti izotypové kontroly (ref. A09148).

1. Do každé z testovacích zkumavek přidejte 10 µl konjugované protilátky specifické pro IOTest a podle potřeby do každé ze zkumavek kontroly přidejte 10 µl kontroly izotypu.
2. Do každé zkumavky přidejte 100 µl testovaného vzorku. Zkumavky jemně promíchejte na vortexové míchačce.
3. Provádějte inkubaci po dobu 15 až 20 minut při laboratorní teplotě (18–25 °C), chraňte před světlem.
4. Poté lyzujte červené krvinky. Postupujte dle brožury VersaLyse (ref. A09777) a řiďte se, pokud možno, postupem nazvaným „s průvodní fixací“, který spočívá v přidání 1 ml fixační a lyzační směsi připravené bezprostředně před použitím. Ihned vortexujte po dobu jedné sekundy a inkubujte po dobu 10 minut při laboratorní teplotě, přičemž chraňte před světlem.
5. Odstřeďujte 5 minut při 150 x g při laboratorní teplotě.
6. Supernatant odsajte.
7. Resuspendujte buněčnou peletu pomocí 3 ml PBS.
8. Opakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte buněčnou peletu pomocí:

- 0,5 ml nebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, pokud mají být preparáty uchovány po dobu kratší než 24 hodin. (PBS s 0,1 % formaldehydu lze získat zředěním 12,5 µl fixačního roztoku IOTest 3 (ref. A07800) o koncentraci 10x v 1 ml PBS.)
- 0,5 ml nebo 1 ml PBS bez formaldehydu, pokud mají být preparáty analyzovány do 2 hodin.

Poznámka: Ve všech případech uchovávejte preparáty při teplotě mezi 2 a 8 °C a chraňte je před světlem.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratořích bylo 25 vzorků plné krve zjevně zdravých dárců zpracováno za použití výše popsané reagencie. Získané výsledné počty cílových pozitivních událostí s touto reagencií jsou uvedeny v následující tabulce:

Pozitivní nosič	Počet	Průměr (%)	SD (směrodatná odchylka)	VK (%)
Lymfocyty	25	71,40	9,45	13,23

Tyto hodnoty by měly být pouze reprezentativní. Každá laboratoř si musí stanovit vlastní očekávané hodnoty na základě místní populace normálních dárců.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Data o výkonu se získávají výše popsaným postupem na vzorcích krve starých méně než 24 hodin, které byly odebrány do sterilních zkumavek se solí EDTA jakožto antikoagulačním činidlem. Analýza se provádí do 2 hodin od imunobarvení.

SPECIFICITA

Molekula CD5 je vytvářena na povrchu zralých T-lymfocytů většinou thymocytů a podpopulací B-lymfocytů (11, 12, 13). Antigen CD5 je vytvářen v části B-buněk produkujících IgM v důsledku nedostatku enzymu terminální deoxynukleotidyltransferáza (TdT), který zřejmě usnadňuje aktivaci BSR, a tudíž redukuje autoreaktivitu (autoimunitní reakci). T-buňky naopak vytvářejí vyšší hladiny antigenu CD5 než B-buňky. Při silné aktivaci je antigen CD5 v T-buňkách regulován zvyšováním. V brzlíku dochází ke korelaci s tvorbou antigenu CD5 a intenzitou interakce T-buňky s vlastními peptidy. K tvorbě antigenu CD5 nedochází v granulocytech, monocytech a krevních destičkách (13). Specificita rozpoznání antigenu CD5 monoklonální protilátkou BL1a byla uznána v rámci 3. konference o lidských leukocytárních diferenciačních antigenech (3rd Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens), která se konala v roce 1986 v Oxfordu v Anglii (WS kód: 520, sekce T) (11, 12).

PRECIZNOST

Procentuální pozitivní hodnoty byly stanoveny použitím plné krve. Každý vzorek byl analyzován 4krát, dvakrát denně v průběhu 1 dne na 2 přístrojích pomocí 2 šarží reagencií s monoklonální protilátkou CD5-PC5. Měření (% pozitivních) byla provedena na průtokovém cytometru Navios. Analýza byla provedena na základě metody CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vyhodnocení výkonu preciznosti kvantitativních měřicích metod).

Naše kritéria přijatelnosti závisí na počtu pozitivních událostí změřených pro každou populaci:

- Pokud pozitivní událost < 1 500, VK < 15 %
- Pokud pozitivní událost > 1 500, VK < 10 %

Lymfocyty							
Počet pozitivních událostí (průměr) = 2823							
	Mezi obslužnými pracovníky	Mezi cytometry	V rámci šarže	Mezi šaržemi	Mezi cykly	V rámci cyklu	Celkem
VK (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PŘESNOST

Přesnost CD5-PC5 byla vyhodnocena porovnáním výsledků s referenční reagencií sloužící jako srovnávací látka na sadě vzorků plné krve analyzované na průtokovém cytometru Navios. Na základě rozdílu mezi výsledky testů byla stanovena odchylka mezi testem a referenční reagencií. Pokud je odchylka v rámci rozsahu přípustné chyby nebo hodnota p naznačuje, že nedošlo k žádnému významnému rozdílu (> 0,05), výsledky testů daných dvou reagencií se považují za shodné.

Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Počet dárců = 25				
Pozitivní nosič	Průměr Δ	Kritéria Δ % buněk	Hodnota p	VÝSLEDKY
Lymfocyty	0,90	<5	0,001	PASS

MEZ PRÁZDNÉHO VZORKU A MEZ MĚŘITELNOSTI

Byla provedena studie v souladu se směrnicí CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnocení schopnosti detekce pro klinické laboratorní postupy měření). Mez měřitelnosti (LOD) je nejnižší koncentrace analytu, kterou lze spolehlivě detekovat. Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Positive Target	Mez prázdného vzorku (buňky/µl)	Mez měřitelnosti (buňky/µl)
Lymfocyty	4	6

OMEZENÍ

1. Průtoková cytometrie může přinést falešné výsledky, pokud cytometr nebyl dokonale seřízen, pokud nebyly správně kompenzovány úniky fluorescence a pokud oblasti nebyly pečlivě umístěny.
2. Je vhodné používat techniku lýzy RBC s promývacím krokem, protože tato reagencie není optimalizována pro techniku lýzy bez promývání.
3. Přesných a reprodukovatelných výsledků bude dosaženo, pokud jsou použité postupy v souladu s technickým příbalovým letákem a se správnou laboratorní praxí.
4. Konjugovaná protilátka této reagencie je kalibrována tak, aby poskytovala nejlepší možný poměr specifického signálu k nespecifickému signálu. Proto je důležité při každém testu dodržovat poměr objemu reagencie a objemu vzorku.
5. V případě hyperleukocytózy nařeďte krev v přípravku PBS tak, aby byla dosažena hodnota přibližně 5 x 10^9 leukocytů/l (14).
6. U určitých chorob, například závažného selhání ledvin či hemoglobinopatií, se může stát, že lýza červených krvinek bude probíhat pomalu, nedokončí se, nebo dokonce nebude možná. V tomto případě se před značením doporučuje izolovat mononukleární buňky s použitím hustotního gradientu (např. Ficoll) (15).

7. Vzhledem k tandemové struktuře fluorochromu látka PC5 rovněž emituje světlo o vlnové délce 575 nm. Tento sekundární emisní vrchol se liší mezi šaržemi látky PC5. V případě vícebarevné analýzy je proto třeba při výměně šarže konjugátu PC5 pečlivě zkontrolovat kompenzační matrici.
8. U pacientů léčených pomocí monoklonálních protilátek proti lidským antigenům může být detekce specificky cílených antigenů snížena nebo může chybět kvůli částečné nebo celkové blokaci terapeutickými protilátkami.
9. Výsledky analýzy CD5-PC5 je nutné interpretovat s přihlédnutím k celkovému klinickému obrazu pacienta, včetně symptomů, klinické anamnézy, údajů z dalších testů a dalších vhodných informací.

Příklady a reference jsou uvedeny v příloze.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, stylizované logo a známky produktů a služeb společnosti Beckman Coulter uvedené v tomto dokumentu jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Beckman Coulter, Inc. ve Spojených státech amerických a dalších zemích.

DALŠÍ INFORMACE

Pro pacienty, uživatele nebo třetí osoby v Evropské unii a v zemích se stejným regulačním režimem (nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro); pokud při používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání dojde k závažné nehodě, prosím ohlaste tuto nehodu výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a kompetentnímu vnitrostátnímu orgánu.

Summary of Safety and Performance (Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti) je k dispozici v databázi EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIE REVIZÍ

REVIZE AC:	Datum vydání: Říjen 2019

REVIZE	**Datum vydání**
AW	Květen 2022
Aktualizace kvůli shodě s globálními zásadami označování společnosti Beckman Coulter a dle požadavků IVD-R (EU) 2017/746:	
Přidání částí	Číslo BSI 2797, Určený uživatel, Klinická významnost, Koncentrace, Preciznost, Přesnost, Mez prázdného vzorku a mez měřitelnosti, Další informace, Historie změn.
Přidány informace	Viz část Omezení
Aktualizace formulací a typografické aktualizace	Viz části Postup, Výkon, Omezení, Varování a bezpečnostní opatření, Skladování a stabilita.
Odstranění částí	Příklad klinických použití, Reagencie, Reprodukovatelnost v rámci laboratoře, Linearita
Aktualizované části	Určené použití, Klasifikace nebezpečí podle GHS, Známky znehodnocení, Postup, Příloha.

REVIZE	**Datum vydání**
AX	duben 2023
Aktualizované části	Přidání kazašského jazyka
Aktualizované části	Skladování a stabilita

Revidovaná verze	AY
Datum revize	Květen 2024
Aktualizované překlady	**Klinická významnost:**
Aktualizované části	Historie revizí

Revidovaná verze	AZ
Datum revize	cervenec 2024
Aktualizované části	Historie revizí

Klíč k symbolům

Slovníček symbolů je k dispozici na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	Špecifikácie
Špecificita	CD5
Klon	BL1a
Hybridóm	SP2/0 x balb/c
Imunogén	Lymphocytes from human thoracic duct
Imunoglobulín	IgG2a
Druhy	Myš
Purifikácia	Afinitná chromatografia
Fluorochróm	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molárny pomer	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
Excitácia λ	488 nm
Vrchol emisií	670 nm
Tlmivý roztok	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugovaná protilátka CD5-PC5

REF A07754 100 testov; 1 ml, 10 µl / test

Na diagnostické použitie *in vitro*

URČENÉ POUŽITIE

Táto protilátka konjugovaná s fluorochrómom umožňuje pomocou prietokovej cytometrie vykonávať kvalitatívnu, neautomatizovanú identifikáciu populácie buniek exprimujúcich antigén CD5 v ľudských biologických vzorkách (pozri časť „vzorky“ nižšie).

PRINCÍP

Tento test je založený na schopnosti špecifických monoklonálnych protilátok viazať sa na antigénne determinanty exprimované na leukocytoch.

Špecifické farbenie leukocytov sa vykoná inkubáciou vzorky s činidlom IOTest. Červené krvinky sa následne odstránia lýzou a leukocyty, na ktoré tento postup nemá vplyv, sa analyzujú prietokovou cytometriou.

Prietokový cytometer meria rozptyl svetla a fluorescenciu buniek. Umožňuje vymedzenie požadovanej populácie v rámci elektronického okna zadefinovaného v histograme znázorňujúcom koreláciu ortogonálneho rozptylu svetla (bočný rozptyl, SS) a rozptylu svetla v úzkom uhle (predný rozptyl, FS). Ostatné histogramy obsahujúce kombináciu dvoch rozličných parametrov dostupných na cytometri možno použiť na podporu vo fáze gatingu v závislosti od aplikácie zvolenej používateľom.

Fluorescencia vymedzených buniek sa analyzuje s cieľom odlíšiť pozitívne sfarbené udalosti od nesfarbených. Výsledky sú vyjadrené ako percento pozitívnych udalostí vzhľadom na všetky udalosti zaznamenané gatingom.

URČENÝ POUŽÍVATEĽ

Tento produkt je určený na profesionálne laboratórne použitie.

KLINICKÝ VÝZNAM

CD5-PC5 je protilátka proti CD5 používaná na identifikáciu a charakterizáciu buniek exprimujúcich antigén CD5 pomocou prietokovej cytometrie. Tento výrobok sám osebe nemôže a ani nemá slúžiť na vyvodzovanie akýchkoľvek diagnostických záverov.

Pri použití v kombinácii s inými markermi možno tento produkt použiť na jeden alebo viac z týchto účelov:

- Ako pomôcka pri diferenciálnej diagnostike hematologicky abnormálnych pacientov s podozrením na hematopoetickú neoplazmu a na monitorovanie pacientov so známou hematopoetickou neoplazmou.
- ako pomôcka pri stanovovaní prognózy u pacientov s hematopoetickou neoplazmou,

Pozrite si nasledujúce odkazy:

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

VZORKY

Vzorky žilovej krvi musia byť odobraté do sterilných skúmaviek, ktoré obsahujú soľ EDTA ako antikoagulačné činidlo.

Vzorky by sa mali uchovávať pri izbovej teplote (18 – 25 °C) a nemalo by sa nimi triasť. Vzorky by sa mali pred odobratím testovacej vzorky homogenizovať jemným pretrepaním.

Vzorky sa musia analyzovať do 24 hodín od odberu.

KONCENTRÁCIA

Pozrite si certifikát analýzy pre konkrétnu šaržu na adrese www.beckman.com.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

1. Činidlo nepoužívajte po dátume exspirácie.
2. Nezamrazujte.
3. Pred použitím nechajte zahriať na izbovú teplotu (18 – 25 °C).
4. Minimalizujte vystavenie svetlu.
5. Zabráňte mikrobiálnej kontaminácii činidiel, inak môže dôjsť k falošným výsledkom.

6. S roztokmi protilátok obsahujúcimi azid sodný (NaN_3) by sa malo zaobchádzať opatrne. Nepožívajte ich a vyhýbajte sa akémukoľvek kontaktu s kožou, sliznicami a očami.

   V médiu s obsahom kyseliny môže navyše azid sodný vytvárať potenciálne nebezpečnú kyselinu azidovodíkovú. Ak je činidlo potrebné zlikvidovať, odporúča sa ho pred vyliatím do kanalizácie zriediť vo veľkom objeme vody, aby sa predišlo riziku explózie v dôsledku hromadenia azidu sodného v kovovom potrubí.
7. Všetky vzorky krvi sa musia považovať za potenciálne infekčné, a preto sa s nimi musí narábať opatrne (predovšetkým: používajte ochranné rukavice, plášte a okuliare).
8. Nikdy nepipetujte ústami a zabráňte akémukoľvek kontaktu vzoriek s pokožkou, sliznicami a očami.
9. Skúmavky na krv a jednorazový materiál používané pri manipulácii sa musia zlikvidovať do schválených nádob určených na spálenie.
10. Činidlá a odpad by sa mali eliminovať v súlade s miestnymi požiadavkami.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Nie je klasifikované ako nebezpečné

SDS Bezpečnostný list je dostupný na adrese beckmancoulter.com/techdocs

SKLADOVANIE A STABILITA

Toto činidlo sa musí skladovať pri teplote od 2 do 8 °C a chrániť pred svetlom pred aj po otvorení fľaštičky.

Doba použiteľnosti uzavretej fľaštičky podľa štúdie stability: 1095 dní.

Stabilita otvorenej fľaštičky: činidlo je stabilné 180 dní.

ZNÁMKY ZNEHODNOTENIA

Akákoľvek zmena fyzického vzhľadu činidla môže svedčiť o zhoršení kvality a takéto činidlo by sa nemalo používať.

Ak potrebujete ďalšie informácie alebo ak je výrobok poškodený, kontaktujte stredisko zákazníckych služieb spoločnosti Beckman Coulter na telefónnom čísle 800-742-2345 (ak sa nachádzate v USA alebo Kanade) alebo kontaktujte miestneho zástupcu spoločnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervačné činidlo azid sodný môže v kovovej kanalizačnej sieti vytvárať výbušné zlúčeniny. Pozrite si informačný bulletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečenstvo výbušného azidu) (16. 8. 76).
Aby nedošlo k možnému nahromadeniu azidových zlúčenín, po likvidácii neriedeného činidla vypláchnite potrubie vodou. Likvidácia azidu sodného musí prebiehať v súlade s príslušnými miestnymi predpismi.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ NIE JE SÚČASŤOU SÚPRAVY:

- Vzorkovacie skúmavky a materiál potrebný na vzorkovanie.
- Automatické pipety s jednorazovými špičkami na dávkovanie objemov 10, 100 a 500 µl.
- Plastové hemolytické skúmavky.
- Činidlo na lýzu červených krviniek s umývacou fázou po lýze. Napríklad: VersaLyse (Ref. A09777).
- Činidlo na fixáciu leukocytov. Napríklad: fixačný roztok IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotypová kontrolaPC5: činidlo IOTest (Ref. A09148).
- Tlmiaci roztok (PBS: fosforečnan sodný 0,01 M; chlorid sodný 0,145 M; pH 7,2).
- Centrifúga.
- Automatické miešadlo (typ Vortex).
- Prietokový cytometer.

POSTUP S ČINIDLOM VERSALYSE

Na každú analyzovanú vzorku je možné okrem testovacej skúmavky pridať aj jednu kontrolnú skúmavku, v ktorej sa zmiešajú bunky v prítomnosti izotypovej kontroly (Ref. A09148).

1. Pridajte 10 µl špecifickej konjugovanej protilátky IOTest do každej testovacej skúmavky a v prípade potreby 10 µl izotopovej kontroly do každej kontrolnej skúmavky.
2. Do každej skúmavky pridajte 100 µl testovanej vzorky. Skúmavky jemne vortexujte.
3. Inkubujte 15 až 20 minút pri izbovej teplote (18 – 25 °C) bez prístupu svetla.
4. Potom vykonajte lýzu červených krviniek. Postupujte podľa písomnej informácie VersaLyse (Ref. A09777) a ideálne použite postup označený ako „so sprievodnou fixáciou“, ktorý zahŕňa pridanie 1 ml bezprostredne pripravenej zmesi „na fixáciu a lýzu“. Ihneď premiešajte jednu sekundu a inkubujte 10 minút pri izbovej teplote a chráňte pred svetlom.
5. Odstreďujte 5 minút pri 150 x g pri izbovej teplote.
6. Nasatím odoberte supernatant.
7. Resuspendujte bunkový pelet použitím 3 ml PBS.
8. Zopakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte bunkový pelet použitím:

- 0,5 ml alebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, ak sa preparáty budú skladovať kratšie ako 24 hodín. (Roztok PBS s 0,1 % formaldehydu možno pripraviť zriedením 12,5 µl fixačného roztoku IOTest 3 (Ref. A07800) v 10X koncentrácii v 1 ml roztoku PBS).
- 0,5 ml alebo 1 ml PBS bez formaldehydu, ak sa preparáty budú analyzovať do 2 hodín.

Poznámka: Preparáty vždy uchovávajte pri teplote 2 až 8 °C a mimo dosahu svetla.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratóriách sa vzorky plnej krvi od 25 zjavne zdravých darcov spracovali pomocou vyššie popísaného činidla. Získané výsledky pre príslušné počty skúmaných pozitívnych udalostí s týmto činidlom sú uvedené v tabuľke nižšie:

Pozitívny cieľ	Počet	Priemer (%)	SD	CV (%)
Lymfocyty	25	71,40	9,45	13,23

Tieto hodnoty slúžia len ako reprezentatívne údaje. Každé laboratórium by si malo určiť vlastné očakávané hodnoty na základe miestnej populácie normálnych darcov.

VÝKONNOSŤ

Údaje o výkonnosti boli získané pomocou vyššie opísaného postupu z menej ako 24 hodín starých vzoriek krvi odobraných do sterilných skúmaviek so soľou EDTA ako antikoagulačným činidlom. Analýza prebehla do 2 hodín od imunologického farbenia.

ŠPECIFICITA

Molekula CD5 sa exprimuje na povrchu zrelých T-lymfocytov, u väčšiny týmusových lymfocytov a u subpopulácie B-lymfocytov (11,12,13). CD5 sa exprimuje u podmnožiny B-lymfocytov vylučujúcich IgM v dôsledku nedostatku enzýmu terminálnej deoxynukleotidyl transferázy (TdT), ktorá zjavne zmierňuje aktiváciu BSR a znižuje autoreaktivitu (autoimunitná reakcia). Naopak, T-lymfocyty v porovnaní s B-lymfocytmi exprimujú vyššie hladiny CD5. Silná aktivácia T-lymfocytov reguluje hladinu CD5 smerom k vyšším hodnotám. V týmuse existuje korelácia medzi expresiou CD5 a silou interakcie T-lymfocytu s vlastnými (self) peptidmi. Expresia CD5 neprebieha na granulocytoch, monocytoch a krvných doštičkách (13). Špecificita rozpoznania CD5 monoklonálnou protilátkou BL1a bola uznaná v rámci konferencie 3rd HLDA Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens (3. konferencia HLDA o ľudských leukocytárnych diferenciačných antigénoch), ktorá sa konala v roku 1986 v anglickom Oxforde (WS kód: 520, sekcia T) (11,12).

PRESNOSŤ

Percentuálne pozitívne hodnoty boli stanovené s použitím plnej krvi. Každá vzorka bola analyzovaná 4-krát, dva razy denne počas 1 dňa na 2 prístrojoch pri použití 2 šarží činidiel s monoklonálnymi protilátkami proti CD5-PC5. Merania (% pozitívnych) sa vykonávali na prietokovom cytometri Navios. Analýza sa vykonávala podľa metódy CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Hodnotenie zhodnosti pri metódach kvantitatívneho merania).

Naše kritériá prijateľnosti závisia od počtu pozitívnych udalostí nameraného v jednotlivých populáciách:

- Ak je pozitívnych udalostí < 1500, CV < 15 %
- Ak je pozitívnych udalostí > 1500, CV < 10 %

Lymfocyty							
Počet pozitívnych udalostí (priemer) = 2823							
	Medzi operátormi	Medzi cytometrami	V rámci jednej šarže	Medzi šaržami	Medzi analýzami	V rámci jednej analýzy	Celkovo
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRESNOSŤ

Presnosť CD5-PC5 bola vyhodnotená porovnaním výsledkov s porovnávacím referenčným činidlom na súbore vzoriek plnej krvi analyzovaných v prietokovom cytometri Navios. Odchýlka medzi testovaným a referenčným činidlom bola stanovená na základe rozdielu medzi výsledkami testov. Ak je odchýlka v medziach prípustného chybového rozsahu, alebo ak p-hodnota svedčí o nevýznamnom rozdiele (> 0,05), výsledky testovania daných dvoch činidiel sa považujú za rovnocenné.

Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Počet darcov = 25				
Pozitívny cieľ	Priemer Δ	Kritériá Δ % buniek	p-hodnota	VÝSLEDKY
Lymfocyty	0,90	<5	0,001	PASS

MEDZA PRÁZDNEJ VZORKY A MEDZA MERATEĽNOSTI

Bola vykonaná štúdia v súlade s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnotenie detekčnej schopnosti pre postupy klinických laboratórnych meraní). Medza merateľnosti (LoD) je najnižšia koncentrácia analytu, ktorú možno konzistentne detegovať. Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Positive Target	Medza prázdnej vzorky (buniek/µl)	Medza merateľnosti (buniek/µl)
Lymfocyty	4	6

OBMEDZENIA

1. Prietoková cytometria môže vytvárať falošné výsledky, ak cytometer nie je správne zarovnaný, ak úniky fluorescencie nie sú správne kompenzované, alebo ak nie sú oblasti správne umiestnené.
2. Vhodnejšie je používať metódu lýzy RBC s krokom premývania, keďže toto činidlo nie je optimalizované na metódy lýzy „bez premývania“.
3. Presné a reprodukovateľné výsledky sa získajú len vtedy, ak sa použijú postupy v súlade s technickými údajmi v príbalovom letáku a v súlade s osvedčenou laboratórnou praxou.
4. Konjugovaná protilátka tohto činidla sa kalibruje tak, aby ponúkala najlepší pomer špecifického signálu/nešpecifického signálu. Preto je dôležité pri každom teste dodržať pomer objem činidla/objem vzorky.
5. V prípade hyperleukocytózy zrieďte krv v PBS na koncentráciu približne 5 x 10^9 leukocytov/l (14).

6. Pri niektorých chorobných stavoch, akými sú napríklad závažné zlyhanie obličiek alebo hemoglobinopatie, môže byť lýza červených krviniek pomalá, neúplná alebo dokonca nemožná. V takom prípade sa odporúča pred farbením izolovať mononukleárne bunky pomocou hustotného gradientu (napríklad Ficoll) (15).
7. V dôsledku tandemovej štruktúry fluorochrómu PC5 emituje svetlo aj pri vlnovej dĺžke 575 nm. Tento sekundárny emisný pík sa líši medzi jednotlivými šaržami PC5. Preto je pri viacfarebnej analýze potrebné dôkladne skontrolovať kompenzačnú matricu pri zmene šarže konjugátu -PC5.
8. U pacientov liečených monoklonálnymi protilátkami proti ľudským protilátkam môže byť detekcia špecifických cieleným antigénom znížená alebo môže úplne chýbať v dôsledku čiastočného alebo úplného blokovania terapeutickej protilátky.
9. Pri interpretácii výsledkov CD5-PC5 treba brať do úvahy celkový klinický obraz pacienta vrátane symptómov, klinickej anamnézy, výsledkov ďalších testov a iných súvisiacich informácií.

Príklady a referencie nájdete v Dodatku.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, štylizované logo a známky produktov a služieb spoločnosti Beckman Coulter spomenuté v tomto dokumente sú ochranné známky alebo registrované ochranné známky spoločnosti Beckman Coulter, Inc. v USA a ďalších krajinách.

DOPLŇUJÚCE INFORMÁCIE

Pre pacienta/používateľa/tretiu stranu v Európskej únii a v krajinách s identickým regulačným režimom (Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/746 o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro): ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne vážna nehoda, nahláste ju výrobcovi a/alebo jeho autorizovanému zástupcovi a vášmu národnému orgánu.

Summary of Safety and Performance (Súhrn informácií o bezpečnosti a výkonnosti) je k dispozícii v databáze EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRIA REVÍZIÍ

REVÍZIA AC:	Dátum vydania: Október 2019

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AW	Máj 2022
Aktualizácie kvôli súladu s dokumentom Beckman Coulter Global Labelling Policy (Globálne pravidlá označovania spoločnosti Beckman Coulter) a podľa požiadaviek nariadenia IVDR (EÚ) 2017/746:	
Pridané časti	Číslo BSI 2797, Určený používateľ, Klinický význam, Koncentrácia, Zhodnosť, Presnosť, Medza prázdnej vzorky a medza merateľnosti, Doplňujúce informácie, História revízií.
Pridané informácie	Pozri časti Obmedzenia
Aktualizácie formulácií alebo typografické aktualizácie	Pozri časti Postup, Výkonnosť, Obmedzenia, Výstraha a opatrenia, Skladovanie a stabilita.
Odstránené časti	Príklad klinických aplikácií, Činidlá, Intralaboratórna reprodukovateľnosť, Linearita
Aktualizované časti	Určené použitie, Klasifikácia nebezpečenstiev podľa GHS, Známky zhoršenia kvality, Postup, Dodatok.

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AX	Apríl 2023
Aktualizované časti	Pridať kazaštinu
Aktualizované časti	Skladovanie a stabilita

Revidovaná verzia	AY
Dátum revízie	Máj 2024
Aktualizované preklady	**Klinický význam:**
Aktualizované časti	História revízií

Revidovaná verzia	AZ
Dátum revízie	Júl 2024
Aktualizované časti	História revízií

Popis symbolov

Slovník symbolov je dostupný na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	규격
특이도	CD5
클론	BL1a
하이브리도마	SP2/0 x balb/c
면역원	Lymphocytes from human thoracic duct
면역글로불린	IgG2a
종	생쥐
정제	친화성 크로마토그래피
형광색소	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
분자비	PC5/Ig: 0.5 - 1.5
λ 자극	488 nm
방출 피크	670 nm
완충액	PBS pH 7.2 + 2mg/mL BSA 및 0.1 % NaN_3

IOTest

복합 항체
CD5-PC5

REF A07754 100 테스트; 1 mL, 10 µL / test

체외 **진단용**

사용목적

본 형광색소 결합 항체를 사용 시 유세포 분석법으로 인간의 생물학적 검체에 있는 CD5 항원을 나타내는 세포군의 정성적 동정 및 비자동 동정을 수행할 수 있습니다(아래 "검체" 섹션 참조).

원리

이 검사는 백혈구로 발현되는 항원 결정기에 특이적 단일클론 항체가 결합할 수 있는 능력에 기초합니다.

백혈구의 특이적 염색은 검체를 IOTest 시약과 함께 배양하여 수행합니다. 그런 다음 적혈구를 용해하여 제거하고 이 과정에서 영향을 받지 않은 백혈구를 유세포 분석법을 통해 분석하십시오.

유세포 분석기는 세포의 빛 확산과 형광 영역을 측정합니다. 유세포 분석기를 사용하면 빛의 직교 확산(측면 산란, SS)과 좁은 각의 광확산(전방 산란, FS)의 상호 관계를 지정하는 막대그래프상에 정의된 전자 창 내에서 관심 개체의 한계를 결정할 수 있습니다. 유세포 분석기에서 사용할 수 있는 두 가지 파라메타를 결합하는 기타 막대그래프를 사용자가 선택한 애플리케이션에 따라 게이팅 단계에서 지원 자료로 사용 가능합니다.

범위가 결정된 세포의 형광 영역을 분석하여 명확하게 염색된 이벤트와 염색되지 않은 이벤트를 구분합니다. 분석 결과는 게이팅으로 획득한 전체 이벤트와 비교한 양성 이벤트의 비율로 표현합니다.

의도된 사용자

본 제품은 실험실 전문가용입니다.

임상 관련성

CD5-PC5은(는) 유세포 분석법으로 CD5 항원을 나타내는 세포를 식별하고 특성화하는 데 사용하는 CD5 항체입니다. 본 제품만 사용하여 진단과 관련된 결론을 내릴 수 없으며, 해당 용도로 사용해서도 안 됩니다.

다른 표지자와 함께 사용하는 경우 이 제품은 다음 중 하나 이상의 기능에 사용할 수 있습니다.

- 조혈세포성 종양이 의심되고 혈액학적 이상을 동반하는 환자의 감별 진단을 위한 보조 수단으로 활용하거나 알려진 조혈세포성 종양을 가진 환자를 모니터링하는 데 사용합니다.
- 혈액암 환자 예후의 보조 수단으로 활용.

다음 참조를 살펴보십시오.

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

검체

정맥혈은 EDTA 염을 항응고제로 포함한 무균 튜브를 사용하여 채취해야 합니다.

검체는 실온(18~25°C)에 보관해야 하며 흔들어서는 안 됩니다. 검사 검체를 채취하기 전에 부드럽게 교반하여 검체를 균질화해야 합니다.

검체는 정맥천자 후 24시간 이내에 분석해야 합니다.

농도

www.beckman.com에서 로트별 분석증명서를 확인할 수 있습니다.

경고 및 주의 사항

1. 유효 기간이 지난 시약은 사용하지 마십시오.
2. 냉동하지 마십시오.
3. 사용 전 실온(18~25°C)에 두십시오.
4. 빛 노출을 최소화하십시오.
5. 시약이 미생물에 오염되지 않도록 하십시오. 그러지 않으면 잘못된 결과를 얻을 수 있습니다.
6. 아지드화나트륨(NaN_3)을 함유한 항체 용액은 주의해서 다루어야 합니다. 흡입을 피하고 피부, 점막 및 눈에 절대 닿지 않도록 하십시오.

또한 산성 매질에 함유된 아지드화나트륨은 잠재적 위험 물질인 히드라조산을 만들어낼 수 있습니다. 시약을 폐기할 때는 금속 파이프 내 아지드화나트륨 축적과 폭발 위험을 방지하기 위해 다량의 물에 희석한 후 배수 시설로 흘려보내야 합니다.

7. 모든 혈액 검체는 잠재적으로 전염성이 있다고 간주하고 주의해서 다루어야 합니다(특히 보호용 장갑, 가운 및 보안경 착용).
8. 피펫을 절대 입으로 사용하지 않도록 하고 검체가 피부, 점막 및 눈에 닿지 않도록 하십시오.
9. 취급에 사용한 혈액 튜브 및 일회용 물질은 소각용 특수 용기에서 폐기해야 합니다.
10. 시약 및 폐기물은 현지 요구 사항에 따라 제거해야 합니다.

GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음

SDS 안전보건자료는 beckmancoulter.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다.

보관 및 안정성

이 시약은 바이알 개봉 전후에 2~8°C로 유지하면서 빛으로부터 보호해야 합니다.

안정성 시험에 따른 밀봉 바이알 유효 기간: 1095일.

개봉한 바이알의 안정성: 시약은 180일 동안 안정적입니다.

성능 저하 증거

시약 외관에 물리적 변화가 있는 경우 성능 저하를 나타내는 것일 수 있으므로 시약을 사용해서는 안 됩니다.

자세한 정보가 필요하거나 손상된 제품을 받은 경우에는 Beckman Coulter 고객 서비스에 800-742-2345(미국 또는 캐나다)로 또는 현지 Beckman Coulter 담당자에게 문의하십시오.

목차

소디움 아자이드 보존제는 금속 배수관에서 폭발성 화합물을 형성할 수 있습니다. NIOSH 게시판을 참조하십시오. Explosive Azide Hazard(폭발성 아지드 유해물질)(76/8/16)
아지드 화합물의 축적 가능성을 방지하려면 희석되지 않은 시약을 폐기한 다음 폐기 파이프를 물로 세척하십시오. 소디움 아자이드의 폐기는 해당 지역 규정을 따라야 합니다.

필요하지만 키트와 함께 제공되지 않는 품목:

- 검체 튜브와 검체 채취에 필요한 물질.
- 10, 100 및 500µL용 일회용 팁이 있는 자동 피펫.
- 플라스틱 용혈 튜브.
- 용해 후 세척 단계의 적혈구 용해 시약. 예: VersaLyse(참조 A09777).
- 백혈구 고정 시약. 예: IOTest 3 고정액(참조 A07800).
- 동형 정도관리물질PC5: IOTest 시약(참조 A09148).
- 완충액(PBS: 0.01M 인산나트륨, 0.145M 염화나트륨, pH 7.2).
- 원심분리기.
- 자동 교반기(교반 유형).
- 유세포 분석기.

VERSALYSE 시약을 이용한 절차

분석할 각 검체마다 검사 튜브와 더불어 동형 대조물질이 있는 상태에서 세포를 혼합하는 하나의 정도관리물질 튜브를 추가할 수 있습니다(참조 A09148).

1. 10µL의 특정 IOTest 결합 항체를 각 검사 튜브에 첨가하고, 필요에 따라 10µL의 동형 정도관리물질을 각 정도관리물질 튜브에 첨가합니다.
2. 100µL의 검사 검체를 각 튜브에 첨가합니다. 튜브를 부드럽게 교반합니다.
3. 실온(18~25°C)에서 빛을 피해 15~20분 동안 배양하십시오.
4. 그런 다음 적혈구 용해를 수행합니다. VersaLyse(참조 A09777) 책자 내용을 참조하여 즉석에서 준비한 1mL의 "고정 및 세포 용해" 혼합물을 첨가하는 "수반 고정" 절차를 따릅니다. 즉시 1초 동안 교반한 후 직사광선을 피해 상온에서 10분 동안 배양합니다.
5. 상온에서 150 x g로 5분 동안 원심분리합니다.
6. 흡입 시 상청액을 제거하십시오.
7. 3mL의 PBS를 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.
8. 5단계를 반복합니다.
9. 그런 다음 흡입 방식으로 상등액을 제거하고 다음을 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.

- 조제 물질을 24시간 미만으로 보관하려는 경우 0.1 %의 포름알데히드가 함유된 0.5mL 또는 1mL의 PBS. (0.1 % 포름알데히드 PBS는 12.5µL의 IOTest 3 고정액(참조 A07800)을 1mL의 PBS에 10X 농도로 희석하여 얻을 수 있습니다).
- 조제 물질을 2시간 이내에 분석하려는 경우 포름알데히드가 없는 0.5mL 또는 1mL의 PBS.

참고: 조제물은 항상 빛을 피해 2~8°C로 유지하십시오.

예상 수치

실험실에서 25명의 건강한 공여자의 전혈 검체를 위에 설명된 시약을 사용하여 처리했습니다. 이 시약에서 관심 대상의 양성 이벤트 수 계산을 위해 얻은 결과는 아래 표와 같습니다.

양성 표적	번호	평균(%)	표준편차	CV(%)
림프구	25	71.40	9.45	13.23

위 값은 전형적인 값으로만 참고해야 합니다. 각 실험실은 소재 지역의 정상 공여자 집단을 통해 고유한 예상값을 설정해야 합니다.

성능

성능 데이터는 위에 설명한 절차를 이용하여 이전에 EDTA 염을 항응고제로 하여 무균 튜브에서 수집한 지 24시간 미만인 혈액 검체로 획득합니다. 분석은 면역염색 후 2시간 이내에 수행됩니다.

특이도

CD5 분자는 대부분 림프구와 일부 B 림프구의 성숙 T 림프구 표면에서 발현됩니다(11,12,13). CD5는 BSR 활성화를 완화시켜 자가 반응(자가면역 반응)을 줄이는 것으로 보이는 말단 디옥시뉴클레오티딜 전이 효소(TdT) 부족으로 인해 IgM 분비 B세포의 일부에서 발현됩니다. 이와 반대로 T세포는 B세포보다 고농도의 CD5를 발현합니다. CD5는 강력한 활성화 시 T세포에서 증가합니다. 흉선에서 CD5 발현과 자가 펩티드에 대한 T세포 상호 작용의 강도 사이에 상관 관계가 있습니다. 과립구, 단핵구 및 혈소판에서는 CD5 발현이 나타나지 않습니다(13). 단일 클론 항체 BL1a는 1986년 영국 옥스포드에서 열린 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens(인간 백혈구 감별 항원에 관한 제 3차 HLDA 워크숍)에서 CD5에 할당되었습니다(WS 코드: 520, 섹션 T) (11,12).

정밀도

양성 비율 값은 전혈을 사용하여 측정되었습니다. 각 검체는 2개의 CD5-PC5 단일 클론 항체 시약 로트를 사용하여 2개의 장비에서 하루 동안 일일 2회씩 4번 실행되었습니다. 측정값(양성 비율)은 Navios 유세포 분석기로 도출했습니다. 분석은 CLSI 방법 EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods(EP5-A2: 정량적 측정 방법의 정밀도 성능 평가)를 기반으로 수행했습니다.

허용 기준은 각 집단에서 측정한 양성 이벤트 수에 따라 다릅니다.

- 양성 이벤트 수가 < 1,500인 경우 CV < 15 %
- 양성 이벤트 수가 > 1,500인 경우 CV < 10 %

림프구							
양성 이벤트 수(평균) = 2823							
	작업자 간	유세포 분석기 간	로트 내	로트 간	실행 간	실행 내	총계
CV(%)	0.23	0.40	1.00	0.22	0.63	0.73	1.10
결과	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

정확도

CD5-PC5의 정확도는 그 결과를 Navios 유세포 분석기로 처리된 전혈 검체에 공인 참조 시약을 가한 값과 비교하여 평가했습니다. 검사 시약과 참조 시약 간 바이어스는 검사 결과 간 차이를 기반으로 지정되었습니다. 바이어스가 허용 가능한 오차 범위 내에 있거나 p-값이 유의한 차이를 나타내지 않는 경우 (> 0.05) 두 시약의 검사 결과는 동일한 것으로 간주됩니다.

얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

공여자 수 = 25				
양성 표적	평균 Δ	Δ % 세포 기준	p-값	결과
림프구	0.90	<5	0.001	PASS

공시료 최저 검출한계 및 검출한계

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures(CLSI EP17-A2, 임상 실험실 측정 절차에 대한 검출 능력 평가)에 따라 연구를 실시했습니다. 검출한계(LoD)는 일관되게 검출 가능한 분석물질의 최저 농도입니다. 얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

Positive Target	공시료 최저 검출한계(세포/µL)	검출한계(세포/µL)
림프구	4	6

한계

1. 유세포 분석기가 완벽하게 정렬되지 않은 경우, 형광 누출이 올바르게 보정되지 않은 경우 또는 영역 위치를 신중하게 지정하지 않은 경우 유세포 분석법에서 잘못된 결과가 나올 수 있습니다.
2. 이 시약은 "비세척" 용해 기법에 최적화되지 않았으므로 세척 단계를 포함한 적혈구 용해법을 사용하는 것이 바람직합니다.
3. 사용한 절차가 동봉된 기술 책자의 내용을 따르고 실험실 모범 사례와 호환되는 경우 정확하고 재현 가능한 결과를 얻을 수 있습니다.
4. 이 시약의 결합 항체는 최상의 특이/비특이 신호비를 제공하도록 보정됩니다. 그러므로 모든 검사에서 시약의 용적/검체 용적 비율을 준수하는 것이 중요합니다.
5. 과백혈구 증가증의 경우 혈액을 PBS에 희석하여 대략 백혈구 5 x 10^9개/L 값을 얻어야 합니다(14).
6. 심한 신부전 또는 혈색소병증 같은 특정 질병 상태에서 적혈구의 용해는 느리거나 불완전하거나 심지어는 불가능할 수도 있습니다. 이러한 경우 염색 전에 밀도 구배(예: Ficoll)를 사용하여 단핵구 세포를 분리하는 것이 좋습니다(15).
7. 형광색소의 일렬 구조로 인해 PC5도 575nm에서 빛을 방출합니다. 이 2차 방출 피크는 PC5의 로트마다 다르게 나타납니다. 따라서 다중 색상 분석의 경우 -PC5 포합체의 로트를 변경할 때 보상 매트릭스를 신중하게 확인해야 합니다.
8. 항 인간 단일 클론 항체 요법으로 치료받은 환자에서, 특이 표적 항원의 검출이 치료 항체에 의한 일부 또는 전체 차단으로 인해 감소하거나 이루어지지 않을 수 있습니다.
9. CD5-PC5 결과는 증상, 병력, 추가 검사 데이터, 기타 적절한 정보 등 환자의 모든 임상 증상을 고려하여 해석해야 합니다.

예시와 참고 자료는 부록을 참조하십시오.

상표

본 문서에 포함된 Beckman Coulter, 스타일 로고, Beckman Coulter 제품 및 서비스 마크는 미국 및 기타 국가에서 Beckman Coulter, Inc.의 상표이거나 등록 상표입니다.

추가 정보

유럽 연합 및 이와 동일한 규정 체제(EU 규정 2017/746, 체외 진단용 의료 기기 관련)를 사용하는 국가에 거주하는 환자/사용자/타사의 경우, 이 장치의 사용 중이나 사용으로 인해 심각한 상황이 발생했다면 제조업체 및/또는 공인 담당자와 해당 국가의 담당 기관에 신고하십시오.

Summary of Safety and Performance(안전성 및 성능에 관한 개요)는 ec.europa.eu/tools/eudamed 주소의 EUDAMED 데이터베이스에서 확인할 수 있습니다.

개정 이력

개정판 AC:	출시일: 2019년 10월

개정	**발행 날짜**
AW	2022년 5월
Beckman Coulter 글로벌 라벨 지정 정책 및 IVD-R (EU) 2017/746 요건에 따라 업데이트했습니다.	
추가된 섹션	BSI 2797 번호, 대상 사용자, 임상적 관련성, 농도, 정밀도, 정확도, 공시료 최저 검출한계 및 검출한계, 추가 정보, 개정 이력.
추가된 정보	한계 섹션 참조
언어적 표현이나 글자 배치를 업데이트했습니다.	절차, 성능, 한계, 경고 및 주의 사항, 보관 및 안정성 섹션을 참조하십시오.
삭제된 섹션	임상 용도의 예, 시약, 실험실 내 재현성, 직선성
업데이트된 섹션	사용목적, GHS 유해물질 등급, 성능 저하 증거, 절차, 부록.

개정	**발행 날짜**
AX	4월 2023
업데이트된 섹션	카자흐어 추가
업데이트된 섹션	보관 및 안정성

개정된 버전	AY
개정 날짜	5월 2024
업데이트된 번역	**임상적 관련성:**
업데이트된 섹션	개정 이력

개정된 버전	AZ
개정 날짜	7월 2024
업데이트된 섹션	개정 이력

기호 목록

기호 용어집은 beckman.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다(문서 번호 B60062)

	Spesifikasyonlar
Özgüllük	CD5
Klon	BL1a
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
İmmünojen	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobulin	IgG2a
Türler	Fare
Arıtma	Afinite Kromatografisi
Florokrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molar oran	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
λ eksitasyonu	488 nm
Emisyon piki	670 nm
Tampon	PBS pH 7,2 artı 2 mg/mL BSA ve %0,1 NaN_3

IOTest
Konjuge Antikor
CD5-PC5

REF A07754 100 test; 1 mL, 10 µL / test

***İn Vitro* Diagnostik Kullanım içindir**

KULLANIM AMACI

Bu florokrom konjuge antikor, akış sitometrisi kullanılarak insan biyolojik örneklerinde var olan CD5 antijenini eksprese eden hücre popülasyonlarının otomatik olmayan ve kalitatif tanımlamasına olanak tanır (aşağıdaki "Örnekler" bölümüne bakın).

İLKE

Bu test, spesifik monoklonal antikorların lökositler tarafından eksprese edilen antijenik belirleyicilere bağlanabilmesine dayanmaktadır.

Lökositlerin spesifik boyaması, örnek, IOTest reaktifi ile inkübe edilerek gerçekleştirilir. Sonra kırmızı hücreler parçalanarak giderilir ve bu işlemden etkilenmeyen lökositler, akış sitometrisi ile analiz edilir.

Akış sitometrisi ışık difüzyonunu ve hücre floresanını ölçer. Bu durum, ilgili popülasyonun, ışığın ortogonal difüzyonu (Yana Yayılma veya SS) ve dar açılı ışığın difüzyonu (İleri Yayılma veya FS) ile ilişkilendirilen histogram üzerinde tanımlanmış elektronik pencerede sınırlanmasını sağlar. Sitometredeki farklı parametrelerden ikisini birleştiren diğer histogramlar, kullanıcının seçtiği uygulamaya bağlı olarak kapılama aşamasında destek olarak kullanılabilir.

Sınırlı hücrelerin floresanı analiz edilerek pozitif boyalı olaylar boyasızlardan ayrılır. Sonuçlar pozitif olayların geçiş ile edinilmiş tüm olaylara yüzdesi olarak ifade edilir.

HEDEF KULLANICI

Bu ürün, laboratuvarda profesyonel kullanım için tasarlanmıştır.

KLİNİK GEÇERLİLİK

CD5-PC5, akış sitometrisiyle CD5 antijenini eksprese eden hücreleri tanımlamak ve karakterize etmek amacıyla kullanılan bir CD5 antikorudur. Bu ürün tek başına, herhangi bir tanı sonucu oluşturamaz ve tanı sonucu oluşturmak üzere tasarlanmamıştır.

Bu ürün, diğer belirteçlerle birlikte kullanıldığında aşağıdaki işlevlerden biri veya daha fazlası için kullanılabilir:

- Hematopoetik neoplazmı olduğundan şüphelenilen hematolojik olarak anormal hastalarda ayırıcı tanıya yardımcı olmak ve bilinen hematopoetik neoplazmı olan hastaları izlemek için.
- Hematopoetik neoplazmı olan hastalarda prognoza yardımcı olmak için.

Şu referanslara bakın:

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

ÖRNEKLER

Antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüpler kullanılarak venöz kan alınmalıdır.

Örnekler oda sıcaklığında (18-25°C) tutulmalı ve çalkalanmamalıdır. Örnekler test örneği alınmadan önce hafifçe çalkalanarak homojenize edilmelidir.

Örnekler venipunktür sonrası 24 saat içinde analiz edilmelidir.

KONSANTRASYON

Lota özel Analiz Sertifikası için www.beckman.com adresine bakın.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. Reaktifi son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
2. Dondurmayın.
3. Kullanmadan önce oda sıcaklığına (18-25°C) getirin.
4. Işığa maruz kalmasını en aza indirin.
5. Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonundan kaçının yoksa yanlış sonuçlar oluşabilir.
6. Sodyum azid (NaN_3) içeren antikor solüsyonları dikkatle işlenmelidir. Yutmayın ve cilt, mukoza ve gözlerle temasından kaçının.

   Ayrıca, asit ortamında, sodyum azid potansiyel olarak tehlikeli hidrazoik asit oluşturabilir. Atılması gerekiyorsa, metal borularda sodyum azid birikmesini ve patlama riskini önlemek için, reaktifin drenaj sistemine dökülmeden önce çok miktarda suyla seyreltilmesi önerilmektedir.

7. Tüm kan örnekleri potansiyel olarak bulaşıcı olarak kabul edilmeli ve dikkatle ele alınmalıdır (özellikle koruyucu eldiven, önlük ve gözlük takılmalıdır).
8. Asla ağızla pipetleme yapmayın ve örneklerin cilt, mukoza veya gözle herhangi bir şekilde temas etmesini önleyin.
9. Taşıma için kullanılan kan tüpleri ve tek kullanımlık malzeme, yakma amacıyla özel kaplara atılmalıdır.
10. Reaktifler ve atıklar yerel gereksinimlere göre elimine edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır

SDS Güvenlik Bilgi Formuna beckmancoulter.com/techdocs adresinden ulaşılabilir

SAKLAMA VE STABİLİTE

Bu reaktifin, şişe açılmadan önce ve açıldıktan sonra 2 ile 8°C arasında tutulması ve ışıktan korunması gereklidir.

Stabilite çalışması için şişe raf ömrü: 1095 gün.

Açılan şişenin stabilitesi: reaktif 180 gün stabildir.

BOZULMA GÖSTERGESİ

Reaktiflerin fiziksel görünümündeki herhangi bir değişiklik bozulmayı gösterebilir ve reaktif kullanılmamalıdır.

Ek bilgi almak isterseniz veya aldığınız ürün hasarlı çıktıysa, 800-742-2345 numaralı telefondan (ABD veya Kanada) Beckman Coulter Müşteri Hizmetlerini arayın veya yerel Beckman Coulter Temsilcinizle temas kurun.

İÇİNDEKİLER

Sodyum azid koruyucu maddesi metal kanalizasyon hatlarında patlayıcı bileşimler oluşturabilir. NIOSH Bültenine bakın: Explosive Azide Hazard (Patlayıcı Azide Tehlikesi) (16.8.76).
Azid bileşenlerinin olası birikimini engellemek amacıyla, seyreltilmemiş reaktifi çöpe attıktan sonra atık borularını bol suyla yıkayın. Sodyum azid, uygun yerel düzenlemelere göre çöpe atılmalıdır.

GEREKLİ OLAN ANCAK KİT İLE BİRLİKTE VERİLMEYEN MALZEMELER:

- Numune alma tüpleri ve numune alma için gerekli malzemeler.
- 10, 100 ve 500 µL için tek kullanımlık uçlu otomatik pipetler.
- Plastik hemoliz tüpleri.
- Lizis sonrası yıkama aşamasıyla birlikte eritrosit lizis reaktifi. Örneğin: VersaLyse (Ref. A09777).
- Lökosit fiksasyon reaktifi. Örneğin: IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonu (Ref. A07800).
- İzotip kontrolüPC5: IOTest reaktifi (Ref. A09148).
- Tampon (PBS: 0,01 M sodyum fosfat; 0,145 M sodyum klorür; pH 7,2).
- Santrifüjleyin.
- Otomatik karıştırıcı (Vorteks tipi).
- Akış sitometresi.

VERSALYSE REAKTİFİ İLE PROSEDÜR

Analiz edilen her örnek için test tüpüne ek olarak, hücrelerin izotip kontrolü varlığında karıştırıldığı bir kontrol tüpü eklenebilir (Ref. A09148).

1. Her test tüpüne 10 µL spesifik IOTest konjuge antikor ve gerekirse, her kontrol tüpüne, 10 µL izotip kontrolü ekleyin.
2. Her bir tüpe 100 µL test örneği ekleyin. Tüpleri yavaşça vorteksleyin.
3. Oda sıcaklığında (18-25°C) ışıktan koruyarak 15-20 dakika boyunca inkübe edin.
4. Ardından kırmızı hücrelerin lizisini gerçekleştirin. VersaLyse (Ref. A09777) broşürüne bakın ve tercihen "birlikte kullanılan fiksasyon ile" adlı, doğaçlama hazırlanan 1 mL "Fiksasyon ve Lizis" karışımını eklemeyi içeren prosedürü izleyin. Hemen bir saniye boyunca vorteksleyin ve ışıktan koruyarak, 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
5. Oda sıcaklığında 5 dakika 150 x g hızda santrifüjleyin.
6. Aspirasyon ile üst fazı alın.
7. 3 mL PBS kullanarak hücre peletini yeniden süspanse edin.
8. Adım 5'i tekrarlayın.
9. Yüzer maddeyi aspirasyonla alın ve hücre topağını şunu kullanarak yeniden süspanse edin:

- Preparatlar 24 saatten az tutulacaksa, 0,5 mL veya 1 mL PBS'nin yanı sıra %0,1 formaldehit. (%0,1 formaldehit PBS, 1 mL PBS içinde 10X konsantre IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonundan (Ref. A07800) 12,5 µL seyreltilerek elde edilebilir).
- 0,5 mL veya 1 mL PBS formaldehidsiz, preparatlar 2 saat içinde analiz edilmelidir.

Not: Tüm durumlarda, preperatlar 2 ile 8°C arasında tutulmalı ve ışıktan korunmalıdır.

BEKLENEN DEĞERLER

Laboratuvarlarımızda, yukarıda açıklanan reaktif kullanılarak sağlıklı görünen 25 donörün tam kan örnekleri işlenmiştir. Bu reaktif ile ilgi konusu pozitif olayların sayısı için elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir:

Pozitif Hedef	Sayı	Ortalama (%)	SS	VK (%)
Lenfositler	25	71,40	9,45	13,23

Bu değerlerin sadece temsili olması amaçlanmaktadır. Her laboratuvar normal donörlerden oluşan yerel popülasyonunda kendi beklenen değerlerini oluşturmalıdır.

PERFORMANS

Performans verileri, antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüplerde daha önce toplanan, 24 saatten eski olmayan kan örnekleri üzerinde yukarıdaki prosedür kullanılarak elde edilmiştir. İmmün boyamayı takiben 2 saat içinde analiz gerçekleştirilir.

ÖZGÜLLÜK

CD5 molekülü timositlerin çoğu ve B lenfositlerinin alt popülasyonu ile olgun T lenfositlerinin yüzeyinde eksprese edilir (11,12,13). CD5, BSR aktivasyonunu azaltan ve böylelikle otomatik reaktiviteyi azaltan (otoimmün reaksiyon) terminal enzim deoksinükleotidil transferazın (TdT) yokluğundan dolayı IgM salgılayan B hücrelerinin alt kümesinde eksprese edilir. T hücreleri tam tersine B hücrelerinden daha yüksek seviyede CD5 eksprese eder. CD5 güçlü aktivasyon ile T hücrelerinde yukarı doğru regüle edilir. Timüste, CD5 ekspresyonu ve T hücresinin self peptidlere yönelik etkileşim kuvveti ile bir korelasyon vardır. CD5 ekspresyonu granülositler, monositler ve trombositlerde bulunmaz (13). Monoklonal antikor BL1a, 1986'da, Oxford, İngiltere'de gerçekleştirilen 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3. HLDA İnsan Lökositi Farklılaşması Antijenleri hakkındaki Seminer) sırasında CD5'e atanmıştır (WS Kodu: 520, Bölüm T) (11,12).

KESİNLİK

Yüzde pozitif değerler, Tam Kan kullanılarak belirlenmiştir. Her örnek, 2 lot CD5-PC5 Monoklonal Antikor Reaktifleri kullanılarak 2 cihazda 1 gün için günde iki kez olmak üzere 4 kez çalışılmıştır. Ölçümler (% pozitif) Navios akış sitometresi üzerinde yapılmıştır. Analiz, CLSI yöntemi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kantitatif Ölçüm Yöntemlerinin Kesinlik Performansına İlişkin Değerlendirme) temelinde yürütülmüştür.

Kabul kriterlerimiz, her popülasyon için ölçülen pozitif olay sayısına bağlıdır:

- Pozitif olay <1.500, VK <%15 ise
- Pozitif olay >1.500, VK <%10 ise

Lenfositler							
Pozitif olay sayısı (Ortalama)=2823							
	Kullanıcılar arası	Sitometreler arası	Lot içi	Lotlar arası	Çalışmalar arası	Çalışma içi	Total
VK (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
SONUÇLAR	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOĞRULUK

CD5-PC5 doğruluğu, bir Navios akış sitometresinde çalışılan tam kan örnekleri grubunda esas alınan referans reaktifle sonuçlar karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Test ve referans reaktif arasındaki sapma, test sonuçları arasındaki fark temelinde belirlenmiştir. Sapma, izin verilen hata aralığı dahilindeyse veya p değeri anlamlı fark göstermediğinde (>0,05), iki reaktif için test sonuçlarının eşdeğer olduğu kabul edilir.

Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Donör sayısı=25				
Pozitif Hedef	Ortalama Δ	Δ % Hücre kriteri	p değeri	SONUÇLAR
Lenfositler	0,90	<5	0,001	PASS

KÖR LİMİTİ VE TESPİT LİMİTİ

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klinik Laboratuvar Ölçüm Prosedürleri için Tespit Kabiliyetinin Değerlendirilmesi) ile uyumlu bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Tespit Limiti (LOD), tutarlı olarak tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonudur. Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Positive Target	Kör Limiti (hücre/µL)	Tespit Limiti (hücre/µL)
Lenfositler	4	6

SINIRLAMALAR

1. Akış sitometrisi, sitometre mükemmel şekilde hizalanmadıysa, floresan sızıntıları doğru şekilde telafi edilmediyse ve bölgeler dikkatli bir şekilde konumlandırılmadıysa yanlış sonuçlar üretebilir.
2. Bu reaktif "yıkamasız" parçalama teknikleri için optimize edilmediğinden, yıkama adımı içeren bir RBC parçalama tekniği kullanılması tercih edilir.
3. Kullanılan prosedürler teknik bilgi broşürüne uygun olduğu ve iyi laboratuvar uygulamalarına uygun olduğu sürece doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilecektir.
4. Bu reaktifin konjugat antikoru, en iyi spesifik sinyal/spesifik olmayan sinyal oranını sunacak şekilde kalibre edilir. Bu nedenle her testte reaktif hacmi/örnek hacmi oranına bağlı kalmak önemlidir.
5. Hiperlökositoz durumunda yaklaşık 5 x 10^9 lökosit/L (14) değerini elde etmek için kanı PBS içinde seyreltin.
6. Şiddetli böbrek yetmezliği veya hemoglobinopatiler gibi bazı hastalık durumlarında, eritrosit lizisi yavaş, eksik ve hatta imkansız olabilir. Bu durumda mononükleotidli hücrelerin boyama öncesinde yoğunluk gradyanı (örneğin Ficoll) kullanılarak izole edilmesi önerilmektedir (15).
7. Florokromun tandem yapısı nedeniyle PC5, 575 nm'de de ışık yayar. Bu ikincil emisyon piki, PC5 için lottan lota değişir. Bu nedenle, çok renkli analiz için, -PC5 konjugatının lotu değiştirildiğinde kompanzasyon matrisi dikkatlice kontrol edilmelidir.
8. Anti-insan monoklonal antikor terapisi ile tedavi edilen hastalarda, terapötik antikorun kısmi veya tam engellemesi nedeniyle spesifik hedeflenen antijenlerin tespiti azalabilir veya yapılamayabilir.
9. CD5-PC5 sonuçları, semptomlar, klinik öykü, ilave testlerden elde edilen veriler ve diğer uygun bilgiler dahil olmak üzere hastanın genel klinik tablosu dikkate alınarak yorumlanmalıdır.

Örnekler ve referanslar için Ek'e bakın.

TİCARİ MARKALAR

Bu belgede belirtilen Beckman Coulter, stilize logo ve Beckman Coulter ürün ve hizmet markaları, Beckman Coulter, Inc. firmasının ABD'de ve diğer ülkelerdeki ticari veya tescilli ticari markalarıdır.

EK BİLGİLER

Avrupa Birliği'nde ve aynı düzenleme rejiminin olduğu ülkelerdeki (In Vitro Diagnostik Tıbbi Cihazlar hakkında 2017/746/EU sayılı Yönetmelik) hasta/kullanıcı/üçüncü taraflar için; bu cihazın kullanımı sırasında veya cihazın kullanımının bir sonucu olarak ciddi bir olay meydana gelirse lütfen olayı üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makamınıza bildirin.

Summary of Safety and Performance (Güvenlik ve Performans Özeti) EUDAMED veritabanında mevcuttur: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVİZYON GEÇMİŞİ

REVİZYON AC:	Yayınlanma tarihi: Ekim 2019

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AW	Mayıs 2022
Beckman Coulter Global Etiketleme Politikasıyla uyumluluk sağlamak için ve IVD-R (AB)2017/746 gerekliliklerine göre güncellemeler yapıldı:	
Bölümler eklendi	BSI 2797 Numarası, Hedef Kullanıcı, Klinik Anlam, Konsantrasyon, Kesinlik, Doğruluk, Kör limiti ve tespit limiti, Ek Bilgiler, Revizyon Geçmişi.
Bilgi eklendi	Sınırlamalar bölümlerine bakın
İfade veya yazım güncellemeleri	Prosedür, Performans, Sınırlamalar, Uyarılar ve Önlemler, Saklama ve Stabilite bölümlerine bakın.
Bölümler kaldırıldı	Klinik uygulama örneği, Reaktifler, Laboratuvar içi yeniden üretilebilirlik, Linearite
Güncellenmiş bölümler	Kullanım Amacı, GHS Tehlike Sınıflandırması, Bozulma Göstergesi, Prosedür, Ek.

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AX	Nisan 2023
Güncellenmiş bölümler	Kazakça ekle
Güncellenmiş bölümler	Saklama ve stabilite

Düzeltilmiş Sürüm	AY
Revizyon Tarihi	Mayıs 2024
Güncellenmiş Çeviriler	**Klinik önemi:**
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Düzeltilmiş Sürüm	AZ
Revizyon Tarihi	Temmuz 2024
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Sembol Anahtarı

Semboller Sözlüğü beckman.com/techdocs adresinde bulunabilir (belge numarası B60062)

	Спецификации
Специфичность	CD5
Клон	BL1a
Гибридома	SP2/0 x balb/c
Иммуноген	Lymphocytes from human thoracic duct
Иммуноглобулин	IgG2a
Вид	Мышь
Очистка	Аффинная хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Молярное отношение	PC5 / Ig: 0,5 - 1,5
Возбуждение λ	488 nm
Пик эмиссии	670 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 мг/мл БСА и 0,1% NaN_3

Конъюгированное антитело IOTest CD5-PC5

REF A07754 100 определений; 1 мл, 10 мкл / test

Применяется для *In Vitro* диагностики.

НАЗНАЧЕНИЕ

Это конъюгированное с флуорохромом антитело позволяет с использованием проточной цитометрии выполнить качественное и не автоматизированное определение клеточных популяций, экспрессирующих антиген CD5, который присутствует в биологических пробах человека (см. раздел «Пробы» ниже).

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Данный тест основан на способности специфических моноклональных антител связывать антигенные детерминанты, экспрессированные лейкоцитами.

Специфическое окрашивание лейкоцитов выполняется путем инкубирования пробы с реагентом IOTest. Затем методом лизиса удаляются эритроциты, и выполняется анализ лейкоцитов, не затронутых этим процессом, методом проточной цитометрии.

Проточный цитометр измеряет светорассеяние и флуоресценцию клеток. Это дает возможность разграничения интересующей популяции в электронном окне, определенном на гистограмме, что коррелирует с ортогональным светорассеянием (боковое рассеяние, или SS) и рассеянием света под острым углом (прямое рассеяние, или FS). Другие гистограммы, сочетающие два из других параметров, доступных на цитометре, могут использоваться как вспомогательные на стадии селекции, в зависимости от приложения, выбранного пользователем.

Флуоресценцию разграниченных клеток анализируют с целью различения положительно-окрашенных и неокрашенных событий. Результаты выражаются в виде процентного отношения положительных событий ко всем событиям, полученным в ходе селекции.

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ

Изделие предназначено для использования в лаборатории персоналом с профессиональной подготовкой.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

CD5-PC5 представляет собой антитело к CD5, используемое для идентификации и определения характеристик клеток, экспрессирующих антиген CD5, методом проточной цитометрии. Этот продукт отдельно от других исследований не может приводить к принятию каких-либо диагностических решений и не предназначен для этого.

При использовании в сочетании с другими маркерами этот продукт может использоваться в следующих целях.

- Для использования при дифференциальной диагностике пациентов с отклонениями гематологических результатов (при подозрении на наличие гематопоэтических новообразований), а также для мониторинга пациентов с известным гематопоэтическим новообразованием.
- Для определения прогноза у пациентов с гематопоэтическими новообразованиями.

См. следующие ссылки:

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

ПРОБЫ

При взятии образца венозной крови необходимо использовать стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта.

Пробы следует хранить при комнатной температуре (18–25°C), не встряхивая. Пробы следует гомогенизировать, осторожно перемешав, до отбора тестовой пробы.

Пробы требуется проанализировать в течение 24 ч после венипункции.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

См. специфический для партии сертификат анализа на веб-сайте www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Не используйте реагенты после истечения срока годности.
2. Не замораживать.
3. Перед использованием довести до комнатной температуры (18–25°C).
4. Минимизируют воздействие света.
5. Во избежание получения ошибочных результатов не допускайте микробной контаминации реагентов.

6. Следует с осторожностью обращаться с растворами антител, содержащими натрия азид (NaN_3). Не принимайте внутрь и избегайте любого контакта с кожей, слизистыми оболочками и глазами.

   Кроме того, в кислой среде натрия азид может образовывать потенциально опасную азотистоводородную кислоту. Если требуется утилизация, рекомендуется разводить реагент в большом объеме воды, прежде чем выливать его в канализацию, чтобы избежать накопления натрия азида в металлических трубах и исключить возможность взрыва.
7. Все пробы крови должны считаться потенциально инфицированными, при обращении с ними необходимо соблюдать осторожность (в частности, использовать защитные перчатки, одежду и очки).
8. Никогда не пипетируйте ртом и избегайте любого контакта проб с кожей, слизистыми и глазами.
9. При утилизации пробирок и одноразовых материалов следует использовать специальные предназначенные для сжигания контейнеры.
10. При утилизации реагентов и отходов необходимо следовать требованиям местного законодательства.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Не классифицируется как опасное вещество

SDS Паспорт безопасности доступен на сайте beckmancoulter.com/techdocs

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Этот реагент требуется хранить при температуре от 2 до 8°C, защищая от света, до и после вскрытия флакона.

Срок хранения закрытого флакона согласно исследованию стабильности: 1095 день.

Стабильность в открытом флаконе: реагент сохраняет стабильность в течение 180 дн.

ПРИЗНАКИ ПОРЧИ

Любые изменения внешнего вида реагентов могут говорить о порче, использовать такой реагент не следует.

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь со своим местным представителем Beckman Coulter.

СОДЕРЖАНИЕ

Консервант с содержанием азида натрия может образовывать взрывоопасные соединения в металлической водопроводной арматуре. См. бюллетень Национального института по охране труда и промышленной гигиене (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Взрывоопасные азиды) (16.8.76). Чтобы избежать накопления азидных соединений, промывайте сливные трубы водой после сброса неразбавленного реагента. Утилизацию азида натрия следует проводить в соответствии с соответствующими местными нормами.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, КОТОРЫЕ НЕ ВХОДЯТ В НАБОР:

- Необходимые для взятия проб пробирки и материалы.
- Автоматические пипетки с одноразовыми наконечниками для 10, 100 и 500 мкл.
- Пластиковые пробирки для гемолиза.
- Реагент для лизиса эритроцитов с этапом промывки после лизиса. Например: VersaLyse (ссылочный номер A09777).
- Реагент для фиксации лейкоцитов. Например: IOTest 3 Fixative Solution (фиксирующий раствор) (ссылочный номер A07800).
- Изотипический контроль -PC5: Реагент IOTest (ссылочный номер A09148).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрия фосфата; 0,145 M натрия хлорида; pH 7,2).
- Центрифугируйте.
- Автоматическая мешалка (вортексная)
- Проточный цитометр.

ПРОЦЕДУРА С РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для каждой анализируемой пробы в дополнение к тестовой пробирке можно добавить одну контрольную пробирку, в которой клетки смешаны в присутствии изотипического контроля (ссылочный номер A09148).

1. В каждую тестовую пробирку добавьте по 10 мкл специфического конъюгированного антитела IOTest, а в каждую контрольную пробирку — по 10 мкл изотипического контроля, если необходимо.
2. Добавьте 100 мкл тестовой пробы в каждую пробирку. Аккуратно перемешайте пробирки на вортексе.
3. Инкубируют при комнатной температуре (18–25°C) в течение 15-20 мин, в защищенном от света месте.
4. Затем выполняют лизис эритроцитов. См. вкладыш VersaLyse (ссылочный номер A09777) и, предпочтительно, следуйте процедуре с названием «с сопутствующей фиксацией», которая заключается в добавлении 1 мл смеси «Фиксирующей и лизирующей», приготовленной для немедленного применения. Немедленно перемешивают на вортексе в течение одной секунды и инкубируют в течение 10 минут при комнатной температуре, защищая от света.
5. Центрифугируют в течение 5 минут при 150 g при комнатной температуре.
6. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации.
7. Ресуспендируют осадок клеток, используя 3 мл PBS.
8. Повторите шаг 5.
9. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации и ресуспендируют осадок клеток, используя:

- 0,5 мл или 1 мл PBS плюс 0,1% формальдегида, если препараты следует хранить менее 24 ч. (PBS с 0,1% формальдегида можно получить путем разведения 12,5 мкл фиксирующего раствора IOTest 3 (ссылочный номер A07800) в 10-кратной концентрации в 1 мл PBS).

- 0,5 мл или 1 мл PBS без формальдегида, если препараты следует проанализировать в течение 2 ч.

Примечание. В обязательном порядке защищайте подготавливаемые материалы от солнечного света, храните их при температуре от 2 до 8°C.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В наших лабораториях пробы цельной крови от клинически здоровых доноров (количество доноров: 25) были обработаны с использованием описанного выше реагента. Результаты, полученные для количества положительных интересующих явлений с этим реагентом, приводятся в таблице ниже:

Положительная мишень	Число	Среднее (%)	SD	CV (%)
Лимфоциты	25	71,40	9,45	13,23

Эти значения используются только в качестве примера. В каждой лаборатории должны быть установлены собственные диапазоны ожидаемых значений с учетом проб нормальных доноров из числа местного населения.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Рабочие характеристики получены с использованием описанной выше процедуры на пробах, собранных не ранее чем за 24 часа до анализа в стерильные пробирки с солью ЭДТА как антикоагулянтом. Анализ проводится в течение 2 часов после иммуноокрашивания.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Молекула CD5 экспрессируется на поверхности зрелых Т-лимфоцитов большинством тимоцитов и подгруппой популяции В-лимфоцитов (11,12,13). CD5 экспрессируется в подгруппе В-клеток, выделяющих IgM, из-за недостаточного объема терминальной дезоксинуклеотидилтрансферазы (TdT) фермента, который появляется для подавления активации BSR, и, тем самым, снижает аутоиммунную реакцию. С другой стороны, Т-клетки экспрессируют более высокие уровни CD5, чем В-клетки. CD5 положительно регулируется в Т-клетках при сильной активации. В вилочковой железе имеется корреляция с экспрессией CD5 и интенсивностью взаимодействия Т-клеток по отношению к аутопептидам. Экспрессия CD5 не обнаружена в гранулоцитах, моноцитах и тромбоцитах (13). Во время семинара 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3-й семинар по дифференцировочному антигену лейкоцитов человека — HLDA), прошедшего в Оксфорде, Великобритания, в 1986 году (Код WS: 520, раздел Т) для CD5 было назначено моноклональное антитело BL1a (11,12).

ПРЕЦИЗИОННОСТЬ

Процент положительных результатов был установлен с использованием цельной крови. Каждую пробу измеряли 4 раза, два раза в день в течение 1 дня на 2 приборах, с использованием 2 партий реагентов моноклональных антител CD5-PC5. Измерения (% положительных) выполняли на проточном цитометре Navios. Анализ проводился на основе метода CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оценка прецизионности количественных методик измерения).

Наши критерии принятия зависят от количества положительных событий, измеренных для каждой популяции:

- Если положительных событий <1 500, CV <15%
- Если положительных событий >1 500, CV <10%

Лимфоциты							
Количество положительных событий (среднее) = 2823							
	Между операторами	Между цитометрами	Внутри партии	Между партиями	Между анализами	Внутри анализа	Итого
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
РЕЗУЛЬТАТЫ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТЬ

Точность CD5-PC5 оценивалась путем сравнения результатов с результатами по референсному реагенту как предикатом. Анализ выполняли на проточном цитометре Navios с использованием набора проб цельной крови. Систематическая ошибка оценки между тестовым и референсным реагентами была определена на основании различий между результатами теста. Если систематическая ошибка оценки находится в пределах допустимого диапазона ошибки или если p-значение указывает на отсутствие значительного различия (>0,05), тогда результаты теста для двух реагентов рассматриваются как эквивалентные.

Полученные результаты обобщены в таблице далее.

Количество доноров = 25				
Положительная мишень	Среднее значение Δ	Критерии Δ % клеток	p-значение	РЕЗУЛЬТАТЫ
Лимфоциты	0,90	<5	0,001	PASS

ПРЕДЕЛ БЛАНКА И ПРЕДЕЛ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Исследование было проведено в соответствии с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Оценка способности обнаружения для методик измерения клинической лаборатории). Предел чувствительности (LOD) — наименьшая концентрация аналита, которая может последовательно обнаруживаться. Полученные результаты обобщены в таблице ниже.

Positive Target	Предел бланка (клеток/мкл)	Предел чувствительности (клеток/мкл)
Лимфоциты	4	6

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. При проведении проточной цитометрии возможно получение ложных результатов, если цитометр не был идеально позиционирован, не была проведена правильная компенсация утечек флуоресцентного агента или точное позиционирование областей.
2. Предпочтительно использовать технику лизиса RBC с шагом промывки, так как этот реагент не был оптимизирован для техник лизиса «без промывки».

3. Для получения точных и повторяемых результатов необходимо выполнять процедуры в соответствии с инструкцией-вкладышем и требованиями надлежащей лабораторной практики.
4. Выполняется калибровка конъюгированного антитела этого реагента с целью получения наилучшего для данной конкретной задачи соотношения специфичного и неспецифичного сигнала. Поэтому при каждом тесте важно придерживаться правильного соотношения объема реагента и пробы.
5. При гиперлейкоцитозе, разбавляют кровь PBS до приблизительно 5 x 10^9 лейкоцитов/л (14).
6. При определенных заболеваниях, таких как острая почечная недостаточность или гемоглобинопатии, лизис эритроцитов может протекать медленно, быть неполным или даже невозможным. В таком случае рекомендуется изолировать одноядерные клетки, используя градиент плотности (например, фиколл), перед окрашиванием (15).
7. Вследствие тандемной структуры флуорохрома PC5 также излучает свет на 575 нм. Этот пик вторичной эмиссии различается от партии к партии PC5. Соответственно, для многоцветного анализа следует тщательно проверять матрицу компенсации при смене партии конъюгата -PC5.
8. У пациентов, получавших лечение античеловеческими моноклональными антителами, обнаружение специфических целевых антител может быть снижено или может отсутствовать вследствие частичной или полной блокировки терапевтическими антителами.
9. Результаты CD5-PC5 должны интерпретироваться с учетом общих клинических проявлений пациента, включая симптомы, историю болезни, данные дополнительных тестирований и прочую информацию.

Примеры и ссылки см. в Приложении.

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

Beckman Coulter, стилизованный логотип и упоминаемые здесь знаки продукции и услуг Beckman Coulter являются товарными знаками или зарегистрированными товарными знаками корпорации Beckman Coulter, Inc. в Соединенных Штатах и других странах.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для пациента / пользователя / третьей стороны в Европейском Союзе и в странах с идентичным регуляторным режимом (Регламент 2017/746/EC в отношении медицинских изделий для in vitro диагностики); если, во время использования этого изделия или в результате его использования произошел серьезный инцидент, сообщите о нем производителю и/или его уполномоченному представителю и своему национальному органу регулирования.

Summary of Safety and Performance (Сводные данные по безопасности и функциональным характеристикам) доступны в Европейской базе данных изделий медицинского назначения (EUDAMED): ec.europa.eu/tools/eudamed.

СВЕДЕНИЯ О ВЕРСИЯХ

ВЕРСИЯ AC:	Дата выпуска: Октябрь 2019 г.

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AW	Май 2022 г.
Обновления с целью приведения в соответствие политике международной маркировки Beckman Coulter и для выполнения требований IVD-R (EC)2017/746:	
Добавлены разделы	Номер BSI 2797, «Предполагаемый пользователь», «Клиническая значимость», «Концентрация», «Прецизионность», «Точность», «Предел бланка и предел чувствительности», «Дополнительная информация», «Сведения о версиях».
Добавлена информация	См. раздел «Ограничения»
Обновлены формулировки или исправлены опечатки	См. разделы «Процедура», «Эксплуатационные характеристики», «Ограничения», «Предупреждения и меры предосторожности», «Хранение и стабильность».
Удалены разделы	«Примеры клинических областей применения», «Реагенты», «Внутрилабораторная сходимость», «Линейность»
Обновленные разделы	«Назначение», «Классификация опасностей по системе СГС», «Признаки порчи», «Процедура», «Приложение».

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AX	Апрель 2023
Обновленные разделы	Добавить казахский язык
Обновленные разделы	Хранение и стабильность

Пересмотренная версия	AY
Дата пересмотра	Май 2024
Обновленные переводы	**Клиническая значимость:**
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Пересмотренная версия	AZ
Дата пересмотра	Июль 2024
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Определения символов

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (номер документа B60062)

	Spetsifikatsioonid
Spetsiifilisus	CD5
Kloon	BL1a
Hübridoom	SP2/0 x balb/c
Immunogeen	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobuliin	IgG2a
Liigid	Hiir
Puhastamine	Afiinsuskromatograafia
Fluorokroom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molaarsuhe	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
λ ergastumine	488 nm
Emission Peak	670 nm
Puhver	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/ml BSA ja 0,1% NaN_3

IOTest
konjugeeritud antikeha CD5-PC5

REF A07754 100 analüüsi; 1 ml, 10 µl / test

***In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks**

KASUTUSOTSTARVE

See fluorokroomiga konjugeeritud antikeha võimaldab voolutsütomeetriaga kvalitatiivselt ja mitteautomatiseeritult tuvastada rakupopulatsioone, mis esitavad inimese bioloogilistes proovides antigeeni CD5 (vt allpool osa „Proovid“).

PÕHIMÕTE

Analüüs põhineb spetsiifiliste monoklonaalsete antikehade võimel seonduda leukotsüütide sünteesitavate antigeensete determinantidega.

Leukotsüütide eriomaseks värvimiseks tuleb proovi koos tootesarja IOTest reagendiga inkubeerida. Seejärel eemaldatakse erütrotsüüdid lüüsimisega ja pärast seda analüüsitakse voolutsütomeetriaga leukotsüüte, mida see protsess ei mõjuta.

Läbivoolutsütomeeter mõõdab valguse hajumist ja rakkude fluorestsentsi. See muudab võimalikuks huvialuse populatsiooni piiristamise histogrammil määratud elektroonilisel alal. Histogramm korreleerib valguse ortogonaalset hajumist (külghajumine ehk KH) ja kitsasnurga valguse hajumist (edasihajumine ehk EH). Teisi histogramme, kus ühendatakse tsütomeetrias saadaolevat kahte parameetrit, võib kasutada lüüsimisetapis olenevalt kasutaja valitud rakendusest.

Piiritletud rakkude fluorestsentsi analüüsitakse, et eristada positiivselt värvitud sündmusi värvimata sündmustest. Tulemusi kajastatakse positiivsete sündmuste protsentuaalse osakaaluna kõigi väravdamisega hõivatud sündmuste suhtes.

SIHTKASUTAJA

See toode on ette nähtud laboratoorseks kasutamiseks.

KLIINILINE TÄHTSUS

CD5-PC5 on CD5 antikeha, mida kasutatakse CD5 antigeeni sünteesivate rakkude voolutsütomeetriaga tuvastamiseks ja kirjeldamiseks. See toode üksi ei saa ega ole mõeldud ühegi diagnostilise otsuse tegemiseks.

Koos teiste markeritega kasutades saab seda toodet kasutada ühes või mitmes järgmistest funktsioonidest:

- Lihtsustamaks diferentsiaaldiagnoosi panemist hematoloogiliste ebanormaalsustega patsientidele, kellel kahtlustatakse vereloome neoplasmi esinemist, ja teadaoleva vereloome neoplasmiga patsientide monitoorimiseks.
- Vereloome neoplasmiga patsientidele prognoosi andmise hõlbustamiseks.

Vt järgmisi viiteid.

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

PROOVID

Veeniverd tuleb võtta steriilsete katsutitega, mis sisaldavad antikoagulandina etüleendiamiintetraatsetaadi (EDTA) soola.

Proove tuleb hoida toatemperatuuril (18–25 °C) ja neid ei tohi raputada. Proove tuleb ühtlustada seda enne näidisproovi võtmist ettevaatlikult loksutades.

Proove tuleb analüüsida 24 tunni jooksul alates veenipunktsioonist.

KONTSENTRATSIOON

Vt partiispetsiifilist analüüsi sertifikaati veebilehelt www.beckman.com.

HOIATUS JA ETTEVAATUSABINÕUD

1. Ärge kasutage reagenti pärast aegumiskuupäeva.
2. Ärge külmutage.
3. Enne kasutamist laske tasakaalustuda toatemperatuuriga (18–25 °C).
4. Minimeerige kokkupuudet valgusega.
5. Vältige reagentide mikroobidega saastumist, vastasel juhul võite saada valed tulemused.
6. Antikehade lahuseid, mis sisaldavad naatriumasiidi (NaN_3), tuleb käsitseda ettevaatlikult. See pole mõeldud seespidiseks kasutamiseks. Vältige kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.

Lisaks võib naatriumasiid moodustada happelises keskkonnas potentsiaalselt ohtliku hüdrasoonhappe. Kui see tuleb kõrvaldada, on soovitatav lahjendada reagenti suure hulga veega, enne kui see äravoolusüsteemi valada, et vältida plahvatusohtu ja naatriumasiidi kogunemist metalltorudesse.

7. Kõiki vereproove tuleb pidada potentsiaalselt nakkusohtlikuks ja käsitseda ettevaatusega (kasutage kaitsekindaid, kitlit ning kaitseprille).
8. Ärge kunagi pipettige suuga ja vältige proovide kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.
9. Verekatsutid ja käitlemiseks kasutatav ühekordselt kasutatav materjal tuleb hävitada põletamiseks ettenähtud spetsiaalsetes konteinerites.
10. Reagendid ja jäätmed tuleb kõrvaldada vastavalt kohalikele nõuetele.

GHS-I OHUKLASSIFIKATSIOON

Ei ole klassifitseeritud ohtlikuks

SDS Ohutuskaart on saadaval saidil beckmancoulter.com/techdocs

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Seda reagenti tuleb enne ja pärast viaali avamist hoida temperatuuril 2–8 °C ning valguse eest kaitstult.

Suletud viaali säilivusaeg stabiilsusuuringu põhjal: 1095 päeva.

Avatud viaali stabiilsus: reagent on stabiilne 180 päeva.

RIKNEMISE TUNNUSED

Igasugune muutus reagentide füüsilises välimuses võib viidata reagendi riknemisele ja seda ei tohi kasutada.

Lisateabe hankimiseks või kahjustatud toote saamisel helistage Beckman Coulteri klienditeenindusse numbril 800-742-2345 (USA või Kanada) või võtke ühendust kohaliku Beckman Coulteri esindajaga.

SISU

Naatriumasiidist konservant võib moodustada metallist kanalisatsioonitorudes plahvatusohtlikke ühendeid. Vt asutuse NIOSH teadaannet. Explosive Azide Hazard (Plahvatusohtliku asiidi oht) (16.8.76).
Vältimaks võimalikku asiidiühendite akumuleerimist, loputage äravoolutorusid pärast lahjendamata reagendi kõrvaldamist. Naatriumasiidi kõrvaldamine peab olema kooskõlas asjakohaste kohalike eeskirjadega.

VAJALIKUD, KUID KOMPLEKTI MITTEKUULUVAD MATERJALID

- Proovide kogumiseks vajalikud proovivõtukatsutid ja vahendid.
- Automaatpipetid ühekordselt kasutatavate otsakutega, mis võimaldavad teisaldada 10, 100 ja 500 µl.
- Plastist hemolüüsi katsutid.
- Erütrotsüütide lüüsireagent koos pesemisetapiga pärast lüüsi. Analüüsinäide VersaLyse (viitenr A09777).
- Leukotsüütide fikseerimisreagent. Näide Tootesarja IOTest 3 fikseerimisreagent (viitenr A07800).
- Isotüübi kontrollPC5: Tootesarja IOTest reagent (viitenr A09148).
- Puhver (PBS: 0,01 M naatriumfosfaat; 0,145 M naatriumkloriid; pH 7,2).
- Tsentrifuugige.
- Automaatsegisti (vibratsioonsegamise tüüpi).
- Voolutsütomeeter.

PROTSEDUUR REAGENDIGA VERSALYSE

Iga analüüsitud proovi kohta võib lisaks analüüsikatsutile lisada ühe kontrollkatsuti, milles rakud segatakse isotüübi kontrolliga (viitenr A09148).

1. Lisage igasse analüüsikatsutisse 10 µl spetsiifilist tootesarja IOTest konjugeeritud antikeha ja vajaduse korral igasse kontrollkatsutisse 10 µl isotüüpset kontrolli.
2. Lisage igasse katsutisse 100 µl analüüsiproovi. Vibratsioonsegage ettevaatlikult katsuteid.
3. Inkubeerige valguse eest kaitstult 15–20 minutit toatemperatuuril (18–25 °C).
4. Seejärel lüüsige erütrotsüüdid. Lugege VersaLyse'i (viitenr A09777) teabelehte ja järgige eelistatavalt protseduuri nimega „samaaegse fikseerimisega", mis põhineb ekstemporaalselt ettevalmistatud 1 ml segu „Fix-and-Lyse" lisamisel. Vibratsioonsegage kohe üks sekund ja inkubeerige 10 minutit toatemperatuuril valguse eest kaitstult.
5. Tsentrifuugige 5 minutit toatemperatuuril kasutades sätet 150 x g.
6. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus.
7. Taassuspendeerige rakusade PBS-is, mille kogus on 3 ml.
8. Korrake etappi 5.
9. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus ja taassuspendeerige rakugraanuleid vahendiga:

- 0,5 ml või 1 ml PBS-i ja 0,1% formaldehüüdi, kui preparaate tuleb hoida vähem kui 24 tundi. (0,1% formaldehüüdi sisaldava PBS-i saamiseks võite lahjendada 12,5 µl tootesarja IOTest 3 10x kontsentratsioonil fikseerimislahust (viitenr A07800) PBS-is, mille kogus on) 1 ml.
- 0,5 ml või 1 ml formaldehüüdita PBS-iga, kui valmissegusid analüüsitakse 2 tunni jooksul.

Märkus Preparaate tuleb alati hoida temperatuuril 2–8 °C ja valguse eest kaitstult.

OODATUD VÄÄRTUSED

Ettevõttesisestes laborites töödeldi ülalkirjeldatud reagendiga täisvere proove, mis koguti 25 tõenäoliselt tervelt doonoritelt. Alljärgnev tabel annab ülevaate selle reagendiga saadud positiivsete huvipakkuvate sündmuste loendustulemustest:

Positiivne siht	Arv	Keskmine (%)	SH	CV (%)
Lümfotsüüdid	25	71,40	9,45	13,23

Need väärtused on mõeldud üksnes näitlikena. Iga laboratoorium peaks kindlaks määrama oma oodatavad vahemikud kohaliku tavapäraste doonorite populatsiooni alusel.

TOIMIMINE

Toimimisandmed saadakse kasutades ülalkirjeldatud protseduuri vähem kui 24 tundi vanadel antikoagulandi EDTA naatriumsoolaga steriilsetesse katsutitesse kogutud vereproovidel. Analüüs tehakse 2 tunni jooksul pärast immuunovärvimist.

SPETSIIFILISUS

CD5 molekul avaldub valminud T-lümfotsüütide pinnal tümotsüütide enamuse ja B-lümfotsüütide alampopulatsiooni kaudu (11, 12, 13). CD5 avaldub IgM-i tootvate B-rakkude alamkogumis terminaalse desoksünukleotidüüli transferaasi (TdT) ensüümi vähesuse tõttu, mis näib nõrgendavat BSR-i aktiveerumist ja vähendab seega autoreaktiivsust (autoimmuunreaktsiooni). T-rakkudes avaldub CD5 kõrgemal tasemel kui B-rakkudes. CD5 suureneb T-rakkudes tugeva aktiveerumise korral. Harkelundis on seos CD5 avaldumise ja T-rakkude reaktsiooni tugevuse vahel isekoostuvate peptiidide suhtes. CD5 ei avaldu granulotsüütides, monotsüütides ega trombotsüütides (13). Monoklonaalne antikeha BL1a määrati CD5-le seminaril 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3. HLDA seminar inimese leukotsüütide diferentseerimise antigeenide kohta), mis toimus 1986. aastal Oxfordis Inglismaal (kood WS: 520, jaotis T) (11, 12).

TÄPSUS

Positiivsete väärtuste protsent määrati täisverest. Igat proovi testiti 4 korda, kaks korda päevas, 1 päeva jooksul 2 instrumendil, kasutades 2 CD5-PC5 monoklonaalsete antikehade reagentide partiid. Mõõtmised (% positiivne) tehti Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsiti CLSI meetodi EP5-A2 põhjal. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivsete mõõtmismeetodite täpsuse näitajate hindamine).

Meie sobivuskriteeriumid sõltuvad iga populatsiooni kohta mõõdetud positiivsete sündmuste arvust:

- Positiivse sündmuse korral < 1500, CV < 15%
- Positiivse sündmuse korral > 1500, CV < 10%

Lümfotsüüdid							
Positiivsete sündmuste arv (keskmine) = 2823							
	Kasutajatevaheline	Tsütomeetritevaheline	Partiisisene	Partiidevaheline	Testidevaheline	Testisisene	Kokku
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
TULEMUSED	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

MÕÕTETÄPSUS

CD5-PC5 mõõtetäpsust hinnati võrreldes tulemusi võrdlusreagendiga kui predikaadiga täisvereproovide komplektis, mida oli testitud Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsi- ja võrdlusreagendi erinevused määrati analüüsitulemuste erinevuse põhjal. Kui erisus jääb lubatud veavahemikku või kui p-väärtus ei näita statistiliselt olulist erinevust (> 0,05), loetakse kahe reagendi analüüsitulemused võrdväärseteks.

Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis.

Doonorite arv = 25				
Positiivne siht	Keskmine Δ	Δ% raku kriteeriumid	p-väärtus	TULEMUSED
Lümfotsüüdid	0,90	<5	0,001	PASS

NULLPIIR JA TUVASTUSPIIR

Uuriti vastavalt CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Kliinilise labori mõõtmisprotseduuride avastamisvõime hindamise) nõuetele. Tuvastuspiir (LOD) on väikseim analüüdi kontsentratsioon, mida saab järjekindlalt määrata. Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis:

Positive Target	Nullpiir (rakku/µl)	Tuvastuspiir (rakku/µl)
Lümfotsüüdid	4	6

PIIRANGUD

1. Voolutsütomeetria võib anda valed tulemused, kui tsütomeeter ei ole ideaalselt joondatud, kui fluorestsentsi lekkeid ei ole õigesti kompenseeritud ja kui piirkonnad ei ole hoolikalt paigutatud.
2. Eelistatav on kasutada pesemisetapiga RBC lüüsi tehnikat, kuna seda reagenti pole optimeeritud „pesemiseta“ lüüsi tehnikate jaoks.
3. Täpsed ja korratavad tulemused saadakse, kui kasutatavad protseduurid on kooskõlas tehnilise teabelehe ja heade laboritavadega.
4. Selle reagendi pööratud antikeha kalibreeritakse nii, et tagatud oleks parim spetsiifilise/mittespetsiifilise signaali suhe. Seetõttu on igas analüüsis oluline järgida reagendi- ja proovimahu suhet.
5. Hüperleukotsütoosi korral lahjendage verd PBS-is nii, et saadav väärtus oleks ligikaudu 5 x 10^9 leukotsüüti/l kohta (14).
6. Teatud haigusseisundite (näiteks raske neerupuudulikkuse või hemoglobinopaatia) korral võib erütrotsüütide lüüsimine olla aeglane, mittetäielik või isegi võimatu. Sellisel juhul on enne värvimist soovitatav mononukleaarsete rakkude isoleerimine tihedusgradiendi (näiteks Ficoll-gradiendi) abil (15).
7. Fluorokroomi tandemstruktuuri tõttu kiirgab PC5 valgust ka lainepikkusel 575 nm. Sekundaarne kiirgumise suurim tase on erinev sõltuvalt PC5 partiidest. Seetõttu tuleb mitmevärvilise analüüsi korral PC5-konjugaadi partii vahetamisel kontrollida kompensatsioonimaatriksit.
8. Inimesevastaste monoklonaalsete antikehadega ravitud patsientidel võib spetsiifiliste antigeenide tuvastamise võime väheneda või puududa, sest need on terapeutiliste antikehade poolt osaliselt või täielikult blokeeritud.
9. CD5-PC5 tulemuste tõlgendamisel tuleb arvestada patsiendi terviklikku kliinilist pilti, sh sümptomeid, kliinilist anamneesi, lisaanalüüside andmeid ja muud asjakohast teavet.

Vt näiteid ja viiteid lisast.

KAUBAMÄRGID

Beckman Coulter, stiliseeritud logo ning selles juhendis nimetatud ettevõtte Beckman Coulter toote- ja teenusemärgid on ettevõtte Beckman Coulter, Inc. kaubamärgid või registreeritud kaubamärgid Ameerika Ühendriikides ja teistes riikides.

LISATEAVE

Patsiendile / kasutajale / muule osapoolele Euroopa Liidus ja identse regulatsioonirežiimiga riikides (määrus (EL) nr 2017/746 in vitro diagnostikameditsiiniseadmete kohta), kui selle seadme kasutamise ajal või selle kasutamise tagajärjel on toimunud tõsine vahejuhtum, teatage sellest tootjale ja/või tema volitatud esindajale ning teie riiklikult pädevale asutusele.

Summary of Safety and Performance (Ohutuse ja kliinilise toimivuse kokkuvõte) on EUDAMED-andmebaasis: ec.europa.eu/tools/eudamed.

VERSIOONI AJALUGU

REDAKTSIOON AC:	Avaldamise kuupäev: oktoober 2019

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AW	Mai 2022
Värskendused, mis vastavad Beckman Coulteri ülemaailmse märgistamise poliitikale ja IVD-R (EL) 2017/746 nõuetele:	
Lisatud osad	BSI 2797 number, sihtkasutaja, kliiniline tähtsus, kontsentratsioon, täpsus, mõõtetäpsus, nullpiir ja tuvastuspiir, lisateave, versiooni ajalugu.
Lisatud informatsioon	Vaata osa „Piirangud“
Fraseerimine või tüpograafiline värskendamine	Vaata osasid Protseduur, Toimimine, Piirangud, Hoiatus ja ettevaatusabinõud, Säilitamine ja stabiilsus.
Eemaldatud osad	Kasutusotstarvete, reagentide, laborisisese korratavuse, lineaarsuse näited
Uuendatud jaotised	Kasutusotstarve, GHS-i ohuklassifikatsioon, Riknemise tunnused, Protseduur, Lisa.

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AX	aprill 2023
Uuendatud jaotised	Lisada kasahhi keel
Uuendatud jaotised	Säilitamine ja stabiilsus

Muudetud versioon	AY
Muutmise kuupäev	mai 2024
Värskendatud tõlked	**Kliiniline tähtsus:**
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Muudetud versioon	AZ
Muutmise kuupäev	juuli 2024
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Sümboli tähis

Sümbolite mõisted on kättesaadavad veebilehel beckman.com/techdocs (dokument nr B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD5
Klon	BL1a
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Imunoglobulin	IgG2a
Vrsta	Miš
Pročišćavanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molarni omjer	PC5 / Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna emisija	670 nm
Pufer	PBS pH 7,2 uz 2 mg/mL BSA i 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano antitijelo CD5-PC5

REF A07754 100 testiranja; 1 mL, 10 µL / test

Za *in vitro* dijagnostičku uporabu

NAMJENA

To fluorokromom konjugirano antitijelo omogućuje kvalitativno i neautomatizirano prepoznavanje populacija stanica koje eksprimiraju antigen CD5 prisutan u humanim biološkim uzorcima uz pomoć protočne citometrije (pogledajte odjeljak „Uzorci" u nastavku).

NAČELO

Ovaj je test utemeljen na mogućnosti vezivanja specifičnih monoklonskih antitijela na antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično se bojenje leukocita izvodi inkubacijom uzorka s reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utječe, analiziraju se protočnom citometrijom.

Citometar toka mjeri difuziju svjetlosti i fluorescenciju stanica. Omogućuje razgraničavanje promatrane populacije unutar elektroničkog prozora definiranog na histogramu, koji stvara korelaciju između ortogonalne difuzije svjetlosti (bočnog raspršenja (BR)) i difuzije uskokutne svjetlosti (prednjeg raspršenja (PR)). Drugi histogrami koji kombiniraju dva od više različitih parametara dostupnih na citometru mogu se upotrebljavati kao pomoć u fazi ograđivanja ovisno o primjeni koju je odabrao korisnik.

Analizira se fluorescencija ograničenih stanica da bi se pozitivno obojeni događaji odvojili od neobojenih. Rezultati se izražavaju kao postotak pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobivene ograđivanjem.

PREDVIĐENI KORISNIK

Proizvod je namijenjen za profesionalnu laboratorijsku uporabu.

KLINIČKA RELEVANTNOST

CD5-PC5 antitijelo je na CD5 koje se koristi za prepoznavanje i karakteriziranje stanica koje eksprimiraju antigen CD5 protočnom citometrijom. Ovaj proizvod samostalno ne može generirati nikakav dijagnostički zaključak niti je tome namijenjen.

Kada se upotrebljava u kombinaciji s drugim markerima, ovaj se proizvod može upotrebljavati u jednoj ili više sljedećih funkcija:

- Kao pomoć prilikom postavljanja diferencijalne dijagnoze u hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu te za praćenje pacijenata s poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć prilikom donošenja prognoze za pacijente s hematopoetskom neoplazmom.

Pogledajte sljedeće reference:

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

UZORCI

Venska krv mora se uzeti sterilnim epruvetama koje kao antikoagulans sadrže EDTA sol.

Uzorke držite na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C) i nemojte ih tresti. Prije uzimanja testnog uzorka potrebno je homogenizirati uzorke pažljivim mućkanjem.

Uzorci venske krvi moraju se analizirati u roku od 24 sata od njihova uzimanja.

KONCENTRACIJA

Na web-mjestu www.beckman.com pogledajte Certifikat o analizi specifičan za lot koji upotrebljavate.

UPOZORENJE I MJERE OPREZA

1. Reagens nemojte upotrebljavati nakon isteka roka trajanja.
2. Nemojte zamrzavati.
3. Prije upotrebe pustite da dosegne sobnu temperaturu (18 – 25 °C).
4. Smanjite izlaganje svjetlu.
5. Izbjegavajte mikrobnu kontaminaciju reagensa ili može doći do netočnih rezultata.
6. Otopinama antitijela koje sadrže natrijev azid (NaN_3) potrebno je rukovati oprezno. Ne gutajte i izbjegavajte dodir s kožom, sluznicom i očima.

Štoviše, natrijev azid u kiselom mediju može formirati potencijalno opasnu hidrazoičnu kiselinu. Ako je reagens potrebno odložiti u otpad, preporučuje se da ga razrijedite u velikoj količini vode prije nego što ga izlijete u odvodni sustav da biste izbjegli nakupljanje natrijeva azida u metalnim cijevima i spriječili opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno zaraznima te je njima potrebno rukovati oprezno (odnosno nositi zaštitne rukavice, odjeću i naočale).
8. Nikada ne pipetirajte ustima te izbjegavajte doticaj uzoraka s kožom, sluznicom i očima.
9. Epruvete s krvlju i otpadni materijal za rukovanje treba odložiti u jednokratne spremnike namijenjene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad potrebno je ukloniti u skladu s lokalnim zahtjevima.

KLASIFIKACIJA OPASNOSTI PREMA GHS-U

Nije klasificiran kao opasan

SDS Sigurnosni list dostupan je na adresi beckmancoulter.com/techdocs

POHRANA I STABILNOST

Reagens se mora čuvati na temperaturi između 2 i 8 °C te zaštićen od svjetlosti, kako prije, tako i poslije otvaranja bočice.

Vijek trajanja zatvorene bočice prema ispitivanju stabilnosti: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dana.

DOKAZ PROPADANJA

Svaka promjena fizičkog izgleda reagensa može upućivati na propadanje te se reagens ne smije upotrebljavati.

Ako su vam potrebne dodatne informacije ili ste primili oštećen proizvod, nazovite korisnički servis tvrtke Beckman Coulter na 800-742-2345 (u SAD-u ili Kanadi) ili se obratite lokalnom predstavniku tvrtke Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans s natrijevim azidom može stvoriti eksplozivne spojeve u metalnim cjevovodima. Pogledajte bilten NIOSH: Explosive Azide Hazard (Opasnost od eksplozije azida) (16. 8. 76.).
Da biste spriječili moguće taloženje komponenata azida, prilikom odlaganja nerazrijeđenog reagensa u otpad odvodne cijevi isperite vodom. Odlaganje natrijeva azida u otpad mora biti u skladu s odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU DIO KOMPLETA:

- Epruvete za uzorke i materijal potreban za uzimanje uzoraka.
- Automatske pipete s jednokratnim nastavcima za 10, 100 i 500 µL.
- Plastične hemolitičke epruvete.
- Reagens za liziranje eritrocita s fazom pranja nakon liziranja. Na primjer: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primjer: Otopina za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotipska kontrola PC5: reagens IOTest (ref. A09148).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijeva fosfata, 0,145 M natrijeva klorida, pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska miješalica (tip vorteks).
- Citometar toka.

POSTUPAK S REAGENSOM VERSALYSE

Za svaki uzorak koji se analizira može se uz testnu epruvetu dodati jedna kontrolna epruveta u kojoj su stanice pomiješane u prisutnosti izotipskih kontrola (ref. A09148).

1. Dodajte 10 µL konjugiranog antitijela specifičnog za IOTest u svaku testnu epruvetu i, ako je potrebno, 10 µL izotipske kontrole u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µL testnog uzorka u svaku epruvetu. Epruvete polako promiješajte u vorteks-miješalici.
3. Inkubirajte od 15 do 20 min na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C), zaštićeno od svjetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje eritrocita. Pogledajte brošuru VersaLyse (ref. A09777) i po mogućnosti slijedite postupak „uz istovremeno fiksiranje" koji se sastoji od dodavanja 1 mL svježe pripremljene mješavine za fiksiranje i liziranje. Odmah promiješajte u vorteks-miješalici jednu sekundu i inkubirajte 10 min pri sobnoj temperaturi, zaštićeno od svjetlosti.
5. Centrifugirajte 5 min pri 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću 3 mL PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Uklonite supernatant aspiracijom i stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću:

- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a plus 0,1 % formaldehida ako se pripravke planira čuvati manje od 24 sati. (PBS s 0,1 % formaldehida možete pripremiti razrjeđivanjem 12,5 µL otopine za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800) pri njezinoj 10X koncentraciji u 1 mL PBS-a).
- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a bez formaldehida, ako pripravak treba analizirati u roku od 2 sati.

Napomena: U svakom slučaju pripravke čuvajte zaštićene od svjetlosti na temperaturi između 2 i 8 °C.

OČEKIVANE VRIJEDNOSTI

U našim su laboratorijima obrađeni uzorci pune krvi naizgled zdravih donora (njih 25) pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati prikupljeni pomoću tog reagensa u svrhu brojanja pozitivnih relevantnih događaja navedeni su u tablici u nastavku:

Pozitivna ciljna vrijednost	Broj	Srednja vrijednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti	25	71,40	9,45	13,23

Te su vrijednosti samo okvirne. Svaki laboratorij mora utvrditi vlastite očekivane vrijednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o performansama dobivaju se prethodno opisanim postupkom na manje od 24 sata starim uzorcima krvi prethodno prikupljenima u sterilne epruvete uz EDTA sol kao antikoagulans. Analiza se provodi u roku od 2 sata nakon imunobojenja.

SPECIFIČNOST

Molekulu CD5 izražava na površini zrelih T limfocita većina timocita i potpopulacija B limfocita (11,12,13). CD5 se izražava u podskupu B stanica koje izlučuju IgM zbog nedostatka enzim terminalne deoksinukleotid transferaze (TdT) koja ublažava aktivaciju BSR-a te tako smanjuje autoreaktivnost (autoimunu reakciju). S druge strane, T stanice izražavaju više razine antitijela CD5 nego B stanice. CD5 se regulira na T stanicama nakon jake aktivacije. U timusu postoji korelacija s ekspresijom biljega CD5 i jačinom interakcije T stanica s vlastitim peptidima. Ekspresije biljega CD5 nema u granulocitima, monocitima ni trombocitima (13). Monoklonalno antitijelo BL1a dodijeljeno je biljegu CD5 tijekom radionice 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Treća radionica HLDA-a o antigenima za razlikovanje ljudskih leukocita), održane u Oxfordu 1986. (WS kod: 520, odjeljak T) (11,12).

PRECIZNOST

Postotne pozitivne vrijednosti utvrđene su pomoću pune krvi. Svaki je uzorak obrađen 4 puta, dvaput dnevno tijekom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagensa s monoklonskim antitijelima CD5-PC5. Mjerenja (% pozitivnih vrijednosti) provedena su s pomoću citometra toka Navios. Analiza je provedena na temelju CLSI metode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procjena radnih značajki preciznosti metoda kvantitativnog mjerenja).

Naši kriteriji prihvatljivosti ovise o broju pozitivnih događaja izmjerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivni događaj < 1500, CV < 15 %
- Ako je pozitivni događaj > 1500, CV < 10 %

Limfociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrijednost) = 2823							
	Među operatorima	Među citometrima	Unutar lota	Među lotovima	Među obradama	Unutar obrade	Ukupno
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost mjerenja CD5-PC5 procijenjena je usporedbom rezultata s referentnim reagensom kao predikatom na skupu uzoraka pune krvi obrađenima na protočnom citometru Navios. Odstupanje između testa i referentnog reagensa utvrđeno je na temelju razlike između rezultata testa. Ako je odstupanje unutar dopuštenog raspona pogreške ili ako p-vrijednost upućuje na to da nema značajne razlike (> 0,05), rezultati testa za dva reagensa smatraju se istovjetnima.

Dobiveni rezultati sažeti su u tablici u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivna ciljna vrijednost	Srednja vrijednost Δ	Kriterij stanica Δ %	p-vrijednost	REZULTATI
Limfociti	0,90	<5	0,001	PASS

GRANICA SLIJEPE PROBE I GRANICA DETEKCIJE

Ispitivanje je izvedeno u skladu s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Procjena sposobnosti otkrivanja za postupke mjerenja u kliničkim laboratorijima). Granica detekcije (LOD) – najniža koncentracija analita koja se može dosljedno otkriti. Dobiveni rezultati sažeti su u sljedećoj tablici:

Positive Target	Granica slijepe probe (stanica/µL)	Granica detekcije (stanica/µL)
Limfociti	4	6

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti pogrešne rezultate ako citometar nije savršeno poravnat, ako fluorescentna curenja nisu pravilno kompenzirana i ako regije nisu pažljivo pozicionirane.
2. Poželjno je upotrebljavati tehniku liziranja pomoću RBC-a uz korak pranja jer ovaj reagens nije optimiziran za tehnike liziranja „bez pranja”.
3. Točni i ponovljivi rezultati dobivat će se sve dok se postupci izvode u skladu s tehničkom brošurom i u skladu s dobrim laboratorijskim praksama.
4. Konjugirano antitijelo tog reagensa kalibrirano je tako da pruža najbolji omjer specifičnog i nespecifičnog signala. Zato je važno pridržavati se omjera volumena reagensa i volumena uzorka prilikom svakog testiranja.
5. U slučaju hiperleukocitoze razrijedite uzorak u PBS-u da biste dobili vrijednost od približno 5 x 10^9 leukocita/L (14).
6. Pri određenim bolestima, kao što je ozbiljno zatajenje bubrega ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak i nemoguće. U tom se slučaju prije bojenja preporučuje izoliranje jednojezgrenih stanica s pomoću gradijenta gustoće (na primjer, Ficoll) (15).
7. Zbog tandemske strukture fluorokroma PC5 emitira svjetlost i pri duljini od 575 nm. Najveće vrijednosti sekundarne emisije razlikuju se ovisno o lotu PC5. Stoga je u slučaju višebojne analize prilikom promjene lota konjugata -PC5 potrebno pozorno provjeriti matricu kompenzacije.

8. U pacijenata koji primaju terapiju monoklonskim antihumanim antitijelima detekcija određenih ciljanih antigena može biti smanjena ili nepostojeća zbog djelomičnog ili potpunog blokiranja terapijskih antitijela.
9. Rezultate CD5-PC5 treba tumačiti u kontekstu ukupne kliničke slike pacijenta, uključujući simptome, anamnezu, podatke iz dodatnih testova i druge odgovarajuće informacije.

Za primjere i reference pogledajte Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizirani logotip te oznake proizvoda i usluga tvrtke Beckman Coulter žigovi su ili registrirani žigovi tvrtke Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim državama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta / korisnika / treću stranu u Europskoj uniji i u državama s identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskim proizvodima za in vitro dijagnostiku): ako tijekom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe dođe do ozbiljnog štetnog događaja, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovu ovlaštenom zastupniku te nadležnom nacionalnom tijelu.

Summary of Safety and Performance (Sažetak podataka o sigurnosti i performansama) potražite u bazi podataka EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

POVIJEST REVIZIJA

REVIZIJA AC:	Datum objave: listopad 2019.

REVIZIJA	**Datum objave**
AW	Svibanj 2022.
Ažuriranja radi usklađivanja s pravilnikom o globalnom označavanju tvrtke Beckman Coulter i u skladu sa zahtjevima uredbe (EU)2017/746 o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima (IVD-R):	
Dodani odjeljci	Broj BSI 2797, Ciljni korisnik, Klinička relevantnost, Koncentracija, Preciznost, Točnost, Granica slijepe probe i granica detekcije, Dodatne informacije, Povijest revizija.
Dodane informacije	Pogledajte odjeljke Ograničenja
Preformuliranje ili tipografska ažuriranja	Pogledajte odjeljke Postupak, Performanse, Ograničenja, Upozorenje i mjere opreza, Pohrana i stabilnost.
Uklonjeni odjeljci	Primjer kliničkih primjena, Reagensi, Unutarlaboratorijska obnovljivost, Linearnost
Ažurirani odjeljci	Namjena, Klasifikacija opasnosti prema GHS-u, Dokaz pogoršanja stanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum objave**
AX	Travanj 2023
Ažurirani odjeljci	Dodati kazaški
Ažurirani odjeljci	Čuvanje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Svibanj 2024
Ažurirani prijevodi	**Klinička relevantnost:**
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Srpanj 2024
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Pojmovnik simbola

Pojmovnik simbola dostupan je na web-mjestu beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Спецификации
Специфичност	CD5
Клонинг	BL1a
Хибридома	SP2/0 x balb/c
Имуноген	Lymphocytes from human thoracic duct
Имуноглобулин	IgG2a
Вид	Мишка
Пречистване	Афинитетна хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Моларно съотношение	PC5 / Ig: 0,5 - 1,5
λ възбуждане	488 nm
Емисионен пик	670 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 mg/mL BSA и 0,1 % NaN_3

IOTest
Конюгирано антитяло
CD5-PC5

REF A07754 100 теста; 1 mL, 10 µL / test

За *ин витро* диагностика

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Това флуорохром-конюгирано антитяло позволява качествена и неавтоматизирана идентификация с помощта на поточна цитометрия на клетъчни популации, експресиращи CD5 антиген, присъстващ в човешки биологични проби (вижте раздел „Проби“ по-долу).

ПРИНЦИП

Този тест се базира на способността на специфични моноклонални антитела да се свързват с антигенни детерминанти, експресирани от левкоцитите.

Специфично оцветяване на левкоцитите се извършва чрез инкубиране на пробата с реактива IOTest. След това червените кръвни телца се отстраняват чрез лизиране, а левкоцитите, които не се повлияват от този процес, се анализират чрез поточна цитометрия.

Поточният цитометър измерва разсейването на светлината и флуоресценцията на клетките. Това прави възможно разграничаването на популацията, която се изследва, в електронния прозорец, дефиниран на една хистограма, която корелира с ортогоналната дифузия на светлината (странично разсейване) и дифузията на тесноъгълна светлина (предно разсейване). Други хистограми, комбиниращи два от различните параметри на разположение на цитометъра, могат да бъдат използвани като основа в етапа на определяне на област за анализ в зависимост от приложението, избрано от потребителя.

Флуоресценцията на разграничените клетки се анализира, за да се разграничат позитивно оцветените събития от неоцветените такива. Резултатите се изразяват като процент на положителни събития във връзка с всички събития, получени от определянето на областта за анализ.

ПРЕДВИДЕН ПОТРЕБИТЕЛ

Този продукт е предназначен само за лабораторна професионална употреба.

КЛИНИЧНА ЗНАЧИМОСТ

CD5-PC5 е антитяло CD5, използвано за идентифициране и характеризиране чрез поточна цитометрия на клетки, експресиращи CD5 антиген. Този продукт не може и не е предназначен самостоятелно да генерира каквото и да е диагностично заключение.

Когато се използва в комбинация с други маркери, този продукт може да се използва в една или повече от следните функции:

- Като помощно средство при поставяне на диференциална диагноза на хематологично абнормни пациенти, суспектни за хематопоетично новообразуване, и за проследяване на пациенти с известно хематопоетично новообразуване.
- Като помощно средство при създаване на прогноза за пациенти с хематопоетична неоплазма.

Вижте следните справки:

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

ПРОБИ

Венозна кръв трябва да се взема в стерилни епруветки, съдържащи сол EDTA като антикоагулант.

Пробите трябва да бъдат съхранявани при стайна температура (18–25°C) и не трябва да се разклащат. Пробите трябва да бъдат хомогенизирани чрез внимателно смесване, преди да се вземе пробата за теста.

Пробите трябва да бъдат анализирани в рамките на 24 часа от венопункturата.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Вижте Сертификата за анализ за конкретната партида на www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Не използвайте реактива след изтичане на срока на годност.
2. Не замразявайте.
3. Оставете на стайна температура (18–25°C) преди употреба.
4. Минимизирайте излагането на светлина.
5. Избягвайте микробно замърсяване на реактивите, в противен случай е възможно да се получат погрешни резултати.

6. С разтворите на антитела, съдържащи натриев азид (NaN_3), трябва да се работи внимателно. Не приемайте вътрешно и избягвайте всякакъв контакт с кожата, лигавицата и очите.

   В допълнение, в киселинна среда натриевият азид може да образува потенциално опасната хидразоена киселина. Ако тя трябва да се изхвърли, препоръчва се реактивът да се разреди в голям обем вода, преди да се излее в дренажната система, за да се избегне натрупването на натриев азид в металните тръби и да се предотврати риск от експлозия.

7. Всички кръвни проби трябва да се считат за потенциално заразни и с тях трябва да се борави внимателно (по-специално: носене на защитни ръкавици, облекло и очила).
8. Никога не пипетирайте с уста и избягвайте всякакви контакти между пробите и Вашата кожа, лигавица и очи.
9. Епруветките за кръв и материалите за еднократна употреба, използвани за боравене, трябва да се изхвърлят във временни контейнери, предназначени за изгаряне.
10. Реактивите и отпадъците трябва да бъдат елиминирани в съответствие с местните изисквания.

КЛАСИФИЦИЯ НА ОПАСНОСТИТЕ ПО GHS

Не е класифициран като опасен

SDS Информационният лист за безопасност е наличен на адрес beckmancoulter.com/techdocs

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Този реактив трябва да се съхранява при температури между 2 и 8°C и да бъде защитен от светлина преди и след отваряне на флакона.

Изследване на срок на годност при затворена епруветка и стабилност: 1095 дни.

Стабилност на отворен флакон: реактивът е стабилен за 180 дни.

ДАННИ ЗА ВЛОШАВАНЕ

Всяка промяна във физическия изглед на реактивите може да е признак за влошаване и реактивът не трябва да бъде използван.

За допълнителна информация или при получаване на повреден продукт се свържете с отдела за обслужване на клиенти на Beckman Coulter на тел. 800-742-2345 (САЩ или Канада) или се свържете с местния представител на Beckman Coulter.

СЪДЪРЖАНИЕ

Консервантът натриев азид може да образува експлозивни съединения в метални отводнителни тръбопроводи. Вижте Бюлетина на NIOSH: Explosive Azide Hazard (Бюлетин на Националния институт по безопасност и хигиена на труда: Опасност от експлозия на азид) (16/8/76).
За да избегнете възможно натрупване на азидни съединения, промивайте канализационните тръби с вода след изхвърляне на неразтворен реактив. Изхвърлянето на натриев азид трябва да бъде в съответствие с местните разпоредби.

НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СА ДОСТАВЕНИ С КОМПЛЕКТА:

- Епруветки за проби и материали, необходими за вземане на проби.
- Автоматични пипети с накрайници за еднократна употреба за 10, 100 и 500 µL.
- Пластмасови хемолизни епруветки.
- Реактив за лизис на червени кръвни телца с етап на отмиване след лизис. Например: VersaLyse (Реф. A09777).
- Реактив за левкоцитна фиксация. Например: IOTest 3 фиксиращ разтвор (Реф. A07800).
- Изотипна контрола PC5: Реактив IOTest (Реф. № A09148).
- Буфер (PBS: 0,01 M натриев фосфат; 0,145 M натриев хлорид; pH 7,2).
- Центрофугирайте.
- Автоматичен агитатор (тип вортекс).
- Поточен цитометър.

ПРОЦЕДУРА С РЕАКТИВ VERSALYSE

За всяка анализирана проба освен тестовата епруветка може да се добави и една контролна епруветка, в която клетките да са смесени в присъствието на изотипната контрола (Реф. A09148).

1. Добавете 10 µL специфично IOTest конюгирано антитяло във всяка тестова епруветка и, ако е необходимо, 10 µL изотипна контрола във всяка контролна епруветка.
2. Добавете 100 µL от тестовата проба във всяка епруветка. Внимателно разбъркайте във вортекс епруветките.
3. Инкубирайте за 15 до 20 минути при стайна температура (18–25°C), като предпазвате от светлина.
4. След това се изпълнява лизиране на червените кръвни телца. Вижте брошурата на VersaLyse (Реф. A09777) и изпълнете за предпочитане процедурата, наречена „със съпътстващо фиксиране“, която се състои от добавяне на 1 mL от сместа „Фиксиране и лизиране“, приготвена за незабавно приложение. Незабавно завъртете епруветките с вортекс за една секунда и инкубирайте за 10 минути при стайна температура на защитено от светлина място.
5. Центрофугирайте 5 минути при 150 x g при стайна температура.
6. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация.
7. Разтворете отново клетъчната утайка, като използвате 3 mL PBS.
8. Повторете стъпка 5.
9. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация и ресуспендирайте клетъчната утайка с:

- 0,5 mL или 1 mL PBS плюс 0,1 % формалдехид, ако препаратите трябва да бъдат съхранявани по-малко от 24 часа. (Може да се получи 0,1 % формалдехид PBS чрез разреждане на 12,5 µL разтвор за фиксиране IOTest 3 (Реф. A07800) при 10X концентрация в 1 mL PBS).

- 0,5 mL или 1 mL PBS без формалдехид, ако препаратите ще бъдат анализирани в рамките на 2 часа.

Забележка: Във всички случаи съхранявайте препаратите при температури между 2 и 8°C и защитени от светлина.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

В нашите лаборатории бяха третирани пробите цялостна кръв на 25 видимо здрави донори с описания по-горе реактив. Получените с този реактив резултати за броя на положителните събития, които са от значение, са дадени в таблицата по-долу:

Положителна цел	Брой	Средна (%)	SD	CV (%)
Лимфоцити	25	71,40	9,45	13,23

Тези стойности са само представителни. Всяка лаборатория трябва да установи свои очаквани стойности от местната популация нормални донори.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данните за ефективността се получават с помощта на описаната по-горе процедура за кръвни проби до 24 часа, предварително събрани в стерилни епруветки със сол EDTA като антикоагулант. Анализ се извършва в рамките на 2 часа след имунооцветяване.

СПЕЦИФИЧНОСТ

Молекулата CD5 се експресира на повърхността на зрелите Т-лимфоцити от повечето тимоцити и от субпопулация В-лимфоцити (11,12,13). CD5 се експресира в една подгрупа от IgM-секретиращи В-клетки поради липсата на ензима терминална деоксинуклеотидилна трансфераза (TdT) с цел смекчаване на активацията на BSR и поради това намалява автореактивността (автоимунната реакция). От друга страна, Т-клетките експресират по-високи нива на CD5 от В-клетките. CD5 се активира върху Т-клетките при силна активация. В тимуса има зависимост между експресията на CD5 и силата на взаимодействието на Т-клетката и автологичните пептиди. Експресия на CD5 не се наблюдава при гранулоцити, моноцити и тромбоцити (13). Моноклоналното антитяло BL1a е определено към CD5 на 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Третия HLDA Семинар за човешки левкоцитни диференциационни антигени), проведен в Оксфорд, Англия през 1986 (WS код: 520, Раздел Т) (11,12).

ТОЧНОСТ

Процентните положителни стойности са определени посредством цялостна кръв. Всяка проба е обработена 4 пъти, два пъти на ден за 1 ден на 2 инструмента, като са използвани 2 партиди реактиви с CD5-PC5 моноклонално антитяло. Измерванията (% положителни) са направени на поточен цитометър Navios. Анализът е проведен на основата на CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods. (Метод EP5-A2 на CLSI: Оценка на точността на методите за количествено измерване.)

Нашите критерии за приемливост зависят от броя положителни събития, измерени за всяка популация:

- Ако положителните събития са < 1500, CV < 15 %
- Ако положителните събития са > 1500, CV < 10 %

Лимфоцити							
Брой положителни събития (средно) = 2823							
	Между оператори	Между цитометри	Вътрепартидна	Между партиди	Между цикли	В рамките на цикъл	Общо
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
РЕЗУЛТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТ

Точността на CD5-PC5 е изследвана чрез сравняване на резултатите с референтен реактив като потвърждение върху група от проби от цялостна кръв, обработени на поточен цитометър Navios. Отклонението между тестовия и референтния реактив се определя въз основа на разликата между резултатите от теста. Ако отклонението е в рамките на допустимия обхват на грешка или p-стойността не показва значима разлика (> 0,05), резултатите от теста за двата реактива се считат за еквивалентни.

Получените резултати са обобщени в таблицата, дадена по-долу:

Брой донори = 25				
Положителна цел	Средна Δ	Критерии Δ % клетки	p-стойност	РЕЗУЛТАТИ
Лимфоцити	0,90	<5	0,001	PASS

ГРАНИЦА НА СЛЯПА ПРОБА И ГРАНИЦА НА ОТКРИВАНЕ

Проведено е проучване в съответствие с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оценка на възможността за детекция за измервателни процедури в клинични лаборатории). Границата на откриване (LOD) е най-ниската концентрация на аналита, която може да бъде стабилно открита. Получените резултати са обобщени в следващата таблица:

Positive Target	Граница на сляпата проба (клетки/µL)	Граница на откриване (клетки/µL)
Лимфоцити	4	6

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Поточната цитометрия може да даде неточни резултати, ако цитометърът не е бил идеално приравнен, ако течове на флуоресценция не са били правилно компенсирани или ако регионите не са били внимателно позиционирани.
2. Предпочита се използването на техника за лизиране на червени кръвни клетки със стъпка за промиване, тъй като този реактив не е оптимизиран за техники за лизиране „без промиване“.
3. Ще бъдат получени точни и възпроизводими резултати, при условие, че използваните процедури са в съответствие с техническата листовка и са съвместими с добрите лабораторни практики.
4. Конюгираното антитяло на този реактив е калибрирано, за да се осигури най-доброто съотношение между специфичен сигнал/неспецифичен сигнал. Затова е важно да се придържате към съотношението обем на реактива/обем на пробата във всеки тест.

5. В случай на хиперлевкоцитоза кръвта се разрежда в PBS, така че да се получи стойност приблизително 5 x 10^9 левкоцити/L (14).
6. При определени болестни състояния, например тежка бъбречна недостатъчност или хемоглобинопатии, лизирането на червените кръвни телца може да бъде бавно, непълно или дори невъзможно. В този случай се препоръчва да се изолират мононуклеарни клетки, като се използва градиент на плътността (Ficoll например) преди оцветяване (15).
7. Поради тандемната структура на флуорохрома PC5 излъчва също и светлина с 575 nm. Пикът на вторичната емисия варира между отделните партиди на PC5. Поради това при многоцветен анализ матрицата на компенсиране трябва да бъде внимателно проверявана, когато се сменя партидата на -PC5 конюгат.
8. При пациенти, лекувани с терапии с античовешко моноклонално антитяло, отриването на специфични целеви антигени може да бъде занижено или да липсват поради частично или цялостно блокиране от терапевтичното антитяло.
9. Резултатите от CD5-PC5 трябва да се интерпретират спрямо общата клинична презентация на пациента, включваща: симптоми, клинична анамнеза, данни от допълнителни тестове и друга съответстваща информация.

Вижте Приложението за примери и справки.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ

Beckman Coulter, стилизираното лого и марките на продуктите и услугите на Beckman Coulter, присъстващи в този документ, са търговски марки или регистрирани търговски марки на Beckman Coulter, Inc. в САЩ и в други държави.

ДОПЪЛНИТЕЛНА ИНФОРМАЦИЯ

За пациенти/потребители/трети лица в Европейския съюз и в страни с идентичен регулаторен режим (Регламент 2017/746/ЕС относно ин витро диагностичните медицински изделия); ако по време на използването на това изделие или в резултат на използването му е настъпил сериозен инцидент, моля, съобщете за това на производителя и/или неговия упълномощен представител и на Вашия национален орган.

Summary of Safety and Performance (Обобщение на безопасността и работата) е налично в базата данни EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ХРОНОЛОГИЯ НА РЕДАКЦИИТЕ

РЕДАКЦИЯ AC:	Дата на издаване: октомври 2019 г.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AW	май 2022 г.
Актуализации с цел съответствие с Глобалната политика за етикетиране на Beckman Coulter и съгласно изискванията на Регламент (ЕС) 2017/746 за медицинските изделия за ин витро диагностика (IVD-R):	
Добавени раздели	Номер 2797 на BSI, Предвиден потребител, Клинична значимост, Концентрация, Прецизност, Точност, Граница на сляпата проба и граница на откриване, Допълнителна информация, Хронология на редакциите.
Добавена информация	Вижте разделите „Ограничения“
Актуализации във формулировките или типографията	Вижте раздели „Процедура“, „Работни характеристики“, „Ограничения“, „Предупреждения и предпазни мерки“, „Съхранение и стабилност“.
Премахнати раздели	Пример за клинични приложения, Реактиви, Вътрешнолабораторна възпроизводимост, Линейност
Актуализирани раздели	Предвидена употреба, Класификация на опасностите по GHS, Признаци за влошаване, Процедура, Приложение.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AX	Април 2023
Актуализирани раздели	Добавен е казахски
Актуализирани раздели	Съхранение и стабилност

Редактирана версия	AY
Редактирана дата	Май 2024
Актуализирани преводи	**Клинична значимост:**
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Редактирана версия	AZ
Редактирана дата	Юли 2024
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Легенда на символите

Речник на символите е наличен на beckman.com/techdocs (номер на документа B60062)

	規格
專一性	CD5
轉殖	BL1a
融合瘤	SP2/0 x balb/c
免疫原	Lymphocytes from human thoracic duct
免疫球蛋白	lgG2a
物種	小鼠
純化	親和力層析法
螢光染料	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
莫耳比率	PC5/lg： 0.5 - 1.5
λ 激發	488 nm
發射峰	670 nm
緩衝劑	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 及 0.1% NaN_3

IOTest
結合抗體
CD5-PC5

REF A07754 100 次檢測；1 mL, 10 µL/檢測

***體外*診斷使用**

預期用途

使用此螢光染料結合的抗體，能夠以流式細胞分析儀器對人體生物檢體中出現的表現 CD5 抗原之細胞群進行非自動化定性鑑別（請參閱下列「檢體」部分）。

原理

本測試的基礎在於特異性單株抗體結合由白血球表現之抗原決定簇的能力。

以 IOTest 試劑與檢體反應，對白血球進行特異性染色。然後以溶解作用去除紅血球，而白血球不受此程序影響，並可透過流式細胞分析儀器進行分析。

流式細胞分析儀器可測量細胞的光漫射和螢光。這樣可以界定直方圖上定義的電子窗口內的目標群體，直方圖可以關聯光的正交漫射（側向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。細胞分析儀器上可用之結合兩個不同參數的其他直方圖，可用於支持圈選階段，這取決於使用者所選的應用。

為了區分陽性染色事件和未染色事件，對劃定細胞的螢光進行了分析。結果表示為陽性事件相對於圈選所得全部事件的百分比。

預期使用者

本產品應當用於實驗室內的專業用途。

臨床相關性

CD5-PC5 是一種 CD5 抗體，以流式細胞分析儀器使用此抗體庫可辨認表達 CD5 抗原的細胞並鑑別其特徵。單獨使用此程序並不足以診斷出任何結果。

本產品搭配其他標誌物使用時，可用於以下一或多個功能：

- 可輔助疑似罹患造血組織腫瘤之血液異常患者的鑑別診斷，並可監測已知罹患造血組織腫瘤的患者。
- 有助於罹患造血組織腫瘤之患者的預後情況。

請參閱下列參考資料：

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

檢體

靜脈血必須使用無菌試管抽取，此無菌試管中含有 EDTA 鹽作為抗凝劑。

檢體應存放在室溫 (18~25°C)，且不得搖晃。取用測試檢體前，應將檢體輕輕攪動，使之均勻化。

檢體必須在靜脈穿刺後 24 小時內進行分析。

濃度

請參閱 www.beckman.com 參閱各批次專屬的分析證書。

警告和預防措施

1. 請勿使用過期試劑。
2. 切勿冷凍。
3. 使用前，請將其恢復至室溫 (18~25°C)。
4. 儘量避免陽光直射。
5. 請避免試劑受到微生物污染，否則可能會出現錯誤結果。
6. 含有疊氮化鈉 (NaN_3) 的抗體溶液應謹慎處理。請勿內服，並避免接觸皮膚、黏膜和眼睛。

   此外，在酸性介質中，疊氮化鈉可形成具有潛在危害的疊氮酸。若需要對其進行處置，建議在試劑倒入排水系統前以大量清水稀釋，避免疊氮化鈉在金屬管道中累積並預防爆炸。
7. 所有血液檢體必須視為具有潛在傳染性，且必須小心處理（務必穿戴防護手套、防護衣和護目鏡）。
8. 切勿用嘴吸液，並避免檢體接觸皮膚、黏膜和眼睛。

9. 用於處理的血液試管和一次性材料應放入焚化專用的特殊容器中處置。
10. 應根據當地要求清除試劑和廢棄物。

GHS 危害分類

未歸類為危險物質

SDS 安全性資料表載於 beckmancoulter.com/techdocs

存儲和穩定性

在打開試劑瓶前後，試劑必須避光保存於 2~8°C。

穩定性研究的封閉式藥瓶有效期限：1095 天。

開瓶後穩定性：試劑穩定性可維持 180 天。

變質的證據

試劑外觀的任何變化表示可能發生變質，因此不應使用該試劑。

如需瞭解其他資訊，或如果收到已損壞的產品，請撥打 800-742-2345（美國或加拿大）聯絡貝克曼庫爾特客戶服務部，或聯絡您當地的貝克曼庫爾特代表。

內容物

疊氮化鈉防腐劑可能會在金屬排水管道中形成爆炸性化合物。請參閱 NIOSH Bulletin： Explosive Azide Hazard（爆炸性疊氮化物危害）(76/8/16)。為防止疊氮化合物可能累積，丟棄未稀釋的試劑後請用水沖洗污水管。必須依照相關當地法規丟棄疊氮化鈉。

試劑盒未提供但卻需要的材料：

- 採樣時需要採樣試管和材料。
- 帶有可吸取 10、100 和 500 µL 一次性吸頭的自動移液器。
- 塑膠溶血試管。
- 用於溶解後洗滌階段的紅血球溶解試劑。舉例：VersaLyse (參考 A09777)。
- 白血球固定試劑。舉例：IOTest 3 固定液 (參考 A07800)。
- 同型品管劑 PC5：IOTest 試劑 (參考 A09148)。
- 緩衝劑 (PBS：0.01 M 磷酸鈉；0.145 M 氯化鈉；pH 7.2）。
- 離心機。
- 自動攪拌器（漩渦型）。
- 流式細胞分析儀器。

使用 VERSALYSE 試劑的程序

對於已分析的每項檢體，除使用測試試管外，可再增加一個品管劑試管，以在其中混合細胞與同型品管劑 (參考 A09148)。

1. 向每個測試試管添加 10 µL 特異性 IOTest 結合抗體，如果需要，向每個質控試管添加 10 µL 同型質控品。
2. 向每個試管中添加 100 µL 測試檢體。輕輕漩渦振盪試管。
3. 在室溫 (18~25°C) 下避光反應 15~20 分鐘。
4. 然後將紅血球溶解。請參閱 VersaLyse (參考 A09777) 的手冊，最好按照名為「共伴固定」的程序操作，其包含添加臨時製備的 1 mL「固定加溶解」混合物。立即震盪 1 秒後，在室溫下避光反應 10 分鐘。
5. 在室溫下以 150 x g 離心 5 分鐘。
6. 吸除上清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新懸浮細胞團塊。
8. 重複第 5 步。
9. 吸除上清液並按照以下方式重新懸浮細胞團塊：

- 若製劑存放時間不超過 24 小時，則以 0.5 mL 或 1 mL PBS 加 0.1% 甲醛。（可在 1 mL PBS 中稀釋 10X 濃度的 12.5 µL IOTest 3 固定液 (參考 A07800)，得到含有 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 若製劑將在 2 小時內分析，使用 0.5 mL 或 1 mL PBS（無甲醛）。

註：在所有情況下，將製劑在 2~8°C 避光保存。

預期值

在我們的實驗室中，採用上述試劑處理 25 名明顯健康的捐贈者的全血檢體。使用該試劑進行陽性目標事件計數得到的結果如下表所示：

陽性目標	數量	平均值 (%)	SD	CV (%)
淋巴球	25	71.40	9.45	13.23

這些數值是具代表性的參考值。每個實驗室都應運用當地正常捐贈者族群的檢測結果，自行確立適用的預期值。

性能

對於之前採集在無菌試管（含有 EDTA 鹽作為抗凝劑）中短於 24 小時的血液檢體，使用上面描述的程序獲取了性能資料。在免疫染色後的 2 小時內進行分析。

專一性

CD5 分子由大多數胸腺細胞和一部分 B 淋巴細胞在成熟 T 淋巴細胞表面表達 (11,12,13)。CD5 因缺乏末端去氧核苷酸轉移酶 (TdT) 而在一部分 IgM 分泌 B 細胞中表達，此舉會降低 BSR 的活化，進而降低自體反應性（自體免疫反應）。相反，T 細胞比 B 細胞表達的 CD5 水平更高。強活化後，CD5 在 T 細胞上被上調。在胸腺中，CD5 表達與 T 細胞對自身肽的交互作用強度有關。粒細胞、單核細胞和血小板中未發現 CD5 表達 (13)。在 1986 年於英國牛津舉行的 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens（第 3 屆 HLDA 人類白細胞分化抗原會議）（會議代碼：520，T 部分）上，將單株抗體 BL1a 指定到 CD5 中 (11,12)。

準確度

使用全血測定了百分比陽性值。每項檢體皆使用 2 個批次的 CD5-PC5 單株抗體試劑，以 2 台儀器 1 天運行 2 次，共運行了 4 次。使用 Navios 流式細胞分析儀器檢測結果（陽性 %）。根據 CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：評估定量檢測方法的準確度性能）進行分析。

我們的接受標準視各族群所檢測的陽性事件數量而定：

- 若陽性事件數量 < 1,500，則 CV < 15%
- 若陽性事件數量 > 1,500，則 CV < 10%

淋巴球							
陽性事件數量（平均值）= 2823							
	各操作者間	各台細胞分析儀器間	批內	批間	各次執行間	各次執行內	總計
CV (%)	0.23	0.40	1.00	0.22	0.63	0.73	1.10
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

準確性

評估 CD5-PC5 準確性的方式，是比較它與參考試劑用於添加了陽性細胞的一組全血檢體，在 Navios 流式細胞分析儀器上進行化驗時，其結果有何差異。根據測試結果間的差異，測定了測試與參考試劑之間的偏差。如果此偏倚在允許的誤差範圍內或 P 值並未顯示顯著差異 (> 0.05)，則兩種試劑的測試結果視為相當。

所得結果總結於下表：

捐贈者數量 = 25				
陽性目標	平均值差	細胞標準 Δ %	P 值	結果
淋巴球	0.90	<5	0.001	PASS

空白檢體的偵測極限與偵測極限

按照 CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2，臨床實驗室測定程序的偵測能力評估）開展了一項試驗。偵測極限 (LOD) 是指可始終被偵測出的最低分析物濃度。所得結果總結於下表：

Positive Target	空白檢體的偵測極限（細胞數/µL）	偵測極限（細胞數/µL）
淋巴球	4	6

限制條件

1. 流式細胞分析儀器在下列情況下可能產生錯誤結果：細胞分析儀器未正確校正、螢光洩漏未正確補償、相關區域並未仔細定位。
2. 最好採用帶洗滌步驟的 RBC 溶解方法，因該試劑不能在「無洗滌」溶解方法中取得最佳效果。
3. 按照技術手冊採用相關流程並遵循優良實驗室操作規範，便可得到準確且可重複的結果。
4. 此試劑的結合抗體已經過校正，以提供最佳的特異性訊號/非特異性訊號比率。因此，在每次測試中遵守試劑體積/檢體體積比率很重要。
5. 如果白血球過多，請在 PBS 中稀釋血液，使白血球濃度約為 5 x 10^9 顆/L (14)。
6. 在嚴重腎衰竭、血色素病變等特定疾病狀態中，紅血球溶解可能會變得緩慢、不完全，甚至無法溶解。在這種情況下，建議在染色前使用密度梯度（例如聚蔗糖）分離單核球 (15)。
7. 因螢光染料為串聯結構，PC5 也可以在 575 nm 下發光。次級發射峰會因 PC5 批次不同而不同。因此，對於多色分析，更改結合 -PC5 的批次時應仔細檢查補償矩陣。
8. 使用抗人單株抗體療法治療患者時，由於治療抗體的部分或完全阻斷，偵測到的特定目標抗原可能會減少或完全偵測不到。
9. CD5-PC5 結果的判讀應結合患者的整體臨床表徵，包括：症狀、臨床病史、其他測試的資料以及其他相關資訊。

請參閱附錄以閱讀舉例和參考文獻。

商標

Beckman Coulter、徽標以及本文述及的貝克曼庫爾特公司產品和服務標記是美國貝克曼庫爾特有限公司在美國和其他國家的商標或註冊商標。

其他資訊

對於患者/使用者/第三方（在歐盟和有相同監管制度（體外診斷醫療裝置法規，2017/746/EU）的國家）；如果在使用中或由於使用而導致嚴重事件，請將情況回報製造商和/或授權代表，以及貴國主管機關。

Summary of Safety and Performance（安全與性能）的摘要請參見 EUDAMED 資料庫：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修訂歷程記錄

修訂版 AC：	發佈日期：2019 年 10 月

修訂	發行日期
AW	2022 年 5 月
更新以遵守貝克曼庫爾特公司全球標籤政策以及 IVD-R (EU)2017/746 規定：	
已新增部分	BSI 2797 編號、預期使用者、臨床相關性、濃度、精密度、準確性、空白檢體的偵測極限和偵測極限、其他資訊、修訂記錄。
已新增資訊	請參閱「限制」部分
修辭或印刷更新	請參閱「程序」、「性能」、「限制」、「警告和預防措施」、「存儲和穩定性」等部分。
已移除的部分	臨床應用範例、試劑、實驗室內再現性、線性
已更新部分	預期用途、GHS 危害分類、變質的證據、程序、附錄。

修訂	發行日期
AX	4 月 2023
已更新部分	新增哈薩克語
已更新部分	存儲和穩定性

修訂版本	AY
修訂日期	5 月 2024
已更新的譯文	**臨床關聯性**：
已更新部分	修訂歷史

修訂版本	AZ
修訂日期	7 月 2024
已更新部分	修訂歷史

符號釋義

符號術語表請參見網站：beckman.com/techdocs（文件編號 B60062）

	Specificații
Specificitate	CD5
Clonă	BL1a
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Imunoglobulină	IgG2a
Specie	Șoarece
Purificare	Cromatografia de afinitate
Fluorocrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Raport molar	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
Excitare λ	488 nm
Vârful de emisie	670 nm
Soluție tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA și 0,1% NaN_3

IOTest
Anticorp conjugat
CD5-PC5

REF A07754 100 de teste; 1 ml, 10 µl/test

Pentru diagnosticare *in vitro*

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

Acest anticorp conjugat cu fluorocrom permite identificarea calitativă și non-automată a populațiilor celulare care exprimă antigenul CD5 prezent în probele biologice umane prin citometrie în flux (consultați secțiunea „probe” de mai jos).

PRINCIPIU

Acest test se bazează pe abilitatea anticorpilor monoclonali specifici de a se lega de determinanții antigenici exprimați de leucocite.

Colorarea specifică a leucocitelor este efectuată prin incubarea probei cu reactivul IOTest. Eritrocitele sunt ulterior îndepărtate prin liză, iar leucocitele, care nu sunt afectate de acest proces, sunt analizate prin citometrie în flux.

Citometrul în flux măsoară difuzia luminii și fluorescența celulelor. Acesta face posibilă delimitarea populațiilor de interes în fereastra electronică definită pe o histogramă, care corelează difuzia ortogonală a luminii (Dispersia perpendiculară sau SS – Side Scatter) și difuzia luminii sub un unghi ascuțit (Dispersia pe direcția înainte sau FS – Forward Scatter). Alte histograme care combină doi dintre parametrii diferiți disponibili pe citometru pot fi utilizate ca suporturi în faza de stabilire a porților (gating) în funcție de aplicația aleasă de către utilizator.

Fluorescența celulelor delimitate se analizează pentru distingerea evenimentelor colorate pozitiv de cele necolorate. Rezultatele sunt exprimate ca procentaj de evenimente pozitive în raport cu toate evenimentele obținute de gating.

UTILIZATOR PRECONIZAT

Acest produs este destinat utilizării profesionale în laborator.

RELEVANȚĂ CLINICĂ

CD5-PC5 este un anticorp CD5 utilizat pentru a identifica și caracteriza celulele care exprimă antigenul CD5 prin citometrie în flux. Acest produs în sine nu poate și nu este conceput pentru a genera concluzii cu rol de diagnostic.

Atunci când este utilizat în combinație cu alți markeri, acest produs poate fi utilizat pentru una sau mai multe dintre următoarele funcții:

- Pentru a ajuta la obținerea unui diagnostic diferențial pentru pacienții cu anormalități hematologice suspecți de neoplasm hematopoietic și la monitorizarea pacienților cu neoplasm hematopoietic diagnosticat.
- Pentru a ajuta la obținerea unui prognostic pentru pacienții cu neoplasm hematopoietic.

Consultați următoarele referințe:

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

PROBE

Sângele venos trebuie recoltat utilizând eprubete sterile care conțin o sare de EDTA drept anticoagulant.

Se recomandă păstrarea probelor la temperatura camerei (18–25°C). Acestea nu se vor scutura. Se recomandă omogenizarea probelor prin agitare ușoară înainte de recoltarea probei de test.

Proba trebuie analizată în decurs de 24 de ore de la puncția venoasă.

CONCENTRAȚIE

Consultați certificatul de analiză specific lotului la adresa www.beckman.com.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Nu utilizați reactivul după data expirării.
2. Nu congelați.
3. Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei (18–25°C).
4. Reduceți la minimum expunerea la lumină.
5. Evitați contaminarea microbiană a reactivilor. În caz contrar, se pot obține rezultate false.
6. Soluțiile de anticorpi care conțin azidă de sodiu (NaN_3) trebuie manipulate cu atenție. A nu se ingera și a se evita contactul cu pielea, mucoasele și ochii.

În plus, într-un mediu acid, azida de sodiu poate forma acid hidrazoic, un compus potențial periculos. Dacă este necesară eliminarea reactivului, se recomandă ca acesta să fie diluat într-un volum mare de apă înainte de a fi vărsat în sistemul de canalizare pentru a evita acumularea de azidă de sodiu în conductele metalice și pentru a preveni riscul de explozie.

7. Toate probele de sânge trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie manipulate cu grijă (în special: purtarea de mănuși de protecție, halate și ochelari de protecție).
8. Nu pipetați niciodată cu gura și evitați contactul probelor cu pielea, mucoasele și ochii.
9. Eprubetele pentru sânge și materialele de unică folosință utilizate pentru manipulare trebuie eliminate în recipiente ad-hoc destinate incinerării.
10. Reactivii și deșeurile trebuie eliminați în conformitate cu cerințele locale.

CLASIFICAREA RISCURILOR ÎN SISTEMUL GHS

Nu este clasificat ca periculos

SDS Fișa tehnică de securitate este disponibilă la beckmancoulter.com/techdocs

DEPOZITAREA ȘI STABILITATEA

Înainte și după desigilarea fiolei, acest reactiv trebuie păstrat la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C într-un loc ferit de lumină.

Perioada de valabilitate în fiolă închisă în conformitate cu studiul de stabilitate: 1095 zile.

Stabilitatea fiolei desigilate: reactivul este stabil timp de 180 (de) zile.

DOVADĂ DE DETERIORARE

Orice modificare a aspectului fizic al reactivilor poate indica degradarea. În acest caz, nu se recomandă utilizarea reactivului.

Pentru informații suplimentare sau dacă s-a primit un produs deteriorat, sunați la Serviciul Clienți Beckman Coulter la 800-742-2345 (SUA sau Canada) sau contactați-vă reprezentantul Beckman Coulter local.

CONȚINUT

Azida de sodiu folosită drept conservant poate forma compuși cu risc de explozie în conductele de drenaj metalice. Consultați buletinul informativ al NIOSH: Explosive Azide Hazard (Azidă cu risc de explozie) (08/16/76).
Pentru a evita posibila acumulare de compuși de azidă, spălați cu apă conductele pentru evacuarea deșeurilor după eliminarea reactivului nediluat. Eliminarea azidei de sodiu trebuie realizată în conformitate cu reglementările locale aplicabile.

MATERIALE NECESARE, DAR NEFURNIZATE CU SETUL:

- Eprubete pentru probe și materiale necesare pentru prelevarea probelor.
- Pipete automate cu vârfuri de unică folosință pentru 10, 100 și 500 µl.
- Eprubete din plastic pentru hemoliză.
- Reactiv de liză a eritrocitelor cu faza de spălare după liză. De exemplu: VersaLyse (ref. A09777).
- Reactiv de fixare a leucocitelor. De exemplu: Soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800).
- Ser de control izotipic PC5: Reactiv IOTest (ref. A09148).
- Soluție tampon (PBS: 0,01 mol de fosfat de sodiu; 0,145 mol de clorură de sodiu; pH 7,2).
- Centrifugați.
- Agitator automat (tip Vortex).
- Citometru de flux.

PROCEDURA CU REACTIVUL VERSALYSE

Pentru fiecare probă analizată, în afară de eprubeta de testare, poate fi adăugată o eprubetă de ser de control în care celulele sunt amestecate în prezența serurilor de control izotipic (ref. A09148).

1. Adăugați 10 µl de anticorp conjugat IOTest specific în fiecare eprubetă de test și, dacă este necesar, 10 µl de ser de control izotipic în fiecare eprubetă cu ser de control.
2. Adăugați 100 µl de probă de test în fiecare eprubetă. Amestecați cu grijă eprubetele în agitatorul vortex.
3. Incubați timp de 15–20 de minute la temperatura camerei (18–25°C) într-un loc ferit de lumină.
4. Apoi efectuați liza eritrocitelor. Consultați prospectul VersaLyse (ref. A09777) și urmați, de preferat, procedura denumită „cu fixare concomitentă”, care constă în adăugarea a 1 ml de amestec „Fixare și liză” preparat extemporaneu. Amestecați imediat în agitatorul vortex timp de o secundă și incubați timp de 10 minute la temperatura camerei, într-un loc ferit de lumină.
5. Centrifugați timp de 5 minute la 150 x g la temperatura camerei.
6. Îndepărtați supernatantul prin aspirare.
7. Resuspendați peleta de celule utilizând 3 ml de PBS.
8. Repetați pasul 5.
9. Îndepărtați supernatantul prin aspirare și resuspendați peleta de celule utilizând:

- 0,5 ml sau 1 ml de PBS plus 0,1% formaldehidă dacă preparatele trebuie păstrate mai puțin de 24 (de) ore. (O soluție PBS cu 0,1% formaldehidă poate fi obținută prin diluarea unei cantități de 12,5 µl de soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800) la concentrația sa de 10X în 1 ml de PBS).
- 0,5 ml sau 1 ml de PBS fără formaldehidă, dacă preparatele trebuie analizate în decurs de 2 (de) ore.

Observație: În toate cazurile, păstrați preparatele la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C, în locuri ferite de lumină.

VALORI PRECONIZATE

În laboratoarele noastre, probele de sânge integral de la 25 donatori aparent sănătoși au fost tratate utilizându-se reactivul descris mai sus. Rezultatele obținute pentru numărul de evenimente pozitive de interes cu acest reactiv sunt date în tabelul de mai jos:

Ținta pozitivă	Număr	Medie (%)	SD (deviație standard)	CV (%)
Limfocite	25	71,40	9,45	13,23

Aceste valori au doar caracter exemplificativ. Fiecare laborator trebuie să stabilească propriile valori așteptate de la populația locală de donatori normali.

PERFORMANȚĂ

Datele de performanță se obțin folosindu-se procedeul descris mai sus pe probe de sânge cu o vechime mai mică de 24 de ore recoltate anterior în eprubete sterile cu sare EDTA ca anticoagulant. Analiza se efectuează în decurs de 2 ore de la imunocolorare.

SPECIFICITATE

Molecula CD5 este prezentă la suprafața limfocitelor T mature, în majoritatea timocitelor și într-o sub-populație de limfocite B (11,12,13). CD5 este prezent într-un subset de celule B care secretă IgM datorită absenței transferazei deoxinucleotidil de terminal enzimatic (TdT) care apare la activarea BSR, reducând prin urmare autoreactivitatea (reacția autoimună). Din contră, în celulele T sunt prezente niveluri de CD5 mai ridicate decât în celulele B. CD5 este reglementat în sus la celule T la activare puternică. În timus există o corelare între prezențaCD5 și puterea interacțiunii celulei T spre peptide self. CD5 nu este prezent în granulocite, monocite și trombocite (13). Anticorpul monoclonal BL1a a fost asociat cu CD5 la 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Al 3-lea simpozion HLDA pentru antigenii umani de diferențiere a leucocitelor), organizat la Oxford, Anglia, în 1986 (Cod WS: 520, Secțiune T) (11,12).

PRECIZIE

Valorile procentuale pozitive au fost stabilite folosind sânge integral. Fiecare probă a fost analizată de 4 ori, de două ori pe zi timp de 1 zi, pe 2 instrumente, folosind 2 loturi de reactivi cu anticorp monoclonal CD5-PC5. Măsurătorile (% pozitive) au fost efectuate pe un citometru în flux Navios. Analiza a fost efectuată în conformitate cu metoda CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluarea performanței de precizie a metodelor de măsurare cantitativă).

Criteriile noastre de acceptare depind de numărul de evenimente pozitive măsurate pentru fiecare populație:

- Dacă evenimentul pozitiv < 1500, CV < 15%
- Dacă evenimentul pozitiv > 1500, CV < 10%

Limfocite							
Număr de evenimente pozitive (medie) = 2823							
	Inter-operator	Inter-citometru	Intra-lot	Inter-lot	Inter-ciclu	Intra-testare	Total
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
REZULTATE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACURATEȚE

Acuratețea CD5-PC5 a fost evaluată prin compararea rezultatelor cu un reactiv de referință ca predicat pe un set de probe de sânge integral analizate cu un citometru în flux Navios. Eroarea sistematică dintre test și reactivul de referință a fost determinată în funcție de diferența dintre rezultatele testului. Dacă eroarea sistematică se încadrează în intervalul de eroare permis sau dacă valoarea p nu indică o diferență semnificativă (> 0,05), rezultatele testului pentru cei doi reactivi sunt considerate ca fiind echivalente.

Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul de mai jos:

Număr de donatori = 25				
Ținta pozitivă	Medie Δ	Criterii celulă Δ%	Valoarea p	REZULTATE
Limfocite	0,90	<5	0,001	PASS

LIMITA DE BLANC ȘI LIMITA DE DETECȚIE

A fost realizat un studiu în conformitate cu documentul CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluarea capacității de detecție în cazul procedurilor de măsurare din laborator). Limita de detecție (LOD) este cea mai redusă concentrație de analit care poate fi detectată în mod constant. Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul următor:

Positive Target	Limită de blanc (celulă/µl)	Limită de detecție (celulă/µl)
Limfocite	4	6

LIMITĂRI

1. Citometria în flux poate furniza rezultate false dacă citometrul nu a fost aliniat perfect, dacă scurgerile de fluorescență nu au fost compensate corect și dacă regiunile nu au fost poziționate corect.
2. Este de preferat să se utilizeze o tehnică de liză a eritrocitelor (RBC) cu o etapă de spălare, deoarece acest reactiv nu a fost optimizat pentru tehnici de liză „fără spălare”.
3. Se vor obține rezultate corecte și reproductibile dacă procedurile utilizate respectă prospectul tehnic și bunele practici de laborator.
4. Anticorpul conjugat din acest reactiv este calibrat astfel încât să ofere cel mai bun raport semnal specific/semnal nespecific. Prin urmare, este important ca la fiecare test să se respecte raportul volum de reactiv/volum de probă.
5. În cazul unei hiperleucocitoze, diluați sângele în PBS astfel încât să obțineți o valoare de aproximativ 5 x 10^9 leucocite/l (14).
6. În anumite stări patologice, cum ar fi insuficiența renală severă sau hemoglobinopatiile, liza eritrocitelor poate fi lentă, incompletă sau chiar imposibilă. În acest caz, se recomandă izolarea celulelor mononucleare cu ajutorul unui gradient de densitate (de exemplu, Ficoll), înainte de colorare (15).
7. Din cauza structurii în tandem a fluorocromului, și PC5 emită lumină la 575 nm. Acest al doilea vârf de emisie diferă de la un lot de PC5 la altul. Prin urmare, pentru analiza multicolorimetrică, matricea de compensare trebuie verificată atent la schimbarea lotului de conjugat cu PC5.
8. În cazul pacienților tratați cu terapii cu anticorp monoclonal anti-uman, detecția antigenilor specifici țintiți poate fi diminuată sau absentă din cauza blocării parțiale sau complete asigurată de anticorpul terapeutic.

9. Rezultatele CD5-PC5 trebuie interpretate în lumina prezentării clinice integrale a pacientului, inclusiv: simptome, istoric clinic, date din teste suplimentare și alte informații corespunzătoare.

Consultați Anexa pentru exemple și referințe.

MĂRCI COMERCIALE

Beckman Coulter, logoul stilizat și mărcile de produse și servicii Beckman Coulter menționate aici sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Beckman Coulter, Inc. în Statele Unite și în alte țări.

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

În cazul unui pacient/utilizator/terț aflat în Uniunea Europeană sau în țări cu un regim de reglementare identic (Regulamentul 2017/746/UE privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro); dacă, în timpul utilizării acestui dispozitiv sau în urma utilizării acestuia, are loc un incident grav, raportați acest incident către producător și/sau reprezentantul său autorizat și către autoritatea națională din țara dvs.

Rezumatul secțiunilor Siguranță și Performanță este disponibil din baza de date EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORICUL REVIZUIRILOR

REVIZIA AC:	Data publicării: Octombrie 2019

REVIZIE	**Data publicării**
AW	Mai 2022
Se actualizează pentru a respecta politica globală de etichetare Beckman Coulter și cerințele regulamentului IVD-R (UE) 2017/746:	
Secțiuni adăugate	Număr BSI 2797, Utilizator propus, Relevanță clinică, Concentrație, Precizie, Acuratețe, Limita de blanc și limita de detecție, Informații suplimentare, Istoric revizuiri.
Informații adăugate	Consultați secțiunile Limitări
Actualizări referitoare la frazare și tipografice	Consultați secțiunile Procedură, Performanță, Limitări, Avertizări și măsuri de precauție, Depozitare și stabilitate.
Secțiuni eliminate	Exemplu de utilizări clinice, Reactivi, Reproductibilitate intralaborator, Liniaritate
Secțiuni actualizate	Utilizare propusă, Clasificarea riscurilor în sistemul GHS, Dovadă de deteriorare, Procedură, Anexă.

REVIZIE	**Data publicării**
AX	Aprilie 2023
Secțiuni actualizate	A fost adăugată limba kazahă
Secțiuni actualizate	Depozitare și stabilitate

Versiunea revizuită	AY
Data revizuirii	Mai 2024
Au fost actualizate traducerile	**Relevanță clinică:**
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Versiunea revizuită	AZ
Data revizuirii	Iulie 2024
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Cheie simboluri

Glosarul de simboluri este disponibil la beckman.com/techdocs (număr document B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD5
Klon	BL1a
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Imunoglobulin	IgG2a
Vrsta	Miš
Prečiščevanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molarno razmerje	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisij	670 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA in 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano protitelo CD5-PC5

REF A07754 100 testov; 1 ml, 10 µl/test

Za diagnostično uporabo *in vitro*

NAMEN UPORABE

To protitelo, konjugirano s fluorokromi, omogoča kvalitativno in neavtomatizirano identifikacijo celičnih populacij, ki izražajo antigen CD5, prisoten v človeških bioloških vzorcih, z uporabo pretočne citometrije (oglejte si poglavje »Vzorci« spodaj).

NAČELO

Ta test temelji na sposobnosti specifičnih monoklonskih protiteles, da se vežejo na antigenske determinante, ki jih izražajo levkociti.

Specifično barvanje levkocitov izvedemo z inkubacijo vzorca z reagentom IOTest. Rdeče krvničke nato odstranimo z lizo, levkocite, na katere ta proces ne vpliva, pa analiziramo s pretočno citometrijo.

Pretočni citometer meri difuzijo svetlobe in fluorescenco celic. Omogoča razmejitev opazovane populacije v elektronskem oknu, opredeljenem v histogramu, ki je povezan z ortogonalno difuzijo svetlobe (stransko sipanje ali SS) in difuzijo svetlobe pri majhnemu kotu (sipanje naprej ali FS). Glede na uporabo, ki jo izbere uporabnik, lahko druge histograme, ki uporabljajo kombinacijo dveh različnih parametrov, ki so na voljo na citometru, uporabimo kot nosilce v fazi uokvirjanja.

Fluorescenco razmejenih celic analiziramo z namenom razlikovanja med pozitivno obarvanimi dogodki in tistimi, ki niso obarvani. Rezultati so izraženi kot odstotek pozitivnih dogodkov glede na vse dogodke, pridobljene z uokviranjem.

PREDVIDENI UPORABNIK

Izdelek je namenjen profesionalni laboratorijski uporabi.

KLINIČNI POMEN

CD5-PC5 je protitelo CD5, ki se uporablja za identifikacijo in karakterizacijo celic, ki izražajo antigen CD5 s pomočjo pretočne citometrije. Ta izdelek sam ne more ustvariti in ni namenjen za ustvarjanje kakršnih koli diagnostičnih zaključkov.

Če se izdelek uporablja v kombinaciji z drugimi označevalci, se lahko uporablja pri eni ali več naslednjih funkcij:

- Uporablja se kot pripomoček pri diferencialnem diagnosticiranju hematološko neobičajnih bolnikov, pri katerih obstaja sum, da imajo hematopoetsko neoplazmo, in za spremljanje bolnikov z znano hematopoetsko neoplazmo.
- Za pomoč pri napovedi stanja bolnikov s hematopoetsko neoplazmo.

Oglejte si naslednje reference:

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

VZORCI

Pri jemanju venske krvi je treba uporabiti sterilne epruvete, ki vsebujejo sol EDTA kot antikoagulant.

Vzorce je treba hraniti pri sobni temperaturi (18–25 °C) in jih ni dovoljeno pretresati. Vzorce je treba homogenizirati z rahlim stresanjem pred odvzemom testnega vzorca.

Vzorce je treba analizirati v 24 urah po venepunkciji.

KONCENTRACIJA

Oglejte si ustrezen certifikat o analizi za izbrano serijo na spletni strani www.beckman.com.

OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI

1. Ne uporabljajte reagenta po izteku roka uporabnosti.
2. Ne zamrzujte.
3. Pred uporabo počakajte, da se ogrejejo na sobno temperaturo (18–25 °C).
4. Čim manj izpostavljajte svetlobi.
5. Preprečite mikrobno kontaminacijo reagentov, sicer lahko pride do napačnih rezultatov.
6. Z raztopinami protiteles, ki vsebujejo natrijev azid (NaN_3), je treba ravnati previdno. Ne zaužijte in se izogibajte vsakršnemu stiku s kožo, sluznico in očmi.

Poleg tega lahko natrijev azid v kislem mediju tvori potencialno nevaren vodikov azid. Če ga je treba odstraniti, je reagent priporočljivo razredčiti z veliko količino vode pred izlivanjem v kanalizacijo, da bi se izognili kopičenju natrijevega azida v kovinskih ceveh in preprečili nevarnost eksplozije.

7. Vse vzorce krvi je treba obravnavati kot potencialno kužne in je treba z njimi ravnati previdno (predvsem je treba nositi zaščitne rokavice, halje in očala).
8. Nikoli ne pipetirajte z usti in se izogibajte vsakršnemu stiku vzorcev s kožo, sluznico in očmi.
9. Epruvete za kri in material za enkratno uporabo je treba odstraniti v zabojnike na licu mesta, namenjene sežigu.
10. Reagente in odpadke je treba odstraniti skladno z lokalnimi predpisi.

KLASIFIKACIJA NEVARNOSTI PO GHS

Ni razvrščeno kot nevarno

SDS Varnostni list je na voljo na povezavi beckmancoulter.com/techdocs

SHRANJEVANJE IN OBSTOJNOST

Ta reagent je treba shranjevati pri temperaturi od 2 do 8 °C in zaščiteno pred svetlobo pred odprtjem vial in po njem.

Rok uporabnosti zaprte viale po študiji stabilnosti: 1095 dni.

Stabilnost odprte stekleničke: reagent je stabilen 180 dni.

DOKAZ O POSLABŠANJU STANJA

Vsaka sprememba fizičnega videza reagentov lahko kaže na poslabšanje stanja in reagenta ni dovoljeno uporabljati.

Za dodatne informacije ali ob prejemu poškodovanega izdelka pokličite službo za pomoč strankam družbe Beckman Coulter na številko 800-742-2345 (ZDA ali Kanada) ali se obrnite na lokalnega predstavnika podjetja Beckman Coulter.

VSEBINA

Konzervans iz natrijevega azida lahko tvori eksplozivne spojine v kovinskih odvodnih ceveh. Oglejte si NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16. 8. 76) (Nevarnost eksplozivnih azidov).
Da bi se izognili morebitnemu kopičenju azidnih spojin, po odstranjevanju nerazredčenega reagenta sperite odtočne cevi z vodo. Odstranjevanje natrijevega azida mora biti skladno z ustreznimi lokalnimi predpisi.

POTREBEN MATERIAL, KI NI PRILOŽEN V KOMPLETU:

- Epruvete za vzorčenje in material, potreben za vzorčenje.
- Samodejne pipete s konicami za enkratno uporabo za 10, 100 in 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizo.
- Reagent za lizo rdečih krvničk z izpiranjem po lizi. Na primer: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagent za fiksacijo levkocitov. Na primer: fiksirna raztopina IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotipska kontrola PC5: Reagent IOTest (Ref. A09148).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijev fosfat; 0,145 M natrijev klorid; pH 7,2).
- Centrifugirajte.
- Samodejni stresalnik (za stresanje).
- Pretočni citometer.

POSTOPEK Z REAGENTOM VERSALYSE

Za vsak analizirani vzorec lahko poleg testne epruvete dodamo še kontrolno epruveto, v kateri so celice pomešane v prisotnosti izotipskih kontrol (Ref. A09148).

1. V vsako testno epruveto dodajte 10 µl konjugiranih protiteles IOTest, po potrebi pa 10 µl izotipske kontrole v vsako kontrolno epruveto.
2. V vsako epruveto dodajte 100 µl testnega vzorca. Epruvete nežno stresajte.
3. Inkubirajte ga 15 do 20 minut pri sobni temperaturi (18–25 °C), zaščitenega pred svetlobo.
4. Nato izvedite lizo rdečih celic. Oglejte si brošuro VersaLyse (Ref. A09777) in po možnosti upoštevajte postopek, imenovan »s hkratno fiksacijo«, po katerem je treba dodati 1 ml mešanice »Fix-and-Lyse«, pripravljene sprotno. Takoj stresajte eno sekundo in inkubirajte 10 minut pri sobni temperaturi, zaščiteno pred svetlobo.
5. Centrifugirajte 5 minut pri 150 x g na sobni temperaturi.
6. Supernatant odstranite z aspiracijo.
7. Celično usedlino znova suspendirajte z uporabo 3 ml PBS.
8. Ponovite 5. korak.
9. Supernatant odstranite z aspiracijo in znova suspendirajte celično usedlino z uporabo:

- 0,5 ml ali 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehida, če je pripravke treba hraniti manj kot 24 ur. (0,1-% formaldehid PBS lahko dobimo z redčenjem 12,5 µl fiksirne raztopine IOTest 3 (Ref. A07800) pri njeni 10X koncentraciji v 1 ml PBS).
- 0,5 ml ali 1 ml PBS brez formaldehida, če je pripravke treba analizirati v 2 urah.

Opomba: v vseh primerih pripravke hranite na temperaturi od 2 do 8 °C in zaščitite pred svetlobo.

PRIČAKOVANE VREDNOSTI

V naših laboratorijih smo z zgoraj opisanim reagentom obdelali vzorce polne krvi 25 na videz zdravih darovalcev. Rezultati, pridobljeni s štetjem pozitivnih dogodkov, ki nas zanimajo v zvezi s tem reagentom, so navedeni v spodnjih preglednicah:

Pozitivna tarča	Številka	Povprečje (%)	SD (SO)	CV (%)
Limfociti	25	71,40	9,45	13,23

Te vrednosti so zgolj reprezentativne. Vsak laboratorij mora določiti lastne pričakovane vrednosti za lokalno populacijo običajnih darovalcev.

USPEŠNOST

Podatke o zmogljivosti pridobimo z zgoraj opisanim postopkom na vzorcih krvi, starih manj kot 24 ur, ki so bili predhodno zbrani v sterilnih epruvetah s soljo EDTA kot antikoagulantom. Analizo se izvede v 2 urah po imunohistokemičnem barvanju.

SPECIFIČNOST

Molekula CD5 je izražena na površini zrelih limfocitov T z večino timocitov in podpopulacijo limfocitov B (11, 12, 13). CD5 je izražen pri podskupini IgM, ki izloča celice B zaradi pomanjkanja encima terminalne deoksinukleotidil-transferaze (TdT), za katerega se zdi, da olajša aktivacijo BSR, s čimer se zmanjša avtoreaktivnost (avtoimunska reakcija). V nasprotju s tem pa celice T izražajo višje stopnje CD5 od celic B. CD5 je povečana na celicah T ob močni aktivaciji. V priželjcu obstaja korelacija z izraženostjo CD5 in močjo interakcije celic T proti samopeptidom. Izraženosti CD5 ni mogoče najti v granulocitih, monocitih in trombocitih (13). Monoklonsko protitelo BL1a je bilo dodeljeno CD5 med 3. delavnico HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigents (delavnico HLDA o antigenih za diferenciacijo človeških levkocitov), ki je potekala v Oxfordu v Angliji leta 1986 (koda WS: 520, Razdelek T) (11, 12).

NATANČNOST

Odstotke pozitivnih vrednosti smo določili z uporabo polne krvi. Vsak vzorec je bil obravnavan 4-krat, dvakrat dnevno 1 dan na 2 napravah z uporabo 2 serij reagentov z monoklonskimi protitelesi CD5-PC5. Meritve (% pozitivnih) so bile opravljene na pretočnem citometru Navios. Analiza je bila izvedena na podlagi metode CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vrednotenje natančnosti kvantitativnih merilnih metod).

Naša merila sprejemljivosti so odvisna od števila pozitivnih dogodkov, izmerjenih za vsako populacijo:

- Če je pozitiven dogodek < 1.500, je CV < 15 %
- Če je pozitiven dogodek > 1.500, je CV < 10 %

Limfociti							
Število pozitivnih dogodkov (povprečje) = 2823							
	Med upravljavci	Med citometri	Znotraj serije	Med serijami	Med postopki	Znotraj postopka	Skupaj
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost CD5-PC5 smo ocenili s primerjavo rezultatov z referenčnim reagentom kot reagentom s potrjeno skladnostjo na nizu vzorcev polne krvi, obdelane na pretočnem citometru Navios. Odstopanje med testnim in referenčnim reagentom je bilo določeno na podlagi razlike med rezultati testa. Če je odstopanje znotraj dovoljenega območja napake ali vrednost p ne kaže pomembne razlike (> 0,05), se rezultati testov za oba reagenta štejejo za enakovredne.

Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Število darovalcev = 25				
Pozitivna tarča	Povprečje Δ	Δ % celičnega kriterija	vrednost p	REZULTATI
Limfociti	0,90	<5	0,001	PASS

MEJA SLEPEGA VZORCA IN MEJA ZAZNAVANJA

Študija je bila izvedena skladno z metodo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zmogljivosti zaznavanja za merilne postopke v kliničnih laboratorijih). Meja zaznavanja (LOD) je najnižja koncentracija analita, ki jo je mogoče dosledno zaznati. Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Positive Target	Meja slepega vzorca (celic/µl)	Meja zaznavanja (celic/µl)
Limfociti	4	6

OMEJITVE

1. S pretočno citometrijo lahko pride do napačnih rezultatov, če citometer ni bil točno nameščen, če puščanje fluorescence ni bilo ustrezno izravnano in če območja niso bila natančno pozicionirana.
2. Priporočljivo je uporabiti tehniko liziranja RBC s korakom pranja, saj ta reagent ni optimiziran za tehnike liziranja »brez pranja«.
3. Točne in ponovljive rezultate se bo doseglo, če se bo uporabilo postopke, ki so skladni s priloženim tehničnim listom in z načeli dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugirano protitelo tega reagenta je umerjeno, tako da zagotavlja najboljše razmerje med specifičnim/nespecifičnim signalnim razmerjem. Zato je pomembno, da pri vsakem testu upoštevamo razmerje med količino reagenta/količino vzorca.
5. V primeru hiperlevkocitoze razredčite kri v PBS, da se tako dobi vrednost približno 5 x 10^9 levkocitov/l (14).
6. Pri nekaterih bolezenskih stanjih, kot je huda ledvična odpoved ali hemoglobinopatije, je lahko liza rdečih krvničk počasna, nepopolna ali celo nemogoča. V tem primeru je priporočljivo izolirati mononuklearne celice z uporabo gradienta gostote (na primer Ficoll) pred barvanjem (15).
7. Zaradi tandemske strukture fluorokroma PC5 prav tako oddaja svetlobo z valovno dolžino 575 nm. Te sekundarne vršne emisije se razlikujejo med serijami PC5. Zato je treba za večbarvno analizo pri zamenjavi serije konjugata -PC5 skrbno preveriti kompenzacijsko matriko.
8. Pri bolnikih, ki se zdravijo s terapijo z antihumanimi monoklonskimi protitelesi, je lahko odkrivanje specifičnih ciljnih antigenov zmanjšano ali pa ga sploh ni zaradi delnega ali popolnega blokiranja s strani terapevtskega protitelesa.

9. Rezultate CD5-PC5 je treba razlagati v luči celotne klinične slike bolnika, vključno s: simptomi, anamnezo, podatki dodatnih testov in drugimi ustreznimi podatki.

Primere in reference si oglejte v prilogi.

BLAGOVNE ZNAMKE

Beckman Coulter, stiliziran logotip ter znamke izdelkov in storitev podjetja Beckman Coulter, omenjene v tem dokumentu, so blagovne znamke ali registrirane blagovne znamke podjetja Beckman Coulter, Inc. v Združenih državah Amerike in drugih državah.

DRUGI PODATKI

Za bolnike/uporabnike/tretje osebe v Evropski uniji in v državah z enakim regulativnim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskih pripomočkih za in vitro diagnostiko): če med uporabo tega pripomočka ali kot rezultat njegove uporabe pride do resnega incidenta, o tem poročajte proizvajalcu in/ali njegovemu pooblaščenemu predstavniku in svojemu nacionalnemu organu.

Summary of Safety and Performance (Povzetek o varnosti in zmogljivosti) je na voljo v bazi podatkov EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ZGODOVINA REVIZIJ

REVIDIRANA IZDAJA AC:	Datum izdaje: Oktober 2019

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AW	Maj 2022
Posodobitve za skladnost z globalno politiko označevanja Beckman Coulter in v skladu z zahtevami IVD-R (EU) 2017/746:	
Dodana poglavja	Številka BSI 2797, predvideni uporabnik, klinični pomen, koncentracija, točnost, natančnost, meja slepega vzorca in meja zaznavanja, dodatne informacije, zgodovina revizij.
Dodatne informacije	Oglejte si poglavja Omejitve
Izrazne ali tipografske posodobitve	Oglejte si poglavja Postopek, Zmogljivost, Omejitve, Opozorila in previdnostni ukrepi, Shranjevanje in stabilnost.
Odstranjena poglavja	Primer klinične uporabe, reagenti, ponovljivost znotraj laboratorija, linearnost
Posodobljena poglavja	Predvidena uporaba, Klasifikacija nevarnosti po GHS, Dokaz o poslabšanju stanja, Postopek, Priloga.

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AX	April 2023
Posodobljena poglavja	Dodaj kazaščino
Posodobljena poglavja	Shranjevanje in stabilnost

Revidirana različica	AY
Revidiran datum	Maj 2024
Posodobljeni prevodi	**Klinični pomen:**
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Revidirana različica	AZ
Revidiran datum	Julij 2024
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Seznam simbolov

Glosar simbolov je na voljo na beckman.com/techdocs (številka dokumenta B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD5
Klon	BL1a
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Imunoglobulin	IgG2a
Vrste	Miš
Prečišćavanje	Afinitetna hromatografija
Fluorohrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molarni odnos	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisije	670 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Konjugovano antitelo CD5-PC5

REF A07754 100 testovi; 1 ml, 10 µl / test

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu

NAMENA

Ovo fluorohromno-konjugovano antitelo omogućava kvalitativnu i neautomatizovanu identifikaciju ćelijskih populacija koje eksprimiraju CD5 antigen prisutnih u humanim biološkim uzorcima pomoću protočne citometrije (pogledati odeljak „Uzorci“ u nastavku).

PRINCIP

Ovaj test se zasniva na sposobnosti određenih monoklonskih antitela da se vežu za antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično bojenje leukocita se obavlja inkubiranjem uzorka sa reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utiče, analiziraju se protočnom citometrijom.

Protočni citometar meri difuziju svetlosti i fluorescenciju ćelija. On omogućava razgraničenje populacije od interesa u okviru elektronskog prozora definisanog na histogramu, što je u korelaciji sa ortogonalnom difuzijom svetlosti (bočno rasejanje ili SS) i difuzijom uskougaone svetlosti (prednje rasejanje ili FS). Drugi histogrami koji kombinuju dva različita parametra koja postoje na citometru mogu se koristiti kao podrška u fazi regulacije, u zavisnosti od primene koju je korisnik odabrao.

Fluorescencija ograničenih ćelija se analizira kako bi se razlikovali pozitivno obojeni događaji od neobojenih događaja. Rezultati su prikazani kao procenat pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobijene regulacijom.

PREDVIĐENI KORISNIK

Ovaj proizvod je namenjen za upotrebu od strane laboratorijskih stručnjaka.

KLINIČKI ZNAČAJ

CD5-PC5 predstavlja CD5 antitelo korišćeno za identifikovanje i karakterizaciju ćelija koje eksprimiraju CD5 antigen pomoću protočne citometrije. Ovaj proizvod sam po sebi ne može da se koristi i nije namenjen za donošenje bilo kog dijagnostičkog zaključka.

Kada se koristi u kombinaciji sa drugim markerima, ovaj proizvod može da se koristi kod jedne ili više od sledećih funkcija:

- Kao pomoć u diferencijalnoj dijagnozi kod hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu i za nadgledanje pacijenata sa poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć u prognozi za pacijente koji imaju hematopoetsku neoplazmu.

Pogledajte sledeće reference:

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

UZORCI

Uzorci iz venske krvi moraju se uzimati sterilnim epruvetama koje sadrže EDTA so kao antikoagulans.

Uzorke treba čuvati na sobnoj temperaturi (18–25°C) i ne tresti. Uzorke treba pre uzimanja uzorka za testiranje homogenizovati blagim mešanjem.

Uzorci se moraju analizirati u roku od 24 sati od venepunkcije.

KONCENTRACIJA

Pogledajte dokument „Certificate of Analysis“ (Sertifikat analize) za određeni lot na veb-sajtu www.beckman.com.

UPOZORENJE I MERE OPREZA

1. Ne koristite reagense nakon isteka roka trajanja.
2. Ne zamrzavajte.
3. Pre upotrebe sačekajte da se približi sobnoj temperaturi (18–25°C).
4. Izbegavati izloženost svetlosti.
5. Sprečite mikrobsku kontaminaciju reagenasa ili se mogu javiti netačni rezultati.
6. Rastvorima antitela koji sadrže natrijum azid (NaN_3) treba pažljivo rukovati. Ne uzimajte interno i izbegavajte svaki dodir sa kožom, sluzokožom i očima.

Pored toga, u kiseloj sredini, natrijum azid može formirati potencijalno opasnu hidrazoinsku kiselinu. Ako je potrebno da se odloži u otpad, preporučuje se da se reagens razblaži u velikoj zapremini vode pre sipanja u sistem kanalizacije kako bi se izbeglo taloženje natrijum azida u metalnim cevima i sprečila opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno infektivnim i njima se mora pažljivo rukovati (posebno: nošenje zaštitnih rukavica, odeće i zaštitnih naočara).
8. Nikada ne pipetirajte ustima i izbegavajte svaki kontakt uzoraka sa kožom, sluzokožom i očima.
9. Epruvete za uzorak krvi i potrošni materijal koji je korišćen za rukovanje treba odložiti u ad hoc kontejnere predviđene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad treba ukloniti prema lokalnim zahtevima.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno

SDS Dokument „Bezbednosni list“ dostupan je na internet stranici beckmancoulter.com/techdocs

SKLADIŠTENJE I STABILNOST

Ovaj reagens se mora čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C i zaštićen od svetlosti, pre i posle otvaranja bočice.

Ispitivanje roka trajanja zatvorene bočice u odnosu na stabilnost: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dan(a).

DOKAZI POGORŠANJA

Bilo koja promena u fizičkom izgledu reagensa može ukazivati na pogoršanje i reagens ne treba koristiti.

Za dodatne informacije ili ako dobijete oštećen proizvod, pozovite korisnički servis kompanije Beckman Coulter na broj 800-742-2345 (SAD ili Kanada) ili pozovite svog lokalnog predstavnika kompanije Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans sa natrijum azidom može formirati eksplozivna jedinjenja u metalnim odvodnim vodovima. Pogledajte „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (16.8.76.) (Bilten Nacionalnog instituta za bezbednost i zdravlje na radu: Opasnost od eksplozivnih azida).
Da biste sprečili moguće taloženje jedinjenja azida, isperite cevi za otpad vodom nakon odlaganja u otpad nerazblaženog reagensa. Odlaganje u otpad natrijum azida mora biti u skladu sa odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI SE NE ISPORUČUJU UZ KOMPLET:

- Epruvete za uzorkovanje i materijal potreban za uzorkovanje.
- Automatske pipete sa nastavcima za jednokratnu upotrebu za 10 100 µl i 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizu.
- Reagens za liziranje eritrocita sa fazom ispiranja nakon liziranja. Na primer: VersaLyse (referentni broj A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primer: IOTest 3 fiksativni rastvor (referentni broj A07800).
- Izotipska kontrola PC5: IOTest reagens (referentni broj A09148).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijum-fosfat; 0,145 M natrijum-hlorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska mešalica (vrtložnog tipa).
- Protočni citometar.

POSTUPAK SA VERSALYSE REAGENSOM

Za svaki analiziran uzorak je pored epruvete za uzorak moguće dodati i jednu kontrolnu epruvetu u kojoj se ćelije mešaju u prisustvu izotipske kontrole (referentni broj A09148).

1. Dodajte 10 µl specifičnog IOTest konjugovanog antitela u svaku epruvetu za uzorak i, ako je to potrebno, 10 µl kontrole izotipa u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µl uzorka za testiranje u svaku epruvetu za uzorak. Pažljivo izmešajte epruvete u vrtložnoj mešalici.
3. Inkubirajte 15 do 20 minuta na sobnoj temperaturi (18–25°C), zaštićeno od svetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje crvenih ćelija. Pogledajte VersaLyse (referentni broj A09777) letak i poželjno pratite postupak pod nazivom „sa istovremenom fiksacijom“, koji se sastoji od dodavanja 1 ml nezavisno pripremljene smeše za fiksiranje i liziranje („Fix-and-Lyse“). Odmah izmešajte u vrtložnoj mešalici jednu sekundu i inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi, zaštićeno od svetlosti.
5. Centrifugirajte 5 minuta na 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Ponovo suspendujte talog ćelija u 3 ml PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Aspiracijom uklonite supernatant i ponovo suspendujte talog ćelija u:

- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a plus 0,1% formaldehida ako će se preparati čuvati kraće od ovog broja sati: 24. (PBS sa 0,1% formaldehida može se dobiti razblaživanjem 12,5 µl IOTest 3 rastvora za fiksiranje (referentni broj A07800) u 10X koncentraciji u 1 ml PBS-a).
- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a bez formaldehida ako će se preparati analizirati u roku od ovog broja sati – 2.

Napomena: U svim slučajevima preparate čuvajte na temperaturi između 2°C i 8°C i zaštićene od svetlosti.

OČEKIVANE VREDNOSTI

U našim laboratorijama, uzorci pune krvi 25 očigledno zdravih donora tretirani su pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati dobijeni za broj pozitivnih događaja od interesa sa ovim reagensom navedeni su u tabeli u nastavku:

Pozitivan cilj	Broj	Srednja vrednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti	25	71,40	9,45	13,23

Ove vrednosti treba da služe samo kao reprezentativne vrednosti. Svaka laboratorija treba da uspostavi sopstvene očekivane vrednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o delovanju dobijeni su pomoću prethodno opisanog postupka na manje od 24 sata starim uzorcima krvi koji su prethodno prikupljeni sterilnim epruvetama za uzorke sa EDTA solju kao antikoagulansom. Analiza se vrši u roku od 2 sata od imunobojenja.

SPECIFIČNOST

Molekul CD5 eksprimiran je na površini zrelih T limfocita, većinom timocita i subpopulacijom B limfocita (11,12,13). CD5 je eksprimiran u podgrupi B ćelija koje produkuju IgM antitela usled nedostatka enzima terminalne deoksinukleotidil transferaze (TdT), koji izgleda ublažava aktiviranje BSR i stoga smanjuje auto-reaktivnost (autoimuna-reakcija). Nasuprot tome, T ćelije eksprimiraju više nivoe CD5 u odnosu na B ćelije. CD5 je ushodno regulisan na T ćelijama nakon jake aktivacije. U timusu postoji korelacija sa ekspresijom CD5 i jačinom interakcije T ćelija sa sopstvenim peptidima. Ekspresija CD5 nije pronađena u granulocitima, monocitima i trombocitima (13). Monoklonalno antitelo BL1a dodeljeno je CD5 tokom konferencije „3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens" (Treća HLDA konferencija o ljudskim antigenima leukocitne diferencijacije), koja je održana u Oksfordu, u Engleskoj, 1986. godine (Kod WS: 520, Odeljak T) (11,12).

PRECIZNOST

Procenat pozitivnih vrednosti utvrđen je pomoću pune krvi. Svaki uzorak je analiziran 4 puta, dva puta dnevno tokom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagenasa monoklonskog antitela CD5-PC5. Merenja (% pozitivnog) su izvršena na Navios protočnom citometru. Analiza je obavljena na osnovu CLSI metoda EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procena preciznosti učinka kvantitativnih metoda merenja).

Naši kriterijumi prihvatljivosti zavise od broja pozitivnih događaja izmerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivan događaj <1.500, CV <15%
- Ako je pozitivan događaj >1.500, CV <10%

Limfociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrednost) = 2823							
	Između više operatera	Između više citometara	Unutar jednog lota	Između više lotova	Između više analiziranja	Unutar jednog analiziranja	Ukupno
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TAČNOST

Tačnost testa CD5-PC5 procenjena je poređenjem rezultata sa referentnim reagensom kao osnovom na kompletu uzoraka pune krvi analiziranim na Navios protočnom citometru. Odstupanje između testa i referentnog reagensa određeno je na osnovu razlike između rezultata testova. Ako je odstupanje u okviru dozvoljenog opsega greške ili p-vrednost ne ukazuje na značajnu razliku (>0,05), rezultati testova za ova dva reagensa se smatraju ekvivalentnim.

Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivan cilj	Srednja vrednost Δ	Δ % ćelijskih kriterijuma	p-vrednost	REZULTATI
Limfociti	0,90	<5	0,001	PASS

LIMIT SLEPE PROBE I LIMIT DETEKCIJE

Izvršeno je ispitivanje u skladu s protokolom CLSI EP17-A2, „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures" (Procena sposobnosti detekcije za postupke merenja u kliničkoj laboratoriji). Limit detekcije (LoD) je najniža koncentracija analita koja se može dosledno detektovati. Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli:

Positive Target	Limit slepe probe (ćelija/µl)	Limit detekcije (ćelija/µl)
Limfociti	4	6

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti netačne rezultate ako citometar nije pravilno postavljen, ako fluorescentna curenja nisu ispravno kompenzirana ili ako regioni nisu pažljivo postavljeni.
2. Poželjno je koristiti tehniku liziranja RBC sa korakom ispiranja jer ovaj reagens nije optimizovan za tehnike liziranja „bez pranja".
3. Tačni i ponovljivi rezultati će se dobijati sve dok su korišćeni postupci u skladu sa listom sa tehničkim podacima i postupci kompatibilni sa smernicama dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugovano antitelo ovog reagensa je kalibrisano tako da ponudi najbolji odnos specifičnog i nespecifičnog signala. Prema tome, važno je u svakom testu koristiti utvrđeni odnos zapremine reagensa i zapremine uzorka.
5. U slučaju hiperleukocitoze, razredite krv u PBS-u kako biste dobili vrednost od približno 5 x 10^9 leukocita/l (14).
6. U određenim stanjima bolesti, kao što su teška bubrežna insuficijencija ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak nemoguće. U tom slučaju se pre bojenja preporučuje izoliranje mononuklearnih ćelija upotrebom gradijenta gustine (na primer, fikol) (15).
7. Usled tandem strukture fluorohroma, PC5 takođe emituje svetlo na 575 nm. Ova sekundarna vršna vrednost emisije se razlikuje od lota do lota PC5. Prema tome, u slučaju analize sa više boja, matriks kompenzacije treba pažljivo proveriti pri promeni lota PC5 konjugata.

8. Kod pacijenata lečenih terapijama antihumanim monoklonskim antitelima, detekcija specifičnih ciljanih antigena može biti umanjena ili odsutna usled delimične ili potpune blokade od strane terapijskog antitela.
9. Rezultate CD5-PC5 testa treba tumačiti u svetlu celokupne kliničke slike pacijenta, uključujući: simptome, kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i druge prikladne informacije.

Za primere i referentne materijale pogledati Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizovani logotip i Beckman Coulter robni i servisni žigovi koji se navode u ovom dokumentu jesu žigovi ili registrovani žigovi kompanije Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim zemljama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta/korisnika/treću stranu u Evropskoj uniji i zemljama sa identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o in vitro dijagnostičkim medicinskim sredstvima); ako je tokom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe došlo do ozbiljnog incidenta, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlašćenom predstavniku i svom nacionalnom organu.

Dokument Summary of Safety and Performance (Sažetak informacija o bezbednosti i učinku) dostupan je u EUDAMED bazi podataka: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORIJA REVIZIJA

REVIZIJA AC:	Datum izdavanja: Oktobar, 2019.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AW	Maj 2022.
Ažurirano radi usklađenosti sa smernicama za globalno obeležavanje kompanije Beckman Coulter u skladu sa zahtevima IVD-R (EU)2017/746:	
Dodati odeljci	BSI 2797 broj, Predviđeni korisnik, Klinički značaj, Koncentracija, Preciznost, Tačnost, Limit slepe probe i limit detekcije, Dodatne informacije, Istorija revizija.
Dodate informacije	Pogledati odeljke Ograničenja
Ažuriranje formulacija ili tipografije	Pogledati odeljke Postupak, Učinak, Ograničenja, Upozorenja i mere opreza, Čuvanje i stabilnost.
Uklonjeni odeljci	Primeri kliničkih primena, Reagensi, Intralaboratorijska reproducibilnost, Linearnost
Dopunjeni odeljci	Namena, GHS klasifikacija opasnosti, Dokaz propadanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AX	April 2023
Dopunjeni odeljci	Dodajte kazaški
Dopunjeni odeljci	Skladištenje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Maj 2024
Ažurirani prevodi	**Klinički značaj:**
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Jul 2024
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Ključ za simbole

Rečnik simbola je dostupan na adresi beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Specifikācijas
Specifika	CD5
Klons	BL1a
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunogēns	Lymphocytes from human thoracic duct
Imūnglobulīns	IgG2a
Suga	Pele
Attīrīšana	Afinitātes hromatogrāfija
Fluorohroms	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molārā attiecība	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
λ ierosme	488 nm
Izstarojuma lielākā vērtība	670 nm
Buferšķīdums	PBS pH 7,2 ar 2 mg/ml BSA un 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugētā antiviela
CD5-PC5

REF A07754 100 testi; 1 ml, 10 µl/testā

***In vitro* diagnostikas lietošanai**

PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

Ar fluorohromu konjugētā antiviela nodrošina tādu šūnu populāciju kvalitatīvo un neautomatizēto noteikšanu, kam ir CD5 antigēna ekspresija un kas ir cilvēka bioloģiskajos paraugos, izmantojot plūsmas citometriju (skatīt tālāk sadaļu „Paraugi").

PRINCIPS

Šī testa pamatā ir specifisku monoklonālu antivielu spēja saistīties ar leikocītu izdalītām antigēnu determinantēm.

Leikocītu specifiskā iekrāsošana tiek veikta, inkubējot paraugu ar IOTest reaģentu. Pēc tam eritrocīti tiek atdalīti lizēšanas procesā, un leikocīti, ko šis process neietekmē, tiek analizēti, izmantojot plūsmas citometriju.

Plūsmas citometrs mēra gaismas difūziju un šūnu fluorescenci. Tādēļ ir iespējama interesējošās populācijas ierobežošana elektroniskajā logā, kas definēts histogrammā, kas korelē ar gaismas ortogonālo difūziju (sānu izkliede jeb SS) un šaurleņķa gaismas difūziju (priekšējā izkliede jeb FS). Kā papildu metodes sinhronizācijas procesā iespējams izmantot citas histogrammas, kurās iespējams kombinēt divus dažādus citometrā pieejamos parametrus atkarībā no lietotāja izvēlētā izmantojuma.

Tiek analizēta atdalīto šūnu fluorescence, lai atšķirtu pozitīvi iekrāsotos notikumus no neiekrāsotajiem. Rezultāti tiek izteikti kā procentuālais lielums no pozitīviem notikumiem attiecībā pret visiem notikumiem, kas iegūti selekcijā.

PAREDZĒTAIS LIETOTĀJS

Šis produkts ir paredzēts profesionālai lietošanai laboratorijā.

KLĪNISKAIS NOZĪMĪGUMS

CD5-PC5 ir CD5 antiviela, ko izmanto, lai ar plūsmas citometriju noteiktu un raksturotu šūnas, kas ekspresē CD5 antigēnu. Ar vienu pašu šo izstrādājumu nevar iegūt nekādu diagnostisku secinājumu, un tas nav tam paredzēts.

Izmantojot kopā ar citiem marķieriem, šo izstrādājumu var lietot vienai vai vairākām tālāk norādītajām funkcijām.

- Lai palīdzētu veikt diferenciāldiagnostiku pacientiem ar hematoloģiskām patoloģijām, kuriem, iespējams, ir asinsrades neoplazma, un lai kontrolētu pacientus ar zināmu asinsrades neoplazmu.
- Lai palīdzētu noteikt prognozi pacientiem ar asinsrades neoplazmu.

Skatiet tālāk sniegtās atsauces.

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

PARAUGI

Venozās asinis jāņem, izmantojot sterilas mēģenes, kurās kā antikoagulants ir izmantots EDTA sāls.

Paraugi ir jāuzglabā istabas temperatūrā (18–25 °C), un tos nedrīkst sakratīt. Pirms testa parauga ņemšanas ir jāveic paraugu homogenizācija, viegli saskalojot paraugus.

Paraugu analīze ir jāveic 24 stundu laikā pēc vēnas punkcijas.

KONCENTRĀCIJA

Konkrētai partijai atbilstošo analīzes sertifikātu skatiet vietnē www.beckman.com.

BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

1. Neizmantojiet reaģentu pēc derīguma termiņa beigām.
2. Nedrīkst sasaldēt.
3. Pirms izmantošanas ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai (18–25 °C).
4. Minimizējiet ekspozīciju gaismas iedarbībai.
5. Izvairieties no reaģentu bakteriālas kontaminācijas, jo iespējami viltus rezultāti.
6. Strādājot ar antivielu šķīdumiem, kuru sastāvā ir nātrija azīds (NaN_3), jāievēro piesardzība. Neizmantojiet iekšķīgi un nepieļaujiet saskari ar ādu, gļotādu un acīm.

   Turklāt skābā vidē nātrija azīds var radīt potenciāli bīstamo hidrazoīdskābi. Ja to nepieciešams izmest, reaģentu ieteicams šķīdināt lielā daudzumā ūdens un izliet to kanalizācijas sistēmā, lai novērstu nātrija azīda uzkrāšanos metāla caurulēs un novērstu sprādziena risku.

7. Visi asins paraugi ir jāuzskata par potenciāli infekcioziem, un ar tiem jārīkojas, ievērojot piesardzību (respektīvi, jāvalkā aizsargcimdi, aizsargtērpi un brilles).
8. Nekādā gadījumā neizmantojiet muti, lai darbotos ar pipeti. Paraugi nekādā gadījumā nedrīkst saskarties ar ādu, gļotādu un acīm.
9. Darbā izmantotās asiņu mēģenes un vienreizlietojamie materiāli ir jāizmet ad hoc konteineros, kas paredzēti sadedzināšanai.
10. Ir jāveic reaģentu un atkritumu utilizācija atbilstoši vietējām prasībām.

ĶĪMISKO VIELU KLASIFICĒŠANAS UN MARĶĒŠANAS VISPĀRĒJI SASKAŅOTĀS SISTĒMAS BĪSTAMĪBAS KLASIFIKĀCIJA

Nav klasificēts kā bīstams

SDS Drošības datu lapa ir pieejama vietnē beckmancoulter.com/techdocs

GLABĀŠANA UN STABILITĀTE

Reaģents ir jāuzglabā 2–8 °C temperatūrā un jāsargā no gaismas pirms un pēc flakona atvēršanas.

Aizvērta flakona glabāšanas laiks saskaņā ar stabilitātes pētījumu: 1095 dienas.

Atvērta flakona stabilitāte: reaģents ir stabils 180 dienas.

SADALĪŠANĀS PAZĪMES

Jebkuras reaģentu pazīmju izmaiņas var norādīt, ka reaģents sadalās un to nedrīkst izmantot.

Lai iegūtu papildu informāciju vai arī ja saņemtais izstrādājums ir bojāts, zvaniet Beckman Coulter klientu servisam pa tālruni 800-742-2345 (ASV vai Kanāda) vai sazinieties ar vietējo Beckman Coulter pārstāvi.

SATURS

Nātrija azīda konservants var izveidot sprādzienbīstamus savienojumus metāla notekcaurulēs. Skatīt NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (NIOSH biļetens: Azīdu sprādzienbīstamība) (16.8.76.).
Lai nepieļautu iespējamo azīda savienojumu uzkrāšanos, pēc neatšķaidītā reaģenta izmešanas izskalojiet kanalizācijas caurules ar ūdeni. Nātrija azīda izmešana ir jāveic saskaņā ar atbilstošajiem vietējiem noteikumiem.

NEPIECIEŠAMIE MATERIĀLI, KAS NEIETILPST KOMPLEKTĀ

- Paraugu ņemšanai nepieciešamās mēģenes un materiāli.
- Automātiskās pipetes ar vienreizlietojamiem uzgaļiem, kas paredzētas 10, 100 un 500 µl.
- Plastmasas hemolīzes mēģenes.
- Eritrocītu lizēšanas reaģents ar mazgāšanas fāzi pēc lizēšanas. Piemērs: VersaLyse (ats. A09777).
- Leikocītu fiksācijas reaģents. Piemērs: IOTest 3 fiksatīvais šķīdums (ats. A07800).
- Izotipa kontrole PC5: IOTest reaģents (ats. A09148).
- Buferšķīdums (PBS: 0,01 M nātrija fosfāta; 0,145 M nātrija hlorīda; pH 7,2).
- Centrifugējiet.
- Automātisks maisītājs (samaisīšanas tipa).
- Plūsmas citometrs.

PROCEDŪRA AR REAĢENTU VERSALYSE

Katram analizētajam paraugam papildus testa mēģenei var izmantot vienu kontroles mēģeni, kurā šūnas tiek sajauktas izotipu kontroles klātbūtnē (ats. A09148).

1. Katrai testa mēģenei pievienojiet 10 µl specifiskas IOTest konjugētas antivielas un, ja nepieciešams, katrai kontroles mēģenei pievienojiet 10 µl izotipa kontroles.
2. Pievienojiet 100 µl testa parauga katrai mēģenei. Saudzīgi samaisiet mēģenes.
3. Inkubējiet 15–20 minūtes istabas temperatūrā (18–25 °C), sargājot no gaismas.
4. Pēc tam veiciet eritrocītu lizēšanu. Skatiet VersaLyse (ats. A09777) lietošanas instrukciju, un ir vēlams izmantot procedūru ar nosaukumu „ar vienlaicīgu fiksāciju", kas tiek veikta, pievienojot 1 ml ekstemporāli izgatavota „Fix-and-Lyse" maisījuma. Nekavējoties samaisiet uz vienu sekundi un inkubējiet mēģeni 10 minūtes istabas temperatūrā, sargājot to no gaismas iedarbības.
5. Centrifugējiet 5 minūtes istabas temperatūrā, izmantojot 150 x g.
6. Aspirējot noņemiet virsējo slāni.
7. Atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu ar 3 ml PBS.
8. Atkārtojiet 5. darbību.
9. Aspirējot noņemiet virsējo slāni un atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu, izmantojot:

- 0,5 ml vai 1 ml PBS ar 0,1 % formaldehīda, ja preparātus ir paredzēts uzglabāt mazāk nekā 24 stundas. (0,1 % formaldehīda PBS var iegūt, atšķaidot 12,5 µl IOTest 3 fiksācijas šķīduma (ats. A07800) 10X koncentrācijā ar 1 ml PBS).
- 0,5 ml vai 1 ml PBS bez formaldehīda, ja ir paredzēts analizēt sagataves 2 stundu laikā.

Piezīme. Sagatavotos maisījums vienmēr uzglabājiet 2–8 °C temperatūrā un sargājiet no gaismas.

PAREDZAMĀS VĒRTĪBAS

Mūsu laboratorijās tika apstrādāti 25 acīmredzami veselu donoru pilnasins paraugi, izmantojot iepriekš aprakstīto reaģentu. Ar šo reaģentu iegūtie interesējošo pozitīvo notikumu rezultāti skaitliskā veidā ir sniegti tālāk tabulā.

Pozitīvais mērķis	Numurs	Aritmētiskais vidējais (%)	SN	Variācijas koeficients (%)
Limfocīti	25	71,40	9,45	13,23

Šīm vērtībām ir tikai raksturojošs nolūks. Katrai laboratorijai jānosaka savas paredzamās vērtības, kas iegūtas no veseliem vietējās populācijas donoriem.

VEIKTSPĒJA

Veiktspējas dati tiek iegūti, izmantojot iepriekš aprakstīto procedūru mazāk nekā 24 stundu veciem asins paraugiem, kas iepriekš paņemti sterilās mēģenēs ar EDTA sāli kā antikoagulantu. Analīze tiek veikta 2 stundu laikā pēc imūnkrāsošanas metodes izmantošanas.

SPECIFIKA

CD5 molekula izdalās uz nobriedušu T limfocītu virsmas, kā arī to izdala vairākums timocītu un B limfocītu apakšpopulācija (11,12,13). CD5 tiek izdalīts IgM apakškopā, kur notiek B šūnu sekrēcija, jo nav enzīmu terminālās deoksinukleotidilās transferāzes (TdT), kas atvieglo BSR aktivizāciju un līdz ar to samazina autoreakciju (autoimūno reakciju). Savukārt T šūnas izdala augstāku CD5 līmeni nekā B šūnas. Spēcīgas aktivizācijas gadījumā CD5 daudzums T šūnās tiek palielināts. Aizkrūts dziedzerī pastāv korelācija starp CD5 izdalīšanos un T šūnu mijiedarbības spēcīgumu attiecībā uz pašpeptīdiem. CD5 izdalīšanās nav novērota granulocītos, monocītos un trombocītos (13). Monoklonālā antiviela BL1a tika piešķirta CD5 pasākumā 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3. HLDA darbnīca saistībā ar cilvēku leikocītu diferencēšanas antivielām), kas notika Oksfordā, Anglijā,1986. gadā (WS kods 520, sekcija T) (11,12).

PRECIZITĀTE

Procentuāli pozitīvās vērtības tika noteiktas, izmantojot pilnasinis. Katru paraugu analizēja 4 reizes: divreiz dienā 1 dienu 2 instrumentos, izmantojot 2 partijas CD5-PC5 monoklonālu antivielu reaģentu. Mērījumus (% pozitīvs) veica Navios plūsmas citometrā. Analīzi veica, pamatojoties uz CLSI metodi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatīvo mērīšanas metožu precizitātes veiktspējas novērtēšana).

Mūsu pieņemšanas kritēriji ir atkarīgi no katrai populācijai noteikto pozitīvo notikumu skaita.

- Ja pozitīvs notikums < 1500, variācijas koeficients < 15 %
- Ja pozitīvs notikums > 1500, variācijas koeficients < 10 %

Limfocīti							
Pozitīvo notikumu skaits (aritmētiskais vidējais) = 2823							
	Starp operatoriem	Starp citometriem	Partijā	Starp partijām	Starp analīzēm	Analīzē	Kopā
Variācijas koeficients (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
REZULTĀTI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRECIZITĀTE

CD5-PC5 precizitāti novērtēja, pilnasins paraugu kopas, kas analizēti Navios plūsmas citometrā, rezultātus salīdzinot ar atsauces reaģentu kā predikātu. Novirzi starp testa un atsauces reaģentu noteica, pamatojoties uz testu rezultātu atšķirību. Ja novirze atbilst pieļaujamajam kļūdas diapazonam vai p vērtība neliecina par nozīmīgu atšķirību (> 0,05), tad abu reaģentu testu rezultāti uzskatāmi par līdzvērtīgiem.

Iegūtie rezultāti ir apkopoti nākamajā tabulā.

Donoru skaits = 25				
Pozitīvais mērķis	Aritmētiskais vidējais Δ	Δ % šūnu kritēriji	p vērtība	REZULTĀTI
Limfocīti	0,90	<5	0,001	PASS

TUKŠO PARAUGU ROBEŽVĒRTĪBA UN NOTEIKŠANAS ROBEŽVERTĪBA

Pētījums tika veikts saskaņā ar CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klīniskās laboratorijas mērījumu procedūru noteikšanas spēju izvērtējums). Noteikšanas robežvērtība (NR) ir zemākā analīta koncentrācija, ko iespējams konsekventi noteikt. Iegūtie rezultāti ir apkopoti tālāk tabulā.

Positive Target	Tukšo paraugu robežvērtība (šūnas/µl)	Noteikšanas robežvērtība (šūnas/µl)
Limfocīti	4	6

IEROBEŽOJUMI

1. Ja citometrs nav novietots precīzi līdzeni, ja nav pareizi kompensētas fluorescences noplūdes un ja reģioni nav uzmanīgi novietoti, plūsmas citometrija var radīt viltus rezultātus.
2. Ir ieteicams izmantot RBC lizēšanas paņēmienu ar mazgāšanas darbību, jo šis reaģents nav optimizēts izmantošanai lizēšanas paņēmienā „bez mazgāšanas".
3. Iegūtie rezultāti ir precīzi un reproducējami, ja visas izmantotās procedūras tiek izpildītas atbilstoši tehniskajai lietošanas instrukcijai un ir saskaņā ar labu laboratorijas praksi.
4. Šī reaģenta konjugētā antiviela ir kalibrēta tā, lai nodrošinātu labāko specifiska signāla/nespecifiska signāla attiecību. Tāpēc ir ļoti svarīgi ievērot reaģenta tilpuma/parauga tilpuma attiecību katrā testā.
5. Hiperleikocitozes gadījumā atšķaidiet asinis ar PBS, lai iegūtā vērtība būtu apmēram 5 x 10^9 leikocīti/l (14).
6. Dažos slimību stāvokļos, piemēram, izteiktas nieru mazspējas vai hemoglobinopātijas gadījumā, eritrocītu lizēšana var būt lēna, nepilnīga vai pat neiespējama. Šajā gadījumā pirms iekrāsošanas ir ieteicams izolēt mononukleārās šūnas, izmantojot blīvuma gradientu (piemēram, Ficoll) (15).
7. Fluorohroma tandēma struktūras dēļ PC5 arī izstaro gaismu ar viļņa garumu 575 nm. Šī sekundārā izstarojuma maksimālā vērtība atšķiras dažādām PC5 partijām. Tāpēc, ja maina -PC5 konjugāta partiju, lai veiktu daudzkrāsu analīzi, ir rūpīgi jāpārbauda kompensēšanas matrice.
8. Pacientiem, ko ārstē ar anti-cilvēka monoklonālas antivielas līdzekļiem, specifisku mērķa antigēnu noteikšana var būt pasliktināta vai tās var nebūt, jo to daļēji vai pilnībā bloķē terapeitiskā antiviela.
9. CD5-PC5 rezultāti jāinterpretē, ņemot vērā pacienta kopējo klīnisko prezentāciju, tajā skaitā simptomus, slimības vēsturi, papildu testu rādītājus un citu atbilstošu informāciju.

Pielikumā skatiet piemērus un atsauces.

PREČU ZĪMES

Beckman Coulter, stilizētais logotips un Beckman Coulter preču un pakalpojumu zīmes, kas minētas šeit, ir Beckman Coulter, Inc. preču zīmes vai reģistrētas preču zīmes Amerikas Savienotajās Valstīs un citās valstīs.

PAPILDINFORMĀCIJA

Attiecībā uz pacientiem/lietotājiem/trešajām personām Eiropas Savienībā vai valstīs ar identisku regulatīvo režīmu (Regula (ES) 2017/746 par in vitro diagnostikas medicīniskām ierīcēm); ja ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā rodas nopietns negadījums, informējiet par to ražotāju un/vai tā pilnvaroto pārstāvi, kā arī valsts iestādi.

Summary of Safety and Performance (Drošuma un veiktspējas kopsavilkums) ir pieejams EUDAMED datubāzē: ec.europa.eu/tools/eudamed.

PĀRSKATĪŠANAS VĒSTURE

AC VERSIJA:	Laidiena datums: 2019. gada oktobris

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AW	2022. gada maijs
Atjauninājumi atbilst Beckman Coulter vispārējai marķēšanas politikai un IVD-R (ES)2017/746 prasībām:	
Pievienotas iedaļas	BSI 2797 numurs, Paredzētais lietotājs, Klīniskais nozīmīgums, Koncentrācija, Precizitāte, Precizitāte, Tukšo paraugu robežvērtība un noteikšanas robežvērtība, Papildinformācija, Pārskatīšanas vēsture.
Pievienota informācija	Skatīt iedaļas Ierobežojumi.
Formulējuma vai tipogrāfiski atjauninājumi	Skatīt iedaļas Procedūra, Veiktspēja, Ierobežojumi, Brīdinājumi un piesardzības pasākumi, Glabāšana un Stabilitāte.
Izņemtās iedaļas	Klīniskā lietojuma piemērs, reaģenti, reproducējamība laboratorijā, linearitāte.
Atjauninātās sadaļas	Paredzētā lietošana, Ķīmisko vielu klasificēšanas un marķēšanas vispārēji saskaņotās sistēmas bīstamības klasifikācija, Sadalīšanās pazīmes, Procedūra, Pielikums.

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AX	Aprīlis 2023
Atjauninātās sadaļas	Pievienot kazahu valodu
Atjauninātās sadaļas	Glabāšana un stabilitāte

Pārskatītā versija	AY
Pārskatītā izdevuma datums	Maijs 2024
Atjauninātie tulkojumi	**Klīniskais nozīmīgums:**
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Pārskatītā versija	AZ
Pārskatītā izdevuma datums	Jūlijs 2024
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Simbolu skaidrojumi

Simbolu glosārijs ir pieejams vietnē beckman.com/techdocs (dokumenta numurs B60062)

	Специфікації
Специфічність	CD5
Клон	BL1a
Гібридома	SP2/0 x balb/c
Імуноген	Lymphocytes from human thoracic duct
Імуноглобулін	IgG2a
Вид	Миша
Очищення	Афінна хроматографія
Флуорохром	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Молярне співвідношення	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
λ-збудження	488 нм
Пік випромінювання	670 нм
Буфер	Розчин ФСБ pH 7,2 плюс бичачий сироватковий альбумін (БСА) 2 мг/мл та 0,1% NaN_3

Кон'юговане антитіло IOTest CD5-PC5

REF A07754 100 тестів; 1 мл, 10 мкл/тест

Для діагностики *in vitro*.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Ці антитіла, кон'юговані з флуорохромом, забезпечують якісну та неавтоматизовану ідентифікацію популяцій клітин, що експресують антиген CD5, присутніх у біологічних пробах людини, за допомогою проточної цитометрії (див. розділ «Проби» нижче).

ПРИНЦИП

Цей тест базується на здатності специфічних моноклональних антитіл зв'язуватися з антигенними детермінантами, які експресуються лейкоцитами.

Специфічне забарвлення лейкоцитів здійснюється через інкубацію проби з реагентом IOTest. Еритроцити далі видаляють за допомогою лізису, а лейкоцити, на які не впливає цей процес, досліджують методом проточної цитометрії.

Проточний цитометр вимірює розсіювання світла та флуоресценцію клітин. Це робить можливим розмежування досліджуваної популяції всередині електронного вікна, що визначається на гістограмі, яка співвідносить ортогональне розсіювання світла (бічне розсіювання або Side Scatter — SS) і вузькокутове розсіювання світла (пряме розсіювання або Forward Scatter — FS). Інші гістограми, що поєднують два різні параметри, доступні на цитометрі, можна використовувати для допомоги на етапі гейтингу залежно від програми, вибраної користувачем.

Флуоресценція обмеженої популяції клітин аналізується, щоб розрізнити події з позитивно забарвленими клітинами й незабарвленими. Результати виражаються як відсоток позитивних подій відносно всіх подій, зареєстрованих за допомогою гейтингу.

ПЕРЕДБАЧУВАНИЙ КОРИСТУВАЧ

Цей продукт призначений для професійного використання в лабораторії.

КЛІНІЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ

CD5-PC5 — це антитіло CD5, яке використовується для ідентифікації та характеристики клітин, що експресують антиген CD5, методом проточної цитометрії. Цей виріб за ізольованого використання не може застосовуватись для генерації жодних діагностичних висновків, він не призначений для цього.

Під час використання разом з іншими маркерами цей продукт можна використовувати в одному або декількох з нижченаведених застосувань.

- Як допоміжний засіб під час проведення диференціальної діагностики в пацієнтів з відхиленнями в результатах гематологічних досліджень із підозрою на наявність гематопоетичного новоутворення, а також для моніторингу пацієнтів з відомим гематопоетичним новоутворенням.
- У якості допоміжного засобу при прогнозуванні подальшого перебігу хвороби у пацієнтів з гематопоетичним новоутворенням.

Див. такі посилання:

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

ПРОБИ

Венозну кров потрібно брати в стерильні пробірки, що містять ангикоагулянт — сіль ЕДТА.

Проби слід зберігати за кімнатної температури (18–25°C), і їх не слід струшувати. Перш ніж узяти пробу для тестування, проби потрібно гомогенізувати за допомогою обережного перемішування.

Проби потрібно проаналізувати не пізніше ніж через 24 години після венепункції.

КОНЦЕНТРАЦІЯ

Див. сертифікат аналізу для серії на вебсайті www.beckman.com.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.
2. Не заморожуйте.
3. Доведіть до кімнатної температури (18–25°C) перед використанням.
4. Зведіть до мінімуму вплив світла.
5. Уникайте мікробної контамінації реагентів, інакше можуть бути отримані помилкові результати.
6. Розчини антитіл, які містять азид натрію (NaN_3), треба обробляти обережно. Не приймайте внутрішньо й уникайте будь-якого контакту зі шкірою, слизовими оболонками та очима.

Крім того, у кислому середовищі азид натрію може утворити потенційно небезпечну азотистоводневу кислоту. Якщо його потрібно утилізувати, рекомендується розвести реагент у великій кількості води перед зливанням у водостічну систему, щоб уникнути накопичення азиду натрію на поверхні металевих труб і запобігти небезпеці вибуху.

7. Усі проби крові слід розглядати як потенційно інфекційні та поводитися з ними обережно (зокрема, використовуючи захисні рукавички, халати й окуляри).
8. У жодному разі не піпетуйте ротом та уникайте потрапляння проб на шкіру, слизові оболонки та в очі.
9. Пробірки для крові та одноразові матеріали, які використовуються для оброблення, слід викидати в спеціальні контейнери, вміст яких призначений для спалювання.
10. Реагенти та відходи потрібно утилізувати відповідно до місцевих вимог.

КЛАСИФІКАЦІЯ НЕБЕЗПЕКИ ЗА СИСТЕМОЮ GHS

Не класифікуються як небезпечні

SDS Паспорт безпеки доступний на сторінці beckmancoulter.com/techdocs

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Цей реагент потрібно зберігати за температури від 2 до 8°C у захищеному від світла місці, як до, так і після відкриття флакона.

Термін придатності вмісту закритого флакону відповідно до дослідження стабільності: 1095 день.

Стабільність після відкриття флакона: реагент стабільний 180 діб.

ОЗНАКИ ПСУВАННЯ

Будь-яка зміна зовнішнього вигляду реагентів може вказувати на псування, і реагент не слід використовувати.

Щоб отримати додаткову інформацію або повідомити про отримання пошкодженого продукту, зателефонуйте до Служби обслуговування клієнтів Beckman Coulter за номером 800-742-2345 (США або Канада) чи зверніться до місцевого представника компанії Beckman Coulter.

ЗМІСТ

Консервант азид натрію може утворювати вибухонебезпечні сполуки в металевих зливних трубопроводах. Див. Бюлетень Національного інституту з охорони праці та промислової гігієни (NIOSH) Explosive Azide Hazard (Вибухонебезпечні азиди) (16.8.76).
Щоб уникнути можливого утворення сполук азиду, промийте зливні труби водою відразу після утилізації нерозведеного реагенту. Реагенти, що містять азид натрію, треба утилізувати з дотриманням відповідних місцевих норм.

ПОТРІБНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ У КОМПЛЕКТ

- Пробірки для проб і матеріали, потрібні для забору проб.
- Автоматичні піпетки з одноразовими наконечниками на 10, 100 і 500 мкл.
- Пластикові пробірки для гемолізу.
- Реагент для лізису еритроцитів з етапом промивання після лізису. Наприклад: VersaLyse (Ref. A09777).
- Реагент для фіксації лейкоцитів. Наприклад: розчин для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ізотипічний контроль PC5: реагент IOTest (Ref. A09148).
- Буфер (ФСБ: 0,01 моль фосфату натрію; 0,145 моль хлориду натрію; pH 7,2).
- Центрифугування.
- Автоматичний змішувач (типу вортекс).
- Проточний цитометр.

ПРОЦЕДУРА З РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для кожної аналізованої проби на додачу до тест-пробірки може бути використана одна контрольна пробірка, у якій клітини змішано в присутності ізотипічного контролю (Ref. A09148).

1. Додайте до кожної тестової пробірки 10 мкл специфічних кон'югованих антитіл IOTest, і, якщо потрібно, 10 мкл ізотипічного контролю до кожної контрольної пробірки.
2. Додайте 100 мкл проби для тестування в кожну пробірку. Обережно змішайте вміст пробірок вихровим способом.
3. Витримайте протягом 15–20 хвилин за кімнатної температури (18–25°C) у захищеному від світла місці.
4. Потім виконують лізис еритроцитів. Перегляньте вкладний листок VersaLyse (Ref. A09777) і за можливості дотримуйтеся процедури з одночасною фіксацією, яка полягає в додаванні 1 мл суміші Fix-and-Lyse, приготованої безпосередньо перед використанням. Відразу змішайте вихровим способом упродовж однієї секунди й витримайте протягом 10 хвилин за кімнатної температури в захищеному від світла місці.
5. Центрифугуйте за кімнатної температури протягом 5 хвилин зі швидкістю 150 g.
6. Видаліть надосадову рідину аспіратором.
7. Ресуспендуйте осад клітин у 3 мл ФСБ.
8. Повторіть крок 5.
9. Видаліть надосадову рідину аспіратором і ресуспендуйте осад клітин, використовуючи наведене далі.

- 0,5 мл або 1 мл ФСБ плюс 0,1% формальдегіду, якщо препарати передбачається зберігати менше ніж 24 годин. (Розчин ФСБ, що містить 0,1% формальдегіду, можна отримати за допомогою розведення 12,5 мкл розчину для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800) за його 10-кратної концентрації в 1 мл ФСБ).
- 0,5 мл або 1 мл ФСБ без формальдегіду, якщо препарати будуть аналізувати впродовж наступних 2 годин.

Примітка. У всіх випадках препарати слід зберігати в захищеному від світла місці за температури 2–8°C.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

У наших лабораторіях проби цільної крові 25 практично здорових донорів обробляли з використанням реагенту, описаного вище. Отримані результати підрахунку позитивних подій, які досліджуються, з використанням цього реагенту наведено в таблиці нижче:

Цільова позитивна популяція	Число	Середнє значення (%)	СВ	КВ (%)
Лімфоцити	25	71,40	9,45	13,23

Ці значення призначені лише для репрезентативних цілей. Кожна лабораторія має встановити власний діапазон очікуваних значень серед місцевої популяції здорових донорів.

ЕФЕКТИВНІСТЬ

Робочі показники ефективності отримуються з використанням процедури, описаної вище, на пробах крові, які були відібрані в стерильні пробірки із сіллю ЕДТА як антикоагулянтом, а також зберігалися менше ніж 24 години. Аналіз проводиться впродовж 2 годин після імунного фарбування.

СПЕЦИФІЧНІСТЬ

Молекула CD5 експресується на поверхні зрілих Т-лімфоцитів, більшості тимоцитів і на субпопуляції В-лімфоцитів (11,12,13). CD5 експресується на субпопуляції IgM-секретуючих В-клітин через відсутність ферменту термінальної дезоксинуклеотиділтрансферази (TdT), що виникає для зменшення активації BSR і, отже, зменшення автоматичної реактивності (автоімунної реакції). Навпаки, Т-клітини експресують більш високі рівні CD5, ніж В-клітини. CD5 активується на Т-клітинах при сильній активації. У тимусі існує кореляція між експресією CD5 і силою взаємодії Т-клітин з автопептидами. Експресія CD5 не знайдена в гранулоцитах, моноцитах і тромбоцитах (13). Моноклональне антитіло BL1a було віднесене до CD5 під час третього HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Семінару HLDA з питань антигенів для диференціації лейкоцитів людини), що проходив в Оксфорді, Англія, в 1986 році (Code WS: 520, Section T) (11,12).

ПРЕЦИЗІЙНІСТЬ

Процент позитивних значень визначали за допомогою цільної крові. Кожну пробу обробляли 4 рази, двічі на добу впродовж 1 доби на 2 приладах, використовуючи 2 серії реагентів моноклональних антитіл CD5-PC5. Вимірювання (% позитивних значень) виконували на проточному цитометрі Navios. Аналіз проводили на основі методу CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оцінювання прецизійності кількісних методів вимірювання).

Наші критерії прийнятності залежать від кількості позитивних подій, виміряних для кожної популяції.

- Якщо кількість позитивних подій < 1500, КВ < 15%
- Якщо кількість позитивних подій > 1500, КВ < 10%

Лімфоцити							
Кількість позитивних подій (середнє значення) = 2823							
	Між операторами	Між цитометрами	У межах однієї серії	Між серіями	Між серіями вимірювань	У межах однієї серії вимірювань	Усього
КВ (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
РЕЗУЛЬТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНІСТЬ

Точність CD5-PC5 оцінювали через порівняння результатів з еталонним реагентом як контролем якості для набору проб цільної крові на проточному цитометрі Navios. Систематичну помилку між тестовим та еталонним реагентами визначали на основі різниці між результатами тесту. Якщо систематична помилка знаходиться в межах діапазону допустимої похибки або p-значення вказує на відсутність значущої різниці (> 0,05), тоді результати тесту для двох реагентів вважаються еквівалентними.

Отримані результати підсумовано в таблиці, наведеній нижче.

Кількість донорів = 25				
Цільова позитивна популяція	Середня Δ	Критерії Δ % клітин	p-значення	РЕЗУЛЬТАТИ
Лімфоцити	0,90	<5	0,001	PASS

МЕЖА ХОЛОСТОЇ ПРОБИ Й МЕЖА ВИЯВЛЕННЯ

Дослідження проводилося відповідно до рекомендацій CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оцінювання можливості виявлення для методик клінічних лабораторних вимірювань). Межа виявлення (LOD) — це найнижча концентрація аналіту, яку стабільно можна виявити. Отримані результати підсумовано в наведеній нижче таблиці.

Positive Target	Межа холостої проби (клітин/мкл)	Межа виявлення (клітин/мкл)
Лімфоцити	4	6

ОБМЕЖЕННЯ

1. Результати проточної цитометрії можуть бути помилковими, якщо вказане нижче не було виконано належним чином: вирівняно цитометр, скомпенсовано витік флуоресценції, здійснено позиціонування ділянок.
2. Бажано використовувати метод лізису еритроцитів з етапом промивання, оскільки цей реагент не оптимізовано для методів лізису «без промивання».
3. Буде отримано точні й відтворювані результати, якщо процедури застосовуються відповідно до технічної інструкції, що додається, і стандартів належної лабораторної практики.

4. Кон'юговані антитіла цього реагенту відкалібровано таким чином, щоб забезпечити краще співвідношення специфічного сигналу та неспецифічного сигналу. Тому важливо дотримуватися співвідношення об'єму реагенту та об'єму проби в кожному тесті.
5. У разі гіперлейкоцитозу кров слід розводити у ФСБ так, щоб отримати концентрацію приблизно 5×10^9 лейкоцитів/л (14).
6. У разі деяких захворювань або станів, як-от тяжка ниркова недостатність або гемоглобінопатії, лізис еритроцитів може бути повільним, неповним або навіть неможливим. У цьому разі рекомендується виділяти мононуклеарні клітини за градієнтом щільності (наприклад, з використанням фіколу) перед фарбуванням (15).
7. Завдяки тандемній структурі флуорохрому PC5 також випромінює світло з довжиною хвилі 575 нм. Цей вторинний пік випромінювання різниться залежно від серії PC5. Тому для багатоколірного аналізу матрицю компенсації потрібно ретельно перевіряти, коли змінюється серія кон'югованого -PC5.
8. У пацієнтів, які отримують лікування антилюдськими моноклональними антитілами, виявлення специфічних цільових антигенів може бути зниженим або відсутнім через часткове або повне блокування терапевтичним антитілом.
9. Результати CD5-PC5 слід інтерпретувати у світлі загальної клінічної картини пацієнта, включно із симптомами, клінічним анамнезом, даними додаткових тестів та іншою відповідною інформацією.

Див. приклади й посилання в додатку.

ТОРГОВЕЛЬНІ МАРКИ

Beckman Coulter, стилізований логотип, товарні знаки й сервісні марки Beckman Coulter, вказані тут, є торговельними марками або зареєстрованими торговельними марками компанії Beckman Coulter, Inc. у Сполучених Штатах Америки й інших країнах.

ДОДАТКОВА ІНФОРМАЦІЯ

Для пацієнта / користувача / третьої сторони в Європейському Союзі та в країнах з ідентичною системою нормативного регулювання (Регламент 2017/746/ЄС про медичні вироби для діагностики in vitro); якщо під час використання цього пристрою або в результаті його використання стався серйозний інцидент, повідомте про це виробнику й (або) його уповноваженому представнику та місцевому національному органу.

The Summary of Safety and Performance (Огляд безпеки та основних характеристик) доступний у базі даних EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ІСТОРІЯ ЗМІН

РЕДАКЦІЯ AC:	Дата випуску: Жовтень 2019 р.

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AW	Травень 2022 р.
Оновлення мають відповідати Глобальній політиці щодо маркування компанії Beckman Coulter і вимогам IVD-R (ЄС)2017/746:	
Додані розділи	«Номер BSI 2797», «Цільовий користувач», «Клінічна значущість», «Концентрація», «Прецизійність», «Точність», «Межа холостої проби й межа виявлення», «Додаткова інформація», «Історія змін».
Додана інформація	Див. розділ «Обмеження»
Оновлення формулювання або типографічні оновлення	Див. розділи «Процедура», «Робочі показники», «Обмеження», «Попередження та застереження», «Зберігання та стабільність».
Видалені розділи	«Приклад клінічного застосування», «Реагенти», «Міжлабораторна відтворюваність», «Лінійність»
Оновлені розділи	«Призначення», «Класифікація небезпек GHS», «Ознаки погіршення характеристик», «Процедура», «Додаток».

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AX	Квітень 2023
Оновлені розділи	Додано казахську мову
Оновлені розділи	Зберігання й стабільність

Переглянута версія	AY
Дата перегляду	Травень 2024
Оновлені переклади	**Клінічна значущість:**
Оновлені розділи	Історія змін

Переглянута версія	AZ
Дата перегляду	Липень 2024
Оновлені розділи	Історія змін

Список символів

Глосарій символів доступний на сайті beckman.com/techdocs (документ № B60062)

	Especificações
Especificidade	CD5
Clone	BL1a
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunógeno	Lymphocytes from human thoracic duct
Imunoglobulina	IgG2a
Espécie	Camundongo
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Razão molar	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	670 nm
Tampão	PBS com pH de 7,2 mais 2 mg/mL de BSA e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado CD5-PC5

REF A07754 100 testes; 1 mL, 10 µL/teste

Para uso em diagnóstico *in vitro*

USO PREVISTO

Esse anticorpo conjugado com fluorocromo permite a identificação qualitativa e não automatizada das populações de células que expressam o antígeno CD5 presente em amostras biológicas humanas utilizando a citometria de fluxo (consulte a seção “Amostras” a seguir).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade que os anticorpos monoclonais específicos têm de se ligarem aos determinantes antigênicos expressos por leucócitos.

A coloração específica de leucócitos é realizada incubando-se a amostra com o reagente IOTest. As hemácias são então removidas por lise e os leucócitos, que não são afetados por esse processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citômetro de fluxo mede a difusão da luz e a fluorescência das células. Ele possibilita a delimitação da população de interesse na janela eletrônica definida por um histograma, que correlaciona a difusão ortogonal da luz (dispersão lateral ou SS) e a difusão da luz em ângulo estreito (dispersão frontal ou FS). Outros histogramas que combinam dois dos diferentes parâmetros disponíveis no citômetro podem ser utilizados como auxílio no estágio de delimitação, dependendo da aplicação escolhida pelo usuário.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são expressos como uma porcentagem dos eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos pela delimitação.

USUÁRIO PREVISTO

Este produto destina-se ao uso laboratorial profissional.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD5-PC5 é um anticorpo para CD5 usado para identificar e caracterizar, por citometria de fluxo, as células que expressam o antígeno CD5. Este produto por si só não pode e não se destina a originar qualquer conclusão diagnóstica.

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

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com anormalidades hematológicas com suspeita de terem neoplasia hematopoiética e para monitorar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.
- Para auxiliar no prognóstico de pacientes que possuem neoplasia hematopoiética.

Consulte as referências a seguir:

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

AMOSTRAS

Sangue venoso deve ser coletado usando tubos estéreis contendo um sal de EDTA como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas em temperatura ambiente (18-25°C) e não devem ser agitadas. A amostra deve ser homogeneizada por agitação suave antes que a amostra para teste seja retirada.

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

CONCENTRAÇÃO

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

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não use o reagente após o prazo de validade.
2. Não congele.
3. Deixe atingir a temperatura ambiente antes de usar (18-25°C).
4. Minimize a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, pois isso pode gerar falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos contendo azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não utilize internamente e evite o contato com a pele, mucosas e olhos.

Além disso, em um meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazoico potencialmente perigoso. Se precisar descartar essa substância, recomenda-se que o reagente seja diluído em um grande volume de água antes de despejá-lo no sistema de drenagem para evitar o acúmulo de azida sódica nos canos de metal e o risco de explosão.

7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas como potencialmente infecciosas e devem ser manipuladas com cuidado (em particular: uso de luvas, jalecos e óculos de proteção).
8. Nunca coloque a pipeta na boca e evite qualquer contato das amostras com a pele, mucosas e olhos.
9. Os tubos de sangue e o material descartável utilizado para manuseio deve ser descartado em recipientes ad hoc destinados à incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO DO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Folha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido entre 2 e 8°C e protegido da luz, antes e depois do frasco ter sido aberto.

Validade do frasco fechado de acordo com o estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente é estável por 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DETERIORAÇÃO

Qualquer alteração no aspecto físico dos reagentes poderá indicar deterioração e o reagente não deverá ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, entre em contato com o serviço de atendimento ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou entre em contato com o representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em canos de escoamento metálicos. Consulte o Boletim do NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health [Instituto de segurança e saúde ocupacional dos EUA]): Explosive Azide Hazard (Perigos de explosão de azida) (16/8/76).
Para evitar o possível acúmulo de compostos de azida, enxágue os canos de escoamento com água após o descarte do reagente não diluído. O descarte da azida sódica deve ser efetuado de acordo com as normas locais apropriadas.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostra e material necessário para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 10, 100 e 500 µL.
- Tubos plásticos de hemólise.
- Reagente de lise de hemácias com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: Reagente VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: Solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controle do isótipo PC5: reagente IOTest (Ref. A09148).
- Tampão (PBS: fosfato de sódio a 0,01 M; cloreto de sódio a 0,145 M; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citômetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM O REAGENTE VERSALYSE

Para cada amostra analisada, além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controle no qual as células são misturadas na presença do controle de isótipo (Ref. A09148).

1. Adicione 10 µL de anticorpo conjugado IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 10 µL do controle do isótipo a cada tubo de controle.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos em temperatura ambiente (18-25°C), protegido da luz.
4. Em seguida, faça a lise das hemácias. Consulte o folheto da VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento chamado “with concomitant fixation (com fixação concomitante)”, que consiste em adicionar 1 mL da mistura de fixação e lise preparada extemporaneamente. Agite em vórtex imediatamente durante um segundo e incube durante 10 minutos em temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue por 5 minutos a 150 x g em temperatura ambiente.
6. Retire o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita a etapa 5.
9. Retire o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular usando:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído, se as preparações forem mantidas por um prazo inferior a 24 horas. (É possível obter uma solução PBS com 0,1% de formaldeído diluindo-se 12,5 µL de Solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na concentração de 10X em 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído, se as preparações forem analisadas dentro de 2 horas.

Nota: Em qualquer dos casos, mantenha as preparações entre 2 e 8°C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Em nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 doadores aparentemente saudáveis foram tratadas usando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos positivos de interesse com esse reagente são fornecidos na tabela a seguir:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP (Desvio padrão)	CV (%)
Linfócitos	25	71,40	9,45	13,23

Esses valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores esperados da população local de doadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos usando o procedimento descrito anteriormente em amostras de sangue com menos de 24 horas, coletadas previamente em tubos estéreis com sal de EDTA como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

A molécula CD5 é expressa na superfície de linfócitos T maduros, pela maioria dos timócitos e por uma subpopulação de linfócitos B (11,12,13). A molécula CD5 é expressa em um subgrupo de células B secretoras de IgM devido à falta da enzima deoxinucleotidil-transferase terminal (TdT), presente para mitigar a ativação de BSR e, assim, reduzir a autorreatividade (reação autoimune). Por outro lado, as células T apresentam níveis mais elevados de CD5 do que as células B. O CD5 é supra-regulado em células T após uma forte ativação. No timo, existe uma correlação entre a expressão de CD5 e a intensidade da interação da célula T com peptídeos próprios. A expressão de CD5 não existe em granulócitos, monócitos e plaquetas (13). O anticorpo monoclonal BL1a foi atribuído a CD5 durante o 3º HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Workshop sobre HLDA — antígenos de diferenciação de leucócitos humanos), realizado em Oxford, Inglaterra, em 1986 (código WS: 520, seção T) (11,12).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados usando-se sangue total. Cada amostra foi processada 4 vezes, duas vezes por dia durante 1 dia em 2 instrumentos, usando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD5-PC5. As medições (% de positivos) foram realizadas no citômetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação de desempenho de precisão de métodos de medição quantitativos).

Nossos critérios de aceitação dependem do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Se eventos positivos <1.500, CV <15%
- Se eventos positivos >1.500, CV <10%

Linfócitos							
Número de eventos positivos (média) = 2823							
	Entre operadores	Entre citômetros	Dentro do lote	Entre lotes	Entre processamentos	Dentro do processamento	Total
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD5-PC5 foi avaliada comparando-se os resultados com um reagente de referência como o predicado em um conjunto de amostras de sangue total processadas em um citômetro de fluxo Navios. A tendência entre o reagente de teste e o de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados dos testes. Se a tendência estiver dentro da faixa de erro aceitável ou o valor p não indicar diferenças significativas (>0,05), então os resultados dos testes para os dois reagentes são considerados como equivalentes.

Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Número de doadores = 25				
Alvo positivo	Δ média	Critérios de Δ % de células	valor p	RESULTADOS
Linfócitos	0,90	<5	0,001	PASS

LIMITE DE BRANCO E LIMITE DE DETECÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com a diretriz EP17-A2 do CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de detecção para procedimentos de medição de laboratório clínico). O Limite de detecção (LOD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detectada consistentemente. Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite de branco (células/µL)	Limite de detecção (células/µL)
Linfócitos	4	6

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo pode produzir resultados falsos se o citômetro não for alinhado perfeitamente, se os vazamentos de fluorescência não forem corretamente compensados e se as regiões não forem cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível usar uma técnica de lise de RBC com uma etapa de lavagem, já que esse reagente não foi otimizado para técnicas de lise “sem lavagem”.
3. Serão obtidos resultados exatos e reproduzíveis desde que os procedimentos utilizados estejam em conformidade com o folheto técnico e sejam compatíveis com as boas práticas de laboratório.
4. O anticorpo conjugado desse reagente é calibrado para oferecer a melhor razão entre sinal específico e sinal não específico. Por isso, é importante manter a razão entre volume do reagente e volume da amostra em cada teste.
5. No caso de hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (14).
6. Em certos estados da doença, como insuficiência renal grave e hemoglobinopatias, a lise das hemácias pode ser lenta, incompleta ou até mesmo impossível. Nesse caso, recomenda-se isolar as células mononucleadas usando um gradiente de densidade (Ficoll, por exemplo) antes da coloração (15).

7. Por conta da estrutura em tandem do fluorocromo, PC5 também emite luz a 575 nm. Esse pico de emissão secundário varia conforme o lote de PC5. Portanto, para análises multicoloridas, a matriz de compensação deve ser cuidadosamente verificada ao alterar o lote de um conjugado com PC5.
8. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a detecção dos antígenos-alvo específicos pode ser diminuída ou não ocorrer devido ao bloqueio parcial ou total pelo anticorpo terapêutico.
9. Os resultados de CD5-PC5 devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, histórico clínico, dados de testes adicionais e outras informações apropriadas.

Consulte o anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logotipo estilizado e as marcas dos produtos e serviços da Beckman Coulter mencionados neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registradas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e em outros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/usuário/terceiro na União Europeia e em países com regime regulatório idêntico (Regulamentação 2017/746/UE sobre In vitro Diagnostic Medical Devices [Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro]), se, durante o uso deste dispositivo ou como resultado de seu uso, ocorrer um incidente grave, relate-o ao fabricante e/ou ao seu representante autorizado e à sua autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível no banco de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO AC:	Data de publicação: outubro de 2019

REVISÃO	**Data de publicação**
AW	Maio de 2022
Atualizações para o cumprimento da Global labelling Policy (Política de rotulagem global) da Beckman Coulter e de acordo com os requisitos da IVD-R (UE)2017/746:	
Seções adicionadas	Número BSI 2797, Usuário previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite de branco e limite de detecção, Informações adicionais, Histórico de revisão.
Informações adicionadas	Consulte as seções: Limitações
Atualizações tipográficas ou de fraseado	Consulte as seções Procedimento, Desempenho, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Seções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Seções atualizadas	Uso previsto, Classificação de perigo do GHS, Evidência de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de publicação**
AX	Abril 2023
Seções atualizadas	Adicionar cazaque
Seções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revisada	AY
Data da revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Versão revisada	AZ
Data da revisão	Julho 2024
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Legenda dos símbolos

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

	Specificaties
Specificiteit	CD5
Kloon	BL1a
Hybridoom	SP2/0 x balb/c
Immunogeen	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobuline	IgG2a
Soort	Muis
Purificatie	Affiniteit chromatografie
Fluorochroom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molaire verhouding	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
λ excitatie	488 nm
Emissiepiek	670 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA en 0,1% NaN_3

IOTest

Geconjugeerd antilichaam CD5-PC5

REF A07754 100 tests; 1 mL, 10 µL / test

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik

BEOOGD GEBRUIK

Met dit fluorochroom-geconjugeerde antilichaam kunnen celpopulaties die het CD5-antigeen tot expressie brengen, kwalitatief en niet-geautomatiseerd worden geïdentificeerd in menselijke biologische monsters met behulp van flowcytometrie (zie het gedeelte 'Monsters' hieronder).

PRINCIPE

Deze test is gebaseerd op het vermogen van specifieke monoklonale antilichamen om zich te binden aan de antigene determinanten die tot expressie worden gebracht door leukocyten.

Specifieke kleuring van de leukocyten wordt uitgevoerd door het monster te incuberen met het IOTest -reagens. De rode cellen worden vervolgens via lysering verwijderd en de leukocyten (die ongevoelig zijn voor dit proces) worden geanalyseerd voor middel van flowcytometrie.

De flowcytometer meet de lichtdiffusie en de fluorescentie van cellen. Het maakt de afbakening van de betrokken populatie mogelijk binnen het elektronische venster gedefinieerd op een histogram, wat de orthogonale verspreiding van licht (zijwaartse verstrooiing of ZV) in verband brengt met de verspreiding van smalhoekig licht (voorwaartse verstrooiing of VV). Andere histogrammen die twee van de verschillende beschikbare parameters op de cytometer combineren, kunnen worden gebruikt als ondersteuning bij de gating-fase, afhankelijk van de door de gebruiker gekozen toepassing.

De fluorescentie van de afgeperkte cellen wordt geanalyseerd om de positief-gekleurde gebeurtenissen te onderscheiden van de niet-gekleurde. De resultaten worden uitgedrukt als een percentage van positieve gebeurtenissen ten opzichte van alle gebeurtenissen verzameld door de gating.

BEOOGDE GEBRUIKER

Dit product is bedoeld voor professioneel gebruik in het laboratorium.

KLINISCHE RELEVANTIE

Het CD5-PC5 is een CD5-antilichaam dat wordt gebruikt om door middel van flowcytometrie cellen te identificeren en te karakteriseren die het CD5-antigeen tot expressie brengen. Dit product alleen kan niet worden gebruikt voor en is niet bedoeld voor de totstandbrenging van diagnostische conclusies.

Bij gebruik in combinatie met andere markers kan dit product worden gebruikt voor een of meer van de volgende functies:

- Ter ondersteuning van de differentiaaldiagnostiek bij patiënten met een hematologische afwijking met verdenking op het hebben van een hematopoiëtisch neoplasma en ter controle van patiënten met een bekend hematopoiëtisch neoplasma.
- Ter ondersteuning van de prognose van patiënten met hematopoiëtisch neoplasma.

Zie de volgende referenties:

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

MONSTERS

Veneus bloed moet worden afgenomen met steriele buisjes die EDTA-zout bevatten als anticoagulans.

De monsters moeten op kamertemperatuur (18-25 °C) worden gehouden en mogen niet worden geschud. De monsters moeten gehomogeniseerd worden door licht te schudden voordat het testmonster wordt afgenomen.

De monsters moeten worden geanalyseerd binnen 24 uur van venapunctie.

CONCENTRATIE

Zie batch-specifiek analysecertificaat op www.beckman.com.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Gebruik het reagens niet na de uiterste houdbaarheidsdatum.
2. Niet invriezen.
3. Laat het op kamertemperatuur (18-25 °C) komen voor gebruik.
4. Beperk de blootstelling aan licht.
5. Vermijd microbiële verontreiniging van de reagentia, anders kunnen verkeerde resultaten optreden.

6. Antilichaamoplossingen die natriumazide (NaN_3) bevatten moeten voorzichtig gehanteerd worden. Niet innemen en elk contact met huid, slijmvliezen en ogen vermijden.

   In een zuur medium kan natriumazide bovendien de potentieel gevaarlijke waterstofazide vormen. Indien verwijdering nodig is, wordt het aanbevolen om het reagens te verdunnen in een groot volume water voordat het in het afvoersysteem wordt gegoten, om de accumulatie van natriumazide in metalen buizen en explosiegevaar te vermijden.
7. Alle bloedmonsters moeten worden beschouwd als mogelijk besmettelijk en moeten voorzichtig worden gehanteerd (met name: veiligheidshandschoenen, -jas en -bril dragen).
8. Pipetteer nooit met de mond en vermijd elk contact van de monster met huid, slijmvliezen en ogen.
9. Bloedbuisjes en wegwerpmateriaal die gebruikt zijn, moeten verwijderd worden in afvalcontainers bestemd voor verbranding.
10. Reagentia en afval moeten verwijderd worden volgens de plaatselijke voorschriften.

GHS GEVARENCLASSIFICATIE

Niet geclassificeerd als gevaarlijk

SDS Het veiligheidsinformatieblad is beschikbaar op beckmancoulter.com/techdocs

OPSLAG EN STABILITEIT

Dit reagens moet tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht worden bewaard, voor- en nadat het buisje wordt geopend.

Houdbaarheidsdatum van ongeopend buisje volgens stabiliteitsstudie: 1095 dagen.

Stabiliteit van geopend buisje: het reagens is stabiel gedurende 180 dagen.

BEWIJS VAN BEDERF

Elke wijziging in de fysieke verschijning van de reagentia kan wijzen op aantasting; het reagens mag dan niet langer gebruikt worden.

Bel voor meer informatie, of als het product beschadigd is, met de klantenservice van Beckman Coulter op 800-742-2345 (VS of Canada) of neem contact op met uw plaatselijke vertegenwoordiger van Beckman Coulter.

INHOUD

Een conserveringsmiddel van natriumazide kan explosieve verbindingen vormen in metalen afvoerleidingen. Zie NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (Explosiegevaar van azide, 16-08-1976).
Om de ophoping van azideverbindingen te vermijden, spoelt u de afvoerbuizen met water na verwijdering van onverdund reagens. Natriumazide moet worden verwijderd volgens de toepasselijke plaatselijke voorschriften.

BENODIGD MATERIAAL DAT NIET IS MEEGELEVERD IN DE KIT:

- Monsterbuisjes en materiaal vereist voor monsterneming.
- Automatische pipetten met wegwerppunten voor 10, 100 en 500 µL.
- Plastic hemolysebuisjes.
- Ontbindingsreagens voor rode cellen met spoelfase na de lysis. Bijvoorbeeld: VersaLyse (ref. A09777).
- Fixatiereagens voor leukocyten. Bijvoorbeeld: IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800).
- Isotypecontrole PC5: IOTest-reagens (ref. A09148).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfaat; 0,145 M natriumchloride; pH 7,2).
- Centrifugeer.
- Automatische schudder (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MET VERSALYSE-REAGENS

Voor elk geanalyseerd monster kan, naast het testbuisje, één controlebuisje worden toegevoegd waarin de cellen worden gemengd in aanwezigheid van de isotypecontrole (ref. A09148).

1. Voeg 10 µL specifiek IOTest-geconjugeerd antilichaam toe aan elk testbuisje en, indien nodig, 10 µL isotypecontrole aan elk controlebuisje.
2. Voeg 100 µL van het testmonster toe aan elk buisje. Wervel de buisjes voorzichtig.
3. Incubeer 15 tot 20 minuten op kamertemperatuur (18-25 °C), beschermd tegen licht.
4. Lyseer vervolgens de rode cellen. Raadpleeg de VersaLyse-bijsluiter (ref. A09777) en volg bij voorkeur de procedure genaamd 'met gelijktijdige fixatie', die bestaat uit het toevoegen van 1 mL 'fixeer-en-lyseer'-oplossing die ex tempore wordt bereid. Wervel onmiddellijk gedurende één seconde en incubeer 10 minuten op kamertemperatuur, beschermd tegen licht.
5. Centrifugeer gedurende 5 minuten bij 150 x g op kamertemperatuur.
6. Verwijder het supernatant door opzuiging.
7. Suspendeer de celpellet opnieuw met 3 mL van PBS.
8. Herhaal stap 5.
9. Verwijder het supernatant door opzuiging en suspendeer de celpellet opnieuw met:

- 0,5 mL of 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyde, indien de bereidingen minder dan 24 uur worden bewaard. (Een PBS met 0,1% formaldehyde kan worden verkregen door 12,5 µL IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800) bij de 10X-concentratie te verdunnen in 1 mL PBS).
- 0,5 mL of 1 mL PBS zonder formaldehyde, indien de bereidingen moeten worden geanalyseerd binnen 2 uur.

Opmerking: houd de bereidingen in alle gevallen tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht.

VERWACHTE WAARDEN

In onze laboratoria werden de volbloedmonsters van 25 ogenschijnlijk gezonde donoren behandeld met het hierboven beschreven reagens. De verkregen resultaten voor de telling van de relevante positieve gebeurtenissen voor dit reagens worden in de onderstaande tabel weergegeven:

Positieve target	Nummer	Gemiddeld (%)	SD	VC (%)
Lymfocyten	25	71,40	9,45	13,23

Deze waarden zijn uitsluitend bedoeld als referentie. Elk laboratorium moet zijn eigen verwachte waarden bepalen op basis van de lokale populatie van normale donoren.

PRESTATIES

Prestatiegegevens worden verkregen met de hierboven beschreven procedure op minder dan 24 uur oude bloedmonsters die eerder zijn verzameld in steriele buisjes met EDTA-zout als anticoagulans. De analyse wordt uitgevoerd binnen 2 uur na immunokleuring.

SPECIFICITEIT

Het CD5-molecuul wordt tot expressie gebracht op het oppervlak van rijpe T-lymfocyten, door de meeste thymocyten en door een subpopulatie van B-lymfocyten (11,12,13). CD5 wordt tot expressie gebracht in een subset van IgM-afscheidende B-cellen omdat het gebrek aan het enzym terminaal deoxynucleotidyltransferase (TdT) de activering van BSR lijkt te beperken en dus de autoreactiviteit (autoimmuunreactie) vermindert. Daarentegen brengen T-cellen hogere niveaus CD5 tot expressie dan B-cellen. CD5 wordt ge-upreguleerd op T-cellen na sterke activering. In de thymus bestaat een correlatie met CD5-expressie en de sterkte van de interacties van de T-cel tegenover 'eigen'-peptiden. CD5-expressie wordt niet aangetroffen in granulocyten, monocyten en bloedplaatjes (13). Het monoklonale antilichaam BL1a werd toegeschreven aan CD5 tijdens de 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3e HLDA workshop over differentiatie-antigenen van humane leukocyten), gehouden in Oxford, Engeland, in 1986 (WS-code: 520, sectie T) (11,12).

PRECISIE

De procentuele positieve waarden werden bepaald met behulp van volbloed. Elk monster werd 4 maal getest, tweemaal per dag gedurende 1 dag op 2 instrumenten, waarbij gebruik werd gemaakt van 2 batches CD5-PC5 monoklonale antilichaamreagentia. Metingen (% positief) werden uitgevoerd op de Navios-flowcytometer. Analyse werd uitgevoerd op basis van de CLSI-methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluatie van de precisie van kwantitatieve meetmethoden).

Onze acceptatiecriteria zijn afhankelijk van het aantal positieve gebeurtenissen dat voor elke populatie wordt gemeten:

- In het geval van een positieve gebeurtenis <1500, VC <15%
- In het geval van een positieve gebeurtenis >1500, VC <10%

Lymfocyten							
Aantal positieve gebeurtenissen (gemiddelde) = 2823							
	Tussen gebruikers	Tussen cytometers	Van dezelfde batch	Tussen batches	Tussen runs	Tijdens run	Totaal
VC (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
RESULTATEN	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NAUWKEURIGHEID

De nauwkeurigheid van CD5-PC5 werd beoordeeld door de resultaten te vergelijken met een referentiereagens als het vergelijkbare hulpmiddel op een reeks volbloedmonsters die op een Navios-flowcytometer werden uitgevoerd. De afwijking tussen test- en referentiereagens werd bepaald op basis van het verschil tussen de testresultaten. Als de afwijking binnen het toegestane foutbereik ligt of de p-waarde geen significant verschil (>0,05) aangeeft, worden de testresultaten voor de twee reagentia als gelijkwaardig beschouwd.

De resultaten worden samengevat in de onderstaande tabel:

Aantal donoren = 25				
Positieve target	Gemiddelde Δ	Δ % Celcriteria	p-waarde	RESULTATEN
Lymfocyten	0,90	<5	0,001	PASS

BLANCOLIMIET EN DETECTIELIMIET

Een studie is uitgevoerd in overeenstemming met CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluatie van detectiecapaciteit voor meetprocedures in klinische laboratoria). Het detectielimiet (LOD) is de laagste concentratie analiet die consistent kan worden gedetecteerd. De verkregen resultaten worden samengevat in de volgende tabel:

Positive Target	Blancolimiet (cel/µL)	Detectielimiet (cel/µL)
Lymfocyten	4	6

BEPERKINGEN

1. Flowcytometrie kan leiden tot verkeerde resultaten indien de cytometer niet perfect is uitgelijnd, indien fluorescentielekken niet juist zijn gecompenseerd en indien de gebieden niet zorgvuldig zijn gepositioneerd.
2. Gebruik bij voorkeur een RBC-lyseertechniek met een wasstap, aangezien dit reagens niet is geoptimaliseerd voor lyseertechnieken zonder wassen.
3. Nauwkeurige en reproduceerbare resultaten worden verkregen zolang de gebruikte procedures in overeenstemming zijn met de technische brochure en compatibel met goede laboratoriumpraktijken.
4. Het geconjugeerde antilichaam van dit reagens wordt gekalibreerd om de beste verhouding van specifiek signaal/niet-specifiek signaal te bieden. Daarom is het belangrijk dat de verhouding van reagensvolume/monstervolume in acht wordt genomen bij elke test.
5. In het geval van een hyperleukocytose verdunt u het bloed in PBS om een waarde van ongeveer 5 x 10^9 leukocyten/L te verkrijgen (14).

6. In sommige stadia van een aandoening, zoals ernstig nierfalen of hemoglobinopathieën, kan de ontbinding van rode cellen traag verlopen, onvolledig of zelfs onmogelijk zijn. In dit geval wordt het aanbevolen om cellen met één kern te isoleren met een dichtheidsgradiënt (bijvoorbeeld Ficoll) voorafgaand aan de kleuring (15).
7. Door de tandemstructuur van het fluorochroom verzendt PC5 ook licht bij 575 nm. Deze secundaire emissiepiek varieert van batch tot batch PC5. Daarom moet bij meerkleurige analyses de compensatiematrix zorgvuldig worden gecontroleerd bij het wijzigen van de batch van een PC5-conjugaat.
8. Bij patiënten die worden behandeld met anti-humane monoklonale antilichaamtherapieën kan de detectie van de specifieke doelantigenen verminderd of afwezig zijn als gevolg van een gedeeltelijke of volledige blokkering door het therapeutische antilichaam.
9. De CD5-PC5-resultaten moeten worden geïnterpreteerd in het licht van het totale klinische beeld van de patiënt, met onder meer: symptomen, klinische anamnese, gegevens van aanvullende tests en andere relevante informatie.

Zie de bijlage voor voorbeelden en referenties.

Handelsmerken

Beckman Coulter, het gestileerde logo en de merken van Beckman Coulter-producten en -services in dit document zijn handelsmerken of gedeponeerde handelsmerken van Beckman Coulter, Inc. in de Verenigde Staten en andere landen.

AANVULLENDE INFORMATIE

Voor patiënten/gebruikers/derden in de EU en in landen met soortgelijke regelgeving (Verordening 2017/746/EU inzake in-vitro diagnostische medische apparaten); als er zich tijdens of als gevolg van het gebruik van dit apparaat een ernstig incident voordoet, dient u dit te melden bij de fabrikant en/of diens bevoegde vertegenwoordiger en bij uw nationale autoriteiten.

Het overzicht van de veiligheid en prestaties is beschikbaar in de database EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed

REVISIEGESCHIEDENIS

REVISIE AC:	Uitgiftedatum: Oktober 2019

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AW	Mei 2022
Bijgewerkt om te voldoen aan het wereldwijde etiketteringsbeleid van Beckman Coulter en volgens de vereisten van IVD-R (EU)2017/746:	
Toegevoegde paragrafen	BSI 2797-nummer, Beoogde gebruiker, Klinische relevantie, Concentratie, Precisie, Nauwkeurigheid, Blancolimiet en detectiegrens, Aanvullende informatie, Revisiegeschiedenis.
Toegevoegde informatie	Zie paragraaf Beperkingen
Bijgewerkte formulering of typografie	Zie paragrafen Procedure, Prestaties, Beperkingen, Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen, Opslag en Stabiliteit.
Verwijderde paragrafen	Voorbeeld van klinische toepassingen, Reagentia, Reproduceerbaarheid intra-laboratoria, Lineariteit
Bijgewerkte paragrafen	Beoogd gebruik, GHS-gevarenclassificatie, Bewijs van bederf, Procedure, Bijlage.

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AX	April 2023
Bijgewerkte paragrafen	Toevoegen Kazachs
Bijgewerkte paragrafen	Opslag en stabiliteit

Bijgewerkte versie	AY
Herzieningsdatum	Mei 2024
Bijgewerkte vertalingen	**Klinische relevantie:**
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Bijgewerkte versie	AZ
Herzieningsdatum	Juli 2024
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Verklaring van symbolen

Overzicht met verklaring van symbolen is beschikbaar op beckman.com/techdocs (documentnummer B60062)

	Thông số kỹ thuật
Độ đặc hiệu	CD5
Dòng vô tính	BL1a
Tế bào lai	SP2/0 x balb/c
Chất sinh miễn dịch	Lymphocytes from human thoracic duct
Globulin miễn dịch	IgG2a
Các loài	Chuột
Tinh chế	Sắc ký ái lực
Chất nhuộm huỳnh quang	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Tỷ lệ mol	PC5/Ig: 0,5 - 1,5
Kích thích λ	488 nM
Đỉnh phát xạ	670 nM
Dung dịch đệm	PBS pH 7,2 cộng với 2 mg/mL BSA và 0,1% NaN_3

Kháng thể cộng hợp IOTest CD5-PC5

REF A07754 100 xét nghiệm; 1 mL, 10 µL/xét nghiệm

Dùng để chẩn đoán *In Vitro*

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Kháng thể cộng hợp chất nhuộm huỳnh quang này cho phép xác định theo phương thức định tính và không tự động các quần thể tế bào biểu hiện kháng nguyên CD5 có trong mẫu sinh học của người bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy (xem phần "Mẫu" bên dưới).

NGUYÊN TẮC

Xét nghiệm này dựa trên khả năng liên kết của kháng thể đơn dòng đặc hiệu với yếu tố quyết định kháng nguyên biểu hiện bởi bạch cầu.

Nhuộm đặc hiệu bạch cầu bằng cách ủ mẫu với thuốc thử IOTest. Sau đó, loại bỏ tế bào hồng cầu bằng cách ly giải và tế bào bạch cầu không bị ảnh hưởng bởi quá trình này sẽ được phân tích bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy.

Máy đếm tế bào dòng chảy đo mức khuếch tán ánh sáng và phát huỳnh quang của các tế bào. Điều này giúp phân định được quần thể quan tâm trong cửa sổ điện tử được xác định trên biểu đồ, tương quan với sự khuếch tán trực giao ánh sáng (Tán xạ góc bên hay SS) và khuếch tán ánh sáng góc hẹp (Tán xạ góc thẳng hay FS). Có thể dùng các biểu đồ khác (kết hợp hai trong các thông số có sẵn trên máy đếm tế bào) để hỗ trợ trong giai đoạn khoanh vùng tùy thuộc vào ứng dụng mà người dùng chọn.

Huỳnh quang của các tế bào đã phân định được phân tích để phân biệt các sự kiện nhuộm dương tính với các sự kiện không nhuộm. Kết quả được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm số sự kiện dương tính so với tất cả sự kiện thu được từ việc khoanh vùng.

ĐỐI TƯỢNG SỬ DỤNG

Sản phẩm này chỉ dùng cho mục đích chuyên môn trong phòng xét nghiệm.

TÍNH THÍCH HỢP VỀ LÂM SÀNG

CD5-PC5 là một kháng thể CD5 dùng để nhận dạng và xác định đặc điểm của các tế bào biểu thị kháng nguyên CD5 bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy. Chỉ riêng sản phẩm này không thể và không nhằm tạo ra bất kỳ kết luận chẩn đoán nào.

Khi kết hợp với các chỉ dấu khác, có thể dùng sản phẩm này trong một hoặc nhiều chức năng sau:

- Để hỗ trợ chẩn đoán phân biệt những bệnh nhân bị bất thường về huyết học nghi ngờ mắc ung thư máu và để theo dõi những bệnh nhân đã được xác định là mắc ung thư máu.
- Để hỗ trợ tiên lượng những bệnh nhân bị ung thư máu.

Xem tài liệu tham khảo sau đây:

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

MẪU

Phải lấy mẫu máu tĩnh mạch vào ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA.

Phải bảo quản mẫu ở nhiệt độ phòng (18–25°C) và không lắc mẫu. Phải khuấy nhẹ mẫu trước khi lấy mẫu xét nghiệm để mẫu có trạng thái đồng nhất.

Phải phân tích các mẫu trong vòng 24 giờ sau khi lấy từ tĩnh mạch.

NỒNG ĐỘ

Xem Giấy chứng nhận phân tích theo lô cụ thể tại www.beckman.com.

CẢNH BÁO VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG NGỪA

1. Không dùng thuốc thử đã hết hạn sử dụng.
2. Không làm đông lạnh.
3. Để dung dịch trở về nhiệt độ phòng (18–25°C) trước khi sử dụng.
4. Giảm thiểu tiếp xúc với ánh sáng.
5. Tránh làm thuốc thử bị nhiễm khuẩn, nếu không, có thể dẫn đến kết quả sai.
6. Phải xử lý cẩn thận dung dịch kháng thể chứa natri azit (NaN_3). Không được uống và tránh mọi tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.

Ngoài ra, trong môi trường axit, natri azit có thể tạo thành axit hydrazoic nguy hiểm. Nếu cần phải thải bỏ, bạn nên pha loãng thuốc thử trong nhiều nước trước khi thải vào hệ thống thoát nước để tránh tích tụ natri azide trong ống kim loại và để tránh nguy cơ nổ.

7. Phải coi tất cả mẫu máu là có nguy cơ lây nhiễm và xử lý cẩn thận (cụ thể: đeo găng tay, mặc áo choàng và đeo kính bảo vệ).
8. Tuyệt đối không dùng pipet bằng miệng và tránh để mẫu tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.
9. Phải bỏ ống máu và vật liệu dùng một lần đã dùng để xử lý trong thùng chứa đặc biệt cho mục đích thiêu hủy.
10. Phải thải bỏ thuốc thử và chất thải theo yêu cầu của địa phương.

PHÂN LOẠI MỐI NGUY HIỂM THEO GHS

Không được phân loại là chất nguy hiểm

SDS Phiếu dữ liệu an toàn có sẵn tại beckmancoulter.com/techdocs

BẢO QUẢN VÀ ĐỘ ỔN ĐỊNH

Phải bảo quản thuốc thử này ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng, trước và sau khi mở ống.

Hạn sử dụng của ống khi chưa mở nắp theo nghiên cứu về độ ổn định: 1095 ngày.

Độ ổn định của ống đã mở: thuốc thử ổn định trong 180 ngày.

BẰNG CHỨNG BIẾN CHẤT

Mọi sự biến đổi về vẻ ngoài của thuốc thử có thể là dấu hiệu suy giảm chất lượng và bạn không nên dùng thuốc thử đó.

Để biết thêm thông tin hoặc nếu bạn nhận được sản phẩm bị hỏng, hãy gọi điện cho Dịch vụ khách hàng của Beckman Coulter theo số 8007422345 (Hoa Kỳ hoặc Canada) hoặc liên hệ với Đại diện của Beckman Coulter tại địa phương bạn.

HÀM LƯỢNG

Chất bảo quản natri azit có thể hình thành hợp chất nổ trong ống dẫn bằng kim loại. Xem Thông Báo của Viện quốc gia về an toàn và sức khỏe nghề nghiệp (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Nguy cơ nổ azit) (16/8/76).
Để tránh khả năng tích tụ hợp chất azit, hãy xả sạch các ống thải bằng nước sau khi xử lý vứt bỏ thuốc thử chưa pha loãng. Phải xử lý vứt bỏ natri azit theo đúng quy định sở tại.

VẬT LIỆU CẦN DÙNG (KHÔNG KÈM THEO BỘ THUỐC THỬ):

- Ống lấy mẫu và vật liệu cần dùng để lấy mẫu.
- Pipet tự động có đầu hút dùng một lần để lấy mẫu có thể tích 10, 100 và 500 µL.
- Ống chứa mẫu tan huyết bằng nhựa.
- Thuốc thử ly giải hồng cầu với bước rửa sau khi ly giải. Ví dụ: VersaLyse (Số tham chiếu A09777).
- Thuốc thử cố định Leucocyte. Ví dụ: Dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800).
- Mẫu chứng âm PC5: Thuốc thử IOTest (Số tham chiếu: A09148).
- Dung dịch đệm (PBS: 0,01 Mol natri photphat; 0,145 Mol natri clorua; pH 7,2).
- Máy ly tâm.
- Máy trộn tự động (loại khuấy).
- Máy đếm tế bào dòng chảy.

QUY TRÌNH VỚI THUỐC THỬ VERSALYSE

Đối với mỗi mẫu phân tích, ngoài ống xét nghiệm, có thể thêm một ống kiểm chuẩn, trong đó tế bào được trộn với mẫu chứng âm (Số tham chiếu A09148).

1. Thêm 10 µL kháng thể cộng hợp IOTest đặc hiệu vào mỗi ống xét nghiệm và nếu cần, 10 µL mẫu chứng âm vào từng ống kiểm chuẩn.
2. Thêm 100 µL mẫu xét nghiệm vào từng ống. Lắc nhẹ các ống.
3. Ủ trong 15 đến 20 phút ở nhiệt độ phòng (18–25°C), tránh ánh sáng.
4. Sau đó, ly giải hồng cầu. Tham khảo tờ hướng dẫn về VersaLyse (Số tham chiếu A09777) và tốt nhất là làm theo quy trình tên là “có cố định đồng thời”, bao gồm thêm 1 mL hỗn hợp “Cố định và ly giải” được chuẩn bị tùy ứng. Lắc ngay trong một giây và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.
5. Quay ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 150 x g tại nhiệt độ phòng.
6. Hút bỏ dịch nổi.
7. Tái huyền phù viên tế bào bằng 3 mL PBS.
8. Lặp lại bước 5.
9. Hút bỏ dịch nổi và tái huyền phù viên tế bào bằng:

- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS cộng với 0,1% formaldehyde nếu sử dụng chế phẩm trong vòng chưa đến 24 giờ. (Có thể thu được PBS chứa 0,1% formaldehyde bằng cách pha loãng 12,5 µL dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800) ở nồng độ 10X trong 1 mL PBS).
- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS không có formaldehyde, nếu phân tích các chế phẩm trong vòng 2 giờ.

Ghi chú: Trong mọi trường hợp, phải bảo quản chế phẩm ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng.

GIÁ TRỊ DỰ KIẾN

Trong phòng xét nghiệm của chúng tôi, mẫu máu toàn phần của 25 người hiến khỏe mạnh được điều trị bằng thuốc thử mô tả ở trên. Bảng dưới đây trình bày kết quả đếm số lượng sự kiện dương tính quan tâm với thuốc thử này:

Mục tiêu dương tính	Số	Giá trị trung bình (%)	SD	CV (%)
Tế bào lympho	25	71,40	9,45	13,23

Các giá trị sau chỉ có tính chất đại diện. Mỗi phòng xét nghiệm phải thiết lập giá trị dự kiến riêng từ quần thể người hiến bình thường của mình.

HIỆU SUẤT

Dữ liệu hiệu suất thu được bằng cách sử dụng quy trình mô tả ở trên với các mẫu máu được thu thập dưới 24 giờ trong các ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA. Phân tích trong vòng 2 giờ sau khi nhuộm hóa mô miễn dịch.

ĐỘ ĐẶC HIỆU

Phân tử CD5 được biểu hiện trên bề mặt của các tế bào lympho T trưởng thành, bởi phần lớn các tế bào tuyến ức và bởi một quần thể phụ tế bào lympho B (11,12,13). CD5 được biểu hiện trong một nhóm phụ tế bào B tiết IgM do enzyme terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) không xuất hiện để giảm thiểu sự hoạt hóa của BSR, từ đó làm giảm phản ứng tự động (phản ứng tự miễn dịch). Ngược lại, tế bào T biểu hiện mức CD5 cao hơn tế bào B. CD5 được tăng cường điều chỉnh trên tế bào T khi được hoạt hóa mạnh. Trong tuyến ức, có mối tương quan giữa biểu hiện CD5 và cường độ tương tác của tế bào T đối với các peptit tự thân. Không tìm thấy biểu hiện CD5 trong bạch cầu hạt, bạch cầu đơn nhân và tiểu cầu (13). Kháng thể đơn dòng BL1a được chỉ định cho CD5 trong HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Hội thảo HLDA về Kháng nguyên biệt hóa bạch cầu ở người) lần thứ 3, Oxford, Anh vào năm 1986 (WS Mã: 520, Phần T) (11,12).

ĐỘ CHỤM

Tỷ lệ phần trăm của các giá trị dương tính được xác định bằng cách sử dụng máu toàn phần. Mỗi mẫu được chạy 4 lần, hai lần một ngày trong 1 ngày trên 2 thiết bị sử dụng 2 lô thuốc thử kháng thể đơn dòng CD5-PC5. Các phép đo (% dương tính) được thực hiện trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Phân tích được tiến hành theo phương pháp EP5-A2 của CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Đánh giá hiệu suất độ chụm của phương pháp đo định lượng).

Tiêu chí chấp nhận của chúng tôi phụ thuộc vào số lượng sự kiện dương tính đo được cho mỗi quần thể:

- Nếu sự kiện dương tính <1.500, CV <15%
- Nếu sự kiện dương tính >1.500, CV <10%

Tế bào lympho							
Số sự kiện dương tính (Giá trị trung bình) = 2823							
	Giữa những người thao tác	Giữa các máy đếm tế bào	Trong lô	Giữa các lô	Giữa các lần chạy	Trong lần chạy	Toàn phần
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
KẾT QUẢ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ĐỘ CHÍNH XÁC

Độ chính xác của CD5-PC5 được đánh giá bằng cách so sánh kết quả với thuốc thử tham chiếu để khẳng định trên một tập hợp các mẫu máu toàn phần chạy trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Độ lệch giữa xét nghiệm và thuốc thử tham chiếu được xác định dựa trên sự chênh lệch giữa các kết quả xét nghiệm. Nếu độ lệch nằm trong phạm vi sai số cho phép hoặc giá trị p cho thấy không có sự khác biệt đáng kể (> 0,05), thì kết quả xét nghiệm cho hai thuốc thử được coi là tương đương.

Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Số người hiến = 25				
Mục tiêu dương tính	Giá trị trung bình Δ	Tiêu chí tế bào Δ %	giá trị p	KẾT QUẢ
Tế bào lympho	0,90	<5	0,001	PASS

GIỚI HẠN TRỐNG VÀ GIỚI HẠN PHÁT HIỆN

Một nghiên cứu đã được thực hiện theo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Đánh giá khả năng phát hiện cho các quy trình đo lường trong phòng xét nghiệm lâm sàng). Giới hạn phát hiện (LOD) là nồng độ thấp nhất của chất phân tích có thể phát hiện một cách nhất quán. Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Positive Target	Giới hạn trống (tế bào/µL)	Giới hạn phát hiện (tế bào/µL)
Tế bào lympho	4	6

GIỚI HẠN

1. Phương pháp đếm tế bào dòng chảy có thể cho kết quả sai nếu điều chỉnh máy đếm tế bào không phù hợp, nếu mức bù huỳnh quang rò rỉ không phù hợp và nếu định vị các vùng không cẩn thận.
2. Tốt nhất là sử dụng kỹ thuật ly giải RBC có bước rửa vì thuốc thử này chưa được tối ưu hóa cho các kỹ thuật ly giải "không rửa".
3. Sẽ thu được kết quả chính xác và có thể tái lặp nếu sử dụng quy trình theo tờ hướng dẫn kỹ thuật và phù hợp với biện pháp xét nghiệm hợp lý.
4. Kháng thể cộng hợp của thuốc thử này được hiệu chuẩn để đưa ra tỷ lệ tín hiệu đặc hiệu/tín hiệu không đặc hiệu tốt nhất. Do đó, điều quan trọng là phải tuân thủ tỷ lệ thể tích thuốc thử/thể tích mẫu trong mỗi xét nghiệm.
5. Trong trường hợp tăng bạch cầu, hãy pha loãng máu trong PBS để thu được giá trị xấp xỉ 5 x 10^9 bạch cầu/L (14).
6. Trong một số tình trạng bệnh, chẳng hạn như suy thận nặng hoặc bệnh rối loạn máu, hồng cầu có thể ly giải chậm, ly giải không hoàn toàn, hoặc thậm chí là không thể ly giải. Trong trường hợp này, bạn nên phân lập tế bào đơn nhân bằng phương pháp ly tâm phân lớp theo tỷ trọng (ví dụ: Ficoll) trước khi nhuộm (15).
7. Do cấu trúc nối tiếp của chất nhuộm huỳnh quang, PC5 cũng phát ánh sáng tại 575 nm. Đỉnh phát xạ thứ cấp này giữa các lô PC5 sẽ không giống nhau. Do đó, đối với phân tích nhiều màu, cần kiểm tra cẩn thận chất nền bù trừ khi thay đổi lô của một cộng hợp PC5.
8. Ở những bệnh nhân được điều trị bằng các liệu pháp kháng thể đơn dòng kháng người, khả năng phát hiện các kháng nguyên mục tiêu đặc hiệu có thể giảm đi hoặc không xảy ra do bị kháng thể điều trị chặn một phần hoặc toàn bộ.

9. Phải diễn giải kết quả CD5-PC5 dựa trên toàn bộ các dấu hiệu lâm sàng của bệnh nhân, bao gồm: triệu chứng, tiền sử lâm sàng, dữ liệu từ các xét nghiệm khác và thông tin thích hợp khác.

Xem Phụ lục để biết ví dụ và tài liệu tham khảo.

NHÃN HIỆU

Beckman Coulter, logo cách điệu và các nhãn hiệu sản phẩm cũng như dịch vụ của Beckman Coulter nêu trong tài liệu này là nhãn hiệu hoặc nhãn hiệu đã đăng ký của Beckman Coulter, Inc. ở Hoa Kỳ và các quốc gia khác.

THÔNG TIN BỔ SUNG

Đối với bệnh nhân/người dùng/bên thứ ba tại Liên minh Châu Âu và ở các quốc gia có chế độ quản lý giống nhau (Quy định 2017/746/EU về Thiết bị y tế chẩn đoán In vitro); nếu xảy ra sự cố nghiêm trọng trong quá trình sử dụng thiết bị này hoặc do sử dụng thiết bị này, vui lòng báo cáo cho nhà sản xuất và/hoặc đại diện ủy quyền của nhà sản xuất cũng như cơ quan có thẩm quyền tại quốc gia của bạn.

Summary of Safety and Performance (Tóm tắt về an toàn và hiệu suất) có trong cơ sở dữ liệu EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

LỊCH SỬ SỬA ĐỔI

PHIÊN BẢN AC:	Ngày phát hành: Tháng 10 năm 2019

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AW	Tháng 05 năm 2022
Cập nhật để tuân thủ Chính sách ghi nhãn toàn cầu của Beckman Coulter và theo các yêu cầu IVD-R (EU) 2017/746:	
Bổ sung các phần	Số BSI 2797, Đối tượng sử dụng, Tính thích hợp về lâm sàng, Nồng độ, Độ chụm, Độ chính xác, Giới hạn trống và giới hạn phát hiện, Thông tin bổ sung, Lịch sử sửa đổi.
Bổ sung thông tin	Xem các phần Giới hạn
Cập nhật cách diễn đạt hoặc câu chữ	Xem các phần Quy trình, Hiệu suất, Giới hạn, Cảnh báo và Biện pháp phòng ngừa, Bảo quản và Độ ổn định.
Các phần bị xóa	Ví dụ về các ứng dụng lâm sàng, Thuốc thử, Khả năng tái lập trong phòng xét nghiệm, Độ tuyến tính
Các phần cập nhật	Mục đích sử dụng, Phân loại mối nguy hiểm theo GHS, Bằng chứng biến chất, Quy trình, Phụ lục.

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AX	Tháng 4 2023
Các phần cập nhật	Thêm tiếng Kazakh
Các phần cập nhật	Bảo quản và độ ổn định

Phiên bản sửa đổi	AY
Ngày sửa đổi	Tháng 5 2024
Đã cập nhật bản dịch	**Tính thích hợp về lâm sàng:**
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Phiên bản sửa đổi	AZ
Ngày sửa đổi	Tháng 7 2024
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Bảng chú giải các ký hiệu

Danh mục thuật ngữ ký hiệu có sẵn tại beckman.com/techdocs (số tài liệu B60062)

	Сипаттамалары
Ерекшелік	CD5
Клон	BL1a
Гибридома	SP2/0 x balb/c
Иммуноген	Lymphocytes from human thoracic duct
Иммунды глобулин	IgG2a
Түрлері	Тышқан
Тазарту	Үйірлік хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Молярлық қатынасы	PC5 / Ig: 0,5 - 1,5
λ қозу	488 нм
Эмиссияның жоғарғы шегі	670 нм
Буфер	PBS pH 7,2 + 2 мг / мл BSA және 0,1% NaN_3

Конъюгацияланған
IOTest антиденесі
CD5-PC5

REF A07754 100 сынақ; 1 мл, 10 мкл / сынақ

***In Vitro* диагностикасында пайдалануға арналған**

ПАЙДАЛАНУ МАҚСАТЫ

Бұл флуорохроммен конъюгацияланған антидене адамның биологиялық үлгілерінде CD5 антигеннің болуын көрсететін жасуша популяциясын ағын цитометриясы көмегімен сапалы және автоматтандырылмаған анықтауға мүмкіндік береді (төмендегі «Үлгілер» бөлімін қараңыз).

ҚАҒИДА

Бұл сынақ нақты моноклоналды антиденелердің лейкоциттер айқындайтын антигендік детерминанттармен байланысу қабілетіне негізделген.

Лейкоциттердің арнайы бояуы үлгіні IOTest реагентімен инкубациялау арқылы жүзеге асады. Сол кезде эритроциттер лизис арқылы шығарылады, ал осы процесс әсер етпейтін лейкоциттерге ағын цитометриясы арқылы талдау жасалады.

Ағын цитометрі жарық диффузиясы мен жасушалардың флуоресценттенуін өлшейді. Бұл гистограммада анықталған электронды терезеде қызығушылық популяциясын ажыратуға мүмкіндік береді, ол жарықтың ортогональды диффузиясын (бүйірлік шашырау немесе SS) және тар бұрышты жарықтың диффузиясын (тікелей шашырау немесе FS) байланыстырады. Цитометрде қолжетімді екі түрлі параметрді біріктіретін басқа гистограммаларды пайдаланушы таңдаған қолданбаға байланысты гейтинг кезеңінде тірек ретінде пайдалануға болады.

Оң боялған оқиғаларды боялмаған оқиғалардан ажырату үшін шектеулі жасушалардың флуоресценттенуіне талдау жүргізілді. Оның нәтижесі оң оқиғалардың гейтинг арқылы алынған барлық оқиғаларға қатынасының пайыздық көрсеткіші ретінде көрсетіледі.

МАҚСАТТЫ ПАЙДАЛАНУШЫ

Бұл өнім зертханалық жағдайда кәсіби пайдалануға арналған.

КЛИНИКАЛЫҚ МАҢЫЗЫ

CD5-PC5 – ағын цитометриясы арқылы CD5 антигенін экспрессиялайтын жасушаларды сәйкестендіру және сипаттау үшін пайдаланылатын CD5 антиденесі. Бұл өнімді жалғыз өзін пайдаланып қандай да бір диагностикалық қорытынды жасау мүмкін емес және жасауға арналмаған.

Басқа маркерлермен бірлесіп пайдаланылғанда, бұл өнімді келесі функциялардың біреуінде немесе бірнешеуінде пайдалануға болады:

- Гемопоэтикалық неоплазмаға күдікті гематологиялық аномальды пациенттерді дифференциалды диагностикалауға көмектесу және белгілі гемопоэтикалық неоплазмасы бар пациенттерді бақылау үшін.
- Гемопоэтикалық жаңа ісігі бар пациенттерге болжау жасауға көмектесу.

Келесі анықтамаларды қараңыз:

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

ҮЛГІЛЕР

Көктамыр қанын антикоагулянт ретінде EDTA тұзы бар стерильді түтіктердің көмегімен алу керек.

Үлгілерді бөлме температурасында (18–25°C) сақтау керек және оларды шайқауға болмайды. Үлгілерді сынақ үлгісін алмастан бұрын жеңіл араластыру жолымен гомогендеу керек.

Үлгілерді көк тамырды тескен соң 24 сағат ішінде талдау қажет.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Нақты топтама бойынша талдау сертификатын мына сайттан қараңыз www.beckman.com.

ЕСКЕРТУ ЖӘНЕ САҚТЫҚ ШАРАЛАРЫ

1. Жарамдылық мерзімі өткеннен кейін реагентті қолдануға болмайды.
2. Қатыруға болмайды.
3. Оны пайдаланбас бұрын, температурасының бөлме температурасына (18–25°C) жетуін күтіңіз.
4. Жарық әсерін азайтыңыз.
5. Реагенттердің микробтармен ластануына жол бермеңіз немесе жалған нәтижелер орын алуы мүмкін.

6. Құрамында натрий азиды бар антидене ерітінділермен (NaN_3) жұмыс істегенде абай болу керек. Ішке қабылдамаңыз. Теріге, шырышты қабыққа және көзге тиігізбеңіз.

   Оған қоса, қышқылды ортада натрий азиды ықтимал қауіпті азотты сутек қышқылын түзуі мүмкін. Оны жою қажет болған жағдайда реагентті алдымен судың көп мөлшерінде сұйылтып, артынан кәріз жүйесіне төгуге кеңес беріледі. Осылайша, натрий азидының металл құбырларда жиналуын болдырмай, жарылыс қаупінің алдын алуға болады.

7. Қанның барлық үлгілері ықтимал жұқпалы деп есептелуі және сақтықпен өңделуі (атап айтқанда: қорғаныс қолғабын, халат және көзілдірік кию) керек.
8. Ешқашан оны аузыңызға құймаңыз және үлгілерді теріге, шырышты қабыққа және көзге тигізбеңіз.
9. Өңдеу үшін пайдаланылатын қан түтіктері мен бір реттік материалдарды өртеуге арналған арнайы контейнерлерге тастау керек.
10. Реагенттер мен қалдықтар жергілікті талаптарға сәйкес жойылуы тиіс.

GHS ҚАУІПТЕР КЛАССИФИКАЦИЯСЫ

Қауіпті деп жіктелмейді

SDS Қауіпсіздік парағы beckmancoulter.com/techdocs мекенжайы бойынша қолжетімді

САҚТАУ ЖӘНЕ ТҰРАҚТЫЛЫҚ

Құтыны ашпай тұрып және оны ашқаннан кейін, бұл реагентті 2–8°C температурада жарықтан қорғалған жерде сақтау керек.

Тұрақтылық зерттеуіне сәйкес жабық күйіндегі сауыт сөресінің жарамдылық мерзімі: 1095 күндер.

Ашық құтының тұрақтылығы: реагент 180 күн бойы тұрақты болады.

ЗАҚЫМДАЛУ БЕЛГІЛЕРІ

Реагенттердің сыртқы түрінің кез келген өзгерісі олардың зақымдалғандығын көрсетуі мүмкін және реагентті пайдаланбаған жөн.

Қосымша ақпарат алу үшін немесе зақымдалған өнімді алған жағдайда 800-742-2345 (АҚШ немесе Канада) арқылы Beckman Coulter тұтынушыларға қызмет көрсету орталығына қоңырау шалыңыз немесе жергілікті Beckman Coulter компаниясының өкіліне хабарласыңыз.

МАЗМҰНЫ

Натрий азиді консерванты металдан жасалған құбыр желілерінде жарылғыш қосылыстар түзуі мүмкін. NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76) (NIOSH бюллетенін қараңыз: азидтердің жарылу қаупі (16.08.1976)).
Азид қосылыстарының ықтимал түзілуін болдырмау үшін сұйылтылмаған реагентті жойғаннан кейін су құбырларын шайыңыз. Натрий азидін жою тиісті жергілікті ережелерге сәйкес жүзеге асырылуы тиіс.

ҚАЖЕТТІ, БІРАҚ ЖИНАҚПЕН БІРГЕ ЖЕТКІЗІЛМЕГЕН МАТЕРИАЛДАР

- Үлгі алу түтіктері және үлгі алу үшін қажетті материал.
- 10, 100 және 500 мкл ерітінділерге арналған бір реттік ұшы бар автоматты тамызғыштар.
- Эритроциттер гемолизіне арналған пластикалық түтіктер.
- Лизистен кейін жуу әдісі пайдаланылатын эритроцит лизисінің реагенті. Мысалы: VersaLyse (Сілт A09777).
- Лейкоцит фиксация реагенті. Мысалы: IOTest 3 бекіту ерітіндісі (A07800 қараңыз).
- Изотиптік бақылау PC5: IOTest реагенті (анық. A09148).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрий фосфаты; 0,145 M натрий хлориді; pH 7,2).
- Центрифугалау
- Автоматты араластырғыш (араластырғыш түрі).
- Ағын цитометрі.

VERSALYSE РЕАГЕНТІ КӨМЕГІМЕН ОРЫНДАЛАТЫН ПРОЦЕДУРА

Әрбір талданатын үлгі үшін сынақ түтігіне қосымша, жасушалар изотиптік бақылаудың қатысуымен араласатын бір бақылау түтігін пайдалану ұсынылады (анық. A09148).

1. Әрбір түтікке 10 мкл арнайы конъюгацияланған IOTest антиденесін және, қажет болса, әрбір сынақ түтігіне 10 мкл изотиптік бақылауды қосыңыз.
2. Әр түтікке сынақ үлгісінің 100 мкл қосыңыз. Түтіктерді абайлап араластырыңыз.
3. Жарықтан қорғалған бөлме температурасында (18–25°C) 15–20 минут инкубациялаңыз.
4. Содан соң қызыл жасушалардың лизисін орындаңыз. VersaLyse (анық. A09777) парақшасын қарап, жоспардан тыс дайындалған 1 мл «Бекіту және еріту» қоспасын қосудан тұратын «ілеспе бекітумен» деп аталатын процедураны орындаңыз. Бір секунд дереу араластырыңыз және жарықтан қорғалған бөлме температурасында 10 минут бойы инкубациялаңыз.
5. 150 x г шамасында 5 минут бойы бөлме температурасында центрифугалаңыз.
6. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастаңыз.
7. 3 мл PBS ерітіндісін пайдаланып, жасуша массасын қайта ерітіңіз.
8. 5-қадамды қайталаңыз.
9. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастап, жасуша массасын төмендегіні қолдану арқылы қайта ерітіңіз:

- Егер препараттар 24 сағаттан аз сақталатын болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне 0,1% формальдегид қосылады. (0,1% формальдегидті PBS ерітіндісі 12,5 мкл IOTest 3 бекіту ерітіндісін (анық. A07800) 10 еселік концентрациясында 1 мл PBS ерітіндісін сұйылту арқылы алуға болады).

- Егер 2 сағат ішінде талдануы керек болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне формальдегид қосылмайды.

Ескертпе: барлық жағдайда препараттарды 2–8°C температурада, күн көзінен алыс жерде сақтау керек.

КҮТІЛЕТІН МӘНДЕР

Біздің зертханаларда 25 тиісті дені сау донорлардан жаңа алынған қан үлгілері жоғарыда сипатталған реагентпен өңделді. Осы реагентпен қызығушылық тудыратын оң оқиғаларды санау үшін алынған нәтижелер төмендегі кестеде келтірілген:

Оңтайлы нысана	Сан	Орташа мән (%)	SD	CV (%)
Лимфоциттер	25	71,40	9,45	13,23

Бұл мәндер тек ұсыну үшін арналған. Әр зертхана қалыпты донорлардың жергілікті популяциясынан күтілетін өзіндік мәндерді белгілеуі керек.

ӨНІМДІЛІК

Өнімділік жөніндегі деректер 24 сағаттық үлгілерді пайдаланып, жоғарыда сипатталған процедура арқылы алынады. Бұл үлгілер алдын ала антикоагулянт ретінде EDTA тұзы арқылы стерильді түтіктерге жиналады. Талдау иммундық бояудан соң 2 сағат ішінде жасалады.

ЕРЕКШЕЛІГІ

CD5 молекуласы жетілген Т лимфоциттерінің бетінде, сондай-ақ тимоциттердің көпшілігі арқылы және В лимфоциттердің субпопуляциясы арқылы көрінеді (11,12,13). CD5 молекуласы BSR белсендірілуін бәсеңдететін және салдарынан аутореакциялық қабілетті (аутоиммундық жауапты) азайтатын терминалды дезоксинуклеотидилтрансфераза (TdT) ферментінің болмауы себебінен В жасушалардың IgM бөліп шығаратын субпопуляциясында көрінеді. Екінші жағынан, Т жасушалары В жасушаларына қарағанда CD5 молекуласының жоғарырақ деңгейлерін көрсетеді. Күшті белсендіру әрекеті кезінде CD5 Т жасушаларда белсендіріледі. Тимусте CD5 айқындалуымен және Т жасушалардың өз пептидттерімен әрекет ету күшімен корреляция болады. CD5 айқындалуы гранулоциттерде, моноциттер мен тромбоциттерде табылмады (13). BL1a моноклоналды антиденесі 1986 жылы Англияның Оксфорд қаласында өткен 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens («Адам лейкоциттерінің дифференциация антигендері» атты 3-ші HLDA семинары) кезінде CD5 антигеніне жатқызылды (WS коды: 520, Т бөлімі) (11,12).

ДӘЛДІК

Оң мәндердің пайызы жаңа алынған қанды қолдану арқылы анықталды. Әрбір үлгі CD5-PC5 моноклоналды антидене реагентінің 2 топтамасын пайдаланып 2 аспапта 1 күн бойы күніне екі рет 4 рет талданды. Өлшемдер (% оң) Navios ағын цитометрінде жүргізілді. Талдау CLSI EP5-A2 әдісі негізінде жүргізілді: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Сандық өлшеу әдістерінің дәлдік өнімділігін бағалау).

Біздің қабылдау критерийлері әрбір популяция үшін өлшенген оң оқиғалардың санына байланысты:

- Оң оқиға болса <1500, CV <15%
- Оң оқиға болса >1500, CV <10%

Лимфоциттер							
Оң оқиғалар саны (Орташа мән) = 2823							
	Аралық оператор	Цитометраралық	Топтама ішілік	Топтама аралық	Жүгіру арасында	Жүгіру ішінде	Жалпы
CV (%)	0,23	0,40	1,00	0,22	0,63	0,73	1,10
НӘТИЖЕЛЕР	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ДҰРЫСТЫҚ

CD5-PC5 дұрыстығы Navios ағын цитометрінде өңделген жаңа алынған қан үлгілерінің жинағындағы, предикат ретінде анықтамалық реагентпен нәтижелерді салыстыру арқылы бағаланған. Сынақ пен анықтамалық реагент арасындағы ауытқу, сынақ нәтижелері арасындағы айырмашылық негізінде анықталған. Егер қателік рұқсат етілген қателер ауқымында болса немесе p-мәні айтарлықтай айырмашылықты көрсетпесе (>0,05), онда екі реагенттің сынау нәтижелері баламалы болып саналады.

Алынған нәтижелер келесі кестеде толық көрсетілген:

Донорлар саны = 25				
Оңтайлы нысана	Орташа мән Δ	Δ % Жасуша критерийлері	p-мәні	НӘТИЖЕЛЕР
Лимфоциттер	0,90	<5	0,001	PASS

БОС СЫНАМА ШЕГІ ЖӘНЕ АНЫҚТАУ ШЕГІ

Зерттеу CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, клиникалық зертханалық өлшеу процедураларын анықтау мүмкіндігін бағалау) нұсқауына сәйкес жүргізілді. Анықтау шегі (LOD) – бұл рет-ретімен анықтауға болатын аналиттің ең төмен концентрациясы. Алынған нәтижелер келесі кестеде жинақталған:

Positive Target	Бос сынама шегі (жасуша/мкл)	Анықтау шегі (жасуша/мкл)
Лимфоциттер	4	6

ШЕКТЕУЛЕР

1. Цитометр дұрыс бапталмаған, флуоресценттенудің ағып кетуі дұрыс өтелмеген және аймақтар мұқият орналастырмаған жағдайда, ағын цитометриясы қате нәтижелер беруі мүмкін.
2. RBC лизис әдісін жуу қадамымен пайдаланған жөн, себебі бұл реагент «жуусыз» лизис әдістері үшін оңтайландырылмаған.
3. Жүргізілген процедуралар техникалық нұсқау брошюрасына сәйкес және тиісті зертханалық тәжірибемен үйлесімді болған жағдайда ғана дұрыс, әрі жаңғыртылуы мүмкін нәтижелерді алуға болады.
4. Осы реагенттің конъюгацияланған антиденесі арнайы сигнал мен арнайы емес сигналдың ең жақсы қатынасын қамтамасыз ететіндей калибрленген. Сондықтан әрбір сынақты жүргізгенде реагент көлемінің үлгі көлеміне қатынасын сақтау маңызды.
5. гиперлейкоцитоз жағдайында шамамен 5 x 10^9 лейкоцит/л (14) мәнін алу үшін PBS ерітіндісінде қанды сұйылтыңыз.

6. Кейбір жіті бүйрек жеткіліксіздігі немесе гемоглобинопатия сияқты аурулар жағдайында, эритроциттер лизисі баяу, толық емес немесе тіпті мүмкін емес болуы мүмкін. Бұл жағдайда бояудан бұрын тығыздық градиентін (мысалы, Ficoll) пайдаланып мононуклеарлы жасушаларды оқшаулап алу ұсынылады (15).
7. Сондай-ақ флуорохромның тандем құрылымының әсерінен PC5 575 нм жарық шығарады. Екінші реттік эмиссияның бұл шыңы PC5 бір топтамадан екінші топтамаға дейін өзгереді. Сондықтан көп түсті талдау үшін компенсация матрицасын -PC5 конъюгат топтамасын өзгерту кезінде мұқият тексеру керек.
8. Адамға қарсы моноклоналды антиденелер терапиясымен емделген пациенттерде арнайы мақсатты антигендерді анықтау емдік антиденеңің ішінара немесе толық бұғатталуына байланысты төмендеуі немесе болмауы мүмкін.
9. Нәтижелер CD5-PC5 пациенттің жалпы клиникалық деректері тұрғысынан түсіндірілуге тиіс, соның ішінде: симптомдар, клиникалық анамнез, қосымша сынақтардың деректері және басқа тиісті ақпарат.

Мысалдар мен анықтамалар алу үшін қосымшаны қараңыз.

САУДА БЕЛГІЛЕРІ

Beckman Coulter, стильденген логотип, сонымен қатар Beckman Coulter өнім мен қызмет көрсету белгілері –— бұл АҚШ және басқа елдердегі Beckman Coulter, Inc. сауда белгілері немесе тіркелген сауда белгілері.

ҚОСЫМША АҚПАРАТ

Еуропалық Одақтағы және бірдей реттеу режимі (зертханалық жағдайдағы медициналық диагностикалық құрылғылар туралы 2017/746/ЕО қаулысы) бар елдердегі пациент/пайдаланушы/үшінші тарап үшін; егер осы құрылғыны пайдалану кезінде немесе оны пайдалану нәтижесінде елеулі оқиға орын алса, өндірушіге және/немесе оның уәкілетті өкіліне және ұлттық органыңызға хабарлаңыз.

Қауіпсіздік пен өнімділік бойынша қорытынды мәліметтер EUDAMED дерекқорында қолжетімді: ec.europa.eu/tools/eudamed.

Өзгерту тарихы

Белсенді құрамдас (АС) ҚАЙТА ҚАРАУ:	Шығарылған күні: Қазан 2019

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AW	Мамыр 2022 ж.
Beckman Coulter ғаламдық таңбалау саясатына және IVD-R (ЕО) 2017/746 талаптарына сәйкес жасалған жаңартулар:	
Қосылған бөлімдер	«BSI 2797 нөмірі», «Мақсатты пайдаланушы», «Клиникалық маңызы», «Концентрациясы», «Анықтық», «Дұрыстық», «Бос сынама шегі және анықтау шегі», «Қосымша ақпарат», «Өзгерту тарихы».
Қосылған ақпарат	«Шектеулер» бөлімінен қараңыз
Фразалар және типографиялық жаңартулар	«Процедура», «Өнімділік», «Шектеулер», «Ескерту және сақтық шаралары» «Сақтау және тұрақтылық» бөлімдерін қараңыз.
Жойылған бөлімдер	«Клиникалық қолдану мысалы», «Реагенттер», «Зертханаішілік жаңғыртылу», «Сызықтық»
Жаңартылған бөлімдер	«Пайдалану мақсаты», «GHS қауіптер классификациясы», «Зақымдалу белгілері», «Процедура», «Қосымша».

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AX	Сәуір 2023
Жаңартылған бөлімдер	Қазақ тілін қосу
Жаңартылған бөлімдер	Сақтау және тұрақтылық

Қайта қаралған нұсқасы	AY
Қайта қаралған күні	Мамыр 2024
Жаңартылған аудармалар	**Клиникалық маңызы:**
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Қайта қаралған нұсқасы	AZ
Қайта қаралған күні	Шілде 2024
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Таңбалар пернесі

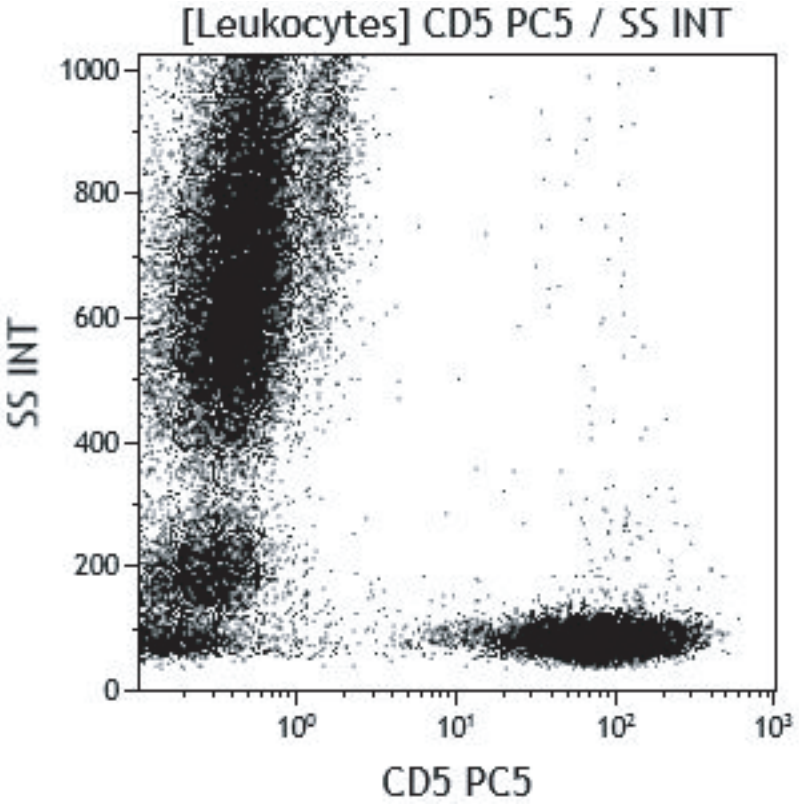
Таңбалар глоссарийі beckman.com/techdocs сайтында (құжат нөмірі: B60062) қолжетімді

APPENDIX

- EXAMPLES

Whole blood samples stained with IOTest CD5-PC5 Conjugated Antibody.

Acquisition is performed with a Beckman Coulter Navios flow cytometer equipped with the Navios analysis software.



REFERENCES

1. H. Lau, A. Nagy, S. K. Atwater, M. J. Cascio, R. S. Ohgami, "An integrated flow cytometry analysis of 286 mature B cell neoplasms identifies CD13 as a useful marker for diagnostic subtyping.", Int. J. Lab. Hematol. 40, 715–720 (2018).
2. Challagundla Pramoda, Jeffrey L. Jorgensen, Rashmi Kanagal-Shamanna, Inga Gurevich, Diane M. Pierson, Alessandra Ferrajoli, Steven R. Reyes, L. Jeffrey Medeiros, and Roberto N. Miranda, "Utility of Quantitative Flow Cytometry Immunophenotypic Analysis of CD5 Expression in Small B-Cell Neoplasms.", Archives of Pathology & Laboratory Medicine 138, no. 7 (July 2014): 903–9.
3. Jalal S. D., N. A. S. Al-Allawi, and A. A. S. Al Doski, "Immunophenotypic Aberrancies in Acute Lymphoblastic Leukemia from 282 Iraqi Patients.", International Journal of Laboratory Hematology 39, no. 6 (December 2017): 625–32.
4. Nelson Beverly P., Anmaar Abdul-Nabi, Charles Goolsby, Jane Winter, and LoAnn Peterson, "Characterization of Tissue Findings in Bone Marrow Biopsy Specimens with Small Monoclonal B-Cell Populations.", American Journal of Clinical Pathology 141, no. 5 (May 1, 2014): 687–96.
5. Miyoshi Hiroaki, Kensaku Sato, Maki Yoshida, Yoshizo Kimura, Junichi Kiyasu, Ayako Ichikawa, Yukinao Ishibashi, et al, "CD5-Positive Follicular Lymphoma Characterized by CD25, MUM1, Low Frequency of t(14;18) and Poor Prognosis: CD5-Positive Follicular Lymphoma.", Pathology International 64, no. 3 (March 2014): 95–103.
6. Durrieu Françoise, Franck Geneviève, Christine Arnoulet, Caren Brumpt, Jean-Claude Capiod, Michel Degenne, Jean Feuillard, et al, "Normal Levels of Peripheral CD19+CD5+ CLL-like Cells: Toward a Defined Threshold for CLL Follow-up-A GEIL-GOELAMS Study.", Cytometry Part B: Clinical Cytometry 80B, no. 6 (November 2011): 346–53.
7. Köhnke Thomas, Veronika K. Wittmann, Veit L. Bücklein, Felix Lichtenegger, Zlatana Pasalic, Wolfgang Hiddemann, Karsten Spiekermann, and Marion Subklewe, "Diagnosis of CLL Revisited: Increased Specificity by a Modified Five-Marker Scoring System Including CD200.", British Journal of Haematology 179, no. 3 (November 2017): 480–87.
8. Miao Yi, Lei Cao, Qian Sun, Xiao-Tong Li, Yan Wang, Chun Qiao, Li Wang, et al, "Spectrum and Immunophenotyping of 653 Patients with B-Cell Chronic Lymphoproliferative Disorders in China: A Single-Centre Analysis.", Hematological Oncology 36, no. 1 (February 2018): 121–27.
9. Niitsu N., M. Okamoto, J.-i. Tamaru, T. Yoshino, N. Nakamura, S. Nakamura, K. Ohshima, H. Nakamine, and M. Hirano, "Clinicopathologic Characteristics and Treatment Outcome of the Addition of Rituximab to Chemotherapy for CD5-Positive in Comparison with CD5-Negative Diffuse Large B-Cell Lymphoma.", Annals of Oncology 21, no. 10 (October 2010): 2069–74.
10. B. H. Davis, J.T. Holden, M. C. Bene, et al. "2006 Bethesda International Consensus Recommendations on the Flow Cytometric Immunophenotypic Analysis of Hematolymphoid Neoplasia: Medical Indications." Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 72B:S5-S13 (2007).
11. Horejsi, V., Angelisova, P., "Comparatives biochemical studies on the Workshop CD5 and CD3 panel antibodies", 1987, Leucocyte Typing III, White Cell Differentiation Antigens, McMichael A.J., et al., Eds., Oxford University Press, 197.
12. Disanto, J.P., Small, T.N., Dupont, B., Flomenberg, N., Knowles, R.W., "Analysis of human CD8 and CD5 antigens expressed on mouse L-lines", 1987, Leucocyte Typing III, White Cell Differentiation Antigens, McMichael A.J., et al., Eds., Oxford University Press, 210-214.
13. Reiter, C., "Cluster report: CD5", 1989, Leucocyte Typing IV, White Cell Differentiation Antigens. W. Knapp, et al., Eds., Oxford University Press, 331-332.1
14. H42-A2 Vol.27 No. 16. P30. Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry; Approved Guideline - Second Edition.
15. Ibrahim FF, Ghannam MM, Ali FM., "Effect of dialysis on erythrocyte membrane of chronically hemodialyzed patients"., 2002. Ren Fail., Nov;24(6):779-90.

IMMUNOTECH SAS 是贝克曼库尔特公司的旗下公司，地址：130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France，电话：+(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda
Alameda Rio Negro, 500, 15 andar, Torre B Alphaville Industrial
CEP 06.454-000 Barueri, São Paulo, Brasil
CNPJ: 42.160.812/0001-44 Telefone: 0800-771-8818

製造販売業者: ベックマン·コールター株式会社
〒135-0063
東京都江東区有明三丁目5 番7号
TOC有明ウエストタワー

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

 IMMUNOTECH SAS A Beckman Coulter Company, 130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France, +(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

BECKMAN COULTER
MADE IN France

CE 2797

IOTest
Conjugated Antibody
CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

TABLE OF CONTENTS

English . . . 2
Français (France) (fr-fr) . . . 6
Deutsche (de-de) . . . 10
Italiano (it-it) . . . 14
Español (es-es) . . . 18
Português (Portugal) (pt-pt) . . . 22
Dansk (da-dk) . . . 26
Svenska (sv-se) . . . 30
Norsk (nb-no) . . . 34
Suomi (fi-fi) . . . 38
Ελληνικά (el-gr) . . . 42
日本語 (ja-jp) . . . 46
中文（中国）(zh-cn) . . . 50
Lietuvių (lt-lt) . . . 54
Magyar (hu-hu) . . . 58
Polski (pl-pl) . . . 62
Čeština (cs-cz) . . . 66
Slovák (sk-sk) . . . 70
한국어 (ko-kr) . . . 74
Türkçe (tr-tr) . . . 78
Русский (ru-ru) . . . 82
Eestlane (et-ee) . . . 87
Hrvatski (hr-hr) . . . 91
Български (bg-bg) . . . 95
中文（台灣）(zh-tw) . . . 99
Română (ro-ro) . . . 103
Slovenščina (sl-si) . . . 107
Srpski (sr-rs) . . . 111
Latviešu (lv-lv) . . . 115
Українська (uk-ua) . . . 119
Português (Brasil) (pt-br) . . . 123
Nederlands (nl-nl) . . . 127
Tiếng Việt (vi-vn) . . . 131
Қазақша (kk-kz) . . . 135
APPENDIX . . . 139
REFERENCES . . . 140

© 2024 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

	Specifications
Specificity	CD10
Clone	ALB1
Hybridoma	NS1 x balb/c
Immunogen	Human leukaemic cells
Immunoglobulin	IgG1
Species	Mouse
Purification	Affinity chromatography
Fluorochrome	R Phycoerythrin (PE)
Molar ratio	PE / Ig: 0.5 - 1.5
λ excitation	488 nm
Emission Peak	575 nm
Buffer	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA and 0.1% NaN_3

IOTest
Conjugated Antibody
CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

For *In Vitro* Diagnostic Use

INTENDED USE

This fluorochrome-conjugated antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the CD10 antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

PRINCIPLE

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

Specific staining of the leucocytes is performed by incubating the sample with the IOTest reagent. The red cells are then removed by lysis and the leucocytes, which are unaffected by this process, are analyzed by flow cytometry.

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

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

INTENDED USER

This product is intended for laboratory professional use.

CLINICAL RELEVANCE

The CD10-PE is a CD10 antibody used to identify and characterize cells expressing the CD10 antigen by flow cytometry. This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.

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

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

See following references :

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

SAMPLES

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

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

The samples must be analyzed within 24 hours of venipuncture.

CONCENTRATION

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

WARNING AND PRECAUTIONS

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

6. Antibody solutions containing sodium azide (NaN_3) should be handled with care. Do not take internally and avoid all contact with the skin, mucosa and eyes.

   Moreover, in an acid medium, sodium azide can form the potentially dangerous hydrazoic acid. If it needs to be disposed of, it is recommended that the reagent be diluted in a large volume of water before pouring it into the drainage system so as to avoid the accumulation of sodium azide in metal pipes and to prevent the risk of explosion.
7. All blood samples must be considered as potentially infectious and must be handled with care (in particular: the wearing of protective gloves, gowns and goggles).
8. Never pipet by mouth, and avoid all contact of the samples with the skin, mucosa and eyes.
9. Blood tubes and disposable material used for handling should be disposed of in ad hoc containers intended for incineration.
10. Reagents and waste should be eliminated according to local requirements.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

SDS Safety Data Sheet is available at beckmancoulter.com/techdocs

STORAGE AND STABILITY

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

Closed vial shelf life per stability study: 1095 days.

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

EVIDENCE OF DETERIORATION

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

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

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).
To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

MATERIALS NEEDED BUT NOT SUPPLIED WITH KIT:

- Sampling tubes and material necessary for sampling.
- Automatic pipettes with disposable tips for 20, 100 and 500 µL.
- Plastic haemolysis tubes.
- Red cell lysis reagent with washing stage after lysis. For example: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leucocyte fixation reagent. For example : IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800).
- Isotype control PE : IOTest reagent (Ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0.01 M sodium phosphate; 0.145 M sodium chloride; pH 7.2).
- Centrifuge.
- Automatic agitator (Vortex type).
- Flow cytometer.

PROCEDURE WITH VERSALYSE REAGENT

For each sample analyzed, in addition to the test tube, one control tube can be added in which the cells are mixed in the presence of the isotype control (Ref. A07796).

1. Add 20 µL of specific IOTest conjugated antibody to each test tube and if necessary, 20 µL of the isotype control to each control tube.
2. Add 100 µL of the test sample to each tube. Vortex the tubes gently.
3. Incubate for 15 to 20 minutes at room temperature (18 – 25°C), protected from light.
4. Then perform lysis of the red cells. Refer to VersaLyse (Ref. A09777) leaflet and follow preferably the procedure called “with concomitant fixation”, which consists of adding 1 mL of the “Fix-and-Lyse” mixture prepared extemporaneously. Vortex immediately for one second and incubate for 10 minutes at room temperature, protected from light.
5. Centrifuge for 5 minutes at 150 x g at room temperature.
6. Remove the supernatant by aspiration.
7. Resuspend the cell pellet using 3 mL of PBS.
8. Repeat step 5.
9. Remove the supernatant by aspiration and resuspend the cell pellet using:

- 0.5 mL or 1 mL of PBS plus 0.1% of formaldehyde if the preparations are to be kept less than 24 hours. (A 0.1% formaldehyde PBS can be obtained by diluting 12.5 µL of the IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800) at its 10X concentration in 1 mL of PBS).
- 0.5 mL or 1 mL of PBS without formaldehyde, if the preparations are to be analyzed within 2 hours.

Note: In all cases, keep the preparations between 2 and 8°C and protected from light.

EXPECTED VALUES

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

Positive Target	Number	Mean (%)	SD	CV (%)
Granulocytes	25	98.75	2.26	2.29

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

PERFORMANCE

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

SPECIFICITY

The CALLA gene encodes a 100-kD type II transmembrane glycoprotein. The CALLA related DNA sequences are found on human chromosome 3J (10). CALLA, (CD10), was described as a surface enzyme expressed on early lymphoid progenitors and neutrophils, and identified as the zinc metalloprotease, neutral endopeptidase 24.11 (NEP, "enkephalinase"). The CD10 enzyme is known to hydrolyze a variety of biologically active peptides, including met-enkephalin, formyl-met-leu-phe (f-MLP), and substance P, which are involved in the process of cell differentiation and maturation.

The monoclonal antibody ALB1 was studied during the 1st HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens, held in Paris, France, 1982 (11).

PRECISION

The percent positive values were determined using Whole Blood. Each sample was run 4 times, twice a day for 1 day on 2 instruments using 2 lots of CD10-PE Monoclonal Antibody Reagents. Measurements (% positive) were made on Navios flow cytometer. Analysis was conducted based on the CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.

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

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

Granulocytes							
Number of positive events (Mean) = 6080							
	Inter-Operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-run	Intra-run	Total
CV (%)	0.04	0.04	0.06	0.01	0.01	0.04	0.07
RESULTS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURACY

The accuracy of CD10-PE was assessed by comparing the results with a reference reagent as the predicate on a set of whole blood samples run on a Navios flow cytometer. The bias between test and reference reagent was determined based on the difference between test results. If the bias is within the allowable error range or the p-value indicates no significant difference (> 0.05), then test results for the two reagents are considered as equivalent.

The results obtained are summarized in the following table below:

Number of donors = 25				
Positive Target	Mean Δ	Δ % Cell criteria	p-value	RESULTS
Granulocytes	0.16	<5	0.001	PASS

LIMIT OF BLANK AND LIMIT OF DETECTION

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

Positive Target	Limit of Blank (cell/µL)	Limit of Detection (cell/µL)
Granulocytes	2	4

LIMITATIONS

1. Flow cytometry may produce false results if the cytometer has not been aligned perfectly, if fluorescence leaks have not been correctly compensated for and if the regions have not been carefully positioned.
2. It is preferable to use a RBC lysis technique with a washing step, as this reagent has not been optimized for "no wash" lysis techniques.
3. Accurate and reproducible results will be obtained as long as the procedures used are in accordance with the technical insert leaflet and compatible with good laboratory practices.
4. The conjugated antibody of this reagent is calibrated so as to offer the best specific signal/non-specific signal ratio. Therefore, it is important to adhere to the reagent volume/sample volume ratio in every test.
5. In the case of a hyperleucocytosis, dilute the blood in PBS so as to obtain a value of approximately 5 x 10^9 leucocytes/L (12).
6. In certain disease states, such as severe renal failure or haemoglobinopathies, lysis of red cells may be slow, incomplete or even impossible. In this case, it is recommended to isolate mononucleated cells using a density gradient (Ficoll, for example) prior to staining (13).
7. In patients treated with anti-human monoclonal antibody therapies, detection of the specific targeted antigens may be diminished or absent due to partial or complete blocking by the therapeutic antibody.
8. The CD10-PE results should be interpreted in light of the total clinical presentation of the patient, including: symptoms, clinical history, data from additional tests, and other appropriate information.

See the Appendix for examples and references.

TRADEMARKS

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

ADDITIONAL INFORMATION

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

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

REVISION HISTORY

REVISION AE:	Release date : September 2019

REVISION	**Release Date**
AW	February 2022
Updates to comply with the Beckman Coulter Global labelling Policy and according to IVD-R (EU)2017/746 requirements:	
Added sections	BSI 2797 Number, Intended User, Clinical Relevance, Concentration, Precision, Accuracy, Limit of blank and limit of detection, Additional Information, Revision History.
Added information	See sections Limitations
Phrasing or typographic updates	See sections Procedure, Performance, Limitations, Warning and Precautions, Storage and Stability, Materials needed but not supplied with kit.
Removed sections	Example of clinical applications, Reagents, Intra-laboratory reproducibilty, Linearity
Updated sections	Intended Use, GHS Hazard Classification, Evidence of deterioration, Procedure, Appendix.

REVISION	**Release Date**
AX	June 2022
Added information	Add New Language - Kazakh

REVISION	**Release Date**
AY	April 2023
Updated sections	Storage and stability

Revised Version	AZ
Revised Date	May 2024
Updated Translations	**Clinical relevance :**
Updated sections	Revision History

Revised Version	BA
Revised Date	July 2024
Updated sections	Revision History

Symbols Key

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

	Spécifications
Spécificité	CD10
Clone	ALB1
Hybridome	NS1 x balb/c
Immunogène	Human leukaemic cells
Immunoglobuline	IgG1
Espèce	Souris
Purification	Chromatographie d'affinité
Fluorochrome	R Phycoerythrin (PE)
Rapport molaire	PE/Ig : 0,5 - 1,5
Excitation λ	488 nm
Pic d'émission	575 nm
Solution tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA et 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticorps conjugué CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Pour une utilisation en Diagnostic *In Vitro*

UTILISATION

Cet anticorps conjugué-fluorochrome permet l'identification qualitative non automatisée des populations de cellules exprimant l'antigène CD10 présent dans les échantillons biologiques humains à l'aide d'une cytométrie en flux (voir la section « Échantillons » ci-dessous).

PRINCIPE

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

Une coloration spécifique des leucocytes est effectuée en incubant l'échantillon avec le réactif IOTest. Les globules rouges sont ensuite supprimés par lyses et les leucocytes, qui ne sont pas affectés par cette procédure, sont analysés par cytométrie en flux.

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

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

UTILISATEUR PRÉVU

Ce produit est destiné à un usage professionnel en laboratoire.

PERTINENCE CLINIQUE

Le CD10-PE est un anticorps CD10 utilisé pour identifier et caractériser les cellules exprimant l'antigène CD10 par cytométrie en flux. Ce produit seul ne peut pas et n'est pas destiné à générer une quelconque conclusion diagnostique.

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

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

Voir les références suivantes :

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

ÉCHANTILLONS

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

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

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

CONCENTRATION

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

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Ne pas utiliser le réactif au-delà de la date de péremption.
2. Ne pas congeler.
3. Laisser le réactif passer à la température ambiante (18–25 °C) avant de l'utiliser.
4. Minimiser l'exposition à la lumière.
5. Éviter la contamination microbienne des réactifs, ou des résultats erronés peuvent se produire.
6. Les solutions d'anticorps contenant de l'azide de sodium (NaN_3) doivent être manipulées avec précautions. Ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau, les muqueuses et les yeux.

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

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

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux

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

CONSERVATION ET STABILITÉ

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

Durée de conservation du flacon fermé selon l'étude de stabilité : 1095 jours.

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

PREUVE DE DÉTÉRIORATION

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

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

CONTENU

Les agents de conservation à base d'azide de sodium peuvent former des composés explosifs dans les conduites d'évacuation métalliques. Voir le bulletin NIOSH : Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Dangers d'explosion de l'azide).
Pour éviter l'accumulation potentielle des composés d'azide, rincer les tuyaux d'évacuation à l'eau après l'élimination de réactifs non dilués. L'élimination de l'azide de sodium doit se faire conformément aux réglementations locales en vigueur.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI AVEC CE COFFRET:

- Les tubes d'échantillonnage et le matériel nécessaires pour l'échantillonnage.
- Pipettes automatiques aux embouts jetables pour 20, 100 et 500 µL.
- Tubes d'hémolyse en plastique.
- Réactif de lyse des érythrocytes avec étape de lavage post-lyse. Par exemple : VersaLyse (Réf. A09777).
- Réactif de fixation de leucocyte. Par exemple : Solution fixative IOTest 3 (Réf. A07800).
- Contrôle d'isotype PE : Réactif IOTest (Réf. A07796).
- Tampon (PBS : 0,01 M phosphate de sodium ; 0,145 M chlorure de sodium ; pH 7,2).
- Centrifugeuse.
- Agitateur automatique (type vortex).
- Cytomètre en flux.

PROCÉDURE AVEC RÉACTIF VERSALYSE

Pour chaque échantillon analysé, en plus du tube de test, un tube de contrôle peut être ajouté dans lequel les cellules sont mélangées en présence du contrôle isotypique (Réf. A07796).

1. Ajouter 20 µL d'anticorps conjugué spécifique IOTest à chaque tube de test et si nécessaire,20 µL de contrôle isotypique dans chaque tube de contrôle.
2. Ajouter 100 µL de l'échantillon à tester dans chaque tube. Vortexer doucement les tubes.
3. Incuber pendant 15 à 20 minutes à température ambiante (18–25 °C), à l'abri de la lumière.
4. Puis effectuer la lyse des globules rouges. Consulter la notice VersaLyse (Réf. A09777) et suivre de préférence la procédure appelée « with concomitant fixation » (avec fixation concomitante), qui consiste à ajouter 1 mL du mélange « Fixer et Lyser » préparé à n'importe quel moment. Vortexer immédiatement pendant une seconde et incuber pendant 10 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière.
5. Centrifuger pendant 5 minutes à 150 x g à température ambiante.
6. Retirer le surnageant par aspiration.
7. Remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant 3 mL de PBS.
8. Répéter l'étape 5.
9. Éliminer le liquide surnageant par aspiration et remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant :

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS plus 0,1 % de formaldéhyde si les préparations doivent être conservées moins de 24 heures. (Un PBS à 0,1 % de formaldéhyde peut être obtenu en diluant 12,5 µL de solution de fixation IOTest 3 (Réf. A07800) à 10 fois sa concentration dans 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sans formaldéhyde, si les préparations doivent être analysées dans les 2 heures.

Remarque : dans tous les cas, conserver les préparations entre 2 et 8 °C et à l'abri de la lumière.

VALEURS ATTENDUES

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

Cible positive	Nombre	Moyenne (%)	ET (Écart type)	CV (%)
Granulocytes	25	98,75	2,26	2,29

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

PERFORMANCE

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

SPÉCIFICITÉ

Le gène CALLA code pour une glycoprotéine transmembranaire de type II d'une masse moléculaire de 100 KDa. Les séquences d'ADN liées à CALLA se trouvent sur le chromosome humain 3J (10). L'antigène CALLA (CD10) a été décrit comme une enzyme de surface exprimée sur les progéniteurs lymphoïdes précoces et les neutrophiles, et identifié comme la métallo-protéase dépendante du zinc et l'endopeptidase neutre 24.11 (NEP, « enképhalinase »). L'enzyme CD10 est réputé hydrolyser une large variété de peptides biologiquement actifs, parmi lesquels la met-enképhaline, le formyl-met-leu-phe (f-MLP) et la substance P, qui sont impliqués dans le processus de différenciation et de maturation des cellules.

L'AcM ALB1 a été étudié au cours du 1er HLDA Workshop sur les Antigènes de Différenciation des Leucocytes Humains, de Paris, France, en 1982 (11).

PRÉCISION

Les valeurs de percentile positives ont été déterminées à l'aide de sang total. Chaque échantillon a été analysé 4 fois, deux fois par jour pendant 1 jour sur 2 instruments à l'aide de 2 lots de réactifs d'anticorps monoclonal CD10-PE. Les mesures (% positif) ont été effectuées sur le cytomètre en flux Navios. L'analyse a été conduite conformément au document CLSI Méthode EP5-A2 : Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Évaluation de la performance de précision des méthodes de mesures quantitatives).

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

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

Granulocytes							
Nombre d'événements positifs (Moyenne) = 6080							
	Inter-opérateur	Inter-cytomètre	Intra-lot	Inter-lot	Inter-analyse	Intra-analyse	Total
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
RÉSULTATS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUDE

L'exactitude de CD10-PE a été évaluée en comparant les résultats avec un réactif de référence comme prédicat sur un ensemble d'échantillons de sang total analysé sur un cytomètre en flux Navios. L'écart systématique entre le test et le réactif de référence a été déterminé en fonction de la différence entre les résultats du test. Si l'écart systématique se situe dans la plage d'erreurs autorisée ou que la valeur p n'indique aucune différence significative (> 0,05), alors les résultats du test pour les deux réactifs sont considérés comme équivalent.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Nombre de donneurs = 25				
Cible positive	Moyenne Δ	Critères de cellules Δ %	Valeur-p	RÉSULTATS
Granulocytes	0,16	<5	0,001	PASS

LIMITE DU BLANC ET LIMITE DE DÉTECTION

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

Positive Target	Limite du blanc (cellules/µL)	Limite de détection (cellules/µL)
Granulocytes	2	4

LIMITES

1. La cytométrie en flux peut produire des résultats erronés si le cytomètre n'a pas été parfaitement aligné, si les fuites de fluorescence n'ont pas été correctement compensées et si les régions n'ont pas été soigneusement positionnées.
2. Il est préférable d'utiliser une technique de lyse des GR comprenant une étape de lavage, comme ce réactif n'a pas été optimisé pour les techniques de lyse « sans lavage ».
3. Des résultats précis et reproductibles seront obtenus tant que les procédures utilisées sont en conformité avec la notice technique et compatibles avec les bonnes pratiques de laboratoire.
4. L'anticorps conjugué de ce réactif est étalonné de manière à offrir le meilleur ratio de signal spécifique/signal non spécifique. Par conséquent, il est important de respecter le ratio de volume de réactif/volume d'échantillon à chaque test.
5. En cas d'hyperleucocytose, diluer le sang dans du PBS de façon à obtenir une valeur d'approximativement 5×10^9 leucocytes/L (12).
6. Dans certains états pathologiques, tels qu'une grave insuffisance rénale ou une hémoglobinopathie, la lyse des globules rouges peut être lente, incomplète ou même impossible. Dans ce cas, il est recommandé d'isoler les cellules mononucléées à l'aide d'un gradient de densité (Ficoll, par exemple) avant la coloration (13).

7. Chez les patients traités par thérapie d'anticorps monoclonal anti-humain, la détection d'antigènes ciblés spécifiques peut être diminuée ou absente en raison d'un blocage partiel ou total par l'anticorps thérapeutique.
8. Les résultats de CD10-PE doivent être interprétés à la lumière du tableau clinique complet du patient, y compris : les symptômes, l'anamnèse, les résultats de tests supplémentaires et toute autre information appropriée.

Voir l'annexe pour des exemples et des références.

MARQUES

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

INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES

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

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

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

RÉVISION AE :	Date de publication : Septembre 2019

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

RÉVISION	**Date de publication**
AX	Juin 2022
Ajout d'informations	Ajout d'une nouvelle langue : kazakh

RÉVISION	**Date de publication**
AY	Avril 2023
Sections mises à jour	Conservation et stabilité

Version révisée	AZ
Date de révision	Mai 2024
Traductions mises à jour	**Pertinence clinique :**
Sections mises à jour	Historique des révisions

Version révisée	BA
Date de révision	Juillet 2024
Sections mises à jour	Historique des révisions

Légende des symboles

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

	Spezifikationen
Spezifität	CD10
Klon	ALB1
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	Human leukaemic cells
Immunglobulin	IgG1
Spezies	Maus
Aufreinigung	Affinitätschromatographie
Fluorochrom	R Phycoerythrin (PE)
Molverhältnis	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-Anregung	488 nm
Emissionspeak	575 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA und 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugierter Antikörper CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20 µL/Test

Zur Verwendung als *In vitro*-Diagnostikum

VERWENDUNGSZWECK

Dieser mit einem Fluorochrom konjugierte Antikörper ermöglicht mithilfe der Durchflusszytometrie eine qualitative und nicht automatisierte Identifikation von Zellpopulationen, die das CD10-Antigen exprimieren, das in biologischen Proben menschlicher Herkunft vorhanden ist (siehe den Abschnitt „Proben“ unten).

PRINZIP

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

Die spezifische Färbung der Leukozyten erfolgt durch Inkubation der Probe mit dem IOTest-Reagenz. Die Erythrozyten können dann mittels Lyse entfernt werden. Die von diesem Vorgang unberührten Leukozyten werden mittels Durchflusszytometrie analysiert.

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

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

VORGESEHENER BENUTZER

Dieses Produkt ist für den Einsatz durch Laborfachkräfte vorgesehen.

KLINISCHE RELEVANZ

CD10-PE ist ein CD10-Antikörper zur durchflusszytometrischen Identifikation und Charakterisierung von Zellen, die das CD10-Antigen exprimieren. Es ist weder möglich noch vorgesehen, alleine anhand dieses Produkts zu einer diagnostischen Schlussfolgerung zu kommen.

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

- Als Hilfsmittel zur Differenzialdiagnose von hämatologisch anormalen Patienten mit Verdacht auf ein hämatopoetisches Neoplasma und zur Überwachung von Patienten mit bestätigtem hämatopoetischem Neoplasma.
- Als Hilfsmittel bei der Prognose für Patienten mit hämatopoetischem Neoplasma.

Siehe die nachstehenden Literaturhinweise:

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

PROBEN

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

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

Die Proben müssen innerhalb von 24 Stunden analysiert werden.

KONZENTRATION

Siehe das chargenspezifische Analysezertifikat unter www.beckman.com.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Das Reagenz nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden.
2. Nicht einfrieren.
3. Vor der Verwendung auf Raumtemperatur (18–25 °C) bringen.
4. Vor Licht schützen.
5. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien muss vermieden werden, damit kein falsches Ergebnis erzielt wird.
6. Antikörperlösungen, die Natriumazid (NaN_3) enthalten, vorsichtig handhaben. Nicht einnehmen und Berührungen mit Haut, Schleimhäuten und Augen vermeiden.

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

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

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft

SDS Das Sicherheitsdatenblatt ist auf beckmancoulter.com/techdocs verfügbar.

LAGERUNG UND STABILITÄT

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

Haltbarkeit der geschlossenen Durchstechflasche gemäß Stabilitätsstudie: 1095 Tage.

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

VERFALLSANZEICHEN

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

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

INHALT

Natriumazid als Konservierungsmittel kann in metallischen Abflussleitungen explosive Verbindungen bilden. Siehe NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (NIOSH-Bulletin: Gefahr durch explosive Azide).
Um eine mögliche Akkumulation von Azidverbindungen zu vermeiden, die Abwasserrohre nach der Entsorgung von unverdünntem Reagenz mit Wasser spülen. Natriumazid muss entsprechend den örtlichen behördlichen Vorschriften entsorgt werden.

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT IM KIT ENTHALTENE ARTIKEL:

- Probenahmeröhrchen und für die Probenahme benötigte Materialien.
- Automatische Pipetten mit Einwegspritzen für 20, 100 und 500 µL.
- Hämolyseröhrchen aus Kunststoff.
- Reagenz zur Lyse der Erythrozyten mit Waschstufe nach der Lyse. Beispiel: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagenz zur Leukozytenfixierung. Beispiel: IOTest 3-Fixierungslösung (Ref. A07800).
- Isotypkontrolle PE: IOTest-Reagenz (Ref. A07796).
- Puffer (PBS: 0,01 M Natriumphosphat; 0,145 M Natriumchlorid; pH 7,2).
- Zentrifuge.
- Automatisches Mischgerät (Typ Vortex-Mischer).
- Durchflusszytometer.

VERFAHREN MIT VERSALYSE-REAGENZ

Für jede analysierte Probe kann zusätzlich zum Teströhrchen noch ein Kontrollröhrchen verwendet werden, in dem die Zellen in Gegenwart der Isotypkontrolle (Ref. A07796) gemischt werden.

1. 20 µL des spezifischen konjugierten IOTest-Antikörpers in jedes Teströhrchen und bei Bedarf 20 µL der Isotypkontrolle in jedes Kontrollröhrchen geben.
2. 100 µL der Testprobe in jedes Röhrchen geben. Die Röhrchen sachte mittels Vortex-Mischer mischen.
3. Bei Raumtemperatur (18–25 °C) 15 bis 20 Minuten lang lichtgeschützt inkubieren.
4. Im Anschluss die Erythrozyten lysieren. Das Merkblatt für VersaLyse (Ref. A09777) beachten und vorzugsweise das Verfahren mit dem Titel „with concomitant fixation“ (mit gleichzeitiger Fixierung) befolgen, das eine Zugabe von 1 mL des spontan zubereiteten „Fix-and-Lyse“(Fixierung und Lyse)-Gemisches vorsieht. Sofort eine Sekunde lang auf dem Vortex-Mischer mischen und 10 Minuten lang lichtgeschützt bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Bei 150 x g 5 Minuten lang bei Raumtemperatur zentrifugieren.
6. Den Überstand absaugen.
7. Das Zellpellet in 3 mL PBS resuspendieren.
8. Schritt 5 wiederholen.
9. Den Überstand absaugen und das Zellpellet resuspendieren mit:

- 0,5 mL oder 1 mL PBS plus 0,1 % Formaldehyd, wenn die Präparate weniger als 24 Stunden aufbewahrt werden sollen. (Ein 0,1%iges Formaldehyd-PBS-Gemisch kann hergestellt werden, indem 12,5 µL der IOTest 3-Fixierlösung (Ref. A07800) bei 10-facher Konzentration in 1 mL PBS verdünnt werden.)
- 0,5 mL oder 1 mL PBS ohne Formaldehyd, wenn die Präparate innerhalb von weniger als 2 Stunden analysiert werden sollen.

Hinweis: Die Präparate in jedem Fall zwischen 2 und 8 °C und vor Licht geschützt aufbewahren.

ERWARTETE WERTE

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

Positives Ziel	Nummer	Mittelwert (%)	SD	VK (%)
Granulozyten	25	98,75	2,26	2,29

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

LEISTUNG

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

SPEZIFITÄT

Das CALLA-Gen kodiert ein 100-kD-Typ-II-Glykoprotein. Die CALLA-relevanten DNA-Sequenzen finden sich im menschlichen Chromosom 3J (10). CALLA, (CD10), wurde als Oberflächenenzym beschrieben, dass auf frühen lymphoiden Progenitorzellen und Neutrophilen exprimiert und als Zink-Metalloprotease, neutrale Endopeptidase 24.11 (NEP, „Enkephalinase“) identifiziert wird. Es ist bekannt, dass das CD10-Enzym verschiedene biologisch aktive Peptide hydrolysiert, einschließlich Met-Enkephalin, Formyl-Met-Leu-Phe (f-MLP) und Substanz P, die am Prozess zur Zelldifferenzierung und -reifung beteiligt sind.

Der mAk ALB1 wurde 1982 auf dem 1. HLDA-Workshop über die Differenzierungsantigene der menschlichen Leukozyten in Paris, Frankreich untersucht (11).

PRÄZISION

Die prozentualen positiven Werte wurden unter Verwendung von Vollblut bestimmt. Jede Probe wurde zweimal täglich 1 Tag lang unter Verwendung von 2 Chargen der Reagenzien mit dem monoklonalen Antikörper CD10-PE 4 Mal auf 2 Instrumenten analysiert. Messungen (% positiv) wurden mit dem Navios-Durchflusszytometer vorgenommen. Die Analyse folgte den Vorgaben der CLSI-Methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Beurteilung der Präzisionsleistung von quantitativen Messmethoden).

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

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

Granulozyten							
Anzahl der positiven Ereignisse (Mittelwert) = 6080							
	Zwischen Bedienern	Zwischen Durchflusszytometern	Innerhalb einer Charge	Zwischen Chargen	Zwischen Läufen	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
VK (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
ERGEBNISSE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit von CD10-PE wurde anhand eines Vergleichs der Ergebnisse mit einem Referenzreagenz als Prädikat für einen Satz aus Vollblutproben bewertet, die auf einem Navios-Durchflusszytometer analysiert wurden. Die Abweichung zwischen Test- und Referenzreagenz wurde auf der Grundlage der Differenz zwischen Testergebnissen bestimmt. Sollte die Abweichung innerhalb des zulässigen Fehlerbereichs liegen oder der p-Wert keine signifikante Differenz (> 0,05) nahelegen, gelten die Testergebnisse für die beiden Reagenzien als gleichwertig.

Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Anzahl der Spender = 25				
Positives Ziel	Mittelwert Δ	Δ % Zellkriterien	p-Wert	ERGEBNISSE
Granulozyten	0,16	<5	0,001	PASS

GRENZWERT FÜR LEERWERT UND NACHWEISGRENZE

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

Positive Target	Grenzwert für Leerwert (Zelle/µL)	Nachweisgrenze (Zelle/µL)
Granulozyten	2	4

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Die Durchflusszytometrie kann falsche Ergebnisse liefern, wenn das Zytometer nicht perfekt ausgerichtet wurde, wenn Fluoreszenzlecks nicht korrekt kompensiert wurden und wenn die Bereiche nicht sorgfältig positioniert wurden.
2. Vorzugsweise sollte eine ERY-Lysetechnik mit einem Waschschritt angewandt werden, da dieses Reagenz nicht für Lysetechniken ohne Waschen optimiert wurde.
3. Genaue und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, sofern die verwendeten Verfahren der technischen Packungsbeilage entsprechen und mit der guten Laborpraxis kompatibel sind.
4. Der konjugierte Antikörper dieses Reagenzes ist so kalibriert, dass er das beste Verhältnis von spezifischem zu unspezifischem Signal bietet. Daher ist es wichtig, das Verhältnis Reagenzvolumen/Probenvolumen bei jedem Test einzuhalten.
5. Im Falle einer Hyperleukozytose das Blut in PBS verdünnen, um einen Wert von ungefähr 5 x 10^9 Leukozyten/L zu erhalten(12).

6. Bei bestimmten Krankheitszuständen, beispielsweise einem schweren Nierenversagen oder Hämoglobinopathien, kann die Lyse der Erythrozyten möglicherweise nur langsam oder unvollständig erfolgen oder sogar unmöglich sein. In diesem Fall empfiehlt es sich, vor dem Färben einkernige Zellen mittels eines Dichtegradienten (beispielsweise Ficoll) zu isolieren (13).
7. Bei Patienten, die sich Therapien mit anti-humanen monoklonalen Antikörpern unterziehen, kann das Nachweisvermögen für die spezifischen anvisierten Antigene aufgrund einer teilweisen oder vollständigen Blockierung durch die therapeutischen Antikörper vermindert sein oder gänzlich ausbleiben.
8. Die Ergebnisse für CD10-PE müssen unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde für den Patienten interpretiert werden, einschließlich Symptomen, klinischer Vorgeschichte, Daten zusätzlicher Tests sowie sonstiger relevanter Informationen.

Beispiele und Literaturhinweise siehe Anhang.

MARKEN

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

WEITERE INFORMATIONEN

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

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

REVISIONSVERLAUF

REVISION AE:	Freigabedatum: September 2019

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

REVISION	**Freigabedatum**
AX	Juni 2022
Informationen hinzugefügt	Neue Sprache hinzugefügt – Kasachisch

REVISION	**Freigabedatum**
AY	April 2023
Aktualisierte Abschnitte	Lagerung und Stabilität

Überarbeitete Version	AZ
Überarbeitungsdatum	Mai 2024
Aktualisierte Übersetzungen	**Klinische Relevanz:**
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Überarbeitete Version	BA
Überarbeitungsdatum	Juli 2024
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Liste der Symbole

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

	Specifiche
Specificità	CD10
Clone	ALB1
Ibridoma	NS1 x balb/c
Immunogeno	Human leukaemic cells
Immunoglobulina	IgG1
Specie	Topo
Purificazione	Cromatografia di affinità
Fluorocromo	R Phycoerythrin (PE)
Rapporto molare	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Eccitazione λ	488 nm
Picco di emissione	575 nm
Tampone	PBS pH 7,2 più 2 mg/mL di BSA e NaN_3 0,1%

IOTest

Anticorpo coniugato CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Per uso diagnostico *in vitro*

USO PREVISTO

Questo anticorpo coniugato con fluorocromo consente l'identificazione qualitativa e non automatizzata di popolazioni cellulari che esprimono l'antigene CD10 presente nei campioni biologici umani mediante citometria a flusso (vedere la sezione "Campioni" di seguito).

PRINCIPIO

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

La colorazione specifica dei leucociti viene eseguita incubando il campione con il reagente IOTest. Gli eritrociti vengono quindi rimossi tramite lisi e i leucociti, non interessati da questo processo, vengono analizzati tramite citometria a flusso.

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

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

UTENTE PREVISTO

Questo prodotto è destinato all'uso professionale in laboratorio.

RILEVANZA CLINICA

CD10-PE è un anticorpo CD10 utilizzato per identificare e caratterizzare le cellule che esprimono l'antigene CD10 mediante citometria a flusso. Questo prodotto da solo non può e non intende generare alcuna conclusione diagnostica.

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

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

Vedere i riferimenti seguenti:

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

CAMPIONI

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

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

I campioni devono essere analizzati entro 24 ore dalla venipuntura.

CONCENTRAZIONE

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

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza.
2. Non congelare.
3. Prima dell'uso, portare a temperatura ambiente (18-25 °C).
4. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce.
5. Evitare la contaminazione microbica dei reagenti, poiché potrebbe falsare i risultati.
6. Le soluzioni di anticorpi che contengono sodio azide (NaN_3) devono essere maneggiate con cura. Non ingerire ed evitare qualsiasi contatto con cute, mucose e occhi.

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

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

CLASSIFICAZIONE DEI PERICOLI GHS

Classificato come non pericoloso

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

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

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

Durata di conservazione della fiala chiusa secondo studi di stabilità: 1095 giorni.

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

INDICI DI DETERIORAMENTO

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

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

SOMMARIO

Il conservante sodio azide può formare composti esplosivi nelle tubazioni metalliche di scarico. Vedere il bollettino NIOSH: Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Bollettino dell'Istituto Nazionale per la Sicurezza e la Salute sul Lavoro: Rischio di esplosione del sodio azide).
Per evitare il possibile accumulo di azidi, lavare i tubi di scarico con acqua dopo lo smaltimento del reagente puro. Il sodio azide deve essere eliminato conformemente alle normative locali applicabili.

COMPONENTI NECESSARI MA NON FORNITI CON IL KIT:

- Provette per campioni e materiale necessario per il campionamento.
- Pipette automatiche con punte monouso per 20, 100 e 500 µL.
- Provette per emolisi in plastica.
- Reagente per lisi degli eritrociti con fase di lavaggio successiva alla lisi. Ad esempio: VersaLyse (Rif. A09777).
- Reagente di fissaggio dei leucociti. Ad esempio: Soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800).
- Controllo di isotipo PE: reagente IOTest (Rif. A07796).
- Tampone (PBS: 0,01 M di fosfato di sodio, 0,145 M di cloruro di sodio, pH 7,2).
- Centrifugare.
- Agitatore automatico (tipo Vortex).
- Citometro a flusso.

PROCEDURA CON REAGENTE VERSALYSE

Per ogni campione analizzato, oltre alla provetta del test, si può aggiungere una provetta di controllo in cui miscelare le cellule in presenza di controllo di isotipo (Rif. A07796).

1. Aggiungere 20 µL di anticorpo coniugato IOTest specifico in ogni provetta del test e, se necessario, 20 µL di controllo di isotipo in ogni provetta di controllo.
2. Aggiungere 100 µL di campione del test in ogni provetta. Agitare delicatamente le provette con Vortex.
3. Incubare a temperatura ambiente (18-25 °C) per 15-20 minuti, al riparo dalla luce.
4. Quindi eseguire la lisi degli eritrociti. Consultare il foglietto illustrativo di VersaLyse (Rif. A09777) e seguire preferibilmente la procedura denominata "with concomitant fixation" (con fissazione concomitante), che consiste nell'aggiungere 1 mL della miscela fissante e lisante preparata estemporaneamente. Miscelare immediatamente con Vortex per un secondo e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente, al riparo dalla luce.
5. Centrifugare per 5 minuti a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Rimuovere il surnatante mediante aspirazione.
7. Risospendere il pellet cellulare utilizzando 3 mL di PBS.
8. Ripetere il passaggio 5.
9. Eliminare il surnatante tramite aspirazione e risospendere il pellet cellulare tramite:

- 0,5 mL o 1 mL di PBS più 0,1% di formaldeide, se i preparati devono essere conservati per meno di 24 ore. È possibile ottenere PBS con formaldeide allo 0,1% diluendo 12,5 µL di soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800) alla sua concentrazione di 10X in 1 mL di PBS.
- 0,5 mL o 1 mL di PBS senza formaldeide, se i preparati devono essere analizzati entro 2 ore.

Nota: in tutti i casi, mantenere i preparati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce.

VALORI ATTESI

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

Target positivo	Numero	Media (%)	SD	CV (%)
Granulociti	25	98,75	2,26	2,29

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

PRESTAZIONI

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

SPECIFICITÀ

Il gene CALLA codifica una glicoproteina transmembranica da 100 kD di tipo II. Le sequenze di DNA connesse a CALLA sono presenti nel cromosoma umano 3J (10). CALLA, (CD10), è stato descritto come un enzima di superficie espresso nei progenitori linfoidi precoci e nei neutrofili e identificato come metalloproteasi a zinco, endopeptidasi neutra 24.11 (NEP, "encefalinasi"). L'enzima CD10 è noto per idrolizzare una vasta gamma di peptidi biologicamente attivi, inclusi met-encefalina, f-MLP (formil-metionil-leucil-fenilalanina) e sostanza P, coinvolti nel processo di differenziazione e maturazione delle cellule.

L'anticorpo monoclonale (MoAb) ALB1 è stato studiato nel corso del 1° HLDA Workshop sugli Antigeni di Differenziazione dei Leucociti Umani, tenutosi a Parigi, Francia, nel 1982 (11).

PRECISIONE

I valori percentuali positivi sono stati determinati utilizzando sangue intero. Ogni campione è stato analizzato 4 volte, due volte al giorno per 1 giorno su 2 strumenti utilizzando 2 lotti di reagenti per anticorpi monoclonali CD10-PE. Le misurazioni (% positive) sono state eseguite sul citometro a flusso Navios. L'analisi è stata condotta secondo il metodo EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Valutazione delle prestazioni di precisione dei metodi di misurazione quantitativa).

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

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

Granulociti							
Numero di eventi positivi (media) = 6080							
	Inter-operatore	Inter-citometro	Intra-lotto	Inter-lotto	Inter-analisi	Intra-analisi	Totale
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
RISULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURATEZZA

L'accuratezza di CD10-PE è stata valutata confrontando i risultati con un reagente di riferimento come predicato su una serie di campioni di sangue intero eseguiti su un citometro a flusso Navios. La distorsione tra il reagente in esame e quello di riferimento è stata determinata in base alla differenza tra i risultati del test. Se la distorsione rientra nell'intervallo di errore consentito o il valore p indica che non vi è una differenza significativa (> 0,05), allora i risultati dei test per i due reagenti sono considerati equivalenti.

I risultati ottenuti sono riepilogati nella tabella seguente:

Numero di donatori = 25				
Target positivo	Δ medio	Criteri cellulari Δ %	Valore p	RISULTATI
Granulociti	0,16	<5	0,001	PASS

LIMITE DEL BIANCO E LIMITE DI RILEVAZIONE

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

Positive Target	Limite del bianco (cellula/µL)	Limite di rilevazione (cellula/µL)
Granulociti	2	4

LIMITAZIONI

1. La citometria a flusso può produrre falsi risultati se il citometro non viene allineato perfettamente, le perdite di fluorescenza non vengono correttamente compensate e le regioni non vengono posizionate attentamente.
2. È preferibile utilizzare una tecnica di lisi RBC con una fase di lavaggio, in quanto il reagente non è stato ottimizzato per tecniche di lisi "senza lavaggio".
3. Seguendo le procedure descritte nel foglietto illustrativo con le informazioni tecniche, compatibili con le buone pratiche di laboratorio, è possibile ottenere risultati accurati e riproducibili.
4. L'anticorpo coniugato di questo reagente è calibrato in modo da offrire un rapporto segnale specifico/segnale non specifico ottimale. Di conseguenza, è importante rispettare il rapporto fra volume di reagente e volume di campione in tutti i test.
5. In caso di iperleucocitosi, diluire il sangue in PBS in modo da ottenere un valore di circa 5 x 10^9 leucociti/L (12).
6. In alcuni stati patologici, come insufficienza renale grave o emoglobinopatie, la lisi degli eritrociti può risultare lenta, incompleta o persino impossibile. In questo caso, è consigliabile isolare le cellule mononucleate usando un gradiente di densità (ad esempio, Ficoll) prima della colorazione (13).
7. In pazienti trattati con terapie a base di anticorpi monoclonali anti-umani, il rilevamento di antigeni specifici può essere minore o assente a causa del blocco parziale o completo da parte dell'anticorpo terapeutico.

8. I risultati CD10-PE devono essere interpretati alla luce del quadro clinico completo del paziente che comprende: sintomatologia, anamnesi clinica, risultati di altri test e altre informazioni appropriate.

Per esempi e riferimenti, vedere l'appendice.

MARCHI COMMERCIALI

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

INFORMAZIONI AGGIUNTIVE

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

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

CRONOLOGIA REVISIONI

REVISIONE AE:	Data di pubblicazione: settembre 2019

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

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AX	Giugno 2022
Aggiunta di informazioni	Aggiunta di una nuova lingua - Kazako

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AY	Aprile 2023
Sezioni aggiornate	Conservazione e stabilità

Versione revisionata	AZ
Data di revisione	Maggio 2024
Traduzioni aggiornate	**Rilevanza clinica:**
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Versione revisionata	BA
Data di revisione	Luglio 2024
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Legenda dei simboli

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

	Especificaciones
Especificidad	CD10
Clon	ALB1
Hibridoma	NS1 x balb/c
Inmunógeno	Human leukaemic cells
Inmunoglobulina	IgG1
Especie	Ratón
Purificación	Cromatografía de afinidad
Fluorocromo	R Phycoerythrin (PE)
Proporción molar	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Excitación λ	488 nm
Pico de emisión	575 nm
Tampón	PBS pH 7,2 más 2 mg/mL BSA y 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticuerpo conjugado CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20 µL/prueba

Para uso diagnóstico *in vitro*

USO PREVISTO

Este anticuerpo conjugado con un fluorocromo permite la identificación cualitativa y no automatizada de poblaciones de células que expresan el antígeno CD10 presente en muestras biológicas humanas mediante citometría de flujo (véase la sección «Muestras» más adelante).

PRINCIPIO

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

La tinción específica de los leucocitos se realiza incubando la muestra con el reactivo IOTest. A continuación, se eliminan los eritrocitos mediante lisis y los leucocitos, que no se ven afectados por este proceso, se analizan mediante citometría de flujo.

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

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

USUARIO PREVISTO

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

IMPORTANCIA CLÍNICA

El reactivo CD10-PE es un anticuerpo frente a CD10 utilizado para identificar y caracterizar células que expresan el antígeno CD10 mediante citometría de flujo. Este producto por sí solo no puede y no está diseñado para generar una conclusión diagnóstica.

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

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

Consulte las siguientes referencias:

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

MUESTRAS

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

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

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

CONCENTRACIÓN

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

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. No use el reactivo después de la fecha de caducidad.
2. No lo congele.
3. Déjelo a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su utilización.
4. Minimice el tiempo de exposición a la luz.
5. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, ya que esto puede provocar resultados falsos.
6. Las soluciones de anticuerpo que contienen azida sódica (NaN_3) deben manipularse con precaución. No ingerir y evitar todo contacto con la piel, la mucosa y los ojos.

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

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

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico

SDS La ficha de datos de seguridad está disponible en beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

Vida útil del vial cerrado según estudio de estabilidad: 1095 días.

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

SIGNOS DE DETERIORO

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

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

CONTENIDO

El conservante de azida sódica puede formar compuestos explosivos en las tuberías metálicas del desagüe. Véase el NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Boletín de NIOSH: Peligro de explosión con la azida) (16/8/76).
Para evitar la posible acumulación de compuestos de azida, limpie con agua los tubos de desagüe tras la eliminación del reactivo sin diluir. Para desechar la azida sódica deben seguirse las normativas locales adecuadas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS CON EL KIT:

- Tubos y material de muestras necesarios para el muestreo.
- Pipetas automáticas para puntas desechables de 20, 100 y 500 µL.
- Tubos de hemólisis de plástico.
- Reactivo de lisis de glóbulos rojos con estado de lavado después de la lisis. Por ejemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reactivo de fijación de leucocitos. Por ejemplo: Solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800).
- Control de isotipo PE: Reactivo IOTest (Ref. A07796).
- Tampón (PBS: 0,01 M de fosfato de sodio; 0,145 M de cloruro sódico; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de flujo.

PROCEDIMIENTO CON EL REACTIVO VERSALYSE

Para cada muestra analizada, además del tubo de ensayo, se puede añadir un tubo de control en el que se mezclan las células en presencia de los controles de isotipo (Ref. A07796).

1. Añadir 20 µL de anticuerpos conjugados específicos IOTest a cada tubo de muestra problema y, si es necesario, 20 µL del control de isotipo a cada tubo de control.
2. Añadir 100 µL de la muestra problema a cada tubo. Mezclar suavemente los tubos en el Vórtex.
3. Incube entre 15 y 20 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C) y protegido de la luz.
4. A continuación, lleve a cabo la lisis de los eritrocitos. Consulte la ficha técnica VersaLyse (Ref. A09777) y siga preferiblemente el procedimiento denominado «with conconmitant fixation» (con fijación concomitante), que consiste en añadir 1 mL de la mezcla «Fijar y lisar» preparada extemporáneamente. Agite inmediatamente con vórtex durante un segundo e incube durante 10 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Elimine el sobrenadante mediante aspiración.
7. Vuelva a suspender el sedimento celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita el paso 5.
9. Retire el sobrenadante mediante aspiración y vuelva a suspender el sedimento celular con:

- 0,5 mL o 1 mL de PBS más el 0,1 % de formaldehído si las preparaciones deben conservarse menos de 24 horas. (Se puede obtener un 0,1 % de PBS de formaldehído mediante la dilución de 12,5 µL de la solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800) a su concentración de 10x en 1 mL de PBS).
- 0,5 mL o 1 mL de PBS sin formaldehído si las preparaciones deben analizarse en un plazo de 2 horas.

Nota: En todos los casos, mantenga las preparaciones protegidas de la luz entre 2 y 8 °C.

VALORES ESPERADOS

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

Objetivo positivo	Cantidad	Media (%)	DE	CV (%)
Granulocitos	25	98,75	2,26	2,29

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

RENDIMIENTO

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

ESPECIFICIDAD

El gen de CALLA codifica una glicoproteína transmembrana tipo II de 100 kD. Las secuencias de ADN relacionadas con CALLA se encuentran en el cromosoma 3J humano (10). CALLA (CD10) se describió como una enzima de superficie expresada en las células progenitoras linfoides precoces y neutrófilos y se identifica como la metaloproteasa de zinc, endopeptidasa neutra 24.11 (NEP, «encefalinasa»). Se sabe que la enzima CD10 hidroliza una variedad de péptidos biológicamente activos, incluida met-encefalina, N-formil-metionil-leucil-fenilalanina (f-MLP) y sustancia P, que participan en el proceso de diferenciación y maduración celular.

AcMo ALB1 se estudió en el transcurso del 1º HLDA Workshop sobre Antígenos de Diferenciación de los Leucocitos Humanos, París, Francia, en 1982 (11).

PRECISIÓN

Los valores porcentuales positivos se determinaron utilizando sangre total. Cada muestra se procesó 4 veces, dos veces al día durante 1 día en 2 instrumentos utilizando 2 lotes de reactivos de anticuerpo monoclonal CD10-PE. Las mediciones (% de positivos) se realizaron en un citómetro de flujo Navios. El análisis se realizó según el método EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluación del rendimiento de la precisión de los métodos de medición cuantitativos).

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

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

Granulocitos							
Número de eventos positivos (media) = 6080							
	Entre operadores	Entre citómetros	Intralote	Entre lotes	Entre análisis	Intraanálisis	Total
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUD

La exactitud de CD10-PE se evaluó comparando los resultados con un reactivo de referencia como valor previsto en un conjunto de muestras de sangre total procesadas en un citómetro de flujo Navios. El sesgo entre la muestra problema y el reactivo de referencia se determinó en función de la diferencia entre los resultados de la prueba. Si el sesgo está dentro del rango de error permitido o el valor p indica una diferencia no significativa (> 0,05), entonces los resultados de la prueba de los dos reactivos se consideran equivalentes.

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

Número de donantes = 25				
Objetivo positivo	Δ medio	Criterios de Δ % de células	Valor p	RESULTADOS
Granulocitos	0,16	<5	0,001	PASS

LÍMITE DE BLANCO Y LÍMITE DE DETECCIÓN

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

Positive Target	Límite de Blanco (células/µL)	Límite de Detección (células/µL)
Granulocitos	2	4

LIMITACIONES

1. La citometría de flujo puede producir resultados falsos si el citómetro no se ha alineado a la perfección, si las fugas de fluorescencia no se han compensado correctamente y si las regiones no se han colocado con atención.
2. Es preferible utilizar una técnica de lisis de ERIT con un paso de lavado, ya que este reactivo no se ha optimizado para técnicas de lisis «sin lavado».
3. Se obtendrán resultados exactos y reproducibles siempre que los procedimientos utilizados sean conformes al folleto técnico y compatibles con las prácticas correctas de laboratorio.
4. El anticuerpo conjugado de este reactivo se calibra para ofrecer la mejor relación de señal específica/señal no específica. Por lo tanto, es importante cumplir la relación de volumen del reactivo/volumen de la muestra en cada prueba.
5. En caso de hiperleucocitosis, diluya la sangre en PBS para obtener un valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucocitos/L (12).
6. En algunos estados de la enfermedad, como el fallo renal grave o las hemoglobinopatías, la lisis de los eritrocitos puede ser lenta, incompleta o incluso imposible. En este caso, se recomienda aislar las células mononucleares por gradiente de densidad (por ejemplo, Ficoll) antes de la tinción (13).

7. En pacientes tratados con terapias con anticuerpos monoclonales anti-humanos, la detección de los antígenos diana específicos puede estar disminuida o ausente debido al bloqueo parcial o completo por el anticuerpo terapéutico.
8. Los resultados de CD10-PE deben interpretarse a la luz del cuadro clínico total del paciente, incluidos: síntomas, historial clínico, datos de pruebas adicionales y demás información pertinente.

Consulte el anexo para ver ejemplos y referencias.

MARCAS COMERCIALES

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

INFORMACIÓN ADICIONAL

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

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

HISTORIAL DE REVISIONES

REVISIÓN AE:	Fecha de publicación: Septiembre de 2019

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AW	Febrero de 2022
Actualizaciones para cumplir con la política de etiquetado global de Beckman Coulter y conforme a los requisitos del Reglamento (UE)2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro:	
Se han añadido secciones	Número BSI 2797, Usuario previsto, Rendimiento clínico, Concentración, Precisión, Exactitud, Límite de blanco y límite de detección, Información adicional, Historial de revisiones.
Información añadida	Véase la sección Limitaciones
Actualizaciones de redacción y tipográficas	Véanse las secciones Procedimiento, Rendimiento, Limitaciones, Advertencias y precauciones, Conservación y Estabilidad, Materiales necesarios pero no suministrados.
Se han eliminado secciones	Ejemplo de aplicaciones clínicas, Reactivos, Reproducibilidad intralaboratorio, Linealidad
Se han actualizado las secciones	Uso previsto, Clasificación de material peligroso según el SGA, Signos de deterioro, Procedimiento, Anexo.

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AX	Junio de 2022
Información añadida	Se ha añadido un nuevo idioma: kazajo

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AY	Abril 2023
Se han actualizado las secciones	Conservación y Estabilidad

Versión revisada	AZ
Fecha de revisión	Mayo 2024
Traducciones actualizadas	**Relevancia clínica:**
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Versión revisada	BA
Fecha de revisión	Julio 2024
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Lista de símbolos

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

	Especificações
Especificidade	CD10
Clone	ALB1
Hibridoma	NS1 x balb/c
Imunogénio	Human leukaemic cells
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Rato
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	R Phycoerythrin (PE)
Razão molar	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	575 nm
Tampão	PBS com pH 7,2 mais 2 mg/mL de ASB e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20 µL/teste

Para fins de diagnóstico *in vitro*

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Este anticorpo conjugado com fluorocromos permite a identificação qualitativa e não automatizada de populações de células que expressam o antigénio CD10 presente em amostras biológicas humanas utilizando citometria de fluxo (consulte a secção «Amostras» abaixo).

PRINCÍPIO

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

A coloração específica dos leucócitos é realizada incubando a amostra com o reagente IOTest. Em seguida, os glóbulos vermelhos são removidos por lise e os leucócitos, que não são afetados por este processo, são analisados por citometria de fluxo.

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

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

UTILIZADOR PREVISTO

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

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD10-PE é um anticorpo de CD10 utilizado para identificar e caracterizar células que expressam o antigénio CD10 por citometria de fluxo. Este produto, por si só, não pode e não se destina a gerar qualquer conclusão de diagnóstico.

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

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

Consulte as seguintes referências:

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

AMOSTRAS

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

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

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

CONCENTRAÇÃO

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

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não utilize o reagente depois da data de validade.
2. Não congele.
3. Aguarde que fique à temperatura ambiente (18–25 °C) antes da utilização.
4. Evite a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, caso contrário, poderão ocorrer falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos que contêm azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não ingira e evite qualquer contacto com a pele, as mucosas e os olhos.

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

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

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

Não classificado como perigoso

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

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

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

Vida útil em frasco fechado para estudo de estabilidade: 1095 dias.

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

EVIDÊNCIA DE DEGRADAÇÃO

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

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

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em sistemas de canalizações metálicas. Consulte o boletim do NIOSH: Explosive Azide Hazards (Perigos de explosão da azida) (16-8-76).
Para evitar a possível acumulação de compostos de azida, enxague as condutas de resíduos com água após a eliminação do reagente não diluído. A eliminação de azida sódica deve ser efetuada de acordo com os regulamentos locais adequados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostras e materiais necessários para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 20, 100 e 500 µL.
- Tubos de plástico para hemólise.
- Reagente de lise de glóbulos vermelhos com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controlo de isotipo PE de : reagente IOTest (Ref. A07796).
- Tampão (PBS: 0,01 M de fosfato de sódio; 0,145 M de cloreto de sódio; pH 7,2).
- Centrifugue.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM REAGENTE VERSALYSE

Além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controlo a cada amostra analisada, no qual as células são misturadas na presença do controlo de isotipo (Ref. A07796).

1. Adicione 20 µL de anticorpo conjugado com IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 20 µL dos controlos de isotipo a cada tubo de controlo.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos à temperatura ambiente (18–25 °C), protegido da luz.
4. Em seguida, realize a lise dos glóbulos vermelhos. Consulte o folheto VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento denominado «with concomitant fixation» (com fixação concomitante) que consiste em adicionar 1 mL da mistura de «Fixação e lise» preparada extemporaneamente. Agite imediatamente em vórtex durante um segundo e incube durante 10 minutos à temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g à temperatura ambiente.
6. Remova o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular com 3 mL de PBS.
8. Repita o passo 5.
9. Remova o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular com o seguinte:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído se as preparações se destinarem a ser mantidas por menos de 24 horas. (É possível obter PBS com 0,1% de formaldeído diluindo 12,5 µL de solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na respetiva concentração de 10X em 1 mL de SSTF).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído se as preparações se destinarem a ser analisadas no prazo de 2 horas.

Nota: Mantenha sempre as preparações entre 2 e 8 °C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

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

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP	CV (%)
Granulócitos	25	98,75	2,26	2,29

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

DESEMPENHO

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

ESPECIFICIDADE

O gene do CALLA codifica uma glicoproteína de 100 kD transmembranar de tipo II. As sequências de ADN relacionadas com o CALLA encontram-se no cromossoma humano 3J (10). O CALLA (CD10) foi descrito como uma enzima de superfície expressa em células progenitoras linfoides precoces e neutrófilos e identificado como a metaloprotease de zinco, endopeptidase neutra 24.11 (NEP, «encefalinase»). É sabido que a enzima do CD10 hidroliza uma variedade de peptídeos biologicamente ativos, incluindo metencefalina, formilmetionina-leucil-fenilanina (f-MLP) e a substância P, que estão envolvidas no processo de diferenciação e maturação de células.

O anticorpo monoclonal ALB1 foi estudado no 1° HLDA Workshop (Human Leucocyte Differentiation Antigens), que decorreu em Paris, France, em 1982 (11).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados utilizando sangue total. Cada amostra foi executada 4 vezes, duas vezes por dia para 1 dia em 2 instrumentos, utilizando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD10-PE. As medições (% de positivos) foram realizadas no citómetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação do desempenho de precisão dos métodos de medição quantitativos).

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

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

Granulócitos							
Número de eventos positivos (média) = 6080							
	Interoperador	Intercitómetro	Intralote	Interlote	Interprocessamento	Intraprocessamento	Total
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD10-PE foi avaliada através da comparação dos resultados com um reagente de referência como equivalente, num conjunto de amostras de sangue total executadas num citómetro de fluxo Navios. A tendência entre o teste e o reagente de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados do teste. Se a tendência se encontrar dentro do intervalo de erro permitido ou o valor p não indicar uma diferença significativa (>0,05), os resultados do teste de ambos os reagentes são considerados equivalentes.

Os resultados obtidos encontram-se resumidos na tabela abaixo:

Número de dadores = 25				
Alvo positivo	Δ médio	Critérios celulares de % Δ	Valor p	RESULTADOS
Granulócitos	0,16	<5	0,001	PASS

LIMITE DO BRANCO E LIMITE DE DETEÇÃO

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

Positive Target	Limite do branco (célula/µL)	Limite de deteção (célula/µL)
Granulócitos	2	4

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo poderá produzir falsos resultados se o citómetro não tiver sido perfeitamente alinhado, se as fugas de fluorescência não tiverem sido compensadas corretamente e se as regiões não tiverem sido cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível utilizar uma técnica de lise de RBC com um passo de lavagem, uma vez que este reagente não foi otimizado para técnicas de lise «sem lavagem».
3. Serão obtidos resultados exatos e reprodutíveis desde que os procedimentos utilizados estejam de acordo com o folheto técnico e cumpram as boas práticas laboratoriais.
4. O anticorpo conjugado deste reagente é calibrado para proporcionar a melhor relação entre sinal específico/sinal não específico. Por conseguinte, é importante respeitar a relação entre volume do reagente/volume da amostra em todos os testes.
5. No caso de uma hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (12).
6. Em determinados estados de doença, como insuficiência renal grave ou hemoglobinopatias, a lise de glóbulos vermelhos poderá ser lenta, incompleta ou até impossível. Neste caso, recomenda-se isolar células mononucleadas utilizando um gradiente de densidade (por exemplo, Ficoll) antes da coloração (13).

7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a deteção dos antigénios específicos visados pode ser reduzida ou inexistente devido ao bloqueio parcial ou total causado pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de CD10-PE devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, historial clínico, dados de testes adicionais e outras informações relevantes.

Consulte o Anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

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

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

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

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

HISTÓRICO DE REVISÕES

REVISÃO AE:	Data de lançamento: Setembro de 2019

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

REVISÃO	**Data de lançamento**
AX	Junho de 2022
Informações adicionadas	Adição de novo idioma – cazaque

REVISÃO	**Data de lançamento**
AY	Abril 2023
Secções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revista	AZ
Data de revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Versão revista	BA
Data de revisão	Julho 2024
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Legenda dos símbolos

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

	Specifikationer
Specificitet	CD10
Klon	ALB1
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	Human leukaemic cells
Immunoglobulin	IgG1
Arter	Mus
Oprensning	Affinitets-kromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molarforhold	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-magnetisering	488 nm
Emissionsspids	575 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA og 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugeret antistof CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Til *in vitro*-diagnostisk brug

TILSIGTET BRUG

Dette fluorokromkonjugerede antistof muliggør, ved hjælp af flowcytometri, kvalitativ og ikke-automatiseret identifikation af cellepopulationer, der udtrykker CD10-antigenet, som findes i humane biologiske prøver (se afsnittet ”Prøver” forneden).

PRINCIP

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

Den specifikke farvning af leukocytterne udføres ved inkubation af prøven med IOTest-reagenset. Erytrocytterne fjernes derefter med lysering, og leukocytterne, som ikke påvirkes af denne proces, analyseres ved flowcytometri.

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

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

TILSIGTET BRUGER

Dette produkt er beregnet til professionel brug i laboratoriet.

KLINISK RELEVANS

CD10-PE er et CD10-antistof, der anvendes til at identificere og karakterisere celler, der udtrykker CD10-antigenet ved flowcytometri. Dette produkt, anvendt alene, kan ikke og er ikke beregnet til at generere nogen diagnostisk konklusion.

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

- Til hjælp ved differentialdiagnosticering af hæmatologisk unormale patienter ved formodning om hæmatopoietisk neoplasme, samt til overvågning af patienter med kendt hæmatopoietisk neoplasme.
- Til hjælp ved prognosticering af patienter med hæmatologisk neoplasi.

Se følgende referencer:

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

PRØVER

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

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

Prøverne skal behandles inden for 24 timer efter venepunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analysecertifikat på www.beckman.com.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Brug ikke reagenset efter udløbsdatoen.
2. Må ikke nedfryses.
3. Bring det til stuetemperatur (18-25 °C) før brug.
4. Minimér eksponering for lys.
5. Undgå mikrobiel kontaminering reagenserne, idet det kan føre til fejlagtige resultater.
6. Antistofopløsninger, der indeholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsigtighed. Må ikke indtages, og undgå enhver kontakt med hud, slimhinder og øjne.

I syremedier kan natriumazid desuden danne den potentielt farlige hydrogenazid. Hvis det skal bortskaffes, anbefales det, at reagenset fortyndes i en stor mængde vand, inden det hældes i kloakken, for at undgå ophobning af natriumazid i metalrør og dermed forebygge risikoen for eksplosioner.

7. Alle blodprøver skal anses som potentielt smittefarlige og skal behandles forsigtigt (husk især at bruge beskyttelseshandsker, forklæde og beskyttelsesbriller).
8. Sug aldrig med munden, og undgå at prøverne kommer i kontakt med hud, slimhinde og øjne.
9. Blodprøvetagningsrør og engangsmateriale, der bruges i forbindelse med håndteringen, skal bortskaffes i ad hoc-beholdere, der er beregnet til bortskaffelse.
10. Reagenser og affald skal bortskaffes i henhold til gældende lokale krav.

GHS FAREKLASSIFIKATION

Ikke klassificeret som farlig

SDS Sikkerhedsdatablad er tilgængelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPBEVARING OG HOLDBARHED

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

Stabilitet i lukket hætteglas: 1095 dage.

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

TEGN PÅ FORRINGELSE

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

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

INDHOLD

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

PÅKRÆVEDE MATERIALER, SOM IKKE LEVERES MED SÆT:

- Prøvetagningsrør og materiale, der er påkrævet til prøvetagning.
- Automatiske pipetter med engangsspidser til 20, 100 og 500 µL.
- Plasthæmolyserør.
- Reagens til lysering af erytrocytter med vaskefase efter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens til leukocytfiksering. For eksempel: IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800).
- IsotypekontrolPE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumphosphat; 0,145 M natriumchlorid; pH 7,2).
- Centrifuge
- Automatisk omrører (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MED VERSALYSE-REAGENS

Der kan tilføjes et kontrolrør for hvert prøverør, der analyseres, hvormed cellerne blandes under isotype-kontrollerne (ref. A07796).

1. Tilføj 20 µL specifikt IOTest-konjugeret antistof til hvert prøverør og, om nødvendigt, 20 µL negativ kontrol til hvert kontrolprøverør.
2. Tilføj 100 µL af prøven til hvert prøverør. Vortex rørene forsigtigt.
3. Inkubér i 15 til 20 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C), beskyttet mod lys.
4. Udfør derefter analyse af de røde celler. Se brochure fra VersaLyse (ref. A09777) og følg den foretrukne procedure kaldet “med sideløbende fiksering”, som består i at tilsætte 1 mL af blandingen “Fix-and-Lyse”, der fremstilles samtidig. Vortex øjeblikkeligt i et sekund, og inkubér i 10 minutter ved stuetemperatur, beskyttet imod lys.
5. Centrifugér i 5 minutter ved 150 x g ved stuetemperatur.
6. Fjern supernatanten via aspiration.
7. Resuspender cellepelleten med 3 mL PBS.
8. Gentag trin 5.
9. Fjern supernatanten vha. aspiration, og resuspender cellepelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyd, hvis præparaterne skal opbevares mindre end 24 timer. (En formaldehyd-PBS på 0,1% kan opnås ved fortynding af 12,5 µL af IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800) ved dets 10X koncentration i 1 mL af PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uden formaldehyd, hvis præparaterne skal analyseres inden for 2 timer.

Bemærk: Præparaterne skal under alle omstændigheder beskyttes mod lys og opbevares ved 2-8 °C.

FORVENTEDE VÆRDIER

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

Positivt mål	Antal	Middelværdi (%)	SD	CV (%)
Granulocytter	25	98,75	2,26	2,29

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

YDEEVNE

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

SPECIFICITET

CALLA-genet koder et 100-kD type II transmembrant glycoprotein. CALLA-relaterede DNA-sekvenser er fundet på det humane kromosom 3J (10). CALLA, (CD10) blev beskrevet som et overfladeenzym udtrykt på tidlige lymfoide progenitorer og neutrofiler, og er identificeret som zink-metalloprotease, neutralt endopeptidase 24,11 (NEP, "enkephalinase"). CD10-enzymet er kendt for at hydrolisere en række biologisk aktive peptider, herunder met-enkefalin, formyl-met-leu-phe (f-MLP) og stoffet P, der er involveret i celledifferentierings- og -modningsprocessen.

Det monoklonale antistof ALB1 blev undersøgt under 1st HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (det første HLDA-seminar om humane leukocyt-differentieringsantigener) afholdt i Paris, Frankrig, 1982 (11).

PRÆCISION

De procentvise positive værdier blev bestemt ved anvendelse af fuldblod. Hver prøve blev kørt 4 gange, to gange dagligt i 1 dag, på 2 instrumenter med CD10-PE monoklonale antistofreagenser fra 2 lots. Målingerne (% positiv) blev foretaget på Navios-flowcytometer. Analysen blev udført i henhold til CLSI-protokollen EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering af kvantitative målemetoders præcisionsevne).

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

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

Granulocytter							
Antal positive hændelser (middelværdi) = 6080							
	Inter-operatør	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-kørsel	Intra-kørsel	I alt
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØJAGTIGHED

Nøjagtigheden af CD10-PE blev vurderet ved sammenligning af resultaterne med et referencereagens som prædikat på et sæt fuldblodsprøver, kørt på et Navios-flowcytometer. Bias mellem test- og referencereagens blev bestemt på basis af forskellen mellem testresultaterne. Hvis bias er inden for det tilladte fejlområde, eller hvis p-værdien ikke indikerer nogen signifikant forskel (> 0,05), anses testresultaterne for de to reagenser for at være ækvivalente.

De opnåede resultater opsummeres i nedenstående tabel:

Antal donorer = 25				
Positivt mål	Middelværdi Δ	Δ % cellekriterie	p-værdi	RESULTATER
Granulocytter	0,16	<5	0,001	PASS

GRÆNSE FOR BLANK OG DETEKTIONSGRÆNSE

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

Positive Target	Grænse for blank (celle/µL)	Detektionsgrænse (celle/µL)
Granulocytter	2	4

BEGRÆNSNINGER

1. Flowcytometri kan give forkerte resultater, hvis cytometeret ikke er perfekt justeret, hvis der ikke er blevet kompenseret korrekt for fluorescenslækager, eller hvis områderne ikke er blevet placeret omhyggeligt.
2. Det anbefales at anvende en RBC-lyseringsteknik med et vasketrin, da dette reagens ikke er blevet optimeret til "no wash"-lyseringsteknikker.
3. Der genereres nøjagtige og reproducerbare resultater, så længe de anvendte procedurer er i overensstemmelse med de tekniske anvisninger på indlæsgssedlen og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerede antistof for dette reagens kalibreres for at kunne tilbyde det bedste specifikke forhold mellem signal/ikke-specifikt signal. Det er derfor vigtigt at overholde forholdet mellem reagensvolumen og prøvevolumen i hver enkelt test.
5. I tilfælde af en hyperleukocytose skal blodet fortyndes i PBS for at opnå en værdi på ca. 5×10^9 leukocytter/L (12).
6. I visse sygdomstilstande, f.eks. alvorligt nyresvigt eller hæmoglobinopatier, kan lysering af røde celler være langsom, ufuldstændig eller endog umulig. I dette tilfælde anbefales det at isolere enkernede celler ved hjælp af en densitetsgradient (f.eks. Ficoll) forud for farvningen (13).
7. Hos patienter behandlet med anti-humane monoklonale antistofterapier, kan påvisning af de respektive specifikke antigener være formindsket eller fraværende, på grund af delvis eller fuldstændig blokering af det terapeutiske antistof.
8. CD10-PE-resultaterne bør fortolkes i lyset af patientens samlede kliniske præsentation, herunder symptomer, sygehistorie, data fra andre tests samt anden relevant information.

Se Tillæg for eksempler og referencer.

VAREMÆRKER

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

YDERLIGERE OPLYSNINGER

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

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

REVISIONSHISTORIK

REVISION AE:	Frigivelsesdato: september 2019

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

REVISION	**Udgivelsesdato**
AX	Juni 2022
Tilføjet information	Nyt sprog tilføjet – kasakhisk

REVISION	**Udgivelsesdato**
AY	April 2023
Opdaterede afsnit	Opbevaring og holdbarhed

Revideret version	AZ
Revisionsdato	Maj 2024
Opdaterede oversættelser	**Klinisk relevans:**
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Revideret version	BA
Revisionsdato	Juli 2024
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Symbolnøgle

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

	Specifikationer
Specificitet	CD10
Klon	ALB1
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	Human leukaemic cells
Immunglobulin	IgG1
Arter	Mus
Rening	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molförhållande	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ excitering	488 nm
Emissionstopp	575 nm
Buffert	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA och 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugerad antikropp CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

För *in vitro*-diagnostik

AVSEDD ANVÄNDNING

Denna fluorokromkonjugerade antikropp möjliggör kvalitativ och ej automatiserad identifiering av cellpopulationer som uttrycker CD10-antigenet som förekommer i humana biologiska prover med användning av flödescytometri (se avsnittet ”Prov” nedan).

PRINCIP

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

Specifik färgning av leukocyterna utförs genom att inkubera provet med IOTest-reagenset. De röda cellerna avlägsnas sedan via lysering och leukocyterna, som inte påverkas av denna process, analyseras med flödescytometri.

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

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

AVSEDD ANVÄNDARE

Denna produkt är avsedd för yrkesmässig laboratorieanvändning.

KLINISK RELEVANS

CD10-PE är en CD10-antikropp som används för att identifiera och egenskapsbestämma celler som uttrycker CD10-antigenen med hjälp av flödescytometri. Denna produkt kan inte och är inte avsedd för att ta fram en diagnostisk slutsats.

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

- Som hjälp vid differentialdiagnostisering av hematologiskt onormala patienter som misstänks ha en hematopoetisk tumör eller för övervakning av patienter med känd hematopoetisk tumör.
- Som hjälp vid prognostisering av patienter med blodsjukdomar.

Se följande referenser:

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

PROV

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

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

Proverna måste analyseras inom 24 timmar efter venpunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analyscertifikat på www.beckman.com.

VARNING OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Använd inte reagenset efter utgångsdatumet.
2. Får ej frysas.
3. Låt den komma till rumstemperatur (18–25 °C) före användning.
4. Minimera exponering för ljus.
5. Undvik mikrobiell kontaminering av reagens. Det kan leda till felaktiga resultat.
6. Antikroppslösningar som innehåller natriumazid (NaN_3) bör hanteras med försiktighet. Inta inte internt och undvik all kontakt med hud, slemhinnor och ögon.

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

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

RISKKLASSIFICERING ENLIGT GHS

Ej klassat som farligt

SDS Säkerhetsdatablad finns tillgängligt på beckmancoulter.com/techdocs

FÖRVARING OCH STABILITET

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

Hållbarhet för sluten ampull per stabilitetsstudie: 1095 dagar.

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

TECKEN PÅ FÖRSÄMRING

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

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

INNEHÅLL

Konserveringsmedlet natriumazid kan bilda explosiva föreningar i avloppsledningar av metall. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (76-8-16) (Bulletin från den amerikanska motsvarigheten till arbetsmiljöverket: Fara för azidexplosion).
För att undvika risken för ansamling av azidföreningar ska avloppsrören spolas igenom med vatten efter att outspädda reagenser har kasserats. Kassering av natriumazid måste ske i enlighet med tillämpliga lokala regler.

MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE FÖLJER MED KITET:

- Provrör och nödvändigt material för provtagning.
- Automatiska pipetter med engångsspetsar för 20, 100 och 500 µL.
- Hemolysrör av plast.
- Lyseringsreagens för röda blodceller med tvätt efter lyseringen. Till exempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens för leukocytfixering. Till exempel: IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800).
- Isotyp-kontroll PE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffert (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Centrifugera.
- Automatisk omrörare (Vortex-typ).
- Flödescytometer.

PROCEDUR MED VERSALYSE-REAGENS

För varje analyserat prov kan förutom provröret ett kontrollprovrör läggas till i vilket cellerna blandas i närvaro av isotypkontrollerna (ref. A07796).

1. Tillsätt 20 µL av specifik IOTest-konjugerad antikropp till varje provrör och vid behov 20 µL av isotypkontroll till varje kontrollprovrör.
2. Tillsätt 100 µL av testprovet i varje provrör. Vortexblanda provrören försiktigt.
3. Inkubera i 15 till 20 minuter vid rumstemperatur (18–25 °C) och skyddat mot ljus.
4. Utför sedan lysering av de röda blodkropparna. Se bladet VersaLyse (ref. A09777) och följ företrädesvis proceduren som benämns ”med samtidig fixering”, som består av att tillsätta 1 mL av ”Fixera-och-lysera”-blandningen som beretts strax innan. Vortexblanda omedelbart i en sekund och inkubera i 10 minuter vid rumstemperatur och skyddat mot ljus.
5. Centrifugera i 5 minuter vid 150 x g vid rumstemperatur.
6. Avlägsna ytskiktet genom aspiration.
7. Återsuspendera cellpelleten med 3 mL PBS.
8. Upprepa steg 5.
9. Avlägsna ytskiktet genom aspiration och återsuspendera cellpelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL av PBS plus 0,1 % formaldehyd om preparaten är avsedda att förvaras mindre än 24 timmar. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan erhållas genom spädning av 12,5 µL av IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800) i dess 10X-koncentration i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS utan formaldehyd, om preparaten är avsedda att analyseras inom 2 timmar.

Anmärkning: Behåll i samtliga fall beredningarna vid 2 till 8 °C och skyddade från ljus.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

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

Positivt mål	Nummer	Medelvärde (%)	SD	CV (%)
Granulocyter	25	98,75	2,26	2,29

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

PRESTANDA

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

SPECIFICITET

CALLA-genen kodar ett typ II transmembrant glykoprotein på 100 kDa. De CALLA-relaterade DNA-sekvenserna återfinns på humankromosom 3J (10). CALLA, (CD10), beskrevs som ett ytenzym som uttrycktes på tidiga lymfoida progenitorer och neutrofiler och identifierades som zinkmetalloproteas, neutralt endopeptidas 24.11 (NEP, ”enkefalinas”). CD10-enzymet är känt för att hydrolysera en mängd biologiskt aktiva peptider, inklusive met-enkefalin, formyl-met-leu-phe (f-MLP) och substans P, som är inblandade i celldifferentierings- och cellmognadsprocessen.

Den monoklonala antikroppen ALB1 studerades under 1st HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens, i Paris, Frankrike, 1982 (11).

PRECISION

Procentvärdet för positiva värden bestämdes med helblod. Varje prov kördes 4 gånger, två gånger om dagen under 1 dag på 2 instrument med 2 loter CD10-PE monoklonala antikroppsreagens. Mätningar (% positiva) utfördes på Navios flödescytometer. Analys utfördes baserat på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Utvärdering av precisionsprestanda för kvantitativa mätmetoder).

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

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

Granulocyter							
Antal positiva händelse (medelvärde) = 6080							
	Mellan operatörer	Mellan cytometrar	Inom lot	Mellan loter	Mellan körningar	Inom körning	Totalt
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
RESULTAT	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NOGGRANNHET

Noggrannheten hos CD10-PE bedömdes genom att jämföra resultaten med en referensreagens som predikat på en uppsättning helblodsprov körda på en Navios flödescytometer. Bias mellan test- och referensreagens bestämdes baserat på skillnaden mellan testresultat. Om bias ligger inom tillåtet felintervall eller p-värdet anger att det inte finns någon signifikant skillnad (> 0,05), så anses testresultaten för de två reagenserna vara likvärdiga.

Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell nedan:

Antal donatorer = 25				
Positivt mål	Medelvärde Δ	Δ % cellkriterier	p-värde	RESULTAT
Granulocyter	0,16	<5	0,001	PASS

BLANKGRÄNS OCH DETEKTIONSGRÄNS

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

Positive Target	Blankgräns (cell/µL)	Detektionsgräns (cell/µL)
Granulocyter	2	4

BEGRÄNSNINGAR

1. Flödescytometri kan ge falska resultat om cytometern inte har justerats perfekt, om fluorescensläckor inte har kompenserats korrekt och om regionerna inte har placerats noggrant.
2. Det är bäst att använda en RBC-lyseringsteknik med ett tvättsteg, eftersom denna reagens inte optimerats för lyseringstekniker ”utan tvätt”.
3. Noggranna och reproducerbara resultat kommer att erhållas så länge de förfaranden som används är i enlighet med den tekniska bipacksedeln och förenliga med god laboratoriepraxis.
4. Den konjugerade antikroppen för detta reagens är kalibrerad för att erbjuda det bästa specifik signal/icke-specifik signal-förhållandet. Därför är det viktigt att följa reagensvolym/provvolym-förhållandet i varje test.
5. Vid hyperleukocytos, späd blodet i PBS för att erhålla ett värde på cirka 5 x 10^9 leukocyter/L (12).
6. Vid vissa sjukdomstillstånd, såsom vid mycket svår njursvikt eller hemoglobinopatier, kan lysering av röda celler vara långsam, ofullständig eller till och med omöjlig. I detta fall är det rekommenderat att isolera mononukleära celler med användning av en densitetsgradient (till exempel Ficoll) innan färgningen (13).
7. Hos patienter som behandlas med anti-human monoklonala antikroppar kan detektering av de specifika eftersökta antigenerna minska eller utebli på grund av delvis eller fullständig blockering från behandlingens antikropp.
8. Resultat för CD10-PE bör tolkas med tanke på patientens totala kliniska bild, inklusive: symptom, anamnes, information från övriga test och annan lämplig information.

Se bilagan för exempel och referenser.

VARUMÄRKEN

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

YTTERLIGARE INFORMATION

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

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

REVISIONSHISTORIK

REVIDERING AE:	Publiceringsdatum: September 2019

REVISION	**Publiceringsdatum**
AW	Februari 2022
Uppdateringar för att uppfylla Beckman Coulter globala etiketteringspolicy och kraven i IVD-R (EU)2017/746:	
Tillagda avsnitt	BSI 2797 Nummer, Avsedd användare, Klinisk relevans, Koncentration, Precision, Noggrannhet, Blankgräns och detektionsgräns, Ytterligare information, Revisionshistorik.
Tillagd information	Se avsnittet Begränsningar
Ordval eller typografiska uppdateringar	Se avsnitten Procedur, Prestanda, Begränsningar, Varningar och försiktighetsåtgärder, Förvaring och stabilitet, Material som behövs men inte följer med kitet.
Borttagna avsnitt	Exempel på kliniska tillämpningar, Reagens, Reproducerbarhet inom laboratorium, Linearitet
Uppdaterade avsnitt	Avsedd användning, Faroklassificering enligt GHS, Tecken på försämring, Procedur, Bilaga.

REVISION	**Publiceringsdatum**
AX	Juni 2022
Tillagd information	Lägg till nytt språk – kazakiska

REVISION	**Publiceringsdatum**
AY	April 2023
Uppdaterade avsnitt	Förvaring och hållbarhet

Reviderad version	AZ
Datum för revidering	Maj 2024
Uppdaterade översättningar	**Klinisk relevans:**
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Reviderad version	BA
Datum för revidering	Juli 2024
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Teckenförklaring för symboler

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

	Spesifikasjoner
Spesifisitet	CD10
Klon	ALB1
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	Human leukaemic cells
Immunoglobulin	IgG1
Art	Mus
Rensing	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molart forhold	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-eksitasjon	488 nm
Strålingstopp	575 nm
Buffer	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/mL BSA og 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugert antistoff CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

For *in vitro*-diagnostisk bruk

TILTENKT BRUK

Dette fluorokromkonjugerte antistoffet muliggjør kvalitativ og ikke-automatisert identifisering av cellepopulasjoner som uttrykker CD10-antigenet som finnes i humane biologiske prøver, ved hjelp av flowcytometri (se avsnittet «Prøver» nedenfor).

PRINSIPP

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

Spesifikk farging av leukocyttene utføres ved inkubering av prøven med IOTest-reagenset. De røde cellene fjernes deretter ved lysering, og leukocyttene, som er uberørt av denne prosessen, analyseres ved flowcytometri.

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

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

TILTENKT BRUKER

Dette produktet skal brukes av profesjonelle brukere på laboratorier.

KLINISK RELEVANS

CD10-PE er et CD10-antistoff som brukes til å identifisere og karakterisere celler som uttrykker CD10-antigenet, ved hjelp av flowcytometri. Dette produktet alene kan ikke og er ikke ment å generere en diagnostisk konklusjon.

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

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

Se følgende referanser:

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

PRØVER

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

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

Prøvene må analyseres innen 24 timer etter venepunksjon.

KONSENTRASJON

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

ADVARSEL OG FORHOLDSREGLER

1. Reagenset må ikke brukes etter utløpsdatoen.
2. Må ikke fryses.
3. La det nå romtemperatur (18–25 °C) før bruk.
4. Bør ikke utsettes for lys.
5. Unngå mikrobiell kontaminering av reagensene, ellers kan det gi feil resultater.
6. Antistoffløsninger som inneholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsiktighet. Ikke til innvortes bruk. Unngå all kontakt med hud, slimhinner og øyne.

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

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

GHS-FAREKLASSIFISERING

Ikke klassifisert som farlig

SDS Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPPBEVARING OG STABILITET

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

Holdbarhet i lukket flaske ifølge stabilitetsstudie: 1095 dager.

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

TEGN PÅ FORRINGELSE

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

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

INNHOLD

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

NØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE FØLGER MED SETTET:

- Prøvetakingsrør og materiale nødvendig for prøvetaking.
- Automatiske pipetter med engangsspisser til 20, 100 og 500 µL.
- Hemolyserør av plast.
- Rød cellelyseringsreagens med vasketrinn etter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Leukocytt-fikseringsreagens. For eksempel: IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800).
- -isotypekontroll PE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Sentrifuger.
- Automatisk omrører (vortekstype).
- Flytcytometer.

PROSEDYRE MED VERSALYSE-REAGENS

For hver prøve som analyseres, kan det i tillegg til testrøret legges til ett kontrollrør hvor cellene er blandet med tilstedeværelse av isotypekontrollen (ref. A07796).

1. Tilsett 20 µL spesifikt IOTest-konjugert antistoff i hvert testrør og ved behov 20 µL av isotypekontrollen i hvert kontrollrør.
2. Tilsett 100 µL av testprøven i hvert rør. Vorteks rørene forsiktig.
3. Inkuber i 15 til 20 minutter ved romtemperatur (18–25 °C), beskyttet mot lys.
4. Utfør deretter lysering av de røde blodcellene. Les brosjyren VersaLyse (ref. A09777), og prøv å følge prosedyren kalt «with concomitant fixation» (med samtidig fiksering) som består av å tilsette 1 mL av «fikserings- og lyseringsblandingen» som klargjøres prompte. Bland på vorteksmikser umiddelbart i ett sekund, og inkuber i 10 minutter ved romtemperatur, beskyttet mot lys.
5. Sentrifugeres i 5 minutter ved 150 x g ved romtemperatur.
6. Fjern supernatanten ved aspirasjon.
7. Resuspender cellepelleten i 3 mL PBS.
8. Gjenta trinn 5.
9. Fjern supernatanten ved aspirasjon, og resuspender cellepelleten ved hjelp av:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS pluss 0,1 % formaldehyd hvis preparatene skal oppbevares i mindre enn 24 timer. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan oppnås ved å fortynne 12,5 µL IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800) ved 10X konsentrasjon i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uten formaldehyd hvis preparatene skal analyseres innen 2 timer.

Merk: I alle tilfeller skal preparatene oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttet mot lys.

FORVENTEDE VERDIER

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

Positivt mål	Nummer	Gjennomsnitt (%)	SD	VK (%)
Granulocytter	25	98,75	2,26	2,29

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

YTELSE

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

SPESIFISITET

CALLA-genet koder for et 100 kD-type II-transmembrant glykoprotein. CALLA-relaterte DNA-sekvenser er funnet på menneskelig kromosom 3J (10). CALLA, (CD10), ble beskrevet som et overflateenzym uttrykt på tidlige lymfoide progenitorceller og nøytrofile, og identifisert som sinkmetalloprotease, nøytral endopeptidase 24.11 (NEP, «enkefalinase»). CD10-enzymet er kjent for å hydrolysere en rekke biologisk aktive peptider, inkludert met-enkefalin, formyl-met-leu-fe (f-MLP), og substans P, som er involvert i prosessen med celledifferensiering og modning.

Det monoklonale antistoffet ALB1 ble studert under 1. HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (1. HLDA-workshop om humane leukocyttdifferensieringsantigener), som ble avholdt i Paris i Frankrike i 1982 (11).

PRESISJON

Prosentandelen positive verdier ble bestemt med fullblod. Hver prøve ble kjørt 4 ganger, to ganger om dagen i 1 dag på 2 instrumenter med 2 partier CD10-PE monoklonale antistoffreagenser. Målinger (% positiv) ble foretatt på et Navios-flytcytometer. Analysen ble utført basert på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering av presisjonsytelse ved kvantitative målemetoder).

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

- Hvis positiv hendelse < 1 500, VK < 15 %
- Hvis positiv hendelse > 1 500, VK < 10 %

Granulocytter							
Antall positive hendelser (gjennomsnitt) = 6080							
	Mellom operatører	Mellom cytometere	Innenfor samme lot	Mellom loter	Mellom kjøringer	Innenfor samme kjøring	Total
VK (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØYAKTIGHET

Nøyaktigheten til CD10-PE ble vurdert ved å sammenligne resultatene med et referansereagens som predikatet på et sett med fullblodsprøver kjørt på et Navios-flytcytometer. Skjevheten mellom test- og referansereagens ble bestemt basert på forskjellen mellom testresultater. Hvis skjevheten er innenfor det tillatte feilområdet eller p-verdien angir ingen vesentlig forskjell (> 0,05), anses testresultatene for de to reagensene som tilsvarende.

De oppnådde resultatene er oppsummert i den følgende tabellen:

Antall donorer = 25				
Positivt mål	Gjennomsnittlig Δ	Δ % cellekriterier	p-verdi	RESULTATER
Granulocytter	0,16	<5	0,001	PASS

GRENSE FOR BLANKPRØVE OG DETEKSJONSGRENSE

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

Positive Target	Grense for blankprøve (celle/µL)	Deteksjonsgrense (celle/µL)
Granulocytter	2	4

BEGRENSNINGER

1. Flowcytometri kan gi falske resultater hvis cytometeret ikke har blitt justert nøyaktig, hvis fluorescenslekkasjer ikke er kompensert riktig, og hvis regionene ikke er nøye plassert.
2. Det er best å bruke en RBC-lyseringsteknikk med et vasketrinn, ettersom dette reagenset ikke er optimert for lyseringsteknikker uten vask.
3. Nøyaktige og reproduserbare resultater vil oppnås så lenge de anvendte prosedyrene er i samsvar med det tekniske pakningsvedlegget og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerte antistoffet til dette reagenset er kalibrert for å oppnå best mulig forhold mellom spesifikt signal og ikke-spesifikt signal. Derfor er det viktig å overholde forholdet mellom reagensvolum og prøvevolum i hver test.
5. Ved hyperleukocytose fortynnes blodet i PBS for å oppnå en verdi på omtrent 5 x 10^9 leukocytter/L (12).
6. Ved visse sykdomstilstander, for eksempel alvorlig nyresvikt eller hemoglobinopatier, kan lyseringen av røde celler være langsom, ufullstendig eller til og med umulig. I dette tilfellet anbefales det å isolere mononukleærerte celler ved hjelp av en densitetsgradient (for eksempel Ficoll) før farging (13).
7. Hos pasienter som behandles med antihumane, monoklonale antistoffbehandlinger, kan deteksjon av bestemte målantigener reduseres eller være fraværende på grunn av delvis eller fullstendig blokkering av det terapeutiske antistoffet.
8. CD10-PE-resultatene skal tolkes i lys av den totale kliniske vurderingen av pasienten, inkludert: symptomer, klinisk historie, data fra flere tester og annen aktuell informasjon.

Se vedlegget for eksempler og referanser.

VAREMERKER

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

TILLEGGSINFORMASJON

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

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

REVISJONSHISTORIE

REVISJON AE:	Utgivelsesdato: September 2019

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

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AX	Juni 2022
Innsatt informasjon	Lagt til kasakhisk som nytt språk

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AY	april 2023
Oppdaterte avsnitt	Oppbevaring og stabilitet

Revidert versjon	AZ
Revisjonsdato	mai 2024
Oppdatert oversettelser	**Klinisk relevans:**
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Revidert versjon	BA
Revisjonsdato	juli 2024
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Symbolforklaring

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

	Tekniset tiedot
Spesifisyys	CD10
Klooni	ALB1
Hybridooma	NS1 x balb/c
Immunogeeni	Human leukaemic cells
Immunoglobuliini	IgG1
Lajit	Hiiri
Puhdistus	Affiniteettikromatografia
Fluorokromi	R Phycoerythrin (PE)
Moolisuhde	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-viritys	488 nm
Säteilyhuippu	575 nm
Puskuri	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA:ta ja 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugoitunut vasta-aine CD10-PE

REF A07760 100 testiä; 2 ml, 20 µl / testi

Diagnostiseen *In Vitro* -käyttöön

KÄYTTÖTARKOITUS

Tämän fluorokromikonjugoidun vasta-aineen avulla voidaan kvalitatiivisesti ja muilla kuin automaattisilla tavoilla tunnistaa solupopulaatioita, jotka ilmentävät ihmisen biologisissa näytteissä esiintyvää CD10-antigeeniä virtaussytometriaa käyttämällä (katso jäljempää kohta Näytteet).

PERIAATE

Testi perustuu tiettyjen monoklonaalisten vasta-aineiden kykyyn sitoutua leukosyyttien ilmentämiin antigeenideterminantteihin.

Leukosyyttien spesifinen värjäys tehdään inkuboimalla näyte IOTest-reagenssilla. Punasolut poistetaan sen jälkeen lyysaamalla, ja leukosyytit, joihin tämä prosessi ei vaikuta, analysoidaan virtaussytometrialla.

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

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

AIOTTU KÄYTTÄJÄ

Tämä tuote on tarkoitettu ammattimaiseen laboratoriokäyttöön.

KLIININEN RELEVANSSI

CD10-PE on CD10-vasta-aine, jonka avulla tunnistetaan ja karakterisoidaan CD10-antigeenia ilmentävät solut virtaussytometrialla. Tämä tuote yksinään ei voi eikä sen ole tarkoitus tuottaa mitään diagnostisia johtopäätöksiä.

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

- Erotusdiagnostiikan tueksi hematologisesti poikkeavilla potilailla, joilla epäillään olevan hematopoieettisia kasvaimia, ja sellaisten potilaiden seurantaan, joilla tiedetään olevan hematopoieettisia kasvaimia.
- Avuksi ennusteen tekemiseen potilaista, joilla on hematopoieettinen neoplasma.

Katso seuraavat viitteet:

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

NÄYTTEET

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

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

Näytteet on analysoitava 24 tunnin sisällä laskimopunktiosta.

PITOISUUS

Katso eräkohtainen analyysitodistus osoitteesta www.beckman.com.

VAROITUS JA VAROTOIMET

1. Älä käytä reagenssia viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
2. Ei saa jäätyä.
3. Anna sen lämmetä huoneenlämpöiseksi (18–25 °C) ennen käyttöä.
4. Minimoi altistuminen valolle.
5. Vältä reagenssien mikrobikontaminaatiota, muutoin vaarana ovat virheelliset tulokset.
6. Natriumatsidia (NaN_3) sisältäviä vasta-aineliuoksia tulee käsitellä varoen. Sitä ei saa niellä, ja sen joutumista iholle, limakalvoille ja silmiin on vältettävä.

Lisäksi happamassa liuoksessa natriumatsidi voi muodostaa mahdollisesti vaarallista hydratsoehappoa. Jos reagenssi on hävitettävä, se on suositeltavaa laimentaa suureen vesimäärään ennen sen kaatamista viemäriin, jotta natriumatsidia ei pääse kertymään metalliputkiin ja vältetään räjähdysvaara.

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

GHS-VAARALUOKITUS

Ei luokiteltu vaaralliseksi

SDS Käyttöturvallisuustiedote on saatavana osoitteessa beckmancoulter.com/techdocs

SÄILYTYS JA STABILITEETTI

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

Suljetun ampullin säilyvyysaika stabiliteettitutkimuksen mukaan: 1095 päivää.

Avatun ampullin stabiliteetti: reagenssi on stabiili 180 päivän ajan.

MERKIT PILAANTUMISESTA

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

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

SISÄLTÖ

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

TARVITTAVAT MATERIAALIT, JOITA EI TOIMITETA SARJAN MUKANA:

- Näytteenottoon tarvittavat näytteenottoputket ja materiaalit.
- Automaattiset pipetit, joissa kertakäyttökärjet 20, 100 ja 500 µl.
- Muoviset hemolyysiputket.
- Punasolujen lyysireagenssi ja pesuvaihe lyysin jälkeen. Esimerkiksi: VersaLyse (viite A09777).
- Leukosyyttien kiinnitysreagenssi. Esimerkiksi: IOTest 3 -fiksatiiviliuos (viite A07800).
- Isotyyppinen kontrolli PE: IOTest-reagenssi (viite A07796).
- Puskuri (PBS: 0,01 M natriumfosfaattia, 0,145 M natriumkloridia, pH 7,2).
- Sentrifugi.
- Automaattinen sekoitin (Vortex-/pyörretyyppinen).
- Virtaussytometri.

VERSALYSE-REAGENSSIN MENETTELY

Jokaiselle analysoidulle näytteelle voidaan lisätä testiputken lisäksi yksi kontrolliputki, jossa solut sekoitetaan käyttämällä isotyyppistä kontrollia (ref. A07796).

1. Lisää 20 µl spesifisiä IOTest-konjugoituja vasta-aineita jokaiseen testiputkeen ja tarvittaessa 20 µl isotyyppistä kontrollia jokaiseen kontrolliputkeen.
2. Lisää 100 µl testinäytettä kuhunkin putkeen. Sekoita putkia vorteksilla varovaisesti.
3. Inkuboi 15–20 minuuttia huoneenlämmössä (18–25 °C), valolta suojattuna.
4. Tee sitten punasolujen lyysaus. Tutustu VersaLyse (viite A09777) -selosteeseen ja noudata mieluiten menettelyä, jonka nimessä on maininta ”rinnakkaiskiinnityksen kanssa” ja johon sisältyy ohje lisätä 1 ml kiinnitys- ja lyysiseosta, joka on valmistettu kyseistä tapausta varten. Sekoita välittömästi vorteksilla yhden sekunnin ajan ja inkuboi 10 minuuttia huoneenlämmössä, valolta suojattuna.
5. Sentrifugoi 150 x g 5 minuutin ajan huoneenlämmössä.
6. Poista supernatantti aspiroimalla.
7. Suspendoi solupelletti uudelleen käyttämällä 3 ml PBS:ää.
8. Toista vaihe 5.
9. Poista supernatantti aspiroimalla ja suspendoi solupelletti käyttämällä:

- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää plus 0,1 % formaldehydiä, jos valmisteet aiotaan säilyttää alle 24 tuntia. (0,1 % formaldehydiä sisältävä PBS saadaan laimentamalla 12,5 µl IOTest 3 -fiksatiiviliuosta (viite A07800) sen 10-kertaisella pitoisuudella 1 ml:aan PBS:ää).
- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää ilman formaldehydiä, jos valmisteet tullaan analysoimaan 2 tunnin sisällä.

Huomautus: Pidä valmisteet kaikissa tapauksissa 2–8 °C:n lämpötilassa ja valolta suojattuna.

ODOTETUT ARVOT

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

Positiivinen kohde	Lukumäärä	Keskiarvo (%)	SD	CV (%)
Granulosyytit	25	98,75	2,26	2,29

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

SUORITUSKYKY

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

SPESIFISYYS

CALLA-geeni koodaa 100 kD:n tyypin II transmembraanista glykoproteiinia. CALLA-geeniin liittyviä DNA-sekvenssejä esiintyy ihmisen kromosomissa 3J (10). CALLA (CD10) kuvattiin pintaentsyymiksi, jota ilmennetään varhaisissa lymfoidisissa esisoluissa ja neutrofiileissä, ja tunnistetaan sinkkimetalloproteaasiksi, neutraaliksi endopeptidaasi 24.11:ksi (NEP, ”enkefalinaasi”). CD10-entsyymin tiedetään hydrolysoivan useita biologisesti aktiivisia peptidejä, kuten metioniinienkefaliinia, formyy-li-metionyyli-leusyyli-fenyylialaniinia (formyl-met-leu-phe, f-MLP) ja ainetta P, jotka osallistuvat solujen erilaistumiseen ja kypsymiseen.

Monoklonaalista vasta-ainetta ALB1 tutkittiin ihmisleukosyyttien differentiaatioantigeenejä käsitelleessä ensimmäisessä seminaarissa (Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens, HLDA), joka pidettiin Pariisissa, Ranskassa 1982 (11).

TARKKUUS

Prosentuaaliset positiiviset arvot määritettiin käyttämällä kokoverta. Jokainen näyte käsiteltiin 4 kertaa, kahdesti päivässä päivänä 1 2 laitteessa käyttämällä 2 erää CD10-PE monoklonaalisia vasta-ainereagensseja. Mittaukset (% positiivisia) tehtiin Navios-virtaussytometrillä. Analyysi tehtiin perustuen CLSI:n menetelmään EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivisten mittausmenetelmien tarkkuussuorituskyvyn arviointi).

Hyväksyntäkriteerimme on riippuvainen kussakin populaatiossa mitattujen positiivisten tapahtumien määrästä:

- Jos tapahtuma on positiivinen < 1 500, CV < 15 %
- Jos tapahtuma on positiivinen > 1 500, CV < 10 %

Granulosyytit							
Positiivisten näytteiden lukumäärä (keskiarvo) = 6080							
	Käyttäjien välinen	Sytometrin sisäinen	Erän sisäinen	Erien välinen	Ajojen välinen	Ajon sisäinen	Yhteensä
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
TULOKSET	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ULKOINEN TARKKUUS

Kohteen CD10-PE tarkkuus arvioitiin vertaamalla tuloksia viitereagenssiin, joka toimi Navios-virtaussytometrilla käsitellyn kokoverinäytesarjan predikaattina. Testireagenssin ja vertailureagenssin välinen poikkeama määritettiin testitulosten välisen eron perusteella. Jos poikkeama on sallitun virhealueen rajoissa tai p-arvo ei osoita merkityksellistä eroa (> 0,05), näiden kahden reagenssin testituloksia pidetään vastaavina.

Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Luovuttajien määrä = 25				
Positiivinen kohde	Keskiarvo Δ	Δ % -solukriteeri	p-arvo	TULOKSET
Granulosyytit	0,16	<5	0,001	PASS

NOLLAMITTAUKSEN YLÄRAJA JA MITTAUKSEN ALARAJA

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

Positive Target	Nollamittauksen yläraja (solu/µl)	Mittauksen alaraja (solu/µl)
Granulosyytit	2	4

RAJOITUKSET

1. Virtaussytometrialla saadut tulokset voivat olla virheellisiä, jos sytometri on kohdistettu epätarkasti, jos fluoresenssivuotoja ei ole kompensoitu oikein ja jos alueita ei ole sijoitettu tarkasti.
2. On suositeltavaa käyttää punasolujen lyysaukseen pesuvaiheen sisältävää tekniikkaa, koska tätä reagenssia ei ole optimoitu lyysaustekniikoille, joihin ei sisälly pesua.
3. Tulokset oivat tarkkoja ja toistettavissa, kunhan käytetyt menetelmät ovat teknisen selosteen mukaisia ja noudattavat hyviä laboratoriokäytäntöjä.
4. Tämän reagenssin konjugoitu vasta-aine kalibroidaan siten, että saadaan paras spesifisen signaalin ja epäspesifisen signaalin suhde. Siksi on tärkeää noudattaa reagenssin tilavuuden / näytteen suhdetta jokaisessa testissä.
5. Jos kyseessä on hyperleukosytoosi, laimenna veri PBS:ään siten, että saat arvoksi noin 5 x 10^9 leukosyyttiä/l (12).
6. Tietyissä sairaustiloissa, kuten vaikeassa munuaisten vajaatoiminnassa tai hemoglobinopatioissa, punasolujen hajoaminen voi olla hidasta, epätäydellistä tai jopa mahdotonta. Tässä tapauksessa yksitumaiset solut on suositeltavaa eristää käyttämällä tiheysgradienttia (esimerkiksi Ficoll) ennen värjäystä (13).
7. Potilailla, joita on hoidettu muun kuin ihmisen monoklonaalisilla vasta-aineilla, kohdeantigeenin havaitseminen voi heikentyä tai estyä osittain tai kokonaan hoidossa käytetyn vasta-aineen vaikutuksesta.
8. CD10-PE-tulosten tulkinnassa on otettava huomioon potilaan kaikki kliiniset tiedot, mukaan lukien oireet, kliininen historia, lisätestien tiedot ja muut asianmukaiset tiedot.

Katso esimerkkejä ja viitteitä liitteestä.

TAVARAMERKIT

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

LISÄTIETOJA

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

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

TARKISTUSHISTORIA

VERSIO AE:	Julkaisupäivä: Syyskuu 2019

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

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AX	Kesäkuu 2022
Lisätyt tiedot	Lisätty uusi kieli – kazakki

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AY	Huhtikuu 2023
Päivitetyt osat	Säilytys ja stabiliteetti

Tarkistettu versio	AZ
Tarkistuksen päivämäärä	Toukokuu 2024
Päivitetyt käännökset	**Kliininen merkitys:**
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Tarkistettu versio	BA
Tarkistuksen päivämäärä	Heinäkuu 2024
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Symboliluettelo

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

	Προδιαγραφές
Ειδικότητα	CD10
Κλώνος	ALB1
Υβρίδωμα	NS1 x balb/c
Ανοσογόνο	Human leukaemic cells
Ανοσοσφαιρίνη	IgG1
Είδος	Μυς
Κάθαρση	Χρωματογραφία συγγένειας
Φθορόχρωμα	R Phycoerythrin (PE)
Γραμμομοριακή αναλογία	PE/Ig: 0,5 - 1,5
διέγερση λ	488 nm
Μέγιστη τιμή εκπομπών	575 nm
Ρυθμιστικό Διάλυμα	PBS pH 7,2 συν 2 mg/mL BSA και 0,1% NaN_3

IOTest
Συζευγμένο αντίσωμα
CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20 µL/εξέταση

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Αυτό το συζευγμένο με φθοροχρώματα αντίσωμα επιτρέπει την ποιοτική και μη αυτοματοποιημένη ταυτοποίηση των κυτταρικών πληθυσμών που εκφράζουν το αντιγόνο CD10 που απαντάται σε ανθρώπινα βιολογικά δείγματα, με χρήση κυτταρομετρίας ροής (δείτε την παρακάτω ενότητα «Δείγματα»).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

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

Η ειδική χρώση των λευκοκυττάρων πραγματοποιείται μέσω της επώασης του δείγματος με το αντιδραστήριο IOTest. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια αφαιρούνται στη συνέχεια με λύση και τα λευκοκύτταρα, τα οποία δεν επηρεάζονται από αυτήν τη διαδικασία, αναλύονται με κυτταρομετρία ροής.

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

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

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΟΣ ΧΡΗΣΤΗΣ

Αυτό το προϊόν προορίζεται για επαγγελματική εργαστηριακή χρήση.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΝΑΦΕΙΑ

Το CD10-PE είναι ένα αντίσωμα CD10 που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό κυττάρων που εκφράζουν το αντιγόνο CD10 με κυτταρομετρία ροής. Αυτό το προϊόν από μόνο του δεν μπορεί να παράγει οποιοδήποτε διαγνωστικό συμπέρασμα και δεν προορίζεται για αυτήν τη χρήση.

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

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

Δείτε τις ακόλουθες παραπομπές:

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

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

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

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

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

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ

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

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

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

6. Να χειρίζεστε τα διαλύματα αντισωμάτων που περιέχουν αζίδιο του νατρίου (NaN_3) με προσοχή. Μην εισπνέετε και αποφεύγετε κάθε επαφή με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.

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

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ GHS

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο

SDS Το δελτίο δεδομένων ασφάλειας διατίθεται στη διεύθυνση beckmancoulter.com/techdocs

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

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

Διάρκεια ζωής κλειστού φιαλιδίου ανά μελέτη σταθερότητας: 1095 ημέρες.

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

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ

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

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

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Το συντηρητικό αζιδίου του νατρίου μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικές ενώσεις στους μεταλλικούς αποχετευτικούς αγωγούς. Δείτε το ενημερωτικό δελτίο του NIOSH: Explosive Azide Hazard (Κίνδυνος έκρηξης αζιδίου) (16/8/76)
Για να αποφύγετε την ενδεχόμενη συσσώρευση ενώσεων αζιδίου, να εκπλένετε τους σωλήνες αποβλήτων με νερό μετά την απόρριψη μη αραιωμένου αντιδραστηρίου. Η απόρριψη του αζιδίου του νατρίου πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους αντίστοιχους τοπικούς κανονισμούς.

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΚΙΤ:

- Σωλήνες δειγματοληψίας και υλικό που είναι απαραίτητο για τη δειγματοληψία.
- Αυτόματες πιπέτες με ρύγχη μιας χρήσης για 20, 100 και 500 µL.
- Πλαστικά σωληνάρια αιμόλυσης.
- Αντιδραστήριο λύσης ερυθροκυττάρων με στάδιο πλύσης μετά τη λύση. Για παράδειγμα: VersaLyse (Ref. A09777).
- Αντιδραστήριο μονιμοποίησης λευκοκυττάρων. Για παράδειγμα: Διάλυμα μονιμοποίησης IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ισοτυπικός μάρτυρας PE: Αντιδραστήριο IOTest (Ref. A07796).
- Ρυθμιστικό διάλυμα (PBS: 0,01 M φωσφορικό νάτριο, 0,145 M χλωριούχο νάτριο, pH 7,2).
- Φυγόκεντρος.
- Αυτόματος αναδευτήρας (τύπου περιδίνησης).
- Κυτταρόμετρο ροής.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ VERSALYSE

Για κάθε δείγμα που αναλύεται, εκτός του σωληναρίου εξέτασης, μπορεί να προστεθεί ένα σωληνάριο μάρτυρα μέσα στο οποίο αναμειγνύονται τα κύτταρα παρουσία του ισοτυπικού μάρτυρα (Ref. A07796).

1. Προσθέστε 20 µL ειδικού συζευγμένου αντισώματος IOTest σε κάθε δοκιμαστικό σωληνάριο και, εάν απαιτείται, 20 µL του ισοτυπικού μάρτυρα σε κάθε σωληνάριο μάρτυρα.
2. Προσθέστε 100 µL του αναλυόμενου δείγματος σε κάθε σωληνάριο. Περιδινήστε απαλά τα σωληνάρια.
3. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) για 15 έως 20 λεπτά, προστατεύοντας από το φως.
4. Στη συνέχεια, πραγματοποιήστε λύση των ερυθροκυττάρων. Ανατρέξτε στο φύλλο οδηγιών του VersaLyse (Ref. A09777) και ακολουθήστε κατά προτίμηση τη διαδικασία «με ταυτόχρονη μονιμοποίηση», που περιλαμβάνει την προσθήκη 1 mL μείγματος «μονιμοποίησης και λύσης», το οποίο παρασκευάστηκε πρόχειρα. Περιδινήστε αμέσως επί ένα δευτερόλεπτο και επωάστε επί 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, προστατεύοντας από το φως.
5. Φυγοκεντρήστε για 5 λεπτά στα 150 x g σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση.
7. Πραγματοποιήστε επαναιώρηση του κυτταρικού ιζήματος με 3 mL PBS.
8. Επαναλάβετε το βήμα 5.
9. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση και επαναιωρήστε το κυτταρικό ίζημα με:

- 0,5 mL ή 1 mL PBS συν 0,1% φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να φυλαχθούν για λιγότερο από 24 ώρες. (Μπορείτε να παρασκευάσετε διάλυμα 0,1% φορμαλδεΰδης/PBS με αραίωση 12,5 µL του μονιμοποιητικού διαλύματος IOTest 3 (Ref. A07800) 10πλάσιας συγκέντρωσης σε 1 mL PBS).
- 0,5 mL ή 1 mL PBS χωρίς φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να αναλυθούν εντός 2 ωρών.

Σημείωση: Σε κάθε περίπτωση, φυλάσσετε τα παρασκευάσματα προστατευμένα από το φως, σε θερμοκρασία μεταξύ 2 και 8 °C.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

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

Θετικός στόχος	Αριθμός	Μέση τιμή (%)	SD	CV (%)
Κοκκιοκύτταρα	25	98,75	2,26	2,29

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

ΑΠΟΔΟΣΗ

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

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Το γονίδιο CALLA κωδικοποιεί μια διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη 100 kDa τύπου II. Οι σχετιζόμενες με το CALLA αλληλουχίες DNA απαντώνται στο ανθρώπινο χρωμόσωμα 3J (10). Το CALLA, (CD10), περιγράφεται ως ένα επιφανειακό ένζυμο που εκφράζεται σε πρώιμα λεμφοειδή πρόδρομα κύτταρα και ουδετερόφιλα και αναγνωρίζεται ως μεταλλοπρωτεάση ψευδαργύρου, ουδέτερη ενδοπεπτιδάση 24.11 (NEP, «εγκεφαλινάση»). Το ένζυμο CD10 είναι γνωστό ότι υδρολύει διάφορα βιολογικά δραστικά πεπτίδια, συμπεριλαμβανομένων της μετ-εγκεφαλίνης, του πεπτιδίου fMLP και της ουσίας P, τα οποία συμμετέχουν στη διαδικασία της διαφοροποίησης και ωρίμανσης των κυττάρων.

Το μονοκλωνικό αντίσωμα ALB1 μελετήθηκε κατά τη διάρκεια του 1ου Συνεδρίου HLDA για τα Αντιγόνα Διαφοροποίησης των Ανθρώπινων Λευκοκυττάρων, Παρίσι, Γαλλία, το 1982 (11).

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Οι ποσοστιαίες θετικές τιμές προσδιορίστηκαν με χρήση ολικού αίματος. Κάθε δείγμα αναλύθηκε 4 φορές, δύο φορές την ημέρα για 1 ημέρα σε 2 όργανα με χρήση 2 παρτίδων αντιδραστηρίων μονοκλωνικού αντισώματος CD10-PE. Οι μετρήσεις (% θετικών) πραγματοποιήθηκαν σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με βάση τη μέθοδο CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Αξιολόγηση της απόδοσης ακρίβειας για μεθόδους ποσοτικής μέτρησης).

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

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

Κοκκιοκύτταρα							
Αριθμός θετικών συμβάντων (μέσος όρος) = 6080							
	Μεταξύ χειριστών	Μεταξύ κυτταρόμετρων	Εντός παρτίδας	Μεταξύ παρτίδων	Μεταξύ αναλύσεων	Εντός ανάλυσης	Σύνολο
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ακρίβεια του CD10-PE αξιολογήθηκε με σύγκριση των αποτελεσμάτων με ένα αντιδραστήριο αναφοράς ως μέσο πρόγνωσης, σε ένα σύνολο δειγμάτων ολικού αίματος που αναλύθηκε σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Το συστηματικό σφάλμα μεταξύ εξέτασης και αντιδραστηρίου αναφοράς προσδιορίστηκε με βάση τη διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δοκιμής. Εάν το συστηματικό σφάλμα βρίσκεται εντός του επιτρεπόμενου εύρους σφαλμάτων ή η τιμή p δεν υποδεικνύει καμία σημαντική διαφορά (>0,05), τα αποτελέσματα δοκιμών για τα δύο αντιδραστήρια θεωρούνται ισοδύναμα.

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον πίνακα που ακολουθεί:

Αριθμός δοτών = 25				
Θετικός στόχος	Μέση τιμή Δ	Κριτήρια κυττάρων Δ %	Τιμή p	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
Κοκκιοκύτταρα	0,16	<5	0,001	PASS

ΟΡΙΟ ΤΥΦΛΟΥ ΚΑΙ ΟΡΙΟ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

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

Positive Target	Όριο τυφλού (κύτταρο/µL)	Όριο ανίχνευσης (κύτταρο/µL)
Κοκκιοκύτταρα	2	4

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Η κυτταρομετρία ροής ενδέχεται να παράγει ψευδή αποτελέσματα αν το κυτταρόμετρο δεν είναι σωστά ευθυγραμμισμένο, αν οι διαρροές φθορισμού δεν έχουν αντισταθμιστεί σωστά και αν οι περιοχές δεν έχουν τοποθετηθεί προσεκτικά.
2. Η τεχνική λύσης RBC είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται με ένα βήμα πλύσης, καθώς το συγκεκριμένο αντιδραστήριο δεν έχει βελτιστοποιηθεί για τεχνικές λύσης «χωρίς πλύση».

3. Ακριβή και επαναλήψιμα αποτελέσματα προκύπτουν στο μέτρο που οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι σύμφωνες με το ένθετο τεχνικών οδηγιών και συμβατές με τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές.
4. Το συζευγμένο αντίσωμα αυτού του αντιδραστηρίου είναι βαθμονομημένο ώστε να προσφέρει την καλύτερη αναλογία ειδικής σήμανσης/μη ειδικής σήμανσης. Γι' αυτό είναι σημαντικό να τηρείτε την αναλογία όγκου αντιδραστηρίου/όγκου δείγματος σε κάθε εξέταση.
5. Σε περίπτωση υπερλευκοκυττάρωσης, αραιώστε το αίμα σε PBS ώστε να επιτευχθεί τιμή περίπου 5 x 10^9 λευκοκύτταρα/L (12).
6. Σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις, όπως η σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια ή οι αιμοσφαιρινοπάθειες, η λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων ενδέχεται να είναι αργή, ατελής ή και ανέφικτη. Σε αυτήν την περίπτωση, συνιστάται η απομόνωση των μονοπύρηνων κυττάρων με διαβάθμιση πυκνότητας (για παράδειγμα Ficoll) πριν από τη χρώση (13).
7. Σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπείες με αντι-ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα, η ανίχνευση των ειδικών στοχευόμενων αντιγόνων ενδέχεται να είναι μειωμένη ή να απουσιάζει λόγω μερικού ή πλήρους αποκλεισμού από το θεραπευτικό αντίσωμα.
8. Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων του CD10-PE θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η συνολική κλινική εικόνα του ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων των συμπτωμάτων, του κλινικού ιστορικού, των δεδομένων πρόσθετων εξετάσεων και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Δείτε το Παράρτημα για παραδείγματα και παραπομπές.

ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ

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

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

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

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

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΕΩΝ

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ ΑΕ:	Ημερομηνία έκδοσης: Σεπτέμβριος 2019

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

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AX	Ιούνιος 2022
Προσθήκη πληροφοριών	Προσθήκη νέας γλώσσας — Καζακικά

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AY	Απρίλιος 2023
Ενημερωμένες ενότητες	Φύλαξη και σταθερότητα

Αναθεωρημένη έκδοση	AZ
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Μάιος 2024
Ενημέρωση μεταφράσεων	**Κλινική συνάφεια:**
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθεωρημένη έκδοση	BA
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Ιούλιος 2024
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Υπόμνημα συμβόλων

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

	仕様
特異性	CD10
クローン	ALB1
ハイブリドーマ	NS1 x balb/c
免疫原	Human leukaemic cells
免疫グロブリン	IgG1
動物種	マウス
精製	アフィニティークロマトグラフィー
蛍光色素	R Phycoerythrin (PE)
モル比	PE / Ig： 0.5 - 1.5
λ励起	488 nm
発光のピーク	575 nm
緩衝化剤	PBS(pH 7.2) + 2 mg/mL BSAおよび0.1% NaN_3

IOTest

コンジュゲート抗体
CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20 µL/テスト

***体外*診断用医薬品**

用途

この蛍光色素結合抗体混合物により、フローサイトメトリーを用いてヒト生物検体に存在するCD10抗原を発現する細胞集団の定性的かつ非自動での同定が可能になります（以下の「検体」の項を参照）。

原理

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

白血球の特異的染色は、検体をIOTest試薬とインキュベートすることによって行います。次に、赤血球を溶解によって除去し、このプロセスの影響を受けない白血球をフローサイトメトリーによって分析します。

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

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

対象ユーザー

本製品は、検査室での専門的な使用を目的としています。

臨床的妥当性

CD10-PEは、フローサイトメトリーでCD10抗原を発現する細胞を同定および特性評価するために使用する抗体です。CD10この製品だけで診断の結論を下すことはできず、そのように意図されていません。

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

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

以下の参考文献を参照してください。

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

検体

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

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

この検体は、静脈穿刺から24時間以内に分析する必要があります。

濃度

www.beckman.comでロット固有の分析証明書を参照してください。

警告および注意

1. 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
2. 凍結しないでください。
3. 使用前に室温（18～25°C）にしてください。
4. 露光をできるだけ避けてください。
5. 試薬の微生物汚染を避けてください。誤った結果の原因となる場合があります。
6. アジ化ナトリウム（NaN_3）を含む抗体溶液は慎重に扱う必要があります。体内に摂取してはならず、皮膚、粘膜および眼との接触はすべて避けてください。

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

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

GHSハザード分類

危険有害物質には分類されない

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

保管および安定性

この試薬は、バイアル開封の前後に2～8℃で保管し、遮光する必要があります。

各安定性試験におけるクローズドバイアルの保存期間：1095日間

開封後のバイアル：試薬は180日間安定しています。

変質や劣化の兆候

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

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

内容

保存剤のアジ化ナトリウムは、金属製排水管内で爆発性化合物を生成するおそれがあります。 NIOSH Bulletinを参照してください: アジド爆発危険性（76/8/16）
アジド化合物が蓄積する可能性を回避するため、未希釈の試薬を廃棄した後は排水管を水で洗い流します。アジ化ナトリウムは地方自治体の規定に従い適切に廃棄してください。

ご用意いただくもの:

- サンプリングに必要なサンプリングチューブと材料。
- 使い捨てチップ付き自動ピペット（100および500 µL用）。20
- プラスチックの溶血チューブ。
- 溶血処理後に洗浄操作した赤血球溶血試薬。例：VersaLyse（製品番号A09777）。
- 白血球固定試薬。例：IOTest 3固定液（製品番号A07800）。
- アイソタイプ対照PE：IOTest試薬（製品番号A07796）。
- 緩衝化剤（PBS：0.01 Mリン酸ナトリウム、0.145 M塩化ナトリウム、pH 7.2）。
- 遠心機
- 自動アジテーター（ボルテックスタイプ）。
- フローサイトメーター

VERSALYSE試薬による手順

測定する各検体について、テストチューブのほか、アイソタイプ対照存在下で細胞を混合した対照チューブ1本を追加することができます（製品番号A07796）。

1. 各テストチューブに20 µLの特異的IOTest結合抗体を加え、必要に応じて20 µLのアイソタイプ対照を各対照チューブに加えます。
2. 各チューブに100 µLのテスト検体を添加します。チューブを穏やかに攪拌します。
3. 遮光した状態で、室温（18～25°C）で15～20分間インキュベートします。
4. 次に、赤血球の溶解を行います。VersaLyse(製品番号A09777)のリーフレットを参照し、できれば「同時固定」と呼ばれる手順に従います。この手順では、その場で調製した「固定/溶解」混合液1 mLを加えます。直ちに1秒間撹拌し、室温、遮光下で10分間インキュベートします。
5. 室温で5分間遠心分離（150 x g）します。
6. 吸引により上清を除去します。
7. 3 mLのPBSを用いて細胞ペレットを懸濁します。
8. ステップ5を繰り返します。
9. 吸引により上清を除去し、以下により細胞ペレットを再懸濁します。

- 調製液の保存期間が24時間未満の場合、ホルムアルデヒド0.1％を含むPBS 0.5 mLまたは1 mL。（0.1%ホルムアルデヒドを含むPBSは、12.5 µLの10倍濃度のIOTest 3固定液（製品番号A07800）を1 mLのPBSに希釈して作製できます）。
- 調製液を2時間以内に分析する場合、ホルムアルデヒドを含まないPBS 0.5 mLまたは1 mL。

注記：いかなる場合でも、調製液は2～8°Cに保ち、遮光してください。

期待値

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

陽性標的細胞	番号	平均（%）	SD	CV（%）
顆粒球	25	98.75	2.26	2.29

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

性能

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

特異性

CALLA遺伝子は、100kDのII型膜貫通糖タンパク質をコードします。CALLA関連のDNA配列は、ヒトの3J染色体上にあります（10）。CALLA（CD10）は、初期のリンパ球前駆細胞および好中球に発現する表面酵素であり、亜鉛メタロプロテアーゼである中性エンドペプチダーゼ24.11（NEP、「エンケファリナーゼ」）として報告されました。CD10酵素は、細胞の分化や成熟のプロセスに関与するメチオニンエンケファリン、ホルミル-メチオニン-ロイシン-フェニルアラニン（f-MLP）やサブスタンスPと呼ばれるさまざまな生物学的に活性なペプチドを加水分解することが知られています。

モノクローナル抗体ALB1は、1982年にパリで開催された1st HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens（第1回ヒト白血球分化抗原に関するHLDAワークショップ）で検討されました（11）。

精密性

陽性値の割合は、全血を使用して決定しました。各検体について、2つの装置で各4回を1日に2回、2ロットのCD10-PEモノクローナル抗体試薬を使用して測定しました。Naviosフローサイトメーターで測定（%陽性）しました。CLSIメソッドEP5-A2に基づいて分析しました。Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.（定量的測定メソッドの精密性性能の評価。）

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

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

顆粒球							
陽性イベント数（平均）= 6080							
	オペレータ間	血球計算器間	ロット内	ロット間	測定間	測定内	総計
CV（%）	0.04	0.04	0.06	0.01	0.01	0.04	0.07
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

正確性

CD10-PEの正確度は、一連の全血検体についてNaviosフローサイトメーターで測定した規準としての参照試薬と、結果を比較して評価しました。テスト試薬と参照試薬との間のバイアスは、テスト結果の差に基づいて決定しました。バイアスが許容誤差範囲内にある場合、またはp値が有意差を示さない場合（> 0.05）、2つの試薬のテスト結果は同等と見なされます。

得られた結果を、下表にまとめます。

ドナー数 = 25				
陽性標的細胞	平均Δ	Δ % 細胞基準	p値	結果
顆粒球	0.16	<5	0.001	PASS

ブランク上限と検出限界

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

Positive Target	ブランク上限（細胞/µL）	検出限界（細胞/µL）
顆粒球	2	4

制限事項

1. フローサイトメトリーは、血球計数器が完全に配列されていない場合、蛍光リークが正しく相殺されていない場合、および領域が慎重に配置されていない場合、誤った結果を示す可能性があります。
2. この試薬は「洗浄なし」溶解手法用に最適化されていないため、洗浄ステップでRBC溶解法を使用することをお勧めします。
3. 取扱説明書および対応する検査室の実施基準に従って作業する限り、正確かつ再現性のある結果が得られます。
4. この試薬の結合抗体は、特異的シグナル/非特異的シグナル比が最適となるようにキャリブレーションされています。そのため、各テストでは、試薬量/検体量比を順守することが重要です。
5. 白血球増加症の場合、白血球数がおよそ5 x 10^9個/Lとなるよう、血液をPBSで希釈してください（12）。
6. 重度の腎不全やヘモグロビン異常など、特定の疾患状態では、赤血球の溶解が遅くなったり、不完全になったり、あるいは溶解できないことさえあります。この場合、染色する前に密度勾配（Ficollなど）を使用して単核細胞を分離することを推奨します（13）。
7. 抗ヒトモノクローナル抗体療法で治療を受けた患者では、治療用抗体による部分的または完全な遮断により、特定の標的抗原の検出が減少または消失する場合があります。
8. CD10-PEの結果は、患者の総合的な臨床像、例えば諸症状、病歴、他のテストデータ、その他の該当情報などを踏まえて解釈する必要があります。

附録にある例および参考文献を参照してください。

商標

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

その他

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

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

改訂履歴

改訂番号 AE：	公開日：2019年9月

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

改訂	**発行日**
AX	2022年6月
情報を追加	新規言語の追加 - カザフスタン語

改訂	**発行日**
AY	4月 2023
セクションの更新	コントロールの調製

改訂版	AZ
改訂日	5月 2024
更新された翻訳	**臨床的妥当性：**
セクションの更新	保管および安定性

改訂版	BA
改訂日	7月 2024
セクションの更新	保管および安定性

記号凡例

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

	规格
特异性	CD10
克隆	ALB1
杂交瘤	NS1 x balb/c
免疫原	Human leukaemic cells
免疫球蛋白	IgG1
种类	小鼠
纯化	亲和层析色谱法
荧光染料	R Phycoerythrin (PE)
摩尔比率	PE/Ig： 0.5 - 1.5
λ 激励	488 nm
辐射峰值	575 nm
缓冲液	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 和 0.1% NaN_3

IOTest

结合抗体
CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20 µL/测试

供体外 *诊断*使用

预期用途

此种荧光染料结合抗体可通过流式细胞术对人体生物样本中存在的 CD10 抗原表达细胞群进行定性和非自动化鉴别（参阅下文“样本”部分）。

原理

该测试以特异性单克隆抗体能够与白细胞表达的抗原决定簇相结合这一特性为基础。

将样本与 IOTest 试剂一起培育，以便进行白细胞的特异性染色。然后通过裂解去除红细胞，再使用流式细胞术分析不受裂解过程影响的白细胞。

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

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

预期用户

本产品的预期用户为实验室专业人员。

临床意义

CD10-PE 是一种 CD10 抗体，这些抗体用于通过流式细胞术鉴定和表征表达 CD10 抗原的细胞。单独使用此产品不能产生任何诊断结论，这也并非其预期用途。

与其他标志物结合使用时，本产品可用于以下一种或多种用途：

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

参阅以下参考文献：

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

样本

必须使用含有 EDTA 盐作为抗凝血剂的无菌试管采集静脉血。

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

样本必须在静脉采血后的 24 小时内分析。

浓度

请参阅 www.beckman.com 上的特定批次分析证书。

警告和注意事项

1. 请勿使用已过失效日期的试剂。
2. 切勿冷冻。
3. 使用前使其达到室温 (18–25°C)。
4. 尽量减少曝光。
5. 避免试剂受到微生物污染，否则可能出现错误结果。
6. 应小心处理含有叠氮化钠 (NaN_3) 的抗体溶液。请勿内服，并避免接触皮肤、粘膜和眼睛。

   此外，在中度酸性条件下，叠氮化钠可形成具有潜在危害的叠氮酸。若需要对其进行处置，建议您在将试剂倒入排污系统前用大量清水将其稀释，以避免叠氮化钠在金属管中累积并预防爆炸。
7. 所有血样都必须被视为具有潜在传染性，并且必须小心处理（具体地讲：穿戴防护手套、防护服和护目镜）。
8. 不得通过嘴巴移液，并避免样本以任何方式接触皮肤、黏膜和眼睛。

9. 用于处理的血液试管和一次性材料应丢弃于专门用于焚化的容器中。
10. 应根据当地要求处置试剂和废物。

GHS 危险等级分类

未被归为危险品

SDS 化学品安全技术说明书发布在 beckmancoulter.com/techdocs 上

存储和稳定性

在开瓶前后，必须将此试剂保存在 2-8°C 环境下，并注意避免光照。

根据稳定性研究的开封前保质期：1095 天。

已开瓶试剂的稳定性：试剂可稳定保存 180 天。

变质的迹象

试剂物理外观的任何变化都可能表明试剂变质，此时不应使用试剂。

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

目录

叠氮化钠防腐剂可在金属下水管道中形成易爆化合物。 请参阅 NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76)（美国国家职业安全与卫生研究所公报：易爆的叠氮化物危险品 [76/8/16]）。
为避免可能产生的叠氮化合物堆积，请在丢弃未经稀释的试剂后用水冲洗排污管。对叠氮化钠的丢弃必须符合当地的相关规定。

试剂盒中未提供的必需材料：

- 采样所需的采样管和材料。
- 可吸取 20100 和 500 µL 试剂的带有一次性吸头的自动移液器。
- 塑料溶血管。
- 红细胞溶解试剂在溶解后清洗。例如：VersaLyse（REF A09777）。
- 白细胞固定剂。例如：IOTest 3 固定剂（REF A07800）。
- 同型质控品 PE：IOTest 试剂（REF A07796）。
- 缓冲液（PBS：0.01 M 磷酸钠；0.145 M 氯化钠；pH 7.2）。
- 离心处理。
- 自动搅动器（旋涡型）。
- 流式细胞仪。

VERSALYSE 试剂的使用程序

对于分析的每种样本，除使用分析测试试管外，还可增加一个质控品试管，以在其中混合细胞与同型质控品（REF A07796）。

1. 将 20 µL 特异性 IOTest 结合抗体添加到每个分析测试试管中，并视需要将 20 µL 同型质控品添加到每个质控品试管中。
2. 添加 100 µL 测试样本到每个试管中。轻轻摇动试管。
3. 在室温 (18–25°C) 下避光孵育 15-20 分钟。
4. 然后进行红细胞裂解。请参阅 VersaLyse（REF A09777）说明书，最好按照名为“同时固定”的程序实施：加入 1 mL 临时配制的“固定-裂解”混合液。立即摇动 1 秒，并在室温条件下培育 10 分钟，注意避光。
5. 在室温下以 150 x g 离心处理 5 分钟。
6. 通过吸样去除上层清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新悬浮细胞微粒。
8. 重复第 5 步。
9. 通过吸样去除上层清液并使用以下溶液重新悬浮细胞微粒：

- 0.5 mL 或 1 mL PBS 与 0.1% 甲醛，若备品的保存时间低于 24 小时。（可通过在 1 mL PBS 中稀释 10 倍浓度的 12.5 µL IOTest 3 固定剂 [REF A07800] 获取含 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 0.5 mL 或 1 mL PBS，无甲醛，若制剂将在 2 小时内分析。

注释：任何情况下，制备试剂均需在 2-8°C 下避光保存。

预计值

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

阳性目标	数量	平均值 (%)	标准差	CV (%)
粒细胞	25	98.75	2.26	2.29

这些值仅供参考。各实验室应通过当地正常供体群体确定自己的预期值。

性能

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

特异性

CALLA 基因编码 100-kD II 型跨膜糖蛋白。CALLA 相关 DNA 序列位于人染色体 3J (10)。CALLA (CD10) 据称是一种表达于早期淋巴系祖细胞和中性粒细胞上的表面酶，并被鉴定为名为中性肽链内切酶的锌金属蛋白酶 24.11（NEP，“脑啡肽酶”）。CD10 酶已知可水解参与细胞分化和成熟过程的各种生物活性肽，包括甲硫脑啡肽、formyl-met-leu-phe (f-MLP) 和 P 物质。

在 1982 年于法国巴黎举办的 1st HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens（第 1 届 HLDA 人类白细胞分化抗原会议）期间，人们研究了单克隆抗体 ALB1 (11)。

精度

阳性百分比值用全血测定。每份样本使用 2 个批次的 CD10-PE 单克隆抗体试剂，在 2 台仪器上运行 4 次，每天 2 次，持续 1 天。使用 Navios 流式细胞仪进行测量（阳性 %）。分析基于 CLSI method EP5-A2：Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：定量测量方法精度性能的评估）。

我们的接受限取决于针对每个群体所测得的阳性颗粒数：

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

粒细胞							
阳性颗粒数（平均值） = 6080							
	操作人员间	细胞仪间	批次内	批次间	运行间	运行内	总数
CV (%)	0.04	0.04	0.06	0.01	0.01	0.04	0.07
结果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

准确性

评估 CD10-PE 的准确性的方法为：将其与参考试剂分别应用于一组全血样本，然后用 Navios 流式细胞仪进行检测，之后比较结果。该测试与参考试剂之间的偏差根据测试结果的差异而确定。如果偏差在允许的错误范围内，或者 p 值没有显著差异 (> 0.05)，则认为这两种试剂的测试结果是等效的。

所得结果如下表所示：

献血人次 = 25				
阳性目标	平均值 Δ	Δ % 细胞标准	p 值	结果
粒细胞	0.16	<5	0.001	PASS

空白检测限和检测限

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

Positive Target	空白检测限（个细胞/µL）	检测限（个细胞/µL）
粒细胞	2	4

限制

1. 若流式细胞术未完全校准、荧光泄漏未得到正确补偿或未在该区域谨慎定位，则流式细胞术可能会产生错误结果。
2. 最好使用包含洗涤步骤的 RBC 裂解技术，因为该试剂未针对“无洗涤”裂解技术进行优化。
3. 只要所使用的程序符合技术插页说明书并遵守实验室管理规范，就可以获得准确和可重现的结果。
4. 校准该试剂的结合抗体，以提供最佳的特异性信号/非特异性信号比率。因此，在每次测试中都务必遵从此试剂体积/样本体积比率。
5. 如果白细胞过多，请在 PBS 中稀释血液，使白细胞浓度降低到约 5 x 10^9 个/L (12)。
6. 在严重肾衰竭、血红蛋白病等特定疾病状态中，红细胞裂解会变得缓慢、不完全，甚至无法实现。在这种情况下，建议在染色前通过密度梯度（例如聚蔗糖）隔离单核细胞 (13)。
7. 接受抗人单克隆抗体治疗的患者可能会因治疗抗体的部分或完全阻断而难以或无法检测特定的靶抗原。
8. 在判读 CD10-PE 结果时，需参照患者的整体临床表现，包括：症状、临床病史、其他检查数据和其他适用的信息。

请参阅附录中的示例和参考文献。

商标

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

其他信息

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

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

修订历史

修订版本 AE：	发布日期：2019 年 9 月

修订	**发布日期**
AW	2022 年 2 月
更新文档以符合贝克曼库尔特公司全球标签政策和 IVD-R (EU)2017/746 的要求：	

新增章节	BSI 2797 编号、预期用户、临床意义、浓度、精度、准确性、空白检测限和检测限、其他信息、修订记录。
添加了信息	参阅“限制”章节
更新了措辞或版面	参阅程序、性能、限制、警告和注意事项、储存和稳定性、需要但未随试剂盒提供的材料章节。
删除了几个章节	临床应用示例、试剂、实验室内重复性、线性度
更新后章节	预期用途、GHS 危险等级分类、变质的迹象、程序、附录。

修订	**发布日期**
AX	2022 年 6 月
添加了信息	添加新语言-哈萨克语

修订	**发布日期**
AY	4 月 2023
更新后章节	储存及稳定性

修订版本	AZ
修订日期	5 月 2024
更新的翻译	**临床意义：**
更新后章节	修订历史

修订版本	BA
修订日期	7 月 2024
更新后章节	修订历史

符号注解

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

	Specifikacijos
Specifiškumas	CD10
Klonas	ALB1
Hibridoma	NS1 x balb/c
Imunogenas	Human leukaemic cells
Imunoglobulinas	IgG1
Rūšis	Pelė
Išgryninimas	Gimininguмo chromatografija
Fluorochromas	R Phycoerythrin (PE)
Molinis santykis	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ žadinimas	488 nm
Spinduliuotės smailė	575 nm
Buferinis tirpalas	7,2 pH fosfato buferinis tirpalas plius 2 mg/ml GSA ir 0,1 % NaN_3

„IOTest“
Konjuguotas antikūnas CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 ml, 20 µl vienam tyrimui

***In vitro* diagnostiniam naudojimui**

NAUDOJIMO PASKIRTIS

Naudojant šį su fluorochromu konjuguotą antikūną, srauto citometrijos būdu galima kokybiškai ir neautomatizuotu būdu identifikuoti ląstelių populiacijas, išreiškiančias CD10 antigeną, esantį žmogaus biologiniuose mėginiuose (žr. paskesnį skyrių „Mėginiai“).

PRINCIPAS

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

Specifinis leukocitų dažymo procesas atliekamas mėginį inkubuojant reagentu „IOTest“. Tada lizuojant pašalinami eritrocitai ir srauto citometrijos būdu analizuojami leukocitai, kurie per šį etapą nepaveikiami.

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

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

NUMATOMAS NAUDOTOJAS

Šis gaminys skirtas naudoti specialistams laboratorijose.

KLINIKINĖ SVARBA

CD10-PE yra CD10 antikūnas, naudojamas CD10 antigeną ekspresuojančioms ląstelėms identifikuoti ir charakterizuoti srauto citometrijos būdu. Naudojant vien šį gaminį negalima padaryti jokios diagnostinės išvados ir jis nėra tam skirtas.

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

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

Žr. šias nuorodas:

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

MĖGINIAI

Veninio kraujo mėginius reikia imti į sterilius mėgintuvėlius su EDTA druska kaip antikoaguliantu.

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

Mėginiai turi būti išanalizuoti per 24 valandas po venų punkcijos.

KONCENTRACIJA

Žr. konkrečios partijos analizės sertifikatą, pateikiamą interneto svetainėje www.beckman.com.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. Reagento nenaudoti pasibaigus galiojimo laikui.
2. Neužšaldyti.
3. Prieš naudojant reikia leisti sušilti iki kambario temperatūros (18–25 °C).
4. Laikykite kuo mažiau apšviestoje vietoje.
5. Saugokite, kad reagentai nebūtų užteršti mikrobais, nes antraip gali būti gaunami klaidingi rezultatai.

6. Su antikūnų tirpalais, kurių sudėtyje yra natrio azido (NaN_3), reikia elgtis atsargiai. Nevartokite į vidų ir saugokitės, kad nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.

   Be to, rūgščioje terpėje natrio azidas gali išskirti potencialiai pavojingą hidrazo rūgštį. Jei jį reikia pašalinti, prieš pilant į nutekėjimo sistemą, reagentą rekomenduojama praskiesti dideliu vandens kiekiu, kad būtų išvengta natrio azido kaupimosi metaliniuose vamzdžiuose ir išvengta sprogimo pavojaus.
7. Visi kraujo mėginiai turi būti laikomi potencialiai užkrečiamais ir su jais turi būti elgiamasi atsargiai (itin svarbu dėvėti apsaugines pirštines, apsiaustus ir akinius).
8. Jokiu būdu nesiurbkite burna ir saugokitės, kad mėginių nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.
9. Panaudoti kraujo mėgintuvėliai ir vienkartinės medžiagos turėtų būti išmetami į sudeginamas ad hoc talpyklas.
10. Reagentai ir atliekos turi būti šalinami pagal vietinius reikalavimus.

GHS PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Neklasifikuojama kaip pavojinga

SDS Saugos duomenų lapą galima gauti interneto svetainėje beckmancoulter.com/techdocs

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Prieš atidarant ir atidarius buteliuką reagentas turi būti laikomas 2–8 °C temperatūroje ir saugomas nuo šviesos.

Uždaryto buteliuko tinkamumo naudoti laikas pagal stabilumo tyrimą: 1095 d.

Atidaryto buteliuko stabilumas: reagentas lieka stabilus 180 d.

KOKYBĖS PABLOGĖJIMO POŽYMIAI

Bet koks reagentų fizinės išvaizdos pokytis gali reikšti pablogėjusias gaminio savybes, todėl tokio reagento naudoti negalima.

Prireikus papildomos informacijos arba gavę sugadintą gaminį skambinkite į „Beckman Coulter“ klientų aptarnavimo skyrių telefonu 800-742-2345 (JAV arba Kanadoje) arba susisiekite su vietiniu „Beckman Coulter“ atstovu.

TURINYS

Natrio azido konservantas metalo vamzdynuose gali sudaryti sprogiuosius junginius. Žr. „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (Nacionalinio darbų saugos ir sveikatos instituto biuletenį: sprogstamojo azido pavojus) (76-8-16).
Norėdami išvengti galimo azido junginių susikaupimo, išpylę į kanalizacijos sistemą neatskiesto reagento, vandeniu praplaukite nutekamuosius vamzdžius. Natrio azidas turi būti šalinamas pagal taikomų vietos reglamentų reikalavimus.

REIKALINGOS, BET SU RINKINIU NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS

- Mėginiams imti reikalingi mėginių ėmimo mėgintuvėliai ir medžiagos.
- Automatinės pipetės su vienkartiniais antgaliais, skirtos 20, 100 ir 500 µl tūrio mėginiams.
- Plastikiniai hemolizės mėgintuvėliai.
- Raudonųjų kraujo kūnelių lizavimo reagentas su plovimo etapu baigus lizuoti. Pavyzdys: „VersaLyse“ (kat. nr. A09777).
- Leukocitų fiksavimo reagentas. Pavyzdys: fiksavimo tirpalas „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800).
- Izotipų kontrolinė medžiaga PE: „IOTest“ reagentas (kat. Nr. A07796).
- Buferinis tirpalas (fosfato buferinis tirpalas: 0,01 M natrio fosfato; 0,145 M natrio chlorido; pH 7,2).
- Nucentrifuguokite.
- Automatinis maišytuvas (sūkurinio tipo).
- Srauto citometras.

PROCEDŪRA NAUDOJANT REAGENTĄ „VERSALYSE“

Analizuojant kiekvieną mėginį, be tiriamojo mėgintuvėlio galima naudoti vieną kontrolinį mėgintuvėlį, kuriame ląstelės sumaišytos su izotipine kontroline medžiaga (kat. Nr. A07796).

1. Į kiekvieną tiriamąjį mėgintuvėlį įpilkite po 20 µl specifinio su „IOTest“ konjuguoto antikūno ir prireikus į kiekvieną kontrolinį mėgintuvėlį įpilkite po 20 µl kiekvieno izotipo kontrolinės medžiagos.
2. Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite po 100 µl tiriamojo mėginio. Mėgintuvėlius atsargiai išmaišykite sūkuriniu būdu.
3. 15–20 minučių inkubuokite kambario temperatūroje (18–25 °C), saugodami nuo šviesos.
4. Tai padarę sulizuokite eritrocitus. Žr. „VersaLyse“ (kat. Nr. A09777) informacinį lapelį; rekomenduojama laikytis procedūros, vadinamos „su vienalaikiu fiksavimu“, kurios metu įpilama 1 ml prieš pat naudojant paruošto fiksavimo ir lizavimo mišinio. Tuojau pat vieną sekundę maišykite sūkuriniu būdu ir 10 minučių inkubuokite kambario temperatūroje, saugodami nuo šviesos.
5. 5 minutes centrifuguokite veikiant 150 x g jėgai kambario temperatūroje.
6. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą.
7. Iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami 3 ml fosfato buferinį tirpalą.
8. Pakartokite 5 veiksmą.
9. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą ir iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami toliau nurodytas medžiagas.

- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo ir 0,1 % formaldehido, jeigu preparatai bus laikomi mažiau nei 24 val. (0,1 % formaldehido fosfato buferinio tirpalo galima gauti 12,5 µl 10X koncentracijos fiksavimo tirpalo „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800) atskiedus 1 ml fosfato buferinio tirpalo.)
- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo be formaldehido, jeigu preparatai bus analizuojami per 2 val.

Pastaba. Visais atvejais preparatus laikykite 2–8 °C temperatūroje ir saugodami nuo šviesos.

TIKĖTINOS VERTĖS

Mūsų laboratorijose 25 tariamai sveikų donorų viso kraujo mėginiai buvo apdoroti pirmiau aprašytu reagentu. Toliau pateiktoje lentelėje nurodyti dominančių teigiamų įvykių skaičiaus rezultatai, gauti naudojant šį reagentą.

Teigiamas taikinys	Skaičius	Vidurkis (%)	SN	VK (%)
Granulocitai	25	98,75	2,26	2,29

Šios vertės tėra reprezentacinės. Kiekviena laboratorija turi iš vietinės normalių donorų populiacijos nustatyti savo numatomas vertes.

VEIKIMAS

Veikimo duomenys gauti, pirmiau aprašytą procedūrą atliekant su mažiau nei 24 val. senumo mėginiais, kurie buvo anksčiau paimti į sterilius mėgintuvėlius su antikoaguliantu EDTA druska. Analizė atliekama ne vėliau kaip 2 val. po imunodažymo.

SPECIFIŠKUMAS

CALLA genas koduoja 100 kD II tipo transmembraninį glikoproteiną. Su CALLA susijusios DNR sekos randamos žmogaus chromosomoje 3J (10). CALLA (CD10) aprašytas kaip paviršiaus fermentas, ekspresuojamas ant ankstyvųjų limfinių ląstelių pradininkių ir neutrofilų, ir identifikuojamas kaip cinko metaloprotеazė, neutralioji endopeptidazė 24.11 (NEP, „enkefalinazė“). Žinoma, kad fermentas CD10 hidrolizuoja įvairius biologiškai aktyvius peptidus, įskaitant met-enkefaliną, formil-metionil-leukil-fenilalaniną (f-MLP) ir medžiagą P, kurie dalyvauja ląstelių diferenciacijos ir brendimo procesuose.

Monokloninis antikūnas ALB1 tirtas per „1st HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens“ (1-ąją konferenciją dėl žmogaus leukocitų diferencijavimo antigenų (ŽLDA)), vykusią Paryžiuje, Prancūzijoje, 1982 m. (11).

GLAUDUMAS

Procentinės teigiamosios vertės nustatytos naudojant visą kraują. Kiekvienas mėginys buvo analizuojamas 4 kartus: 1 dieną, po du kartus, naudojant 2 prietaisus ir 2 CD10-PE monokloninių antikūnų reagentų partijas. Matavimai (% teigiamų) buvo atlikti srauto citometru „Navios“. Analizė atlikta pagal „CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods“ (CLSI metodą EP5-A2 „Kiekybinių matavimo metodų glaudumo veikimo vertinimas“).

Mūsų priėmimo kriterijai priklauso nuo kiekvienoje populiacijoje nustatyto teigiamų įvykių skaičiaus:

- jeigu teigiamų įvykių < 1 500, VK < 15 %
- Jeigu teigiamų įvykių > 1 500, VK < 10 %

Granulocitai							
Teigiamų įvykių skaičius (vidurkis) = 6080							
	Skirtingų operatorių	Skirtingų citometrų	Tos pačios partijos	Skirtingų partijų	Skirtingų analizių	Tos pačios analizės	Iš viso
VK (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
REZULTATAI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TIKSLUMAS

CD10-PE tikslumas vertintas palyginant rezultatus su etaloniniu reagentu kaip patvirtinamąja priemone, srauto citometru „Navios“ analizuojant viso kraujo mėginių rinkinį. Bandomojo ir etaloninio reagentų paklaida nustatyta pagal tyrimo rezultatų skirtumą. Jeigu paklaida neviršija leidžiamojo paklaidų diapazono arba p reikšmė nerodo reikšmingo skirtumo (> 0,05), abiejų reagentų tyrimo rezultatai laikomi lygiaverčiais.

Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Donorų skaičius = 25				
Teigiamas taikinys	Vidurkis Δ	Δ % ląstelių kriterijai	p reikšmė	REZULTATAI
Granulocitai	0,16	<5	0,001	PASS

RUOŠINIO RIBA IR APTIKIMO RIBA

Pagal CLSI EP17-A2 dokumentą „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Klinikinių laboratorinių matavimų procedūrų aptikimo pajėgumų vertinimas) atliktas mokslinis tyrimas. Aptikimo riba (LOD) yra mažiausioji analitės koncentracija, kurią galima nuolat aptikti. Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Positive Target	Ruošinio riba (ląst./µl)	Aptikimo riba (ląst./µl)
Granulocitai	2	4

RIBOJIMAI

1. Atliekant srauto citometriją klaidingi rezultatai gali būti gauti tuo atveju, jei citometras nebuvo tiksliai sureguliuotas, fluorescencijos nuotėkiai nebuvo tinkamai kompensuoti ar regionai nebuvo kruopščiai išdėstyti.
2. Pageidautina taikant RBC lizavimo metodą atlikti plovimo etapą, nes šis reagentas nėra optimizuotas lizavimo „be plovimo“ metodikoms.
3. Tikslūs ir atkuriami rezultatai bus gaunami tol, kol naudojamos procedūros atitiks techniniame lapelyje pateiktą informaciją ir bus atliekamos laikantis geros laboratorijos praktikos.
4. Šio reagento konjuguotas antikūnas sukalibruotas taip, kad būtų gaunamas geriausias specifinio ir nespecifinio signalų santykis. Dėl šios priežasties atliekant kiekvieną tyrimą svarbu tiksliai laikytis nurodyto reagento ir mėginio tūrių santykio.
5. Hiperleukocitozės atveju kraują atskieskite fosfato buferiniu tirpalu, kad gautumėte maždaug 5 x 10^9 leukocitų/l koncentraciją (12).
6. Sergant kai kuriomis ligomis, pavyzdžiui, sunkiu inkstų nepakankamumu arba hemoglobinopatijomis, eritrocitai gali būti lėtai arba nevisiškai sulizuojami arba jų visai neįmanoma lizuoti. Tokiu atveju rekomenduojama prieš dažant atskirti vienbranduoles ląsteles tankio gradiento būdu (pavyzdžiui, Ficollo) (13).
7. Jeigu pacientams atliekama žmogaus monokloninių antikūnų terapija, specifiniai tiksliniai antigenai gali būti aptinkami prasčiau arba visai neaptinkami dėl dalinio arba visiško terapinio antikūno blokavimo.

8. CD10-PE rezultatai turi būti interpretuojami remiantis bendra paciento klinikine būkle, atsižvelgiant į: simptomus, klinikinę anamnezę, papildomų tyrimų duomenis ir kitą atitinkamą informaciją.

Pavyzdžiai ir nuorodos pateikti priede.

PREKIŲ ŽENKLAI

„Beckman Coulter“, stilizuotas logotipas ir kiti šiame dokumente nurodyti „Beckman Coulter“ gaminių ir prekių ženklai yra „Beckman Coulter, Inc.“ prekių ženklai arba registruotieji prekių ženklai Jungtinėse Amerikos Valstijose ir kitose šalyse.

PAPILDOMA INFORMACIJA

Pacientams / naudotojams / trečiosioms šalims Europos Sąjungoje ir šalyse, kuriose galioja identiški reguliaciniai reikalavimai (Reglamentas (ES) 2017/746 dėl in vitro diagnostikos medicinos priemonių): jeigu naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko sunkus incidentas, apie jį praneškite gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui ir savo šalies nacionalinei institucijai.

„Summary of Safety and Performance“ (Saugos ir veikimo suvestinė) pateikiama EUDAMED interneto svetainėje ec.europa.eu/tools/eudamed.

PERŽIŪRŲ ISTORIJA

PERŽIŪRA AE:	Leidimo data: 2019 m. rugsėjis

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AW	2022 m. vasaris
Atnaujinta pagal „Beckman Coulter“ visuotinių ženklinimo taisyklių ir IVD-R (ES)2017/746 reikalavimus.	
Pridėti skyriai	BSI 2797 numeris, „Numatomas naudotojas“, „Klinikinė svarba“, „Koncentracija“, „Glaudumas“, „Tikslumas“, „Ruošinio riba ir aptikimo riba“, „Papildoma informacija“, „Peržiūrų istorija“.
Pridėta informacija	Žr. skyrių „Ribojimai“
Frazavimo arba tipografiniai atnaujinimai	Žr. skyrius „Procedūra“, „Veikimas“, „Ribojimai“, „Įspėjimai ir atsargumo priemonės“, „Laikymas ir stabilumas“, „Reikalingos medžiagos, nepateiktos su reagentų rinkiniu“.
Pašalinti skyriai	„Klinikinio naudojimo pavyzdys“, „Reagentai“, „Laboratorijos vidaus atkartojamumas“, „Tiesiškumas“
Atnaujinti skyriai	„Paskirtis“, „Visuotiniai suderintos sistemos (GHS) pavojingumo klasifikacija“, „Kokybės pablogėjimo požymiai“, „Procedūra“, priedas.

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AX	2022 m. birželis
Pridėta informacija	Įtraukti naują kalbą – kazachų

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AY	Balandis 2023
Atnaujinti skyriai	Laikymas ir stabilumas

Peržiūrėta versija	AZ
Peržiūros data	Gegužė 2024
Atnaujintas vertimas	**Klinikinė svarba:**
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Peržiūrėta versija	BA
Peržiūros data	Liepa 2024
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Simbolių sutartiniai ženklai

Simbolių terminų žodynas pateikiamas interneto svetainėje beckman.com/techdocs (dokumento numeris B60062).

	Specifikációk
Specificitás	CD10
Klón	ALB1
Hibridóma	NS1 x balb/c
Immunogén	Human leukaemic cells
Immunglobulin	IgG1
Faj	Egér
Tisztítás	Affinitás kromatográfia
Fluorokróm	R Phycoerythrin (PE)
Moláris arány	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ gerjesztés	488 nm
Kibocsátási csúcs	575 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plusz 2 mg/mL BSA és 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugált antitest
CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20 µL/teszt

***In vitro* diagnosztikai használatra.**

RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

Ez a fluorokrómmal konjugált antitest lehetővé teszi a humán biológiai mintákban a(z) CD10 antigént expresszáló sejtpopulációk áramlási citometriával végzett kvalitatív és nem automatizált azonosítását (lásd a „Minták” című alábbi fejezet).

MŰKÖDÉSI ELV

A vizsgálat azon alapul, hogy a specifikus monoklonális antitestek képesek-e kötődni a leukociták által expresszált antigén-determinánsokhoz.

A leukociták specifikus festése a mintának az IOTest reagenssel való inkubálásával történik. Az eritrocitákat ezután lízissel eltávolítják, és a leukocitákat, amelyekre nincs hatással ez a művelet, analizálni lehet áramlási citometriával.

Az áramlási citométer a sejtek fényszórását és fluoreszcenciáját méri. Ez lehetővé teszi a vizsgált populáció elhatárolását egy olyan elektronikus ablakon belül, amelyet a derékszögben szórt fény (oldalszóródás vagy SS) és a hegyes szögben szórt fény (előreszóródás vagy FS) intenzitását összehasonlító hisztogramon határoztak meg. Más, a citométer által mértek közül két paramétert kombináló hisztogramok használhatók kiegészítésként a kapuzási fázisban, a felhasználó által választott alkalmazástól függően.

Az elkülönített sejtek fluoreszcenciáját a rendszer elemzi a pozitívan festődött események megkülönböztetésére a nem festődöttektől. Az eredmények kifejezése a pozitív események százalékos arányaként történik a kapuzás által regisztrált összes eseményhez képest.

CÉLFELHASZNÁLÓ

Ez a termék laboratóriumi szakemberek általi használatra készült.

KLINIKAI JELENTŐSÉG

A CD10-PE egy CD10 antitest, amely a(z) CD10 antigént expresszáló sejtek áramlási citometriás azonosítására és jellemzésére szolgál. Ez a termék önmagában nem képes arra, és nem is arra a célra lett kialakítva, hogy bármilyen diagnosztikai következtetést generáljon.

Más markerekkel kombinált használata esetén ez a termék az alábbiak közül egy vagy több célra használható:

- Segít azon rendellenes vérképű betegek differenciáldiagnózisában, akiknél hemopoetikus neoplasia gyanítható, valamint segít az ismerten hemopoetikus neoplasiaval rendelkező betegek monitorozásában.
- Segít a hemopoetikus neoplasiaban szenvedő betegek prognózisának felállításában.

Lásd a következő hivatkozásokat:

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

MINTÁK

A vénás vért steril, alvadásgátlóként EDTA sóját tartalmazó csövekbe kell gyűjteni.

A mintákat szobahőmérsékleten (18–25 °C között) kell tárolni, és nem szabad felrázni. A tesztminta vétele előtt a mintákat homogenizálni kell óvatos rázással.

A minták elemzését a vénaszúráshoz képest 24 órán belül el kell végezni.

KONCENTRÁCIÓ

Lásd: www.beckman.com, tételspecifikus analitikai bizonylat.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

1. Ne használja a reagenst a lejárati időn túl.
2. Fagyasztani tilos.
3. Használat előtt hagyja felmelegedni szobahőmérsékletre (18–25 °C).
4. Minimalizálja a fényexpozíciót.
5. Kerülje el a reagensek mikrobiális kontaminációját, ebben az esetben hamis eredményeket kaphat.
6. A nátrium-azidot (NaN_3) tartalmazó antitestoldatokat körültekintően kell kezelni. A terméket nem szabad lenyelni, és nem érintkezhet bőrrel, nyálkahártyával vagy a szemmel.

Sőt, savas közegben a nátrium-azid potenciálisan robbanékony nitrogén-hidrogénsavat képez. Ha ártalmatlanítani kell, javasolt a reagenst nagy mennyiségű vízzel hígítani a szennyvízcsatornába öntés előtt, hogy ne halmozódhasson fel nátrium-azid a fémcsövekben, és ne keletkezzen robbanásveszély.

7. Minden vérmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és óvatosan kell kezelni (azaz védőkesztyűt, köpenyt és szemüveget viselve).
8. Soha ne pipettázzon szájjal, és a minták soha ne érintkezzenek szemmel, bőrrel vagy nyálkahártyával!
9. A vércsöveket és a kezeléshez használt, egyszer használatos anyagokat olyan ad hoc tartóedényben kell kidobni, amely égetésre szolgál.
10. A reagenseket és a hulladékot a helyi követelmények szerint kell ártalmatlanítani.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Nincs veszélyes anyagként besorolva

SDS A biztonsági adatlap megtalálható a következő weboldalon: beckmancoulter.com/techdocs

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A reagenst a fiola kibontása előtt és után is 2 és 8 °C között, fénytől védve kell tárolni.

A lezárt fiola eltarthatósági ideje a stabilitási vizsgálat alapján: 1095 nap.

A felbontott fiola stabilitása: a reagens 180 napig stabil.

A MINŐSÉGROMLÁS JELEI

A reagensek fizikai megjelenésének bármilyen megváltozása megromlásra utalhat, és a reagenst nem szabad felhasználni.

További információkért, illetve sérült termék kézhezvétele esetén hívja a Beckman Coulter ügyfélszolgálatát a 800-742-2345-es számon (az Amerikai Egyesült Államokban és Kanadában), vagy lépjen kapcsolatba a Beckman Coulter területileg illetékes képviselőjével.

A CSOMAG TARTALMA

A nátrium-azid tartósítószer robbanékony vegyületeket képezhet a fém lefolyócsövekben. Lásd az alábbi NIOSH-közleményt: Explosive Azide Hazard (Robbanékony azidokkal kapcsolatos veszélyek) (76. 8. 16.).
Az azidvegyületek esetleges felhalmozódásának elkerülése érdekében a hígítatlan reagens szennyvízlefolyóba történő kiöntése után a szennyvízvezetéket vízzel át kell öblíteni. A nátrium-azid ártalmatlanítását a vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell végezni.

SZÜKSÉGES, DE A KÉSZLETTEL NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK:

- Mintacsövek és a mintavételhez használt anyagok.
- Automata pipetták eldobható hegyekkel 20, 100 és 500 µL-hez.
- Műanyag hemolíziscsövek.
- Vörösvértesteket lizáló reagens, a lízis után mosási fázissal. Például: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leukocitafixáló reagens. Például: IOTest 3 fixálóoldat (Ref. A07800).
- Izotípus-kontroll PE: IOTest reagens (Ref. A07796).
- Puffer (PBS: 0,01 M nátrium-foszfát; 0,145 M nátrium-klorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automata keverő (vortex típusú).
- Áramlási citométer.

ELJÁRÁS VERSALYSE REAGENS ESETÉN

Mindegyik analizált minta esetében a vizsgált mintacsövön kívül a vizsgálatot ki lehet egészíteni egy kontrollmintacsővel is, amelyben a sejtek az izotípus-kontroll jelenlétében vannak összekeverve (Ref. A07796).

1. Adjon mindegyik mintacsőhöz 20 µL specifikus IOTest konjugált antitestet, és szükség esetén mindegyik kontrollmintacsőhöz 20 µL izotípuskontrollt.
2. Adjon 100 µL tesztmintát mindegyik mintacsőhöz. Óvatosan vortexelje a mintacsöveket.
3. Inkubálja 15–20 percig szobahőmérsékleten (18–25 °C), fénytől védett helyen.
4. Ezután végezze el a vörösvértestek lízisét. Kövesse a VersaLyse (Ref. A09777) füzet utasításait és lehetőség szerint a „konkomittáns fixációval” nevű eljárást alkalmazza, amelynek során 1 mL, akkor és ott elkészített „Fix-and-Lyse” keveréket kell hozzáadni a mintához. Azonnal vortexelje egy másodpercig, majd inkubálja 10 percig szobahőmérsékleten, fénytől védve.
5. Centrifugálja 5 percig szobahőmérsékleten, 150 x g-vel.
6. Felszívás segítségével távolítsa el a felülúszót.
7. Reszuszpendálja a sejtpelletet 3 mL PBS-ben.
8. Ismételje meg az 5. lépést.
9. Felszívással távolítsa el a felülúszót, és reszuszpendálja a sejtpelletet az alábbi reagenssel:

- 0,1% formaldehidet tartalmazó 0,5 mL vagy 1 mL PBS, ha a készítményt kevesebb mint 24 óráig fogják tárolni. (0,1% formaldehidet tartalmazó PBS készítéséhez hígítson 12,5 µL IOTest 3 fixálóoldatot (Ref. A07800) a 10X koncentrációra 1 mL PBS-ben.)
- 0,5 mL vagy 1 mL PBS formaldehid nélkül, ha a preparátum elemzése 2 órán belül fog történni.

Megjegyzés: A készítményeket fénytől védve, 2 és 8 °C között kell tárolni.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

A laboratóriumainkban látszólag egészséges 25 donorok teljesvér-mintáit kezeltük a fent ismertetett reagenssel. Az ezzel a reagenssel kapott vizsgált pozitív események számolási eredményeit az alábbi táblázat tartalmazza:

Pozitív cél	Szám	Átlag (%)	SD	CV (%)
Granulociták	25	98,75	2,26	2,29

Ezek az értékek csak tájékoztatásul szolgálnak. Az egyes laboratóriumoknak meg kell határozniuk a saját várt értékeiket a helyi egészséges donorok populációjából.

TELJESÍTMÉNY

A teljesítményadatokat a fent leírt eljárás segítségével lehet megkapni az alvadásgátlóként EDTA-sót tartalmazó steril csövekbe levett vérmintákból a vérvételt követő kevesebb mint 24 órán belül. Az analízist az immunfestést követő 2 órán belül kell elvégezni.

SPECIFICITÁS

A CALLA gén egy 100 kD-os, II. típusú transzmembrán glikoproteint kódol. A CALLA-hoz kapcsolódó DNS-szekvenciák a 3J emberi kromoszómán találhatók (10). A CALLA-t (CD10) olyan sejtfelszíni enzimként írták le, amely a korai limfoid progenitorokon és neutrofil sejteken jelenik meg, és megállapították, hogy a 24.11-es neutrális endopeptidáz (NEP, „enkefalináz") cink-metalloproteázzal azonos. Ismeretes, hogy a CD10 enzim egy sor biológiailag aktív peptidet hidrolizál, ezen belül a Met-enkefalint, a formil-Met-Leu-Phe-t (f-MLP), és a P-anyagot is, amelyek részt vesznek a sejtek differenciálódási és érési folyamataiban.

Az ALB1 monoklonális antitestet az első HLDA (Human Leucocyte Differentiation Antigens) Workshop (1982 Párizs, Franciaország) alkal-mával vizsgálták (11).

PRECIZITÁS

A százalékos pozitív értékeket teljes vér felhasználásával határozták meg. Mindegyik mintát 4-szer futtatták, naponta kétszer 1 napig, 2 berendezésen, a CD10-PE monoklonális antitest reagensek 2 gyártási tételének felhasználásával. A méréseket (pozitív %) Navios áramlási citométerrel végezték. Az analízist a CLSI által közzétett EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (A kvantitatív mérési módszerek precizitási teljesítményének értékelése) módszer alapján végezték.

Az elfogadhatósági kritériumaink az egyes populációknál mért pozitív események számától függ:

- Ha a pozitív esemény < 1500, CV < 15%
- Ha a pozitív esemény > 1500, CV < 10%

Granulociták							
Pozitív események száma (átlag) = 6080							
	Felhasználók közötti	Citométerek közötti	Egy gyártási tételen belüli	Eltérő gyártási tételek közötti	Futtatások közötti	Egy futtatáson belüli	Összes
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
EREDMÉNYEK	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PONTOSSÁG

A CD10-PE pontosságának értékeléséhez összevetették egy referencia reagens és a Navios áramlási citométeren futtatott teljesvér-minták eredményeit. A teszt- és a referenciareagens közötti torzítást a teszteredmények közötti különbségek alapján határozták meg. Ha a torzítás a megengedhető hibatartományon belül maradt, vagy ha a p-érték nem jelzett szignifikáns különbséget (> 0,05), akkor a két reagenssel kapott teszteredményeket egyenértékűnek tekintették.

Az eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Donorok száma = 25				
Pozitív cél	Átlag Δ	Δ % sejt kritériumok	p-érték	EREDMÉNYEK
Granulociták	0,16	<5	0,001	PASS

VAK HATÁRÉRTÉK ÉS KIMUTATHATÓSÁGI HATÁRÉRTÉK

Vizsgálatot végeztek a CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (A klinikai laboratóriumi mérési eljárások kimutatási képességének értékelése) útmutatónak megfelelően. Kimutathatósági határérték (LOD) – a vizsgált anyag következetesen kimutatható legalacsonyabb koncentrációja. A kapott eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Positive Target	Vak határérték (sejt/µL)	Kimutathatósági határérték (sejt/µL)
Granulociták	2	4

KORLÁTOZÁSOK

1. Az áramlási citometria hamis eredményeket adhat, ha a citométert nem igazítják tökéletesen, ha nem kompenzálják megfelelően a fluoreszcenciaszivárgást és ha a régiókat nem pozicionálják elég gondosan.
2. Érdemes egy mosási lépést is tartalmazó vörösvértest lizáló módszert alkalmazni, mivel ezt a reagenst nem optimalizálták „mosás nélküli" lizáló módszerekhez.
3. Pontos és megismételhető eredmények születnek, amennyiben az eljárásokat a műszaki tájékoztató szerint és a helyes laboratóriumi gyakorlattal összhangban végzik el.
4. A reagens konjugált antitestjét úgy kalibrálták, hogy a legjobb specifikus jel/nem specifikus jel arányt produkálja. Ezért fontos, hogy minden tesztnél betartsa a reagenstérfogat/mintatérfogat arányt.
5. Emelkedett leukocitaszám esetén hígítsa a vért annyi PBS hozzáadásával, hogy a fehérvérsejtek koncentrációja körülbelül 5 x 10^9 leukocita/L legyen (12).

6. Bizonyos betegségek, például súlyos veseelégtelenség vagy hemoglobinopátiák esetében előfordulhat, hogy a vörösvértestek lízise lassú, részleges, vagy akár lehetetlen. Ilyenkor javasolt a festés előtt a mononukleáris sejtek elkülönítése egy sűrűséggradiens alapján működő eljárással (ilyen például a Ficoll) (13).
7. A humán antigén elleni monoklonális antitest terápiában részesülő betegek esetében a specifikus célantigén kimutatásának mértéke csökkenhet vagy sikertelen lehet az alkalmazott terápiás antitest által okozott részleges vagy teljes gátlás miatt.
8. Az CD10-PE eredményeket a beteg teljes klinikai képének fényében kell értelmezni, figyelembe véve a tüneteket, a kórtörténetet, más tesztek eredményeit és egyéb releváns adatokat.

A példákért és az irodalomjegyzékért lásd a Függeléket.

VÉDJEGYEK

A Beckman Coulter, a stilizált logó, valamint az itt említett Beckman Coulter termék- és szolgáltatásjegyek a Beckman Coulter, Inc. védjegyei vagy bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és más országokban.

TOVÁBBI INFORMÁCIÓK

Az Európai Unióban, illetve az EU-val azonos szabályozási rendszerrel (lásd: az EU 2017/746 rendelete az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökről) rendelkező országokban élő beteg/felhasználó/harmadik fél esetében: ha a jelen eszköz használata során vagy használata eredményeként súlyos váratlan esemény történik, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy hivatalos területi képviselőjének, valamint az illetékes nemzeti hatóságnak.

A Summary of Safety and Performance (A biztonság és a teljesítmény összefoglalása) című dokumentum elérhető az EUDAMED adatbázisban: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ÁTDOLGOZÁSOK

AE ÁTDOLGOZÁS:	Közzététel dátuma: 2019. szeptember

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AW	2022. február
A Beckman Coulter globális címkézési szabályzatának megfelelő, valamint az IVD-R (EU) 2017/746 követelmények szerinti frissítések:	
Hozzáadott szakaszok	BSI 2797 szám, Célfelhasználó, Klinikai jelentőség, Koncentráció, Precizitás, Pontosság, Vak határérték és kimutathatósági határérték, További információk, Átdolgozások.
Új információk	Lásd a Korlátozások című részeket
Megfogalmazási vagy tipográfiai frissítések	Lásd az Eljárás, Teljesítmény, Korlátozások, Figyelmeztetések és óvintézkedések, Tárolás és stabilitás, Szükséges, de a készlettel nem szállított anyagok című részek.
Eltávolított szakaszok	Példa klinikai alkalmazásra, Reagensek, Laboratóriumon belüli reprodukálhatóság, Linearitás
Frissített szakaszok	Rendeltetésszerű használat, GHS szerinti veszélyességi besorolás, A minőségromlás jelei, Eljárás, Függelék.

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AX	2022. június
Új információk	Új nyelv hozzáadása – kazak

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AY	Április 2023
Frissített szakaszok	Tárolás és stabilitás

Átdolgozott verzió	AZ
Átdolgozás dátuma	Május 2024
Frissített fordítások	**Klinikai jelentőség:**
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Átdolgozott verzió	BA
Átdolgozás dátuma	július 2024
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Szimbólumok listája

A szimbólumok jegyzéke elérhető a következő weboldalon: beckman.com/techdocs (dokumentumszám: B60062)

	Specyfikacje
Swoistość	CD10
Klon	ALB1
Hybrydoma	NS1 x balb/c
Immunogen	Human leukaemic cells
Immunoglobulina	IgG1
Gatunek	Mysz
Oczyszczanie	Chromatografia powinowactwa
Fluorochrom	R Phycoerythrin (PE)
Stosunek molowy	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Wzbudzenie λ	488 nm
Pik emisji	575 nm
Bufor	PBS o pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Przeciwciało skoniugowane CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

PRZEZNACZENIE

To przeciwciało skoniugowane z fluorochromem umożliwia jakościową i niezautomatyzowaną identyfikację populacji komórek wykazujących ekspresję antygenu CD10 obecnego w ludzkich próbkach biologicznych metodą cytometrii przepływowej (zobacz część „Próbki" poniżej).

ZASADA DZIAŁANIA

Ten test jest oparty na zdolności swoistych przeciwciał monoklonalnych do wiązania się z determinantami antygenowymi ekspresjonowanymi przez lekukocyty.

Barwienie swoiste leukocytów jest wykonywane poprzez inkubację próbki z odczynnikiem IOTest. Krwinki czerwone są następnie usuwane poprzez lizę, a leukocyty, na które ta liza nie wpływa, są analizowane metodą cytometrii przepływowej.

Cytometr przepływowy mierzy rozpraszanie światła i fluorescencję komórek. Umożliwia to odgraniczenie populacji zainteresowania w elektronicznym oknie zdefiniowanym na histogramie, który koreluje ortogonalne rozpraszanie światła (rozpraszanie boczne — Side Scatter, w skrócie SS) i rozpraszanie światła pod wąskim kątem (rozpraszanie do przodu, Forward Scatter, w skrócie FS). Na etapie bramkowania, w zależności od zastosowania wybranego przez użytkownika, można używać innych histogramów łączących dwa z różnych parametrów dostępnych w cytometrze.

Fluorescencja odgraniczonych komórek jest analizowana w celu odróżnienia zdarzeń barwionych dodatnio od zdarzeń nieulegających barwieniu. Wyniki są wyrażane jako odsetek zdarzeń dodatnich względem wszystkich zdarzeń zarejestrowanych poprzez bramkowanie.

UŻYTKOWNIK DOCELOWY

Produkt jest przeznaczony do profesjonalnego użytku w laboratoriach.

ZNACZENIE KLINICZNE

CD10-PE to przeciwciało CD10 służące do identyfikowania i charakteryzowania komórek wykazujących ekspresję antygenu CD10 za pomocą cytometrii przepływowej. Ten produkt nie może samodzielnie generować i nie jest przeznaczony do generowania jakichkolwiek wniosków diagnostycznych.

W połączeniu z innymi markerami produkt ten może służyć do jednego lub kilku z następujących zastosowań:

- Do wspomagania diagnostyki różnicowej pacjentów z nieprawidłowym obrazem hematologicznym i podejrzeniem nowotworu układu krwiotwórczego oraz do monitorowania pacjentów ze stwierdzonym nowotworem układu krwiotwórczego.
- Jako pomoc w ustaleniu rokowania u pacjentów z nowotworem układu krwiotwórczego.

Zobacz poniższe piśmiennictwo:

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

PRÓBKI

Krew żylną należy pobierać do sterylnych probówek zawierających antykoagulant w postaci soli EDTA.

Próbki należy przechowywać w temperaturze pokojowej (18–25°C), bez wytrząsania. Przed pobraniem próbki do testu należy uzyskać jednorodną mieszaninę poprzez delikatne mieszanie.

Próbki muszą zostać zbadane w ciągu 24 godzin od pobrania krwi żylnej przez nakłucie.

STĘŻENIE

Zobacz świadectwo analizy właściwe dla serii pod adresem www.beckman.com.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Nie używać odczynników po upływie daty ważności.
2. Nie zamrażać.
3. Przed użyciem odczekać, aż osiągnie temperaturę pokojową (18–25°C).
4. Maksymalnie ograniczyć narażenie na działanie światła.
5. Nie dopuścić do skażenia mikrobiologicznego odczynników, gdyż może to spowodować uzyskanie fałszywych wyników.
6. Z roztworami przeciwciał zawierającymi azydek sodu (NaN_3) należy postępować ostrożnie. Nie spożywać i nie dopuszczać do kontaktu ze skórą, błoną śluzową oraz oczami.

Ponadto w środowisku kwaśnym azydek sodu może tworzyć potencjalnie niebezpieczny kwas azotowodorowy. W przypadku konieczności usunięcia zalecane jest rozcieńczenie odczynnika w dużej objętości wody przed wlaniem go do kanalizacji, aby uniknąć gromadzenia się azydku sodu w metalowych rurach i uniknąć ryzyka wybuchu.

7. Wszystkie próbki krwi należy uważać za potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi ostrożnie (w szczególności nosić ochronne rękawice, fartuchy i okulary).
8. Nigdy nie wolno pipetować ustami. Nie dopuszczać do kontaktu próbek ze skórą, błonami śluzowymi i oczami.
9. Probówki przeznaczone na krew i materiały jednorazowego użytku używane podczas procedury należy usuwać do pojemników ad hoc przeznaczonych do spalenia.
10. Odczynniki i odpady należy usuwać zgodnie z wymogami lokalnymi.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Produkt nie został sklasyfikowany jako niebezpieczny

SDS Karta charakterystyki jest dostępna pod adresem beckmancoulter.com/techdocs

MAGAZYNOWANIE I STABILNOŚĆ

Ten odczynnik musi być przechowywany w temperaturze 2–8°C z zapewnieniem ochrony przed światłem, zarówno przed otwarciem fiolki jak i po jej otwarciu.

W oparciu o wyniki badania stabilności dopuszczalny okres przechowywania w zamkniętej fiolce ustalono na: 1095 dni.

Stabilność otwartej fiolki: odczynnik zachowuje stabilność przez 180 dni.

OZNAKA POGORSZENIA WŁAŚCIWOŚCI

Wszelkie zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników mogą wskazywać na pogorszenie właściwości — odczynników takich nie należy używać.

W celu otrzymania dodatkowych informacji lub w przypadku otrzymania uszkodzonego produktu należy skontaktować się z działem obsługi klienta firmy Beckman Coulter pod numerem telefonu 800-742-2345 (USA lub Kanada) lub z miejscowym przedstawicielem firmy Beckman Coulter.

ZAWARTOŚĆ

Środek konserwujący, azydek sodu, może tworzyć związki wybuchowe w metalowych rurach kanalizacyjnych. Patrz NIOSH Bulletin (Biuletyn instytutu NIOSH): Explosive Azide Hazard (Niebezpieczeństwo wybuchu azydku) (16.8.76).
Po usunięciu nierozcieńczonego odczynnika należy przepłukać rury ściekowe wodą, aby uniknąć gromadzenia się azydków. Azydek sodu musi być usuwany zgodnie z odpowiednimi przepisami lokalnymi.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE Z ZESTAWEM:

- Probówki do pobierania próbek i materiały wymagane do pobierania próbek.
- Pipety automatyczne z jednorazowymi końcówkami na 20, 100 i 500 µL.
- Probówki z tworzywa sztucznego przeznaczone do hemolizy.
- Odczynnik do lizy erytrocytów, z etapem przemywania po etapie lizy. Przykład: VersaLyse (nr ref. A09777).
- Odczynnik do utrwalania limfocytów. Przykład: Roztwór utrwalający IOTest 3 (nr ref. A07800).
- Kontrola izotypowa PE: Odczynnik IOTest (nr ref. A07796).
- Bufor (PBS: 0,01 M fosforan sodu; 0,145 M chlorek sodu; pH 7,2).
- Wirówka.
- Mieszadło automatyczne (typu worteks).
- Cytometr przepływowy.

PROCEDURA Z ODCZYNNIKIEM VERSALYSE

Do każdej badanej próbki, dodatkowo oprócz probówki testowej, można dodać jedną probówkę kontrolną, w której komórki są mieszane w obecności kontroli izotypowej (nr ref. A07796).

1. Dodać po 20 µL swoistego przeciwciała skoniugowanego IOTest do każdej probówki testowej i, w razie potrzeby, po 20 µL kontroli izotypowej do każdej probówki kontrolnej.
2. Do każdej probówki dodać 100 µL próbki testowej. Łagodnie worteksować probówki.
3. Inkubować przez 15–20 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C), chroniąc przed światłem.
4. Następnie przeprowadzić lizę krwinek czerwonych. Zapoznać się z ulotką VersaLyse (nr ref. A09777). Preferowane jest postępowanie zgodnie z procedurą „z towarzyszącym utrwalaniem”, która polega na dodaniu 1 mL przygotowanej wcześniej mieszaniny do utrwalania i lizy (Fix-and-Lyse). Bezzwłocznie worteksować przez jedną sekundę i inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej, chroniąc przed światłem.
5. Wirować przez 5 minut przy 150 x g w temperaturze pokojowej.
6. Usunąć supernatant poprzez zasysanie.
7. Zawiesić osad komórkowy w 3 mL PBS.
8. Powtórzyć etap 5.
9. Usunąć supernatant poprzez zasysanie i ponownie zawiesić osad komórkowy w:

- 0,5 mL lub 1 mL PBS oraz 0,1% formaldehydu, jeśli preparaty mają być przechowywane przez mniej niż 24 godz. (0,1% roztwór formaldehydu w PBS można uzyskać, rozcieńczając 12,5 µL roztworu utrwalającego IOTest 3 (nr ref. A07800) stężonego 10X w 1 mL PBS).
- 0,5 mL lub 1 mL PBS bez formaldehydu, jeśli preparaty zostaną poddane analizie w ciągu 2 godz.

Uwaga: Niezależnie od sytuacji preparaty należy przechowywać w temperaturze 2–8°C, chroniąc je przed światłem.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

W naszych laboratoriach próbki krwi pełnej od 25 dawców niewykazujących objawów chorobowych poddano obróbce z użyciem opisanego powyżej odczynnika. Uzyskane wyniki w zakresie liczby dodatnich zdarzeń zainteresowania w przypadku tego odczynnika podano w tabeli poniżej:

Dodatnie docelowe komórki	Liczba	Średnia (%)	SD	WZ (%)
Granulocyty	25	98,75	2,26	2,29

Wartości te są przeznaczone wyłącznie do celów poglądowych. Każde laboratorium powinno ustalić własne wartości oczekiwane z użyciem próbek reprezentatywnych dla lokalnej populacji zdrowych dawców.

WYDAJNOŚĆ

Dane dotyczące wydajności uzyskano z wykorzystaniem procedury opisanej powyżej na próbkach krwi mających mniej niż 24 godziny, uprzednio pobranych do sterylnych probówek z solą EDTA jako antykoagulantem. Badanie przeprowadzono w ciągu 2 godzin po barwieniu immunologicznym.

SWOISTOŚĆ

Gen CALLA koduje transmembranową glikoproteinę typu II o masie 100 kD. Związane z CALLA sekwencje DNA występują na ludzkim chromosomie 3J (10). CALLA, (CD10), opisano jako enzym powierzchniowy ulegający ekspresji na wczesnych progenitorach limfoidalnych i neutrofilach i jest identyfikowany jako metaloproteaza cynkowa, obojętna endopeptydaza 24.11 (NEP, „enkefalinaza"). Enzym CD10 jest znany z hydrolizowania szeregu peptydów czynnych biologicznie, w tym met-enkefaliny, formylo-met-leu-phe (f-MLP) i substancji P, która bierze udział w procesach różnicowania i dojrzewania komórek.

Przeciwciało monoklonalne ALB1 badano podczas warsztatów „1st HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens" (1. warsztaty HLDA dotyczące antygenów różnicowania leukocytów ludzkich), które odbyły się w Paryżu, Francja, w 1982 r. (11).

PRECYZJA

Odsetek wartości dodatnich określono przy użyciu krwi pełnej. Każdą próbkę oznaczano 4 razy, dwa razy na dobę przez 1 dzień na 2 analizatorach przy użyciu 2 serii odczynnika przeciwciała monoklonalnego CD10-PE. Pomiary (% dodatnich) przeprowadzono na cytometrze przepływowym Navios. Badanie przeprowadzono na podstawie metody opisanej w wytycznych CLSI w dokumencie EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Ocena wydajności precyzji metody pomiarów ilościowych).

Nasze kryteria akceptacji są uzależnione od liczby zdarzeń dodatnich zmierzonych w każdej populacji:

- Jeśli zdarzenie dodatnie < 1500, WZ < 15%
- Jeśli zdarzenie dodatnie > 1500, WZ < 10%

Granulocyty							
Liczba zdarzeń dodatnich (średnia) = 6080							
	Między operatorami	Między cytometrami	W ramach serii	Między seriami	Między oznaczeniami	W ramach analizy	Łącznie
WZ (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
WYNIKI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOKŁADNOŚĆ

Dokładność odczynnika CD10-PE oceniano poprzez porównanie wyników uzyskanych za pomocą tego odczynnika z wynikami uzyskanymi za pomocą odczynnika referencyjnego, wykorzystywanego jako odniesienie, na zestawie próbek krwi pełnej oznaczanych na cytometrze przepływowym Navios. Odchylenie między odczynnikiem testowym i referencyjnym określono na podstawie różnicy między wynikami testu. Jeśli odchylenie mieści się w dopuszczalnym zakresie błędu lub wartość p wskazuje na brak istotnej różnicy (> 0,05), wyniki testu dla dwóch odczynników są uznawane za równoważne.

W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Liczba dawców = 25				
Dodatnie docelowe komórki	Średnia Δ	Kryteria Δ % komórki	Wartość p	WYNIKI
Granulocyty	0,16	<5	0,001	PASS

GRANICA PRÓBY ŚLEPEJ I GRANICA WYKRYWALNOŚCI

Przeprowadzono badanie zgodnie z dokumentem CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zdolności wykrywania dla procedur pomiarowych w laboratoriach medycznych). Granica wykrywalności (LOD) to najniższe stężenie analitu, które może być powtarzalnie wykrywane. W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Positive Target	Granica próby ślepej (l. komórek/µL)	Granica wykrywalności (l. komórek/µL)
Granulocyty	2	4

ORGANICZENIA

1. Wyniki cytometrii przepływowej mogą być zafałszowane, jeśli osiowanie cytometru nie było dokładne, przepuszczona fluorescencja nie została prawidłowo skompensowana, a regiony nie zostały starannie upozycjonowane.
2. Preferowane jest stosowanie techniki lizy RBC z etapem przemywania, ponieważ odczynnik ten nie został zoptymalizowany dla technik lizy „bez przemywania".
3. Uzyskane wyniki będą dokładne i odtwarzalne pod warunkiem, że stosowane będą procedury zgodne z informacjami zawartymi w ulotce z danymi technicznymi oraz z dobrymi praktykami laboratoryjnymi.
4. Skoniugowane przeciwciało zawarte w tym odczynniku zostało skalibrowane tak, aby zapewniać najlepszy stosunek sygnału swoistego do nieswoistego. Dlatego ważne jest przestrzeganie stosunku objętości odczynnika do objętości próbki w każdym teście.
5. W przypadku hiperleukocytozy należy rozcieńczyć krew w PBS, aby uzyskać wartość w przybliżeniu 5 x 10^9 leukocytów/L (12).

6. W niektórych stanach chorobowych, takich jak ciężka niewydolność nerek lub hemoglobinopatie, liza krwinek czerwonych może być powolna, niepełna lub nawet niemożliwa. W takich przypadkach przed barwieniem zalecane jest wyizolowanie komórek jednojądrzastych na gradiencie gęstości (na przykład Ficoll) (13).
7. U pacjentów poddawanych terapii anty-ludzkimi przeciwciałami monoklonalnymi, wykrywanie swoistych antygenów docelowych może być osłabione lub niemożliwe z powodu częściowego lub całkowitego zablokowania przez przeciwciało terapeutyczne.
8. Wyniki oznaczenia CD10-PE należy interpretować w świetle ogólnego obrazu klinicznego pacjenta, w tym objawów, historii klinicznej, danych z dodatkowych testów oraz innych właściwych informacji.

Przykłady i piśmiennictwo można znaleźć w załączniku.

ZNAKI TOWAROWE

Beckman Coulter, stylizowane logo oraz wymienione w tym dokumencie znaki produktów i usług firmy Beckman Coulter są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Beckman Coulter, Inc. w Stanach Zjednoczonych i innych krajach.

DODATKOWE INFORMACJE

Dotyczy pacjentów/użytkowników/stron trzecich w Unii Europejskiej i w krajach o identycznym systemie regulacyjnym (rozporządzenie 2017/746/UE w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro) — jeśli podczas lub w wyniku korzystania z tego wyrobu wystąpi poważny incydent, należy zgłosić go producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz odpowiedniemu organowi krajowemu.

Dokument The Summary of Safety and Performance (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania) jest dostępne w bazie danych EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIA ZMIAN

WERSJA AE:	Data wydania: Wrzesień 2019 r.

WERSJA	**Data wydania**
AW	Luty 2022 r.
Aktualizacje w celu zapewnienia zgodności z globalnymi zasadami oznakowania firmy Beckman Coulter i według wymogów rozporządzenia IVD-R (UE)2017/746:	
Dodano części	Numer BSI 2797, Użytkownik docelowy, Znaczenie kliniczne, Stężenie, Precyzja, Dokładność, Granica próby ślepej i granica wykrywalności, Informacje dodatkowe, Historia zmian.
Dodano informacje	Zobacz części Ograniczenia
Aktualizacje wyrażeń lub typograficzne	Zobacz części Procedura, Wydajność, Ograniczenia, Ostrzeżenia i środki ostrożności, Magazynowanie i stabilność, Materiały potrzebne, ale niedostarczone z zestawem.
Usunięte części	Przykłady zastosowań klinicznych, Odczynniki, Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna, Liniowość
Zaktualizowane części	Przeznaczenie, Klasyfikacja zagrożeń wg GHS, Dowód pogorszenia jakości, Procedura, Załącznik.

WERSJA	**Data wydania**
AX	Czerwiec 2022 r.
Dodano informacje	Dodano nowy język — kazachski

WERSJA	**Data wydania**
AY	Kwiecień 2023
Zaktualizowane części	Przechowywanie i stabilność

Wersja zmieniona	AZ
Data zmiany	Maj 2024
Zaktualizowano tłumaczenia	**Znaczenie kliniczne:**
Zaktualizowane części	Historia zmian

Wersja zmieniona	BA
Data zmiany	Lipiec 2024
Zaktualizowane części	Historia zmian

Legenda symboli

Słowniczek symboli jest dostępny pod adresem beckman.com/techdocs (numer dokumentu B60062)

	Specifikace
Specificita	CD10
Klon	ALB1
Hybridom	NS1 x balb/c
Imunogen	Human leukaemic cells
Imunoglobulin	IgG1
Druhy	Myš
Purifikace	Afinitní chromatografie
Fluorochrom	R Phycoerythrin (PE)
Molární poměr	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Excitace λ	488 nm
Emisní vrchol	575 nm
Pufr	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugovaná protilátka CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 ml, 20 µl/test

Pouze pro diagnostiku *in vitro*

URČENÉ POUŽITÍ

Tato protilátka konjugovaná s fluorochromem umožňuje kvalitativní a neautomatizovanou identifikaci buněčných populací exprimujících antigen CD10 v lidských biologických vzorcích (viz část „Vzorky“ níže) pomocí průtokové cytometrie.

PRINCIP

Tento test je založen na schopnosti monoklonálních protilátek specificky se vázat na antigenní determinanty exprimované na leukocytech.

Specifické značení leukocytů se provádí inkubováním vzorku s reagencií IOTest. Červené krvinky jsou poté odstraněny provedením lýzy a bílé krvinky, jež tímto procesem nejsou ovlivněny, jsou analyzovány na průtokovém cytometru.

Průtokový cytometr měří difúzi světla a fluorescenci buněk. Umožňuje oddělit zkoumanou populaci v rámci elektronického okna definovaného na histogramu, který je v korelaci s ortogonální difúzí světla (kolmý rozptyl) a s difúzí světla v úzkém úhlu (přímý rozptyl). Jako podporu ve fázi gatování lze, v závislosti na aplikaci zvolené uživatelem, použít další histogramy s kombinací dvou různých parametrů, které jsou v cytometru k dispozici.

Fluorescence oddělených buněk je analyzována s cílem odlišit pozitivně obarvené události od neobarvených. Výsledky jsou vyjádřeny jako procentní podíl pozitivních událostí ze všech událostí zjištěných gatováním.

ZAMÝŠLENÝ UŽIVATEL

Tento produkt je určen pro profesionální laboratorní použití.

KLINICKÁ VÝZNAMNOST

CD10-PE je protilátka CD10 používaná k identifikaci a charakterizaci buněk exprimujících antigen CD10 pomocí průtokové cytometrie. Tento produkt sám o sobě nevytváří a nemá vytvářet žádný diagnostický závěr.

Při použití v kombinaci s dalšími markery lze tento produkt použít k jedné nebo více z následujících funkcí:

- Jako pomůcka pro diferenciální diagnostiku pacientů s hematologickými abnormalitami, u kterých je podezření na hematopoetickou neoplazii, a k monitorování pacientů se známou hematopoetickou neoplazií.
- Jako pomůcka pro stanovení prognózy u pacientů s hematopoetickou neoplazií.

Viz následující odkazy:

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

VZORKY

Vzorky žilní krve musejí být odebrány do sterilních zkumavek obsahujících sůl EDTA jako antikoagulační činidlo.

Vzorky by měly být uchovávány při laboratorní teplotě (18–25 °C) a neměly by se protřepávat. Vzorek by měl být před odebráním vzorku k testování homogenizován mírným promícháním.

Vzorky je nutné analyzovat do 24 hodin od venepunkce.

KONCENTRACE

Viz certifikát o analýze specifický pro šarži na www.beckman.com.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagencii nepoužívejte po datu exspirace.
2. Nezmrazujte.
3. Před použitím nechte vytemperovat na laboratorní teplotu (18–25 °C).
4. Minimalizujte expozici světlu.
5. Zabraňte mikrobiologické kontaminaci reagencií, jinak mohou být výsledky chybné.
6. S roztoky protilátek obsahujícími azid sodný (NaN_3) je třeba manipulovat opatrně. Neužívejte vnitřně a zabraňte veškerému kontaktu s pokožkou, sliznicemi a očima.

V kyselém prostředí může azid sodný navíc vytvářet potenciálně nebezpečnou kyselinu azidovodíkovou. Při likvidaci se doporučuje před vylitím do odpadu reagencii zředit velkým objemem vody, aby nedocházelo k hromadění nebezpečného azidu sodného v kovovém potrubí a předešlo se tak riziku exploze.

7. Všechny vzorky krve je nutno považovat za potenciálně infekční a je nutné manipulovat s nimi opatrně (zvláště: používat ochranné rukavice, pláště a brýle).
8. Nikdy nepipetujte ústy a zabraňte tomu, aby se vzorky dostaly do kontaktu s kůží, sliznicí ani očima.
9. Zkumavky s krví a jednorázový materiál určený pro manipulaci je třeba likvidovat v kontejnerech ad hoc určených ke spálení.
10. Reagencie a odpad by měly být odstraňovány v souladu s místními požadavky.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Není klasifikované jako nebezpečné

SDS Bezpečnostní list je k dispozici na internetové adrese beckmancoulter.com/techdocs.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Před otevřením lahvičky a po jejím otevření musí být tato reagencie uchovávána při teplotě mezi 2 a 8 °C a chráněna před světlem.

Doba použitelnosti uzavřené lahvičky podle studie stability: 1095 dnů/dní.

Stabilita již jednou otevřené lahvičky: reagencie je stabilní po dobu 180 dní.

ZNÁMKY ZHORŠENÍ KVALITY

Jakákoli změna fyzického vzhledu reagencií může znamenat jejich znehodnocení a taková reagencie by se neměla používat.

Pokud potřebujete další informace nebo jste obdrželi poškozený produkt, zavolejte na telefonní číslo zákaznické služby společnosti Beckman Coulter 800-742-2345 (USA nebo Kanada) nebo se obraťte na místního zástupce společnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervační látka azid sodný může v kovovém odpadním potrubí vytvářet výbušné sloučeniny. Viz buletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečí výbušných azidů) (16.8.76).
Po vypuštění neředěné reagencie propláchněte odpadní potrubí vodou, aby se v něm nehromadily azidové sloučeniny. Likvidace azidu sodného musí být prováděna podle příslušných místních předpisů.

MATERIÁLY POTŘEBNÉ, ALE NEDODANÉ SE SOUPRAVOU:

- Zkumavky na odběr vzorků a materiál potřebný k odběru vzorků.
- Automatické pipety s jednorázovými špičkami pro 20, 100 a 500 µl.
- Plastové zkumavky na hemolýzu.
- Reagencie pro lýzu červených krvinek s fází promývání po lýze. Například: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagencie pro fixaci leukocytů. Například: Fixační roztok IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotypová kontrola PE: Reagencie IOTest (ref. A07796).
- Pufr (PBS: 0,01 M fosforečnan sodný; 0,145 M chlorid sodný; pH 7,2).
- Odstředivka.
- Automatické míchadlo (typu vortex).
- Průtokový cytometr.

POSTUP S REAGENCIÍ VERSALYSE

Pro každý analyzovaný vzorek lze kromě testovací zkumavky přidat jednu kontrolní zkumavku, v níž jsou buňky promíchány v přítomnosti izotypové kontroly (ref. A07796).

1. Do každé z testovacích zkumavek přidejte 20 µl konjugované protilátky specifické pro IOTest a podle potřeby do každé ze zkumavek kontroly přidejte 20 µl kontroly izotypu.
2. Do každé zkumavky přidejte 100 µl testovaného vzorku. Zkumavky jemně promíchejte na vortexové míchačce.
3. Provádějte inkubaci po dobu 15 až 20 minut při laboratorní teplotě (18–25 °C), chraňte před světlem.
4. Poté lyzujte červené krvinky. Postupujte dle brožury VersaLyse (ref. A09777) a řiďte se, pokud možno, postupem nazvaným „s průvodní fixací“, který spočívá v přidání 1 ml fixační a lyzační směsi připravené bezprostředně před použitím. Ihned vortexujte po dobu jedné sekundy a inkubujte po dobu 10 minut při laboratorní teplotě, přičemž chraňte před světlem.
5. Odstřeďujte 5 minut při 150 x g při laboratorní teplotě.
6. Supernatant odsajte.
7. Resuspendujte buněčnou peletu pomocí 3 ml PBS.
8. Opakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte buněčnou peletu pomocí:

- 0,5 ml nebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, pokud mají být preparáty uchovány po dobu kratší než 24 hodin. (PBS s 0,1 % formaldehydu lze získat zředěním 12,5 µl fixačního roztoku IOTest 3 (ref. A07800) o koncentraci 10x v 1 ml PBS.)
- 0,5 ml nebo 1 ml PBS bez formaldehydu, pokud mají být preparáty analyzovány do 2 hodin.

Poznámka: Ve všech případech uchovávejte preparáty při teplotě mezi 2 a 8 °C a chraňte je před světlem.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratořích bylo 25 vzorků plné krve zjevně zdravých dárců zpracováno za použití výše popsané reagencie. Získané výsledné počty cílových pozitivních událostí s touto reagencií jsou uvedeny v následující tabulce:

Pozitivní nosič	Počet	Průměr (%)	SD (směrodatná odchylka)	VK (%)
Granulocyty	25	98,75	2,26	2,29

Tyto hodnoty by měly být pouze reprezentativní. Každá laboratoř si musí stanovit vlastní očekávané hodnoty na základě místní populace normálních dárců.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Data o výkonu se získávají výše popsaným postupem na vzorcích krve starých méně než 24 hodin, které byly odebrány do sterilních zkumavek se solí EDTA jakožto antikoagulačním činidlem. Analýza se provádí do 2 hodin od imunobarvení.

SPECIFICITA

Gen CALLA kóduje transmembránový glykoprotein typu II o hmotnosti 100 kD. Sekvence DNA související s genem CALLA se vyskytují v lidském chromozomu 3J (10). Gen CALLA (CD10) byl popsán jako povrchový enzym exprimovaný u časných lymfoidních progenitorů a neutrofilů a identifikován jako metaloproteáza zinku: neutrální endopeptidáza 24.11 (NEP, „enkefalináza“). Je známo, že enzym CD10 hydrolyzuje řadu biologicky aktivních peptidů včetně met-enkefalinu, formyl-met-leu-phe (f-MLP) a látky P, jež figurují v procesu diferenciace a zrání buněk.

Monoklonální protilátka ALB1 byla studována v rámci 1. konference o lidských leukocytárních diferenciačních antigenech ("1st HLDA Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens"), která se konala v roce 1982 v Paříži ve Francii (11).

PRECIZNOST

Procentuální pozitivní hodnoty byly stanoveny použitím plné krve. Každý vzorek byl analyzován 4krát, dvakrát denně v průběhu 1 dne na 2 přístrojích pomocí 2 šarží reagencií s monoklonální protilátkou CD10-PE. Měření (% pozitivních) byla provedena na průtokovém cytometru Navios. Analýza byla provedena na základě metody CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vyhodnocení výkonu preciznosti kvantitativních měřicích metod).

Naše kritéria přijatelnosti závisí na počtu pozitivních událostí změřených pro každou populaci:

- Pokud pozitivní událost < 1 500, VK < 15 %
- Pokud pozitivní událost > 1 500, VK < 10 %

Granulocyty							
Počet pozitivních událostí (průměr) = 6080							
	Mezi obslužnými pracovníky	Mezi cytometry	V rámci šarže	Mezi šaržemi	Mezi cykly	V rámci cyklu	Celkem
VK (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PŘESNOST

Přesnost CD10-PE byla vyhodnocena porovnáním výsledků s referenční reagencií sloužící jako srovnávací látka na sadě vzorků plné krve analyzované na průtokovém cytometru Navios. Na základě rozdílu mezi výsledky testů byla stanovena odchylka mezi testem a referenční reagencií. Pokud je odchylka v rámci rozsahu přípustné chyby nebo hodnota p naznačuje, že nedošlo k žádnému významnému rozdílu (> 0,05), výsledky testů daných dvou reagencií se považují za shodné.

Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Počet dárců = 25				
Pozitivní nosič	Průměr Δ	Kritéria Δ % buněk	Hodnota p	VÝSLEDKY
Granulocyty	0,16	<5	0,001	PASS

MEZ PRÁZDNÉHO VZORKU A MEZ MĚŘITELNOSTI

Byla provedena studie v souladu se směrnicí CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnocení schopnosti detekce pro klinické laboratorní postupy měření). Mez měřitelnosti (LOD) je nejnižší koncentrace analytu, kterou lze spolehlivě detekovat. Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Positive Target	Mez prázdného vzorku (buňky/µl)	Mez měřitelnosti (buňky/µl)
Granulocyty	2	4

OMEZENÍ

1. Průtoková cytometrie může přinést falešné výsledky, pokud cytometr nebyl dokonale seřízen, pokud nebyly správně kompenzovány úniky fluorescence a pokud oblasti nebyly pečlivě umístěny.
2. Je vhodné používat techniku lýzy RBC s promývacím krokem, protože tato reagencie není optimalizována pro techniku lýzy bez promývání.
3. Přesných a reprodukovatelných výsledků bude dosaženo, pokud jsou použité postupy v souladu s technickým příbalovým letákem a se správnou laboratorní praxí.
4. Konjugovaná protilátka této reagencie je kalibrována tak, aby poskytovala nejlepší možný poměr specifického signálu k nespecifickému signálu. Proto je důležité při každém testu dodržovat poměr objemu reagencie a objemu vzorku.
5. V případě hyperleukocytózy nařeďte krev v přípravku PBS tak, aby byla dosažena hodnota přibližně 5 x 10^9 leukocytů/l (12).
6. U určitých chorob, například závažného selhání ledvin či hemoglobinopatií, se může stát, že lýza červených krvinek bude probíhat pomalu, nedokončí se, nebo dokonce nebude možná. V tomto případě se před značením doporučuje izolovat mononukleární buňky s použitím hustotního gradientu (např. Ficoll) (13).

7. U pacientů léčených pomocí monoklonálních protilátek proti lidským antigenům může být detekce specificky cílených antigenů snížena nebo může chybět kvůli částečné nebo celkové blokaci terapeutickými protilátkami.
8. Výsledky analýzy CD10-PE je nutné interpretovat s přihlédnutím k celkovému klinickému obrazu pacienta, včetně symptomů, klinické anamnézy, údajů z dalších testů a dalších vhodných informací.

Příklady a reference jsou uvedeny v příloze.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, stylizované logo a známky produktů a služeb společnosti Beckman Coulter uvedené v tomto dokumentu jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Beckman Coulter, Inc. ve Spojených státech amerických a dalších zemích.

DALŠÍ INFORMACE

Pro pacienty, uživatele nebo třetí osoby v Evropské unii a v zemích se stejným regulačním režimem (nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro); pokud při používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání dojde k závažné nehodě, prosím ohlaste tuto nehodu výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a kompetentnímu vnitrostátnímu orgánu.

Summary of Safety and Performance (Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti) je k dispozici v databázi EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIE REVIZÍ

REVIZE AE:	Datum vydání: Září 2019

REVIZE	**Datum vydání**
AW	Únor 2022
Aktualizace kvůli shodě s globálními zásadami označování společnosti Beckman Coulter a dle požadavků IVD-R (EU) 2017/746:	
Přidání částí	Číslo BSI 2797, Určený uživatel, Klinická významnost, Koncentrace, Preciznost, Přesnost, Mez prázdného vzorku a mez měřitelnosti, Další informace, Historie změn.
Přidány informace	Viz část Omezení
Aktualizace formulací a typografické aktualizace	Viz část Postup, Výkon, Omezení, Varování a bezpečnostní opatření, Skladování a stabilita, Potřebné materiály nedodané s touto sadou.
Odstranění částí	Příklad klinických použití, Reagencie, Reprodukovatelnost v rámci laboratoře, Linearita
Aktualizované části	Určené použití, Klasifikace nebezpečí podle GHS, Známky znehodnocení, Postup, Příloha.

REVIZE	**Datum vydání**
AX	Červen 2022
Přidány informace	Přidání nového jazyka - Kazaština

REVIZE	**Datum vydání**
AY	duben 2023
Aktualizované části	Skladování a stabilita

Revidovaná verze	AZ
Datum revize	Květen 2024
Aktualizované překlady	**Klinická významnost:**
Aktualizované části	Historie revizí

Revidovaná verze	BA
Datum revize	cervenec 2024
Aktualizované části	Historie revizí

Klíč k symbolům

Slovníček symbolů je k dispozici na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	Špecifikácie
Špecificita	CD10
Klon	ALB1
Hybridóm	NS1 x balb/c
Imunogén	Human leukaemic cells
Imunoglobulín	IgG1
Druhy	Myš
Purifikácia	Afinita Chromatografia
Fluorochróm	R Phycoerythrin (PE)
Molárny pomer	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Excitácia λ	488 nm
Vrchol emisií	575 nm
Tlmivý roztok	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugovaná protilátka CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 ml, 20 µl/test

Na diagnostické použitie *in vitro*

URČENÉ POUŽITIE

Táto protilátka konjugovaná s fluorochrómom umožňuje pomocou prietokovej cytometrie vykonávať kvalitatívnu, neautomatizovanú identifikáciu populácie buniek exprimujúcich antigén CD10 v ľudských biologických vzorkách (pozri časť „vzorky“ nižšie).

PRINCÍP

Tento test je založený na schopnosti špecifických monoklonálnych protilátok viazať sa na antigénne determinanty exprimované na leukocytoch.

Špecifické farbenie leukocytov sa vykoná inkubáciou vzorky s činidlom IOTest. Červené krvinky sa následne odstránia lýzou a leukocyty, na ktoré tento postup nemá vplyv, sa analyzujú prietokovou cytometriou.

Prietokový cytometer meria rozptyl svetla a fluorescenciu buniek. Umožňuje vymedzenie požadovanej populácie v rámci elektronického okna zadefinovaného v histograme znázorňujúcom koreláciu ortogonálneho rozptylu svetla (bočný rozptyl, SS) a rozptylu svetla v úzkom uhle (predný rozptyl, FS). Ostatné histogramy obsahujúce kombináciu dvoch rozličných parametrov dostupných na cytometri možno použiť na podporu vo fáze gatingu v závislosti od aplikácie zvolenej používateľom.

Fluorescencia vymedzených buniek sa analyzuje s cieľom odlíšiť pozitívne sfarbené udalosti od nesfarbených. Výsledky sú vyjadrené ako percento pozitívnych udalostí vzhľadom na všetky udalosti zaznamenané gatingom.

URČENÝ POUŽÍVATEĽ

Tento produkt je určený na profesionálne laboratórne použitie.

KLINICKÝ VÝZNAM

CD10-PE je protilátka proti CD10 používaná na identifikáciu a charakterizáciu buniek exprimujúcich antigén CD10 pomocou prietokovej cytometrie. Tento výrobok sám osebe nemôže a ani nemá slúžiť na vyvodzovanie akýchkoľvek diagnostických záverov.

Pri použití v kombinácii s inými markermi možno tento produkt použiť na jeden alebo viac z týchto účelov:

- Ako pomôcka pri diferenciálnej diagnostike hematologicky abnormálnych pacientov s podozrením na hematopoetickú neoplazmu a na monitorovanie pacientov so známou hematopoetickou neoplazmou.
- ako pomôcka pri stanovovaní prognózy u pacientov s hematopoetickou neoplazmou,

Pozrite si nasledujúce odkazy:

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

VZORKY

Vzorky žilovej krvi musia byť odobraté do sterilných skúmaviek, ktoré obsahujú soľ EDTA ako antikoagulačné činidlo.

Vzorky by sa mali uchovávať pri izbovej teplote (18 – 25 °C) a nemalo by sa nimi triasť. Vzorky by sa mali pred odobratím testovacej vzorky homogenizovať jemným pretrepaním.

Vzorky sa musia analyzovať do 24 hodín od odberu.

KONCENTRÁCIA

Pozrite si certifikát analýzy pre konkrétnu šaržu na adrese www.beckman.com.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

1. Činidlo nepoužívajte po dátume exspirácie.
2. Nezamrazujte.
3. Pred použitím nechajte zahriať na izbovú teplotu (18 – 25 °C).
4. Minimalizujte vystavenie svetlu.
5. Zabráňte mikrobiálnej kontaminácii činidiel, inak môže dôjsť k falošným výsledkom.

6. S roztokmi protilátok obsahujúcimi azid sodný (NaN_3) by sa malo zaobchádzať opatrne. Nepožívajte ich a vyhýbajte sa akémukoľvek kontaktu s kožou, sliznicami a očami.

   V médiu s obsahom kyseliny môže navyše azid sodný vytvárať potenciálne nebezpečnú kyselinu azidovodíkovú. Ak je činidlo potrebné zlikvidovať, odporúča sa ho pred vyliatím do kanalizácie zriediť vo veľkom objeme vody, aby sa predišlo riziku explózie v dôsledku hromadenia azidu sodného v kovovom potrubí.
7. Všetky vzorky krvi sa musia považovať za potenciálne infekčné, a preto sa s nimi musí narábať opatrne (predovšetkým: používajte ochranné rukavice, plášte a okuliare).
8. Nikdy nepipetujte ústami a zabráňte akémukoľvek kontaktu vzoriek s pokožkou, sliznicami a očami.
9. Skúmavky na krv a jednorazový materiál používané pri manipulácii sa musia zlikvidovať do schválených nádob určených na spálenie.
10. Činidlá a odpad by sa mali eliminovať v súlade s miestnymi požiadavkami.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Nie je klasifikované ako nebezpečné

SDS Bezpečnostný list je dostupný na adrese beckmancoulter.com/techdocs

SKLADOVANIE A STABILITA

Toto činidlo sa musí skladovať pri teplote od 2 do 8 °C a chrániť pred svetlom pred aj po otvorení fľaštičky.

Doba použiteľnosti uzavretej fľaštičky podľa štúdie stability: 1095 dní.

Stabilita otvorenej fľaštičky: činidlo je stabilné 180 dní.

ZNÁMKY ZNEHODNOTENIA

Akákoľvek zmena fyzického vzhľadu činidla môže svedčiť o zhoršení kvality a takéto činidlo by sa nemalo používať.

Ak potrebujete ďalšie informácie alebo ak je výrobok poškodený, kontaktujte stredisko zákazníckych služieb spoločnosti Beckman Coulter na telefónnom čísle 800-742-2345 (ak sa nachádzate v USA alebo Kanade) alebo kontaktujte miestneho zástupcu spoločnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervačné činidlo azid sodný môže v kovovej kanalizačnej sieti vytvárať výbušné zlúčeniny. Pozrite si informačný bulletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečenstvo výbušného azidu) (16. 8. 76).
Aby nedošlo k možnému nahromadeniu azidových zlúčenín, po likvidácii neriedeného činidla vypláchnite potrubie vodou. Likvidácia azidu sodného musí prebiehať v súlade s príslušnými miestnymi predpismi.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ NIE JE SÚČASŤOU SÚPRAVY:

- Vzorkovacie skúmavky a materiál potrebný na vzorkovanie.
- Automatické pipety s jednorazovými špičkami na dávkovanie objemov 20, 100 a 500 µl.
- Plastové hemolytické skúmavky.
- Činidlo na lýzu červených krviniek s umývacou fázou po lýze. Napríklad: VersaLyse (Ref. A09777).
- Činidlo na fixáciu leukocytov. Napríklad: fixačný roztok IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotypová kontrolaPE: činidlo IOTest (Ref. A07796).
- Tlmiaci roztok (PBS: fosforečnan sodný 0,01 M; chlorid sodný 0,145 M; pH 7,2).
- Centrifúga.
- Automatické miešadlo (typ Vortex).
- Prietokový cytometer.

POSTUP S ČINIDLOM VERSALYSE

Na každú analyzovanú vzorku je možné okrem testovacej skúmavky pridať aj jednu kontrolnú skúmavku, v ktorej sa zmiešajú bunky v prítomnosti izotypovej kontroly (Ref. A07796).

1. Pridajte 20 µl špecifickej konjugovanej protilátky IOTest do každej testovacej skúmavky a v prípade potreby 20 µl izotopovej kontroly do každej kontrolnej skúmavky.
2. Do každej skúmavky pridajte 100 µl testovanej vzorky. Skúmavky jemne vortexujte.
3. Inkubujte 15 až 20 minút pri izbovej teplote (18 – 25 °C) bez prístupu svetla.
4. Potom vykonajte lýzu červených krviniek. Postupujte podľa písomnej informácie VersaLyse (Ref. A09777) a ideálne použite postup označený ako „so sprievodnou fixáciou“, ktorý zahŕňa pridanie 1 ml bezprostredne pripravenej zmesi „na fixáciu a lýzu“. Ihneď premiešajte jednu sekundu a inkubujte 10 minút pri izbovej teplote a chráňte pred svetlom.
5. Odstreďujte 5 minút pri 150 x g pri izbovej teplote.
6. Nasatím odoberte supernatant.
7. Resuspendujte bunkový pelet použitím 3 ml PBS.
8. Zopakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte bunkový pelet použitím:

- 0,5 ml alebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, ak sa preparáty budú skladovať kratšie ako 24 hodín. (Roztok PBS s 0,1 % formaldehydu možno pripraviť zriedením 12,5 µl fixačného roztoku IOTest 3 (Ref. A07800) v 10X koncentrácii v 1 ml roztoku PBS).
- 0,5 ml alebo 1 ml PBS bez formaldehydu, ak sa preparáty budú analyzovať do 2 hodín.

Poznámka: Preparáty vždy uchovávajte pri teplote 2 až 8 °C a mimo dosahu svetla.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratóriách sa vzorky plnej krvi od 25 zjavne zdravých darcov spracovali pomocou vyššie popísaného činidla. Získané výsledky pre príslušné počty skúmaných pozitívnych udalostí s týmto činidlom sú uvedené v tabuľke nižšie:

Pozitívny cieľ	Počet	Priemer (%)	SD	CV (%)
Granulocyty	25	98,75	2,26	2,29

Tieto hodnoty slúžia len ako reprezentatívne údaje. Každé laboratórium by si malo určiť vlastné očakávané hodnoty na základe miestnej populácie normálnych darcov.

VÝKONNOSŤ

Údaje o výkonnosti boli získané pomocou vyššie opísaného postupu z menej ako 24 hodín starých vzoriek krvi odobraných do sterilných skúmaviek so soľou EDTA ako antikoagulačným činidlom. Analýza prebehla do 2 hodín od imunologického farbenia.

ŠPECIFICITA

Gén CALLA kóduje 100 kDa transmembránový glykoproteín II. typu. Sekvencie DNA kódujúce CALLA sa nachádzajú na ľudskom chromozóme 3 (10). CALLA, (CD10), bol popísaný ako povrchový enzým exprimovaný na raných lymfoidných progenitoroch a neutrofiloch a identifikovaný ako zinková metaloproteáza, neutrálna endopeptidáza 24.11 (NEP, „enkefalináza“). O enzýme CD10 sa vie, že hydrolyzuje rôzne biologicky aktívne peptidy, vrátane met-enkefalínu, formyl-met-leu-phe (f-MLP) a substancie P, ktoré sa zapájajú do procesov bunkovej diferenciácie a maturácie.

Monoklonálna protilátka ALB1 bola študovaná v rámci 1. konferencie o ľudských leukocytárnych diferenciačných antigénoch ("1st HLDA Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens"), ktorá sa konala v roku 1982 v Paríži vo Francúzsku (11).

PRESNOSŤ

Percentuálne pozitívne hodnoty boli stanovené s použitím plnej krvi. Každá vzorka bola analyzovaná 4-krát, dva razy denne počas 1 dňa na 2 prístrojoch pri použití 2 šarží činidiel s monoklonálnymi protilátkami proti CD10-PE. Merania (% pozitívnych) sa vykonávali na prietokovom cytometri Navios. Analýza sa vykonávala podľa metódy CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Hodnotenie zhodnosti pri metódach kvantitatívneho merania).

Naše kritériá prijateľnosti závisia od počtu pozitívnych udalostí nameraného v jednotlivých populáciách:

- Ak je pozitívnych udalostí < 1500, CV < 15 %
- Ak je pozitívnych udalostí > 1500, CV < 10 %

Granulocyty							
Počet pozitívnych udalostí (priemer) = 6080							
	Medzi operátormi	Medzi cytometrami	V rámci jednej šarže	Medzi šaržami	Medzi analýzami	V rámci jednej analýzy	Celkovo
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRESNOSŤ

Presnosť CD10-PE bola vyhodnotená porovnaním výsledkov s porovnávacím referenčným činidlom na súbore vzoriek plnej krvi analyzovaných v prietokovom cytometri Navios. Odchýlka medzi testovaným a referenčným činidlom bola stanovená na základe rozdielu medzi výsledkami testov. Ak je odchýlka v medziach prípustného chybového rozsahu, alebo ak p-hodnota svedčí o nevýznamnom rozdiele (> 0,05), výsledky testovania daných dvoch činidiel sa považujú za rovnocenné.

Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Počet darcov = 25				
Pozitívny cieľ	Priemer Δ	Kritériá Δ % buniek	p-hodnota	VÝSLEDKY
Granulocyty	0,16	<5	0,001	PASS

MEDZA PRÁZDNEJ VZORKY A MEDZA MERATEĽNOSTI

Bola vykonaná štúdia v súlade s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnotenie detekčnej schopnosti pre postupy klinických laboratórnych meraní). Medza merateľnosti (LoD) je najnižšia koncentrácia analytu, ktorú možno konzistentne detegovať. Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Positive Target	Medza prázdnej vzorky (buniek/µl)	Medza merateľnosti (buniek/µl)
Granulocyty	2	4

OBMEDZENIA

1. Prietoková cytometria môže vytvárať falošné výsledky, ak cytometer nie je správne zarovnaný, ak úniky fluorescencie nie sú správne kompenzované, alebo ak nie sú oblasti správne umiestnené.
2. Vhodnejšie je používať metódu lýzy RBC s krokom premývania, keďže toto činidlo nie je optimalizované na metódy lýzy „bez premývania“.
3. Presné a reprodukovateľné výsledky sa získajú len vtedy, ak sa použijú postupy v súlade s technickými údajmi v príbalovom letáku a v súlade s osvedčenou laboratórnou praxou.
4. Konjugovaná protilátka tohto činidla sa kalibruje tak, aby ponúkala najlepší pomer špecifického signálu/nešpecifického signálu. Preto je dôležité pri každom teste dodržať pomer objem činidla/objem vzorky.
5. V prípade hyperleukocytózy zrieďte krv v PBS na koncentráciu približne 5 x 10^9 leukocytov/l (12).

6. Pri niektorých chorobných stavoch, akými sú napríklad závažné zlyhanie obličiek alebo hemoglobinopatie, môže byť lýza červených krviniek pomalá, neúplná alebo dokonca nemožná. V takom prípade sa odporúča pred farbením izolovať mononukleárne bunky pomocou hustotného gradientu (napríklad Ficoll) (13).
7. U pacientov liečených monoklonálnymi protilátkami proti ľudským protilátkam môže byť detekcia špecifických cieleným antigénom znížená alebo môže úplne chýbať v dôsledku čiastočného alebo úplného blokovania terapeutickej protilátky.
8. Pri interpretácii výsledkov CD10-PE treba brať do úvahy celkový klinický obraz pacienta vrátane symptómov, klinickej anamnézy, výsledkov ďalších testov a iných súvisiacich informácií.

Príklady a referencie nájdete v Dodatku.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, štylizované logo a známky produktov a služieb spoločnosti Beckman Coulter spomenuté v tomto dokumente sú ochranné známky alebo registrované ochranné známky spoločnosti Beckman Coulter, Inc. v USA a ďalších krajinách.

DOPLŇUJÚCE INFORMÁCIE

Pre pacienta/používateľa/tretiu stranu v Európskej únii a v krajinách s identickým regulačným režimom (Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/746 o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro): ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne vážna nehoda, nahláste ju výrobcovi a/alebo jeho autorizovanému zástupcovi a vášmu národnému orgánu.

Summary of Safety and Performance (Súhrn informácií o bezpečnosti a výkonnosti) je k dispozícii v databáze EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRIA REVÍZIÍ

REVÍZIA AE:	Dátum vydania: September 2019

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AW	Február 2022
Aktualizácie kvôli súladu s dokumentom Beckman Coulter Global Labelling Policy (Globálne pravidlá označovania spoločnosti Beckman Coulter) a podľa požiadaviek nariadenia IVDR (EÚ) 2017/746:	
Pridané časti	Číslo BSI 2797, Určený používateľ, Klinický význam, Koncentrácia, Zhodnosť, Presnosť, Medza prázdnej vzorky a medza merateľnosti, Doplňujúce informácie, História revízií.
Pridané informácie	Pozri časti Obmedzenia
Aktualizácie formulácií alebo typografické aktualizácie	Pozri časti Postup, Výkonnosť, Obmedzenia, Výstraha a opatrenia, Skladovanie a stabilita, Potrebný materiál, ktorý nie je súčasťou súpravy.
Odstránené časti	Príklad klinických aplikácií, Činidlá, Intralaboratórna reprodukovateľnosť, Linearita
Aktualizované časti	Určené použitie, Klasifikácia nebezpečenstiev podľa GHS, Známky zhoršenia kvality, Postup, Dodatok.

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AX	Jún 2022
Pridané informácie	Pridanie nového jazyka – kazaština

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AY	Apríl 2023
Aktualizované časti	Skladovanie a stabilita

Revidovaná verzia	AZ
Dátum revízie	Máj 2024
Aktualizované preklady	**Klinický význam:**
Aktualizované časti	História revízií

Revidovaná verzia	BA
Dátum revízie	Júl 2024
Aktualizované časti	História revízií

Popis symbolov

Slovník symbolov je dostupný na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	규격
특이도	CD10
클론	ALB1
하이브리도마	NS1 x balb/c
면역원	Human leukaemic cells
면역글로불린	IgG1
종	생쥐
정제	친화성 크로마토그래피
형광색소	R Phycoerythrin (PE)
분자비	PE/Ig: 0.5 - 1.5
λ 자극	488 nm
방출 피크	575 nm
완충액	PBS pH 7.2 + 2mg/mL BSA 및 0.1 % NaN_3

IOTest

복합 항체

CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20µL/검사

체외 **진단용**

사용목적

본 형광색소 결합 항체를 사용 시 유세포 분석법으로 인간의 생물학적 검체에 있는 CD10 항원을 나타내는 세포군의 정성적 동정 및 비자동 동정을 수행할 수 있습니다(아래 "검체" 섹션 참조).

원리

이 검사는 백혈구로 발현되는 항원 결정기에 특이적 단일클론 항체가 결합할 수 있는 능력에 기초합니다.

백혈구의 특이적 염색은 검체를 IOTest 시약과 함께 배양하여 수행합니다. 그런 다음 적혈구를 용해하여 제거하고 이 과정에서 영향을 받지 않은 백혈구를 유세포 분석법을 통해 분석하십시오.

유세포 분석기는 세포의 빛 확산과 형광 영역을 측정합니다. 유세포 분석기를 사용하면 빛의 직교 확산(측면 산란, SS)과 좁은 각의 광확산(전방 산란, FS)의 상호 관계를 지정하는 막대그래프상에 정의된 전자 창 내에서 관심 개체의 한계를 결정할 수 있습니다. 유세포 분석기에서 사용할 수 있는 두 가지 파라메타를 결합하는 기타 막대그래프를 사용자가 선택한 애플리케이션에 따라 게이팅 단계에서 지원 자료로 사용 가능합니다.

범위가 결정된 세포의 형광 영역을 분석하여 명확하게 염색된 이벤트와 염색되지 않은 이벤트를 구분합니다. 분석 결과는 게이팅으로 획득한 전체 이벤트와 비교한 양성 이벤트의 비율로 표현합니다.

의도된 사용자

본 제품은 실험실 전문가용입니다.

임상 관련성

CD10-PE은(는) 유세포 분석법으로 CD10 항원을 나타내는 세포를 식별하고 특성화하는 데 사용하는 CD10 항체입니다. 본 제품만 사용하여 진단과 관련된 결론을 내릴 수 없으며, 해당 용도로 사용해서도 안 됩니다.

다른 표지자와 함께 사용하는 경우 이 제품은 다음 중 하나 이상의 기능에 사용할 수 있습니다.

- 조혈세포성 종양이 의심되고 혈액학적 이상을 동반하는 환자의 감별 진단을 위한 보조 수단으로 활용하거나 알려진 조혈세포성 종양을 가진 환자를 모니터링하는 데 사용합니다.
- 혈액암 환자 예후의 보조 수단으로 활용.

다음 참조를 살펴보십시오.

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

검체

정맥혈은 EDTA 염을 항응고제로 포함한 무균 튜브를 사용하여 채취해야 합니다.

검체는 실온(18~25°C)에 보관해야 하며 흔들어서는 안 됩니다. 검사 검체를 채취하기 전에 부드럽게 교반하여 검체를 균질화해야 합니다.

검체는 정맥천자 후 24시간 이내에 분석해야 합니다.

농도

www.beckman.com에서 로트별 분석증명서를 확인할 수 있습니다.

경고 및 주의 사항

1. 유효 기간이 지난 시약은 사용하지 마십시오.
2. 냉동하지 마십시오.
3. 사용 전 실온(18~25°C)에 두십시오.
4. 빛 노출을 최소화하십시오.
5. 시약이 미생물에 오염되지 않도록 하십시오. 그러지 않으면 잘못된 결과를 얻을 수 있습니다.
6. 아지드화나트륨(NaN_3)을 함유한 항체 용액은 주의해서 다루어야 합니다. 흡입을 피하고 피부, 점막 및 눈에 절대 닿지 않도록 하십시오.

또한 산성 매질에 함유된 아지드화나트륨은 잠재적 위험 물질인 히드라조산을 만들어낼 수 있습니다. 시약을 폐기할 때는 금속 파이프 내 아지드화나트륨 축적과 폭발 위험을 방지하기 위해 다량의 물에 희석한 후 배수 시설로 흘려보내야 합니다.

7. 모든 혈액 검체는 잠재적으로 전염성이 있다고 간주하고 주의해서 다루어야 합니다(특히 보호용 장갑, 가운 및 보안경 착용).
8. 피펫을 절대 입으로 사용하지 않도록 하고 검체가 피부, 점막 및 눈에 닿지 않도록 하십시오.
9. 취급에 사용한 혈액 튜브 및 일회용 물질은 소각용 특수 용기에서 폐기해야 합니다.
10. 시약 및 폐기물은 현지 요구 사항에 따라 제거해야 합니다.

GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음

SDS 안전보건자료는 beckmancoulter.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다.

보관 및 안정성

이 시약은 바이알 개봉 전후에 2~8°C로 유지하면서 빛으로부터 보호해야 합니다.

안정성 시험에 따른 밀봉 바이알 유효 기간: 1095일.

개봉한 바이알의 안정성: 시약은 180일 동안 안정적입니다.

성능 저하 증거

시약 외관에 물리적 변화가 있는 경우 성능 저하를 나타내는 것일 수 있으므로 시약을 사용해서는 안 됩니다.

자세한 정보가 필요하거나 손상된 제품을 받은 경우에는 Beckman Coulter 고객 서비스에 800-742-2345(미국 또는 캐나다)로 또는 현지 Beckman Coulter 담당자에게 문의하십시오.

목차

소디움 아자이드 보존제는 금속 배수관에서 폭발성 화합물을 형성할 수 있습니다. NIOSH 게시판을 참조하십시오. Explosive Azide Hazard(폭발성 아지드 유해물질)(76/8/16)
아지드 화합물의 축적 가능성을 방지하려면 희석되지 않은 시약을 폐기한 다음 폐기 파이프를 물로 세척하십시오. 소디움 아자이드의 폐기는 해당 지역 규정을 따라야 합니다.

필요하지만 키트와 함께 제공되지 않는 품목:

- 검체 튜브와 검체 채취에 필요한 물질.
- 20, 100 및 500µL용 일회용 팁이 있는 자동 피펫.
- 플라스틱 용혈 튜브.
- 용해 후 세척 단계의 적혈구 용해 시약. 예: VersaLyse(참조 A09777).
- 백혈구 고정 시약. 예: IOTest 3 고정액(참조 A07800).
- 동형 정도관리물질PE: IOTest 시약(참조 A07796).
- 완충액(PBS: 0.01M 인산나트륨, 0.145M 염화나트륨, pH 7.2).
- 원심분리기.
- 자동 교반기(교반 유형).
- 유세포 분석기.

VERSALYSE 시약을 이용한 절차

분석할 각 검체마다 검사 튜브와 더불어 동형 대조물질이 있는 상태에서 세포를 혼합하는 하나의 정도관리물질 튜브를 추가할 수 있습니다(참조 A07796).

1. 20µL의 특정 IOTest 결합 항체를 각 검사 튜브에 첨가하고, 필요에 따라 20µL의 동형 정도관리물질을 각 정도관리물질 튜브에 첨가합니다.
2. 100µL의 검사 검체를 각 튜브에 첨가합니다. 튜브를 부드럽게 교반합니다.
3. 실온(18~25°C)에서 빛을 피해 15~20분 동안 배양하십시오.
4. 그런 다음 적혈구 용해를 수행합니다. VersaLyse(참조 A09777) 책자 내용을 참조하여 즉석에서 준비한 1mL의 "고정 및 세포 용해" 혼합물을 첨가하는 "수반 고정" 절차를 따릅니다. 즉시 1초 동안 교반한 후 직사광선을 피해 상온에서 10분 동안 배양합니다.
5. 상온에서 150 x g로 5분 동안 원심분리합니다.
6. 흡입 시 상청액을 제거하십시오.
7. 3mL의 PBS를 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.
8. 5단계를 반복합니다.
9. 그런 다음 흡입 방식으로 상등액을 제거하고 다음을 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.

- 조제 물질을 24시간 미만으로 보관하려는 경우 0.1 %의 포름알데히드가 함유된 0.5mL 또는 1mL의 PBS. (0.1 % 포름알데히드 PBS는 12.5µL의 IOTest 3 고정액(참조 A07800)을 1mL의 PBS에 10X 농도로 희석하여 얻을 수 있습니다).
- 조제 물질을 2시간 이내에 분석하려는 경우 포름알데히드가 없는 0.5mL 또는 1mL의 PBS.

참고: 조제물은 항상 빛을 피해 2~8°C로 유지하십시오.

예상 수치

실험실에서 25명의 건강한 공여자의 전혈 검체를 위에 설명된 시약을 사용하여 처리했습니다. 이 시약에서 관심 대상의 양성 이벤트 수 계산을 위해 얻은 결과는 아래 표와 같습니다.

양성 표적	번호	평균(%)	표준편차	CV(%)
과립구	25	98.75	2.26	2.29

위 값은 전형적인 값으로만 참고해야 합니다. 각 실험실은 소재 지역의 정상 공여자 집단을 통해 고유한 예상값을 설정해야 합니다.

성능

성능 데이터는 위에 설명한 절차를 이용하여 이전에 EDTA 염을 항응고제로 하여 무균 튜브에서 수집한 지 24시간 미만인 혈액 검체로 획득합니다. 분석은 면역염색 후 2시간 이내에 수행됩니다.

특이도

CALLA 유전자는 100-kD 유형 II 막횡단 당단백을 부호화합니다. CALLA 관련 DNA 배열 순서는 인간 염색체 3J에서 발견됩니다(10). CALLA(CD10)는 초기 림프구 전구 및 호중구에 발현되는 표면 효소로 발견되고, 아연 메탈로프로테아제, 중성 엔도펩티다제 24.11로 동정되었습니다(NEP, "엔케팔리나아제"). CD10 효소는 세포 감별 및 성숙 과정과 관련된 met-enkephalin, f-MLP(formyl-met-leu-phe) 및 P 물질을 포함한 다양한 생물학적 활성 펩티드를 가수분해하는 것으로 알려져 있습니다.

단일 클론 항체 ALB1은 1982년 프랑스 파리에서 열린 1st HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens(인간 백혈구 감별 항원에 관한 제1차 HLDA 워크숍)에서 연구되었습니다(11).

정밀도

양성 비율 값은 전혈을 사용하여 측정되었습니다. 각 검체는 2개의 CD10-PE 단일 클론 항체 시약 로트를 사용하여 2개의 장비에서 하루 동안 일일 2회씩 4번 실행되었습니다. 측정값(양성 비율)은 Navios 유세포 분석기로 도출했습니다. 분석은 CLSI 방법 EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods(EP5-A2: 정량적 측정 방법의 정밀도 성능 평가)를 기반으로 수행했습니다.

허용 기준은 각 집단에서 측정한 양성 이벤트 수에 따라 다릅니다.

- 양성 이벤트 수가 < 1,500인 경우 CV < 15 %
- 양성 이벤트 수가 > 1,500인 경우 CV < 10 %

과립구							
양성 이벤트 수(평균) = 6080							
	작업자 간	유세포 분석기 간	로트 내	로트 간	실행 간	실행 내	총계
CV(%)	0.04	0.04	0.06	0.01	0.01	0.04	0.07
결과	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

정확도

CD10-PE의 정확도는 그 결과를 Navios 유세포 분석기로 처리된 전혈 검체에 공인 참조 시약을 가한 값과 비교하여 평가했습니다. 검사 시약과 참조 시약 간 바이어스는 검사 결과 간 차이를 기반으로 지정되었습니다. 바이어스가 허용 가능한 오차 범위 내에 있거나 p-값이 유의한 차이를 나타내지 않는 경우(> 0.05) 두 시약의 검사 결과는 동일한 것으로 간주됩니다.

얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

공여자 수 = 25				
양성 표적	평균 Δ	Δ % 세포 기준	p-값	결과
과립구	0.16	<5	0.001	PASS

공시료 최저 검출한계 및 검출한계

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures(CLSI EP17-A2, 임상 실험실 측정 절차에 대한 검출 능력 평가)에 따라 연구를 실시했습니다. 검출한계(LoD)는 일관되게 검출 가능한 분석물질의 최저 농도입니다. 얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

Positive Target	공시료 최저 검출한계(세포/µL)	검출한계(세포/µL)
과립구	2	4

한계

1. 유세포 분석기가 완벽하게 정렬되지 않은 경우, 형광 누출이 올바르게 보정되지 않은 경우 또는 영역 위치를 신중하게 지정하지 않은 경우 유세포 분석법에서 잘못된 결과가 나올 수 있습니다.
2. 이 시약은 "비세척" 용해 기법에 최적화되지 않았으므로 세척 단계를 포함한 적혈구 용해법을 사용하는 것이 바람직합니다.
3. 사용한 절차가 동봉된 기술 책자의 내용을 따르고 실험실 모범 사례와 호환되는 경우 정확하고 재현 가능한 결과를 얻을 수 있습니다.
4. 이 시약의 결합 항체는 최상의 특이/비특이 신호비를 제공하도록 보정됩니다. 그러므로 모든 검사에서 시약의 용적/검체 용적 비율을 준수하는 것이 중요합니다.
5. 과백혈구 증가증의 경우 혈액을 PBS에 희석하여 대략 백혈구 5 x 10^9개/L 값을 얻어야 합니다(12).
6. 심한 신부전 또는 혈색소병증 같은 특정 질병 상태에서 적혈구의 용해는 느리거나 불완전하거나 심지어는 불가능할 수도 있습니다. 이러한 경우 염색 전에 밀도 구배(예: Ficoll)를 사용하여 단핵구 세포를 분리하는 것이 좋습니다(13).
7. 항 인간 단일 클론 항체 요법으로 치료받은 환자에서, 특이 표적 항원의 검출이 치료 항체에 의한 일부 또는 전체 차단으로 인해 감소하거나 이루어지지 않을 수 있습니다.
8. CD10-PE 결과는 증상, 병력, 추가 검사 데이터, 기타 적절한 정보 등 환자의 모든 임상 증상을 고려하여 해석해야 합니다.

예시와 참고 자료는 부록을 참조하십시오.

상표

본 문서에 포함된 Beckman Coulter, 스타일 로고, Beckman Coulter 제품 및 서비스 마크는 미국 및 기타 국가에서 Beckman Coulter, Inc.의 상표이거나 등록 상표입니다.

추가 정보

유럽 연합 및 이와 동일한 규정 체제(EU 규정 2017/746, 체외 진단용 의료 기기 관련)를 사용하는 국가에 거주하는 환자/사용자/타사의 경우, 이 장치의 사용 중이나 사용으로 인해 심각한 상황이 발생했다면 제조업체 및/또는 공인 담당자와 해당 국가의 담당 기관에 신고하십시오.

Summary of Safety and Performance(안전성 및 성능에 관한 개요)는 ec.europa.eu/tools/eudamed 주소의 EUDAMED 데이터베이스에서 확인할 수 있습니다.

개정 이력

개정판 AE:	발행 날짜: 2019년 9월

개정	**발행 날짜**
AW	2022년 2월
Beckman Coulter 글로벌 라벨 지정 정책 및 IVD-R (EU) 2017/746 요건에 따라 업데이트했습니다.	
추가된 섹션	BSI 2797 번호, 대상 사용자, 임상적 관련성, 농도, 정밀도, 정확도, 공시료 최저 검출한계 및 검출한계, 추가 정보, 개정 이력.
추가된 정보	한계 섹션 참조
언어적 표현이나 글자 배치를 업데이트했습니다.	절차, 성능, 한계, 경고 및 주의 사항, 보관 및 안정성, 필요하지만 키트와 함께 제공되지 않는 품목 섹션을 참조하십시오.
삭제된 섹션	임상 용도의 예, 시약, 실험실 내 재현성, 직선성
업데이트된 섹션	사용목적, GHS 유해물질 등급, 성능 저하 증거, 절차, 부록.

개정	**발행 날짜**
AX	2022년 6월
추가된 정보	새 언어 추가 - 카자흐어

개정	**발행 날짜**
AY	4월 2023
업데이트된 섹션	보관 및 안정성

개정된 버전	AZ
개정 날짜	5월 2024
업데이트된 번역	**임상적 관련성:**
업데이트된 섹션	개정 이력

개정된 버전	BA
개정 날짜	7월 2024
업데이트된 섹션	개정 이력

기호 목록

기호 용어집은 beckman.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다(문서 번호 B60062)

	Spesifikasyonlar
Özgüllük	CD10
Klon	ALB1
Hibridoma	NS1 x balb/c
İmmünojen	Human leukaemic cells
Immunoglobulin	IgG1
Türler	Fare
Arıtma	Afinite kromatografisi
Florokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molar oran	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ eksitasyonu	488 nm
Emisyon piki	575 nm
Tampon	PBS pH 7,2 artı 2 mg/mL BSA ve %0,1 NaN_3

IOTest
Konjuge Antikor CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

***İn Vitro* Diagnostik Kullanım içindir**

KULLANIM AMACI

Bu florokrom konjuge antikor, akış sitometrisi kullanılarak insan biyolojik örneklerinde var olan CD10 antijenini eksprese eden hücre popülasyonlarının otomatik olmayan ve kalitatif tanımlamasına olanak tanır (aşağıdaki "Örnekler" bölümüne bakın).

İLKE

Bu test, spesifik monoklonal antikorların lökositler tarafından eksprese edilen antijenik belirleyicilere bağlanabilmesine dayanmaktadır.

Lökositlerin spesifik boyaması, örnek, IOTest reaktifi ile inkübe edilerek gerçekleştirilir. Sonra kırmızı hücreler parçalanarak giderilir ve bu işlemden etkilenmeyen lökositler, akış sitometrisi ile analiz edilir.

Akış sitometrisi ışık difüzyonunu ve hücre floresanını ölçer. Bu durum, ilgili popülasyonun, ışığın ortogonal difüzyonu (Yana Yayılma veya SS) ve dar açılı ışığın difüzyonu (İleri Yayılma veya FS) ile ilişkilendirilen histogram üzerinde tanımlanmış elektronik pencerede sınırlanmasını sağlar. Sitometredeki farklı parametrelerden ikisini birleştiren diğer histogramlar, kullanıcının seçtiği uygulamaya bağlı olarak kapılama aşamasında destek olarak kullanılabilir.

Sınırlı hücrelerin floresanı analiz edilerek pozitif boyalı olaylar boyasızlardan ayrılır. Sonuçlar pozitif olayların geçiş ile edinilmiş tüm olaylara yüzdesi olarak ifade edilir.

HEDEF KULLANICI

Bu ürün, laboratuvarda profesyonel kullanım için tasarlanmıştır.

KLİNİK GEÇERLİLİK

CD10-PE, akış sitometrisiyle CD10 antijenini eksprese eden hücreleri tanımlamak ve karakterize etmek amacıyla kullanılan bir CD10 antikorudur. Bu ürün tek başına, herhangi bir tanı sonucu oluşturamaz ve tanı sonucu oluşturmak üzere tasarlanmamıştır.

Bu ürün, diğer belirteçlerle birlikte kullanıldığında aşağıdaki işlevlerden biri veya daha fazlası için kullanılabilir:

- Hematopoetik neoplazmı olduğundan şüphelenilen hematolojik olarak anormal hastalarda ayırıcı tanıya yardımcı olmak ve bilinen hematopoetik neoplazmı olan hastaları izlemek için.
- Hematopoetik neoplazmı olan hastalarda prognoza yardımcı olmak için.

Şu referanslara bakın:

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

ÖRNEKLER

Antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüpler kullanılarak venöz kan alınmalıdır.

Örnekler oda sıcaklığında (18-25°C) tutulmalı ve çalkalanmamalıdır. Örnekler test örneği alınmadan önce hafifçe çalkalanarak homojenize edilmelidir.

Örnekler venipunktür sonrası 24 saat içinde analiz edilmelidir.

KONSANTRASYON

Lota özel Analiz Sertifikası için www.beckman.com adresine bakın.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. Reaktifi son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
2. Dondurmayın.
3. Kullanmadan önce oda sıcaklığına (18-25°C) getirin.
4. Işığa maruz kalmasını en aza indirin.
5. Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonundan kaçının yoksa yanlış sonuçlar oluşabilir.
6. Sodyum azid (NaN_3) içeren antikor solüsyonları dikkatle işlenmelidir. Yutmayın ve cilt, mukoza ve gözlerle temasından kaçının.

   Ayrıca, asit ortamında, sodyum azid potansiyel olarak tehlikeli hidrazoik asit oluşturabilir. Atılması gerekiyorsa, metal borularda sodyum azid birikmesini ve patlama riskini önlemek için, reaktifin drenaj sistemine dökülmeden önce çok miktarda suyla seyreltilmesi önerilmektedir.

7. Tüm kan örnekleri potansiyel olarak bulaşıcı olarak kabul edilmeli ve dikkatle ele alınmalıdır (özellikle koruyucu eldiven, önlük ve gözlük takılmalıdır).
8. Asla ağızla pipetleme yapmayın ve örneklerin cilt, mukoza veya gözle herhangi bir şekilde temas etmesini önleyin.
9. Taşıma için kullanılan kan tüpleri ve tek kullanımlık malzeme, yakma amacıyla özel kaplara atılmalıdır.
10. Reaktifler ve atıklar yerel gereksinimlere göre elimine edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır

SDS Güvenlik Bilgi Formuna beckmancoulter.com/techdocs adresinden ulaşılabilir

SAKLAMA VE STABİLİTE

Bu reaktifin, şişe açılmadan önce ve açıldıktan sonra 2 ile 8°C arasında tutulması ve ışıktan korunması gereklidir.

Stabilite çalışması için şişe raf ömrü: 1095 gün.

Açılan şişenin stabilitesi: reaktif 180 gün stabildir.

BOZULMA GÖSTERGESİ

Reaktiflerin fiziksel görünümündeki herhangi bir değişiklik bozulmayı gösterebilir ve reaktif kullanılmamalıdır.

Ek bilgi almak isterseniz veya aldığınız ürün hasarlı çıktıysa, 800-742-2345 numaralı telefondan (ABD veya Kanada) Beckman Coulter Müşteri Hizmetlerini arayın veya yerel Beckman Coulter Temsilcinizle temas kurun.

İÇİNDEKİLER

Sodyum azid koruyucu maddesi metal kanalizasyon hatlarında patlayıcı bileşimler oluşturabilir. NIOSH Bültenine bakın: Explosive Azide Hazard (Patlayıcı Azide Tehlikesi) (16.8.76).
Azid bileşenlerinin olası birikimini engellemek amacıyla, seyreltilmemiş reaktifi çöpe attıktan sonra atık borularını bol suyla yıkayın. Sodyum azid, uygun yerel düzenlemelere göre çöpe atılmalıdır.

GEREKLİ OLAN ANCAK KİT İLE BİRLİKTE VERİLMEYEN MALZEMELER:

- Numune alma tüpleri ve numune alma için gerekli malzemeler.
- 20, 100 ve 500 µL için tek kullanımlık uçlu otomatik pipetler.
- Plastik hemoliz tüpleri.
- Lizis sonrası yıkama aşamasıyla birlikte eritrosit lizis reaktifi. Örneğin: VersaLyse (Ref. A09777).
- Lökosit fiksasyon reaktifi. Örneğin: IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonu (Ref. A07800).
- İzotip kontrolüPE: IOTest reaktifi (Ref. A07796).
- Tampon (PBS: 0,01 M sodyum fosfat; 0,145 M sodyum klorür; pH 7,2).
- Santrifüjleyin.
- Otomatik karıştırıcı (Vorteks tipi).
- Akış sitometresi.

VERSALYSE REAKTİFİ İLE PROSEDÜR

Analiz edilen her örnek için test tüpüne ek olarak, hücrelerin izotip kontrolü varlığında karıştırıldığı bir kontrol tüpü eklenebilir (Ref. A07796).

1. Her test tüpüne 20 µL spesifik IOTest konjuge antikor ve gerekirse, her kontrol tüpüne, 20 µL izotip kontrolü ekleyin.
2. Her bir tüpe 100 µL test örneği ekleyin. Tüpleri yavaşça vorteksleyin.
3. Oda sıcaklığında (18-25°C) ışıktan koruyarak 15-20 dakika boyunca inkübe edin.
4. Ardından kırmızı hücrelerin lizisini gerçekleştirin. VersaLyse (Ref. A09777) broşürüne bakın ve tercihen "birlikte kullanılan fiksasyon ile" adlı, doğaçlama hazırlanan 1 mL "Fiksasyon ve Lizis" karışımını eklemeyi içeren prosedürü izleyin. Hemen bir saniye boyunca vorteksleyin ve ışıktan koruyarak, 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
5. Oda sıcaklığında 5 dakika 150 x g hızda santrifüjleyin.
6. Aspirasyon ile üst fazı alın.
7. 3 mL PBS kullanarak hücre peletini yeniden süspanse edin.
8. Adım 5'i tekrarlayın.
9. Yüzer maddeyi aspirasyonla alın ve hücre topağını şunu kullanarak yeniden süspanse edin:

- Preparatlar 24 saatten az tutulacaksa, 0,5 mL veya 1 mL PBS'nin yanı sıra %0,1 formaldehit. (%0,1 formaldehit PBS, 1 mL PBS içinde 10X konsantre IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonundan (Ref. A07800) 12,5 µL seyreltilerek elde edilebilir).
- 0,5 mL veya 1 mL PBS formaldehidsiz, preparatlar 2 saat içinde analiz edilmelidir.

Not: Tüm durumlarda, preperatlar 2 ile 8°C arasında tutulmalı ve ışıktan korunmalıdır.

BEKLENEN DEĞERLER

Laboratuvarlarımızda, yukarıda açıklanan reaktif kullanılarak sağlıklı görünen 25 donörün tam kan örnekleri işlenmiştir. Bu reaktif ile ilgi konusu pozitif olayların sayısı için elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir:

Pozitif Hedef	Sayı	Ortalama (%)	SS	VK (%)
Granülositler	25	98,75	2,26	2,29

Bu değerlerin sadece temsili olması amaçlanmaktadır. Her laboratuvar normal donörlerden oluşan yerel popülasyonunda kendi beklenen değerlerini oluşturmalıdır.

PERFORMANS

Performans verileri, antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüplerde daha önce toplanan, 24 saatten eski olmayan kan örnekleri üzerinde yukarıdaki prosedür kullanılarak elde edilmiştir. İmmün boyamayı takiben 2 saat içinde analiz gerçekleştirilir.

ÖZGÜLLÜK

CALLA geni, bir 100- kD tip II transmembran glikoproteini kodlar. CALLA ilişkili DNA sekansları insan kromozomu 3J'de bulunur (10). CALLA, (CD10), erken lenfoid progenitörlerine ve nötrofillere eksprese edilen bir yüzey enzimi olarak tarif edilmiştir ve çinko metalloproteaz, nötr endopeptidaz 24.11 (NEP, "enkefalinaz") olarak tanımlanmıştır. CD10 enziminin hücre farklılaşması ve maturasyonu sürecinde yer alan met-enkefalin, formil-met-leu-fe (f-MLP) ve P maddesi dahil bir dizi biyolojik olarak aktif peptidi hidrolize ettiği bilinmektedir.

ALB1 monoklonal antikoru Paris, Fransa'da 1982'de gerçekleştirilen 1. HLDA Workshopunda (Human Leucocyte Differentiation Antigens) incelenmiştir (11).

KESİNLİK

Yüzde pozitif değerler, Tam Kan kullanılarak belirlenmiştir. Her örnek, 2 lot CD10-PE Monoklonal Antikor Reaktifleri kullanılarak 2 cihazda 1 gün için günde iki kez olmak üzere 4 kez çalışılmıştır. Ölçümler (% pozitif) Navios akış sitometresi üzerinde yapılmıştır. Analiz, CLSI yöntemi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kantitatif Ölçüm Yöntemlerinin Kesinlik Performansına İlişkin Değerlendirme) temelinde yürütülmüştür.

Kabul kriterlerimiz, her popülasyon için ölçülen pozitif olay sayısına bağlıdır:

- Pozitif olay <1.500, VK <%15 ise
- Pozitif olay >1.500, VK <%10 ise

Granülositler							
Pozitif olay sayısı (Ortalama)=6080							
	Kullanıcılar arası	Sitometreler arası	Lot içi	Lotlar arası	Çalışmalar arası	Çalışma içi	Total
VK (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
SONUÇLAR	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOĞRULUK

CD10-PE doğruluğu, bir Navios akış sitometresinde çalışılan tam kan örnekleri grubunda esas alınan referans reaktifle sonuçlar karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Test ve referans reaktif arasındaki sapma, test sonuçları arasındaki fark temelinde belirlenmiştir. Sapma, izin verilen hata aralığı dahilindeyse veya p değeri anlamlı fark göstermediğinde (>0,05), iki reaktif için test sonuçlarının eşdeğer olduğu kabul edilir.

Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Donör sayısı=25				
Pozitif Hedef	Ortalama Δ	Δ % Hücre kriteri	p değeri	SONUÇLAR
Granülositler	0,16	<5	0,001	PASS

KÖR LİMİTİ VE TESPİT LİMİTİ

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klinik Laboratuvar Ölçüm Prosedürleri için Tespit Kabiliyetinin Değerlendirilmesi) ile uyumlu bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Tespit Limiti (LOD), tutarlı olarak tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonudur. Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Positive Target	Kör Limiti (hücre/µL)	Tespit Limiti (hücre/µL)
Granülositler	2	4

SINIRLAMALAR

1. Akış sitometrisi, sitometre mükemmel şekilde hizalanmadıysa, floresan sızıntıları doğru şekilde telafi edilmediyse ve bölgeler dikkatli bir şekilde konumlandırılmadıysa yanlış sonuçlar üretebilir.
2. Bu reaktif "yıkamasız" parçalama teknikleri için optimize edilmediğinden, yıkama adımı içeren bir RBC parçalama tekniği kullanılması tercih edilir.
3. Kullanılan prosedürler teknik bilgi broşürüne uygun olduğu ve iyi laboratuvar uygulamalarına uygun olduğu sürece doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilecektir.
4. Bu reaktifin konjugat antikoru, en iyi spesifik sinyal/spesifik olmayan sinyal oranını sunacak şekilde kalibre edilir. Bu nedenle her testte reaktif hacmi/örnek hacmi oranına bağlı kalmak önemlidir.
5. Hiperlökositoz durumunda yaklaşık 5 x 10^9 lökosit/L (12) değerini elde etmek için kanı PBS içinde seyreltin.
6. Şiddetli böbrek yetmezliği veya hemoglobinopatiler gibi bazı hastalık durumlarında, eritrosit lizisi yavaş, eksik ve hatta imkansız olabilir. Bu durumda mononükleotidli hücrelerin boyama öncesinde yoğunluk gradyanı (örneğin Ficoll) kullanılarak izole edilmesi önerilmektedir (13).
7. Anti-insan monoklonal antikor terapisi ile tedavi edilen hastalarda, terapötik antikorun kısmi veya tam engellemesi nedeniyle spesifik hedeflenen antijenlerin tespiti azalabilir veya yapılamayabilir.
8. CD10-PE sonuçları, semptomlar, klinik öykü, ilave testlerden elde edilen veriler ve diğer uygun bilgiler dahil olmak üzere hastanın genel klinik tablosu dikkate alınarak yorumlanmalıdır.

Örnekler ve referanslar için Ek'e bakın.

TİCARİ MARKALAR

Bu belgede belirtilen Beckman Coulter, stilize logo ve Beckman Coulter ürün ve hizmet markaları, Beckman Coulter, Inc. firmasının ABD'de ve diğer ülkelerdeki ticari veya tescilli ticari markalarıdır.

EK BİLGİLER

Avrupa Birliği'nde ve aynı düzenleme rejiminin olduğu ülkelerdeki (In Vitro Diagnostik Tıbbi Cihazlar hakkında 2017/746/EU sayılı Yönetmelik) hasta/kullanıcı/üçüncü taraflar için; bu cihazın kullanımı sırasında veya cihazın kullanımının bir sonucu olarak ciddi bir olay meydana gelirse lütfen olayı üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makamınıza bildirin.

Summary of Safety and Performance (Güvenlik ve Performans Özeti) EUDAMED veritabanında mevcuttur: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVİZYON GEÇMİŞİ

REVİZYON AE:	Yayın tarihi: Eylül 2019

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AW	Şubat 2022
Beckman Coulter Global Etiketleme Politikasıyla uyumluluk sağlamak için ve IVD-R (AB)2017/746 gerekliliklerine göre güncellemeler yapıldı:	
Bölümler eklendi	BSI 2797 Numarası, Hedef Kullanıcı, Klinik Anlam, Konsantrasyon, Kesinlik, Doğruluk, Kör limiti ve tespit limiti, Ek Bilgiler, Revizyon Geçmişi.
Bilgi eklendi	Sınırlamalar bölümlerine bakın
İfade veya yazım güncellemeleri	Prosedür, Performans, Sınırlamalar, Uyarılar ve Önelmler, Saklama ve Stabilite, Gerekli olan ancak kit ile birlikte verilmeyen malzemeler bölümlerine bakın.
Bölümler kaldırıldı	Klinik uygulama örneği, Reaktifler, Laboratuvar içi yeniden üretilebilirlik, Linearite
Güncellenmiş bölümler	Kullanım Amacı, GHS Tehlike Sınıflandırması, Bozulma Göstergesi, Prosedür, Ek.

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AX	Haziran 2022
Bilgi eklendi	Yeni Dil Eklendi - Kazakça

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AY	Nisan 2023
Güncellenmiş bölümler	Saklama ve stabilite

Düzeltilmiş Sürüm	AZ
Revizyon Tarihi	Mayıs 2024
Güncellenmiş Çeviriler	**Klinik önemi:**
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Düzeltilmiş Sürüm	BA
Revizyon Tarihi	Temmuz 2024
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Sembol Anahtarı

Semboller Sözlüğü beckman.com/techdocs adresinde bulunabilir (belge numarası B60062)

	Спецификации
Специфичность	CD10
Клон	ALB1
Гибридома	NS1 x balb/c
Иммуноген	Human leukaemic cells
Иммуноглобулин	IgG1
Вид	Мышь
Очистка	Аффинная хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin (PE)
Молярное отношение	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Возбуждение λ	488 nm
Пик эмиссии	575 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 мг/мл БСА и 0,1% NaN_3

Конъюгированное антитело IOTest CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 мл, 20 мкл/тест

Применяется для *In Vitro* диагностики.

НАЗНАЧЕНИЕ

Это конъюгированное с флуорохромом антитело позволяет с использованием проточной цитометрии выполнить качественное и не автоматизированное определение клеточных популяций, экспрессирующих антиген CD10, который присутствует в биологических пробах человека (см. раздел «Пробы» ниже).

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Данный тест основан на способности специфических моноклональных антител связывать антигенные детерминанты, экспрессированные лейкоцитами.

Специфическое окрашивание лейкоцитов выполняется путем инкубирования пробы с реагентом IOTest. Затем методом лизиса удаляются эритроциты, и выполняется анализ лейкоцитов, не затронутых этим процессом, методом проточной цитометрии.

Проточный цитометр измеряет светорассеяние и флуоресценцию клеток. Это дает возможность разграничения интересующей популяции в электронном окне, определенном на гистограмме, что коррелирует с ортогональным светорассеянием (боковое рассеяние, или SS) и рассеянием света под острым углом (прямое рассеяние, или FS). Другие гистограммы, сочетающие два из других параметров, доступных на цитометре, могут использоваться как вспомогательные на стадии селекции, в зависимости от приложения, выбранного пользователем.

Флуоресценцию разграниченных клеток анализируют с целью различения положительно-окрашенных и неокрашенных событий. Результаты выражаются в виде процентного отношения положительных событий ко всем событиям, полученным в ходе селекции.

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ

Изделие предназначено для использования в лаборатории персоналом с профессиональной подготовкой.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

CD10-PE представляет собой антитело к CD10, используемое для идентификации и определения характеристик клеток, экспрессирующих антиген CD10, методом проточной цитометрии. Этот продукт отдельно от других исследований не может приводить к принятию каких-либо диагностических решений и не предназначен для этого.

При использовании в сочетании с другими маркерами этот продукт может использоваться в следующих целях.

- Для использования при дифференциальной диагностике пациентов с отклонениями гематологических результатов (при подозрении на наличие гематопоэтических новообразований), а также для мониторинга пациентов с известным гематопоэтическим новообразованием.
- Для определения прогноза у пациентов с гематопоэтическими новообразованиями.

См. следующие ссылки:

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

ПРОБЫ

При взятии образца венозной крови необходимо использовать стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта.

Пробы следует хранить при комнатной температуре (18–25°C), не встряхивая. Пробы следует гомогенизировать, осторожно перемешав, до отбора тестовой пробы.

Пробы требуется проанализировать в течение 24 ч после венипункции.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

См. специфический для партии сертификат анализа на веб-сайте www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Не используйте реагенты после истечения срока годности.
2. Не замораживать.
3. Перед использованием довести до комнатной температуры (18–25°C).
4. Минимизируют воздействие света.
5. Во избежание получения ошибочных результатов не допускайте микробной контаминации реагентов.

6. Следует с осторожностью обращаться с растворами антител, содержащими натрия азид (NaN_3). Не принимайте внутрь и избегайте любого контакта с кожей, слизистыми оболочками и глазами.

   Кроме того, в кислой среде натрия азид может образовывать потенциально опасную азотистоводородную кислоту. Если требуется утилизация, рекомендуется разводить реагент в большом объеме воды, прежде чем выливать его в канализацию, чтобы избежать накопления натрия азида в металлических трубах и исключить возможность взрыва.

7. Все пробы крови должны считаться потенциально инфицированными, при обращении с ними необходимо соблюдать осторожность (в частности, использовать защитные перчатки, одежду и очки).
8. Никогда не пипетируйте ртом и избегайте любого контакта проб с кожей, слизистыми и глазами.
9. При утилизации пробирок и одноразовых материалов следует использовать специальные предназначенные для сжигания контейнеры.
10. При утилизации реагентов и отходов необходимо следовать требованиям местного законодательства.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Не классифицируется как опасное вещество

SDS Паспорт безопасности доступен на сайте beckmancoulter.com/techdocs

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Этот реагент требуется хранить при температуре от 2 до 8°C, защищая от света, до и после вскрытия флакона.

Срок хранения закрытого флакона согласно исследованию стабильности: 1095 день.

Стабильность в открытом флаконе: реагент сохраняет стабильность в течение 180 дн.

ПРИЗНАКИ ПОРЧИ

Любые изменения внешнего вида реагентов могут говорить о порче, использовать такой реагент не следует.

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь со своим местным представителем Beckman Coulter.

СОДЕРЖАНИЕ

Консервант с содержанием азида натрия может образовывать взрывоопасные соединения в металлической водопроводной арматуре. См. бюллетень Национального института по охране труда и промышленной гигиене (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Взрывоопасные азиды) (16.8.76). Чтобы избежать накопления азидных соединений, промывайте сливные трубы водой после сброса неразбавленного реагента. Утилизацию азида натрия следует проводить в соответствии с соответствующими местными нормами.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, КОТОРЫЕ НЕ ВХОДЯТ В НАБОР:

- Необходимые для взятия проб пробирки и материалы.
- Автоматические пипетки с одноразовыми наконечниками для 20, 100 и 500 мкл.
- Пластиковые пробирки для гемолиза.
- Реагент для лизиса эритроцитов с этапом промывки после лизиса. Например: VersaLyse (ссылочный номер A09777).
- Реагент для фиксации лейкоцитов. Например: IOTest 3 Fixative Solution (фиксирующий раствор) (ссылочный номер A07800).
- Изотипический контроль -PE: Реагент IOTest (ссылочный номер A07796).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрия фосфата; 0,145 M натрия хлорида; pH 7,2).
- Центрифугируйте.
- Автоматическая мешалка (вортексная)
- Проточный цитометр.

ПРОЦЕДУРА С РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для каждой анализируемой пробы в дополнение к тестовой пробирке можно добавить одну контрольную пробирку, в которой клетки смешаны в присутствии изотипического контроля (ссылочный номер A07796).

1. В каждую тестовую пробирку добавьте по 20 мкл специфического конъюгированного антитела IOTest, а в каждую контрольную пробирку — по 20 мкл изотипического контроля, если необходимо.
2. Добавьте 100 мкл тестовой пробы в каждую пробирку. Аккуратно перемешайте пробирки на вортексе.
3. Инкубируют при комнатной температуре (18–25°C) в течение 15-20 мин, в защищенном от света месте.
4. Затем выполняют лизис эритроцитов. См. вкладыш VersaLyse (ссылочный номер A09777) и, предпочтительно, следуйте процедуре с названием «с сопутствующей фиксацией», которая заключается в добавлении 1 мл смеси «Фиксирующей и лизирующей», приготовленной для немедленного применения. Немедленно перемешивают на вортексе в течение одной секунды и инкубируют в течение 10 минут при комнатной температуре, защищая от света.
5. Центрифугируют в течение 5 минут при 150 g при комнатной температуре.
6. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации.
7. Ресуспендируют осадок клеток, используя 3 мл PBS.
8. Повторите шаг 5.
9. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации и ресуспендируют осадок клеток, используя:

- 0,5 мл или 1 мл PBS плюс 0,1% формальдегида, если препараты следует хранить менее 24 ч. (PBS с 0,1% формальдегида можно получить путем разведения 12,5 мкл фиксирующего раствора IOTest 3 (ссылочный номер A07800) в 10-кратной концентрации в 1 мл PBS).

- 0,5 мл или 1 мл PBS без формальдегида, если препараты следует проанализировать в течение 2 ч.

Примечание. В обязательном порядке защищайте подготавливаемые материалы от солнечного света, храните их при температуре от 2 до 8°C.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В наших лабораториях пробы цельной крови от клинически здоровых доноров (количество доноров: 25) были обработаны с использованием описанного выше реагента. Результаты, полученные для количества положительных интересующих явлений с этим реагентом, приводятся в таблице ниже:

Положительная мишень	Число	Среднее (%)	SD	CV (%)
Гранулоциты	25	98,75	2,26	2,29

Эти значения используются только в качестве примера. В каждой лаборатории должны быть установлены собственные диапазоны ожидаемых значений с учетом проб нормальных доноров из числа местного населения.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Рабочие характеристики получены с использованием описанной выше процедуры на пробах, собранных не ранее чем за 24 часа до анализа в стерильные пробирки с солью ЭДТА как антикоагулянтом. Анализ проводится в течение 2 часов после иммуноокрашивания.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Ген CALLA кодирует трансмембранный гликопротеин II типа с молекулярным весом 100 кД. Родственные CALLA последовательности ДНК обнаружены на хромосоме человека 3J (10). CALLA, (CD10), был описан как поверхностный фермент, экспрессируемый на ранних лимфоидных клетках-предшественниках и нейтрофилах, и был идентифицирован как металлопротеаза цинка, нейтральная эндопептидаза 24.11 (NEP, «энкефалиназа»). Известно, что фермент CD10 гидролизирует множество биологически активных пептидов, в том числе мет-энкефалин, формил-Met-Leu-Phe (f-MLP) и вещество P, которые участвуют в процессе дифференцировки и созревания клеток.

Моноклональные антитела ALB1 были изучены во время первой Международной конференции по дифференцировочным антигенам лейкоцитов человека (1st HLDA Workshop), проходившей в Париже, Франция, в 1982 г. (11).

ПРЕЦИЗИОННОСТЬ

Процент положительных результатов был установлен с использованием цельной крови. Каждую пробу измеряли 4 раза, два раза в день в течение 1 дня на 2 приборах, с использованием 2 партий реагентов моноклональных антител CD10-PE. Измерения (% положительных) выполняли на проточном цитометре Navios. Анализ проводился на основе метода CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оценка прецизионности количественных методик измерения).

Наши критерии принятия зависят от количества положительных событий, измеренных для каждой популяции:

- Если положительных событий <1 500, CV <15%
- Если положительных событий >1 500, CV <10%

Гранулоциты							
Количество положительных событий (среднее) = 6080							
	Между операторами	Между цитометрами	Внутри партии	Между партиями	Между анализами	Внутри анализа	Итого
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
РЕЗУЛЬТАТЫ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТЬ

Точность CD10-PE оценивалась путем сравнения результатов с результатами по референсному реагенту как предикатом. Анализ выполняли на проточном цитометре Navios с использованием набора проб цельной крови. Систематическая ошибка оценки между тестовым и референсным реагентами была определена на основании различий между результатами теста. Если систематическая ошибка оценки находится в пределах допустимого диапазона ошибки или если p-значение указывает на отсутствие значительного различия (>0,05), тогда результаты теста для двух реагентов рассматриваются как эквивалентные.

Полученные результаты обобщены в таблице далее.

Количество доноров = 25				
Положительная мишень	Среднее значение Δ	Критерии Δ % клеток	p-значение	РЕЗУЛЬТАТЫ
Гранулоциты	0,16	<5	0,001	PASS

ПРЕДЕЛ БЛАНКА И ПРЕДЕЛ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Исследование было проведено в соответствии с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Оценка способности обнаружения для методик измерения клинической лаборатории). Предел чувствительности (LOD) — наименьшая концентрация аналита, которая может последовательно обнаруживаться. Полученные результаты обобщены в таблице ниже.

Positive Target	Предел бланка (клеток/мкл)	Предел чувствительности (клеток/мкл)
Гранулоциты	2	4

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. При проведении проточной цитометрии возможно получение ложных результатов, если цитометр не был идеально позиционирован, не была проведена правильная компенсация утечек флуоресцентного агента или точное позиционирование областей.
2. Предпочтительно использовать технику лизиса RBC с шагом промывки, так как этот реагент не был оптимизирован для техник лизиса «без промывки».

3. Для получения точных и повторяемых результатов необходимо выполнять процедуры в соответствии с инструкцией-вкладышем и требованиями надлежащей лабораторной практики.
4. Выполняется калибровка конъюгированного антитела этого реагента с целью получения наилучшего для данной конкретной задачи соотношения специфичного и неспецифичного сигнала. Поэтому при каждом тесте важно придерживаться правильного соотношения объема реагента и пробы.
5. При гиперлейкоцитозе, разбавляют кровь PBS до приблизительно 5 x 10^9 лейкоцитов/л (12).
6. При определенных заболеваниях, таких как острая почечная недостаточность или гемоглобинопатии, лизис эритроцитов может протекать медленно, быть неполным или даже невозможным. В таком случае рекомендуется изолировать одноядерные клетки, используя градиент плотности (например, фиколл), перед окрашиванием (13).
7. У пациентов, получавших лечение античеловеческими моноклональными антителами, обнаружение специфических целевых антител может быть снижено или может отсутствовать вследствие частичной или полной блокировки терапевтическими антителами.
8. Результаты CD10-PE должны интерпретироваться с учетом общих клинических проявлений пациента, включая симптомы, историю болезни, данные дополнительных тестирований и прочую информацию.

Примеры и ссылки см. в Приложении.

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

Beckman Coulter, стилизованный логотип и упоминаемые здесь знаки продукции и услуг Beckman Coulter являются товарными знаками или зарегистрированными товарными знаками корпорации Beckman Coulter, Inc. в Соединенных Штатах и других странах.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для пациента / пользователя / третьей стороны в Европейском Союзе и в странах с идентичным регуляторным режимом (Регламент 2017/746/EC в отношении медицинских изделий для in vitro диагностики); если, во время использования этого изделия или в результате его использования произошел серьезный инцидент, сообщите о нем производителю и/или его уполномоченному представителю и своему национальному органу регулирования.

Summary of Safety and Performance (Сводные данные по безопасности и функциональным характеристикам) доступны в Европейской базе данных изделий медицинского назначения (EUDAMED): ec.europa.eu/tools/eudamed.

СВЕДЕНИЯ О ВЕРСИЯХ

ВЕРСИЯ AE:	Дата выпуска: Сентябрь 2019 г.

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AW	Февраль 2022 г.
Обновления с целью приведения в соответствие политике международной маркировки Beckman Coulter и для выполнения требований IVD-R (EC)2017/746:	
Добавлены разделы	Номер BSI 2797, «Предполагаемый пользователь», «Клиническая значимость», «Концентрация», «Прецизионность», «Точность», «Предел бланка и предел чувствительности», «Дополнительная информация», «Сведения о версиях».
Добавлена информация	См. раздел «Ограничения»
Обновлены формулировки или исправлены опечатки	См. разделы «Процедура», «Специальные характеристики», «Ограничения», «Предупреждения и меры предосторожности», «Хранение и стабильность», «Необходимые материалы, которые не входят в набор».
Удалены разделы	«Примеры клинических областей применения», «Реагенты», «Внутрилабораторная сходимость», «Линейность»
Обновленные разделы	«Назначение», «Классификация опасностей по системе СГС», «Признаки порчи», «Процедура», «Приложение».

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AX	Июнь 2022 г.
Добавлена информация	Добавить новый язык — казахский

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AY	Апрель 2023
Обновленные разделы	Хранение и стабильность

Пересмотренная версия	AZ
Дата пересмотра	Май 2024
Обновленные переводы	**Клиническая значимость:**
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Пересмотренная версия	BA
Дата пересмотра	Июль 2024
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Определения символов

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (номер документа B60062)

	Spetsifikatsioonid
Spetsiifilisus	CD10
Kloon	ALB1
Hübridoom	NS1 x balb/c
Immunogeen	Human leukaemic cells
Immunoglobuliin	IgG1
Liigid	Hiir
Puhastamine	Afiinsuskromotograafia
Fluorokroom	R Phycoerythrin (PE)
Molaarsuhe	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ergastumine	488 nm
Emission Peak	575 nm
Puhver	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/ml BSA ja 0,1% NaN_3

IOTest
konjugeeritud antikeha CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 ml, 20 µl / analüüs

***In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks**

KASUTUSOTSTARVE

See fluorokroomiga konjugeeritud antikeha võimaldab voolutsütomeetriaga kvalitatiivselt ja mitteautomatiseeritult tuvastada rakupopulatsioone, mis esitavad inimese bioloogilistes proovides antigeeni CD10 (vt allpool osa „Proovid“).

PÕHIMÕTE

Analüüs põhineb spetsiifiliste monoklonaalsete antikehade võimel seonduda leukotsüütide sünteesitavate antigeensete determinantidega.

Leukotsüütide eriomaseks värvimiseks tuleb proovi koos tootesarja IOTest reagendiga inkubeerida. Seejärel eemaldatakse erütrotsüüdid lüüsimisega ja pärast seda analüüsitakse voolutsütomeetriaga leukotsüüte, mida see protsess ei mõjuta.

Läbivoolutsütomeeter mõõdab valguse hajumist ja rakkude fluorestsentsi. See muudab võimalikuks huvialuse populatsiooni piiristamise histogrammil määratud elektroonilisel alal. Histogramm korreleerib valguse ortogonaalset hajumist (külghajumine ehk KH) ja kitsasnurga valguse hajumist (edasihajumine ehk EH). Teisi histogramme, kus ühendatakse tsütomeetrias saadaolevat kahte parameetrit, võib kasutada lüüsimisetapis olenevalt kasutaja valitud rakendusest.

Piiritletud rakkude fluorestsentsi analüüsitakse, et eristada positiivselt värvitud sündmusi värvimata sündmustest. Tulemusi kajastatakse positiivsete sündmuste protsentuaalse osakaaluna kõigi väravdamisega hõivatud sündmuste suhtes.

SIHTKASUTAJA

See toode on ette nähtud laboratoorseks kasutamiseks.

KLIINILINE TÄHTSUS

CD10-PE on CD10 antikeha, mida kasutatakse CD10 antigeeni sünteesivate rakkude voolutsütomeetriaga tuvastamiseks ja kirjeldamiseks. See toode üksi ei saa ega ole mõeldud ühegi diagnostilise otsuse tegemiseks.

Koos teiste markeritega kasutades saab seda toodet kasutada ühes või mitmes järgmistest funktsioonidest:

- Lihtsustamaks diferentsiaaldiagnoosi panemist hematoloogiliste ebanormaalsustega patsientidele, kellel kahtlustatakse vereloome neoplasmi esinemist, ja teadaoleva vereloome neoplasmiga patsientide monitoorimiseks.
- Vereloome neoplasmiga patsientidele prognoosi andmise hõlbustamiseks.

Vt järgmisi viiteid.

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

PROOVID

Veeniverd tuleb võtta steriilsete katsutitega, mis sisaldavad antikoagulandina etüleendiamiintetraatsetaadi (EDTA) soola.

Proove tuleb hoida toatemperatuuril (18–25 °C) ja neid ei tohi raputada. Proove tuleb ühtlustada seda enne näidisproovi võtmist ettevaatlikult loksutades.

Proove tuleb analüüsida 24 tunni jooksul alates veenipunktsioonist.

KONTSENTRATSIOON

Vt partiispetsiifilist analüüsi sertifikaati veebilehelt www.beckman.com.

HOIATUS JA ETTEVAATUSABINÕUD

1. Ärge kasutage reagenti pärast aegumiskuupäeva.
2. Ärge külmutage.
3. Enne kasutamist laske tasakaalustuda toatemperatuuriga (18–25 °C).
4. Minimeerige kokkupuudet valgusega.
5. Vältige reagentide mikroobidega saastumist, vastasel juhul võite saada valed tulemused.
6. Antikehade lahuseid, mis sisaldavad naatriumasiidi (NaN_3), tuleb käsitseda ettevaatlikult. See pole mõeldud seespidiseks kasutamiseks. Vältige kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.

Lisaks võib naatriumasiid moodustada happelises keskkonnas potentsiaalselt ohtliku hüdrasoonhappe. Kui see tuleb kõrvaldada, on soovitatav lahjendada reagenti suure hulga veega, enne kui see äravoolusüsteemi valada, et vältida plahvatusohtu ja naatriumasiidi kogunemist metalltorudesse.

7. Kõiki vereproove tuleb pidada potentsiaalselt nakkusohtlikuks ja käsitseda ettevaatusega (kasutage kaitsekindaid, kitlit ning kaitseprille).
8. Ärge kunagi pipettige suuga ja vältige proovide kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.
9. Verekatsutid ja käitlemiseks kasutatav ühekordselt kasutatav materjal tuleb hävitada põletamiseks ettenähtud spetsiaalsetes konteinerites.
10. Reagendid ja jäätmed tuleb kõrvaldada vastavalt kohalikele nõuetele.

GHS-I OHUKLASSIFIKATSIOON

Ei ole klassifitseeritud ohtlikuks

SDS Ohutuskaart on saadaval saidil beckmancoulter.com/techdocs

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Seda reagenti tuleb enne ja pärast viaali avamist hoida temperatuuril 2–8 °C ning valguse eest kaitstult.

Suletud viaali säilivusaeg stabiilsusuuringu põhjal: 1095 päeva.

Avatud viaali stabiilsus: reagent on stabiilne 180 päeva.

RIKNEMISE TUNNUSED

Igasugune muutus reagentide füüsilises välimuses võib viidata reagendi riknemisele ja seda ei tohi kasutada.

Lisateabe hankimiseks või kahjustatud toote saamisel helistage Beckman Coulteri klienditeenindusse numbril 800-742-2345 (USA või Kanada) või võtke ühendust kohaliku Beckman Coulteri esindajaga.

SISU

Naatriumasiidist konservant võib moodustada metallist kanalisatsioonitorudes plahvatusohtlikke ühendeid. Vt asutuse NIOSH teadaannet. Explosive Azide Hazard (Plahvatusohtliku asiidi oht) (16.8.76).
Vältimaks võimalikku asiidiühendite akumuleerimist, loputage äravoolutorusid pärast lahjendamata reagendi kõrvaldamist. Naatriumasiidi kõrvaldamine peab olema kooskõlas asjakohaste kohalike eeskirjadega.

VAJALIKUD, KUID KOMPLEKTI MITTEKUULUVAD MATERJALID

- Proovide kogumiseks vajalikud proovivõtukatsutid ja vahendid.
- Automaatpipetid ühekordselt kasutatavate otsakutega, mis võimaldavad teisaldada 20, 100 ja 500 µl.
- Plastist hemolüüsi katsutid.
- Erütrotsüütide lüüsireagent koos pesemisetapiga pärast lüüsi. Analüüsinäide VersaLyse (viitenr A09777).
- Leukotsüütide fikseerimisreagent. Näide Tootesarja IOTest 3 fikseerimisreagent (viitenr A07800).
- Isotüübi kontrollPE: Tootesarja IOTest reagent (viitenr A07796).
- Puhver (PBS: 0,01 M naatriumfosfaat; 0,145 M naatriumkloriid; pH 7,2).
- Tsentrifuugige.
- Automaatsegisti (vibratsioonsegamise tüüpi).
- Voolutsütomeeter.

PROTSEDUUR REAGENDIGA VERSALYSE

Iga analüüsitud proovi kohta võib lisaks analüüsikatsutile lisada ühe kontrollkatsuti, milles rakud segatakse isotüübi kontrolliga (viitenr A07796).

1. Lisage igasse analüüsikatsutisse 20 µl spetsiifilist tootesarja IOTest konjugeeritud antikeha ja vajaduse korral igasse kontrollkatsutisse 20 µl isotüüpset kontrolli.
2. Lisage igasse katsutisse 100 µl analüüsiproovi. Vibratsioonsegage ettevaatlikult katsuteid.
3. Inkubeerige valguse eest kaitstult 15–20 minutit toatemperatuuril (18–25 °C).
4. Seejärel lüüsige erütrotsüüdid. Lugege VersaLyse'i (viitenr A09777) teabelehte ja järgige eelistatavalt protseduuri nimega „samaaegse fikseerimisega", mis põhineb ekstemporaalselt ettevalmistatud 1 ml segu „Fix-and-Lyse" lisamisel. Vibratsioonsegage kohe üks sekund ja inkubeerige 10 minutit toatemperatuuril valguse eest kaitstult.
5. Tsentrifuugige 5 minutit toatemperatuuril kasutades sätet 150 x g.
6. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus.
7. Taassuspendeerige rakusade PBS-is, mille kogus on 3 ml.
8. Korrake etappi 5.
9. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus ja taassuspendeerige rakugraanuleid vahendiga:

- 0,5 ml või 1 ml PBS-i ja 0,1% formaldehüüdi, kui preparaate tuleb hoida vähem kui 24 tundi. (0,1% formaldehüüdi sisaldava PBS-i saamiseks võite lahjendada 12,5 µl tootesarja IOTest 3 10x kontsentratsioonil fikseerimislahust (viitenr A07800) PBS-is, mille kogus on) 1 ml.
- 0,5 ml või 1 ml formaldehüüdita PBS-iga, kui valmissegusid analüüsitakse 2 tunni jooksul.

Märkus Preparaate tuleb alati hoida temperatuuril 2–8 °C ja valguse eest kaitstult.

OODATUD VÄÄRTUSED

Ettevõttesisestes laborites töödeldi ülalkirjeldatud reagendiga täisvere proove, mis koguti 25 tõenäoliselt tervelt doonoritelt. Alljärgnev tabel annab ülevaate selle reagendiga saadud positiivsete huvipakkuvate sündmuste loendustulemustest:

Positiivne siht	Arv	Keskmine (%)	SH	CV (%)
Granulotsüüdid	25	98,75	2,26	2,29

Need väärtused on mõeldud üksnes näitlikena. Iga laboratoorium peaks kindlaks määrama oma oodatavad vahemikud kohaliku tavapäraste doonorite populatsiooni alusel.

TOIMIMINE

Toimimisandmed saadakse kasutades ülalkirjeldatud protseduuri vähem kui 24 tundi vanadel antikoagulandi EDTA naatriumsoolaga steriilsetesse katsutitesse kogutud vereproovidel. Analüüs tehakse 2 tunni jooksul pärast immuunovärvimist.

SPETSIIFILISUS

CALLA-geen kodeerib 100-kD II tüüpi transmembraanset glükoproteiini. CALLA-ga seotud DNA-järjestusi leidub inimese kromosoomis 3J (10). CALLA-t (CD10) kirjeldati pinnaensüümina, mis avaldub varajastel lümfoidsetel tüvirakkudel ja neutrofiilidel; CALLA liigitati tsingi metallproteaasiks, neutraalseks endopeptidaasiks 24,11 (NEP, enkefalinaas). CD10-ensüüm hüdrolüüsib teadaolevalt mitmesuguseid bioloogiliselt aktiivseid peptiide, sh met-enkefaliini, formüül-met-leu-fe-d (f-MLP) ja substantsi P, mis osalevad rakkude diferentseerumise ja küpsemise protsessis.

Monoklonaalset antikeha ALB1 uuriti töötoas 1st HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (1. HLDA inimeste leukotsüütide eristamisantigeenide töötuba), mis peeti 1982. aastal Prantsusmaal Pariisis (11).

TÄPSUS

Positiivsete väärtuste protsent määrati täisverest. Igat proovi testiti 4 korda, kaks korda päevas, 1 päeva jooksul 2 instrumendil, kasutades 2 CD10-PE monoklonaalsete antikehade reagentide partiid. Mõõtmised (% positiivne) tehti Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsiti CLSI meetodi EP5-A2 põhjal. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivsete mõõtmismeetodite täpsuse näitajate hindamine).

Meie sobivuskriteeriumid sõltuvad iga populatsiooni kohta mõõdetud positiivsete sündmuste arvust:

- Positiivse sündmuse korral < 1500, CV < 15%
- Positiivse sündmuse korral > 1500, CV < 10%

Granulotsüüdid							
Positiivsete sündmuste arv (keskmine) = 6080							
	Kasutajatevaheline	Tsütomeetritevaheline	Partiisisene	Partiidevaheline	Testidevaheline	Testisisene	Kokku
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
TULEMUSED	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

MÕÕTETÄPSUS

CD10-PE mõõtetäpsust hinnati võrreldes tulemusi võrdlusreagendiga kui predikaadiga täisvereproovide komplektis, mida oli testitud Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsi- ja võrdlusreagendi erinevused määrati analüüsitulemuste erinevuse põhjal. Kui erisus jääb lubatud veavahemikku või kui p-väärtus ei näita statistiliselt olulist erinevust (> 0,05), loetakse kahe reagendi analüüsitulemused võrdväärseteks.

Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis.

Doonorite arv = 25				
Positiivne siht	Keskmine Δ	Δ% raku kriteeriumid	p-väärtus	TULEMUSED
Granulotsüüdid	0,16	<5	0,001	PASS

NULLPIIR JA TUVASTUSPIIR

Uuriti vastavalt CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Kliinilise labori mõõtmisprotseduuride avastamisvõime hindamise) nõuetele. Tuvastuspiir (LOD) on väikseim analüüdi kontsentratsioon, mida saab järjekindlalt määrata. Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis:

Positive Target	Nullpiir (rakku/µl)	Tuvastuspiir (rakku/µl)
Granulotsüüdid	2	4

PIIRANGUD

1. Voolutsütomeetria võib anda valed tulemused, kui tsütomeeter ei ole ideaalselt joondatud, kui fluorestsentsi lekkeid ei ole õigesti kompenseeritud ja kui piirkonnad ei ole hoolikalt paigutatud.
2. Eelistatav on kasutada pesemisetapiga RBC lüüsi tehnikat, kuna seda reagenti pole optimeeritud „pesemiseta“ lüüsi tehnikate jaoks.
3. Täpsed ja korratavad tulemused saadakse, kui kasutatavad protseduurid on kooskõlas tehnilise teabelehe ja heade laboritavadega.
4. Selle reagendi pööratud antikeha kalibreeritakse nii, et tagatud oleks parim spetsiifilise/mittespetsiifilise signaali suhe. Seetõttu on igas analüüsis oluline järgida reagendi- ja proovimahu suhet.
5. Hüperleukotsütoosi korral lahjendage verd PBS-is nii, et saadav väärtus oleks ligikaudu 5 x 10^9 leukotsüüti/l kohta (12).
6. Teatud haigusseisundite (näiteks raske neerupuudulikkuse või hemoglobinopaatia) korral võib erütrotsüütide lüüsimine olla aeglane, mittetäielik või isegi võimatu. Sellisel juhul on enne värvimist soovitatav mononukleaarsete rakkude isoleerimine tihedusgradiendi (näiteks Ficoll-gradiendi) abil (13).
7. Inimesevastaste monoklonaalsete antikehadega ravitud patsientidel võib spetsiifiliste antigeenide tuvastamise võime väheneda või puududa, sest need on terapeutiliste antikehade poolt osaliselt või täielikult blokeeritud.
8. CD10-PE tulemuste tõlgendamisel tuleb arvestada patsiendi terviklikku kliinilist pilti, sh sümptomeid, kliinilist anamneesi, lisaanalüüside andmeid ja muud asjakohast teavet.

Vt näiteid ja viiteid lisast.

KAUBAMÄRGID

Beckman Coulter, stiliseeritud logo ning selles juhendis nimetatud ettevõtte Beckman Coulter toote- ja teenusemärgid on ettevõtte Beckman Coulter, Inc. kaubamärgid või registreeritud kaubamärgid Ameerika Ühendriikides ja teistes riikides.

LISATEAVE

Patsiendile / kasutajale / muule osapoolele Euroopa Liidus ja identse regulatsioonirežiimiga riikides (määrus (EL) nr 2017/746 in vitro diagnostikameditsiiniseadmete kohta), kui selle seadme kasutamise ajal või selle kasutamise tagajärjel on toimunud tõsine vahejuhtum, teatage sellest tootjale ja/või tema volitatud esindajale ning teie riiklikult pädevale asutusele.

Summary of Safety and Performance (Ohutuse ja kliinilise toimivuse kokkuvõte) on EUDAMED-andmebaasis: ec.europa.eu/tools/eudamed.

VERSIOONI AJALUGU

REVISION AE:	Väljastuskuupäev: September 2019

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AW	Veebruar 2022
Värskendused, mis vastavad Beckman Coulteri ülemaailmse märgistamise poliitikale ja IVD-R (EL) 2017/746 nõuetele:	
Lisatud osad	BSI 2797 number, sihtkasutaja, kliiniline tähtsus, kontsentratsioon, täpsus, mõõtetäpsus, nullpiir ja tuvastuspiir, lisateave, versiooni ajalugu.
Lisatud informatsioon	Vaata osa „Piirangud“
Fraseerimine või tüpograafiline värskendamine	Vaata osasid Protseduur, Toimimine, Piirangud, Hoiatus ja ettevaatusabinõud, Säilitamine ja stabiilsus, Vajalikud, kuid komplekti mitte kuuluvad materjalid.
Eemaldatud osad	Kasutusotstarvete, reagentide, laborisisese korratavuse, lineaarsuse näited
Uuendatud jaotised	Kasutusotstarve, GHS-i ohuklassifikatsioon, Riknemise tunnused, Protseduur, Lisa.

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AX	Juuni 2022
Lisatud informatsioon	Lisa uus keel – kasahhi keel

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AY	aprill 2023
Uuendatud jaotised	Säilitamine ja stabiilsus

Muudetud versioon	AZ
Muutmise kuupäev	mai 2024
Värskendatud tõlked	**Kliiniline tähtsus:**
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Muudetud versioon	BA
Muutmise kuupäev	juuli 2024
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Sümboli tähis

Sümbolite mõisted on kättesaadavad veebilehel beckman.com/techdocs (dokument nr B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD10
Klon	ALB1
Hibridom	NS1 x balb/c
Imunogen	Human leukaemic cells
Imunoglobulin	IgG1
Vrsta	Miš
Pročišćavanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molarni omjer	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna emisija	575 nm
Pufer	PBS pH 7,2 uz 2 mg/mL BSA i 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano antitijelo CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Za *in vitro* dijagnostičku uporabu

NAMJENA

To fluorokromom konjugirano antitijelo omogućuje kvalitativno i neautomatizirano prepoznavanje populacija stanica koje eksprimiraju antigen CD10 prisutan u humanim biološkim uzorcima uz pomoć protočne citometrije (pogledajte odjeljak „Uzorci" u nastavku).

NAČELO

Ovaj je test utemeljen na mogućnosti vezivanja specifičnih monoklonskih antitijela na antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično se bojenje leukocita izvodi inkubacijom uzorka s reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utječe, analiziraju se protočnom citometrijom.

Citometar toka mjeri difuziju svjetlosti i fluorescenciju stanica. Omogućuje razgraničavanje promatrane populacije unutar elektroničkog prozora definiranog na histogramu, koji stvara korelaciju između ortogonalne difuzije svjetlosti (bočnog raspršenja (BR)) i difuzije uskokutne svjetlosti (prednjeg raspršenja (PR)). Drugi histogrami koji kombiniraju dva od više različitih parametara dostupnih na citometru mogu se upotrebljavati kao pomoć u fazi ograđivanja ovisno o primjeni koju je odabrao korisnik.

Analizira se fluorescencija ograničenih stanica da bi se pozitivno obojeni događaji odvojili od neobojenih. Rezultati se izražavaju kao postotak pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobivene ograđivanjem.

PREDVIĐENI KORISNIK

Proizvod je namijenjen za profesionalnu laboratorijsku uporabu.

KLINIČKA RELEVANTNOST

CD10-PE antitijelo je na CD10 koje se koristi za prepoznavanje i karakteriziranje stanica koje eksprimiraju antigen CD10 protočnom citometrijom. Ovaj proizvod samostalno ne može generirati nikakav dijagnostički zaključak niti je tome namijenjen.

Kada se upotrebljava u kombinaciji s drugim markerima, ovaj se proizvod može upotrebljavati u jednoj ili više sljedećih funkcija:

- Kao pomoć prilikom postavljanja diferencijalne dijagnoze u hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu te za praćenje pacijenata s poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć prilikom donošenja prognoze za pacijente s hematopoetskom neoplazmom.

Pogledajte sljedeće reference:

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

UZORCI

Venska krv mora se uzeti sterilnim epruvetama koje kao antikoagulans sadrže EDTA sol.

Uzorke držite na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C) i nemojte ih tresti. Prije uzimanja testnog uzorka potrebno je homogenizirati uzorke pažljivim mućkanjem.

Uzorci venske krvi moraju se analizirati u roku od 24 sata od njihova uzimanja.

KONCENTRACIJA

Na web-mjestu www.beckman.com pogledajte Certifikat o analizi specifičan za lot koji upotrebljavate.

UPOZORENJE I MJERE OPREZA

1. Reagens nemojte upotrebljavati nakon isteka roka trajanja.
2. Nemojte zamrzavati.
3. Prije upotrebe pustite da dosegne sobnu temperaturu (18 – 25 °C).
4. Smanjite izlaganje svjetlu.
5. Izbjegavajte mikrobnu kontaminaciju reagensa ili može doći do netočnih rezultata.
6. Otopinama antitijela koje sadrže natrijev azid (NaN_3) potrebno je rukovati oprezno. Ne gutajte i izbjegavajte dodir s kožom, sluznicom i očima.

Štoviše, natrijev azid u kiselom mediju može formirati potencijalno opasnu hidrazoičnu kiselinu. Ako je reagens potrebno odložiti u otpad, preporučuje se da ga razrijedite u velikoj količini vode prije nego što ga izlijete u odvodni sustav da biste izbjegli nakupljanje natrijeva azida u metalnim cijevima i spriječili opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno zaraznima te je njima potrebno rukovati oprezno (odnosno nositi zaštitne rukavice, odjeću i naočale).
8. Nikada ne pipetirajte ustima te izbjegavajte doticaj uzoraka s kožom, sluznicom i očima.
9. Epruvete s krvlju i otpadni materijal za rukovanje treba odložiti u jednokratne spremnike namijenjene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad potrebno je ukloniti u skladu s lokalnim zahtjevima.

KLASIFIKACIJA OPASNOSTI PREMA GHS-U

Nije klasificiran kao opasan

SDS Sigurnosni list dostupan je na adresi beckmancoulter.com/techdocs

POHRANA I STABILNOST

Reagens se mora čuvati na temperaturi između 2 i 8 °C te zaštićen od svjetlosti, kako prije, tako i poslije otvaranja bočice.

Vijek trajanja zatvorene bočice prema ispitivanju stabilnosti: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dana.

DOKAZ PROPADANJA

Svaka promjena fizičkog izgleda reagensa može upućivati na propadanje te se reagens ne smije upotrebljavati.

Ako su vam potrebne dodatne informacije ili ste primili oštećen proizvod, nazovite korisnički servis tvrtke Beckman Coulter na 800-742-2345 (u SAD-u ili Kanadi) ili se obratite lokalnom predstavniku tvrtke Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans s natrijevim azidom može stvoriti eksplozivne spojeve u metalnim cjevovodima. Pogledajte bilten NIOSH: Explosive Azide Hazard (Opasnost od eksplozije azida) (16. 8. 76.).
Da biste spriječili moguće taloženje komponenata azida, prilikom odlaganja nerazrijeđenog reagensa u otpad odvodne cijevi isperite vodom. Odlaganje natrijeva azida u otpad mora biti u skladu s odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU DIO KOMPLETA:

- Epruvete za uzorke i materijal potreban za uzimanje uzoraka.
- Automatske pipete s jednokratnim nastavcima za 20, 100 i 500 µL.
- Plastične hemolitičke epruvete.
- Reagens za liziranje eritrocita s fazom pranja nakon liziranja. Na primjer: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primjer: Otopina za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotipska kontrola PE: reagens IOTest (ref. A07796).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijeva fosfata, 0,145 M natrijeva klorida, pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska miješalica (tip vorteks).
- Citometar toka.

POSTUPAK S REAGENSOM VERSALYSE

Za svaki uzorak koji se analizira može se uz testnu epruvetu dodati jedna kontrolna epruveta u kojoj su stanice pomiješane u prisutnosti izotipskih kontrola (ref. A07796).

1. Dodajte 20 µL konjugiranog antitijela specifičnog za IOTest u svaku testnu epruvetu i, ako je potrebno, 20 µL izotipske kontrole u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µL testnog uzorka u svaku epruvetu. Epruvete polako promiješajte u vorteks-miješalici.
3. Inkubirajte od 15 do 20 min na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C), zaštićeno od svjetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje eritrocita. Pogledajte brošuru VersaLyse (ref. A09777) i po mogućnosti slijedite postupak „uz istovremeno fiksiranje" koji se sastoji od dodavanja 1 mL svježe pripremljene mješavine za fiksiranje i liziranje. Odmah promiješajte u vorteks-miješalici jednu sekundu i inkubirajte 10 min pri sobnoj temperaturi, zaštićeno od svjetlosti.
5. Centrifugirajte 5 min pri 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću 3 mL PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Uklonite supernatant aspiracijom i stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću:

- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a plus 0,1 % formaldehida ako se pripravke planira čuvati manje od 24 sati. (PBS s 0,1 % formaldehida možete pripremiti razrjeđivanjem 12,5 µL otopine za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800) pri njezinoj 10X koncentraciji u 1 mL PBS-a).
- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a bez formaldehida, ako pripravak treba analizirati u roku od 2 sati.

Napomena: U svakom slučaju pripravke čuvajte zaštićene od svjetlosti na temperaturi između 2 i 8 °C.

OČEKIVANE VRIJEDNOSTI

U našim su laboratorijima obrađeni uzorci pune krvi naizgled zdravih donora (njih 25) pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati prikupljeni pomoću tog reagensa u svrhu brojanja pozitivnih relevantnih događaja navedeni su u tablici u nastavku:

Pozitivna ciljna vrijednost	Broj	Srednja vrijednost (%)	SD	CV (%)
Granulociti	25	98,75	2,26	2,29

Te su vrijednosti samo okvirne. Svaki laboratorij mora utvrditi vlastite očekivane vrijednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o performansama dobivaju se prethodno opisanim postupkom na manje od 24 sata starim uzorcima krvi prethodno prikupljenima u sterilne epruvete uz EDTA sol kao antikoagulans. Analiza se provodi u roku od 2 sata nakon imunobojenja.

SPECIFIČNOST

Gen CALLA kodiran je transmembranskim glikoproteinom tipa II molekularne mase od 100 kD. Sekvence DNK povezane s genom CALLA pronađene su na humanom kromosomu 3J (10). CALLA (CD10) opisan je kao površinski enzim izražen na ranim limfoidnim progenitorskim stanicama i neutrofilima te je prepoznat kao cinkova metaloproteaza, neutralna endopeptidaza 24.11 (NEP, "enkefalinaza"). Poznato je da enzim CD10 hidrolizira mnoge biološki aktivne peptide, uključujući metenkefalin, formil-metionil-leucil-fenilalanin (f-MLP) i P-tvar, koji su uključeni u postupak diferencijacije i sazrijevanja stanice.

Monoklonsko antitijelo ALB1 ispitivano je tijekom prve radionice HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (HLDA radionice o razlikovnim antigenima humanih leukocita), održane u Parizu (Francuska) 1982. godine (11).

PRECIZNOST

Postotne pozitivne vrijednosti utvrđene su pomoću pune krvi. Svaki je uzorak obrađen 4 puta, dvaput dnevno tijekom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagensa s monoklonskim antitijelima CD10-PE. Mjerenja (% pozitivnih vrijednosti) provedena su s pomoću citometra toka Navios. Analiza je provedena na temelju CLSI metode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procjena radnih značajki preciznosti metoda kvantitativnog mjerenja).

Naši kriteriji prihvatljivosti ovise o broju pozitivnih događaja izmjerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivni događaj < 1500, CV < 15 %
- Ako je pozitivni događaj > 1500, CV < 10 %

Granulociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrijednost) = 6080							
	Među operatorima	Među citometrima	Unutar lota	Među lotovima	Među obradama	Unutar obrade	Ukupno
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost mjerenja CD10-PE procijenjena je usporedbom rezultata s referentnim reagensom kao predikatom na skupu uzoraka pune krvi obrađenima na protočnom citometru Navios. Odstupanje između testa i referentnog reagensa utvrđeno je na temelju razlike između rezultata testa. Ako je odstupanje unutar dopuštenog raspona pogreške ili ako p-vrijednost upućuje na to da nema značajne razlike (> 0,05), rezultati testa za dva reagensa smatraju se istovjetnima.

Dobiveni rezultati sažeti su u tablici u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivna ciljna vrijednost	Srednja vrijednost Δ	Kriterij stanica Δ %	p-vrijednost	REZULTATI
Granulociti	0,16	<5	0,001	PASS

GRANICA SLIJEPE PROBE I GRANICA DETEKCIJE

Ispitivanje je izvedeno u skladu s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Procjena sposobnosti otkrivanja za postupke mjerenja u kliničkim laboratorijima). Granica detekcije (LOD) – najniža koncentracija analita koja se može dosljedno otkriti. Dobiveni rezultati sažeti su u sljedećoj tablici:

Positive Target	Granica slijepe probe (stanica/µL)	Granica detekcije (stanica/µL)
Granulociti	2	4

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti pogrešne rezultate ako citometar nije savršeno poravnat, ako fluorescentna curenja nisu pravilno kompenzirana i ako regije nisu pažljivo pozicionirane.
2. Poželjno je upotrebljavati tehniku liziranja pomoću RBC-a uz korak pranja jer ovaj reagens nije optimiziran za tehnike liziranja „bez pranja”.
3. Točni i ponovljivi rezultati dobivat će se sve dok se postupci izvode u skladu s tehničkom brošurom i u skladu s dobrim laboratorijskim praksama.
4. Konjugirano antitijelo tog reagensa kalibrirano je tako da pruža najbolji omjer specifičnog i nespecifičnog signala. Zato je važno pridržavati se omjera volumena reagensa i volumena uzorka prilikom svakog testiranja.
5. U slučaju hiperleukocitoze razrijedite uzorak u PBS-u da biste dobili vrijednost od približno 5 x 10^9 leukocita/L (12).
6. Pri određenim bolestima, kao što je ozbiljno zatajenje bubrega ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak i nemoguće. U tom se slučaju prije bojenja preporučuje izoliranje jednojezgrenih stanica s pomoću gradijenta gustoće (na primjer, Ficoll) (13).

7. U pacijenata koji primaju terapiju monoklonskim antihumanim antitijelima detekcija određenih ciljanih antigena može biti smanjena ili nepostojeća zbog djelomičnog ili potpunog blokiranja terapijskih antitijela.
8. Rezultate CD10-PE treba tumačiti u kontekstu ukupne kliničke slike pacijenta, uključujući simptome, anamnezu, podatke iz dodatnih testova i druge odgovarajuće informacije.

Za primjere i reference pogledajte Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizirani logotip te oznake proizvoda i usluga tvrtke Beckman Coulter žigovi su ili registrirani žigovi tvrtke Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim državama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta / korisnika / treću stranu u Europskoj uniji i u državama s identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskim proizvodima za in vitro dijagnostiku): ako tijekom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe dođe do ozbiljnog štetnog događaja, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovu ovlaštenom zastupniku te nadležnom nacionalnom tijelu.

Summary of Safety and Performance (Sažetak podataka o sigurnosti i performansama) potražite u bazi podataka EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

POVIJEST REVIZIJA

REVIZIJA AE:	Datum objave: rujan 2019.

REVIZIJA	**Datum objave**
AW	Veljača 2022.
Ažuriranja radi usklađivanja s pravilnikom o globalnom označavanju tvrtke Beckman Coulter i u skladu sa zahtjevima uredbe (EU)2017/746 o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima (IVD-R):	
Dodani odjeljci	Broj BSI 2797, Ciljni korisnik, Klinička relevantnost, Koncentracija, Preciznost, Točnost, Granica slijepe probe i granica detekcije, Dodatne informacije, Povijest revizija.
Dodane informacije	Pogledajte odjeljke Ograničenja
Preformuliranje ili tipografska ažuriranja	Pogledajte odjeljke Postupak, Performanse, Ograničenja, Upozorenje i mjere opreza, Pohrana i stabilnost, Materijali koji su potrebni, ali nisu isporučeni s kompletom.
Uklonjeni odjeljci	Primjer kliničkih primjena, Reagensi, Unutarlaboratorijska obnovljivost, Linearnost
Ažurirani odjeljci	Namjena, Klasifikacija opasnosti prema GHS-u, Dokaz pogoršanja stanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum objave**
AX	Lipanj 2022.
Dodane informacije	Dodati novi jezik – kazaški

REVIZIJA	**Datum objave**
AY	Travanj 2023
Ažurirani odjeljci	Čuvanje i stabilnost

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Svibanj 2024
Ažurirani prijevodi	**Klinička relevantnost:**
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Revidirana verzija	BA
Datum revizije	Srpanj 2024
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Pojmovnik simbola

Pojmovnik simbola dostupan je na web-mjestu beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Спецификации
Специфичност	CD10
Клонинг	ALB1
Хибридома	NS1 x balb/c
Имуноген	Human leukaemic cells
Имуноглобулин	IgG1
Вид	Мишка
Пречистване	Афинитетна хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin (PE)
Моларно съотношение	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ възбуждане	488 nm
Емисионен пик	575 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 mg/mL BSA и 0,1 % NaN_3

IOTest
Конюгирано антитяло
CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20 µL/тест

За *ин витро* диагностика

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Това флуорохром-конюгирано антитяло позволява качествена и неавтоматизирана идентификация с помощта на поточна цитометрия на клетъчни популации, експресиращи CD10 антиген, присъстващ в човешки биологични проби (вижте раздел „Проби“ по-долу).

ПРИНЦИП

Този тест се базира на способността на специфични моноклонални антитела да се свързват с антигенни детерминанти, експресирани от левкоцитите.

Специфично оцветяване на левкоцитите се извършва чрез инкубиране на пробата с реактива IOTest. След това червените кръвни телца се отстраняват чрез лизиране, а левкоцитите, които не се повлияват от този процес, се анализират чрез поточна цитометрия.

Поточният цитометър измерва разсейването на светлината и флуоресценцията на клетките. Това прави възможно разграничаването на популацията, която се изследва, в електронния прозорец, дефиниран на една хистограма, която корелира с ортогоналната дифузия на светлината (странично разсейване) и дифузията на тесноъгълна светлина (предно разсейване). Други хистограми, комбиниращи два от различните параметри на разположение на цитометъра, могат да бъдат използвани като основа в етапа на определяне на област за анализ в зависимост от приложението, избрано от потребителя.

Флуоресценцията на разграничените клетки се анализира, за да се разграничат позитивно оцветените събития от неоцветените такива. Резултатите се изразяват като процент на положителни събития във връзка с всички събития, получени от определянето на областта за анализ.

ПРЕДВИДЕН ПОТРЕБИТЕЛ

Този продукт е предназначен само за лабораторна професионална употреба.

КЛИНИЧНА ЗНАЧИМОСТ

CD10-PE е антитяло CD10, използвано за идентифициране и характеризиране чрез поточна цитометрия на клетки, експресиращи CD10 антиген. Този продукт не може и не е предназначен самостоятелно да генерира каквото и да е диагностично заключение.

Когато се използва в комбинация с други маркери, този продукт може да се използва в една или повече от следните функции:

- Като помощно средство при поставяне на диференциална диагноза на хематологично абнормни пациенти, суспектни за хематопоетично новообразуване, и за проследяване на пациенти с известно хематопоетично новообразуване.
- Като помощно средство при създаване на прогноза за пациенти с хематопоетична неоплазма.

Вижте следните справки:

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

ПРОБИ

Венозна кръв трябва да се взема в стерилни епруветки, съдържащи сол EDTA като антикоагулант.

Пробите трябва да бъдат съхранявани при стайна температура (18–25°C) и не трябва да се разклащат. Пробите трябва да бъдат хомогенизирани чрез внимателно смесване, преди да се вземе пробата за теста.

Пробите трябва да бъдат анализирани в рамките на 24 часа от венопункturата.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Вижте Сертификата за анализ за конкретната партида на www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Не използвайте реактива след изтичане на срока на годност.
2. Не замразявайте.
3. Оставете на стайна температура (18–25°C) преди употреба.
4. Минимизирайте излагането на светлина.
5. Избягвайте микробно замърсяване на реактивите, в противен случай е възможно да се получат погрешни резултати.

6. С разтворите на антитела, съдържащи натриев азид (NaN_3), трябва да се работи внимателно. Не приемайте вътрешно и избягвайте всякакъв контакт с кожата, лигавицата и очите.

   В допълнение, в киселинна среда натриевият азид може да образува потенциално опасната хидразоена киселина. Ако тя трябва да се изхвърли, препоръчва се реактивът да се разреди в голям обем вода, преди да се излее в дренажната система, за да се избегне натрупването на натриев азид в металните тръби и да се предотврати риск от експлозия.

7. Всички кръвни проби трябва да се считат за потенциално заразни и с тях трябва да се борави внимателно (по-специално: носене на защитни ръкавици, облекло и очила).
8. Никога не пипетирайте с уста и избягвайте всякакви контакти между пробите и Вашата кожа, лигавица и очи.
9. Епруветките за кръв и материалите за еднократна употреба, използвани за боравене, трябва да се изхвърлят във временни контейнери, предназначени за изгаряне.
10. Реактивите и отпадъците трябва да бъдат елиминирани в съответствие с местните изисквания.

КЛАСИФИЦИЯ НА ОПАСНОСТИТЕ ПО GHS

Не е класифициран като опасен

SDS Информационният лист за безопасност е наличен на адрес beckmancoulter.com/techdocs

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Този реактив трябва да се съхранява при температури между 2 и 8°C и да бъде защитен от светлина преди и след отваряне на флакона.

Изследване на срок на годност при затворена епруветка и стабилност: 1095 дни.

Стабилност на отворен флакон: реактивът е стабилен за 180 дни.

ДАННИ ЗА ВЛОШАВАНЕ

Всяка промяна във физическия изглед на реактивите може да е признак за влошаване и реактивът не трябва да бъде използван.

За допълнителна информация или при получаване на повреден продукт се свържете с отдела за обслужване на клиенти на Beckman Coulter на тел. 800-742-2345 (САЩ или Канада) или се свържете с местния представител на Beckman Coulter.

СЪДЪРЖАНИЕ

Консервантът натриев азид може да образува експлозивни съединения в метални отводнителни тръбопроводи. Вижте Бюлетина на NIOSH: Explosive Azide Hazard (Бюлетин на Националния институт по безопасност и хигиена на труда: Опасност от експлозия на азид) (16/8/76).
За да избегнете възможно натрупване на азидни съединения, промивайте канализационните тръби с вода след изхвърляне на неразтворен реактив. Изхвърлянето на натриев азид трябва да бъде в съответствие с местните разпоредби.

НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СА ДОСТАВЕНИ С КОМПЛЕКТА:

- Епруветки за проби и материали, необходими за вземане на проби.
- Автоматични пипети с накрайници за еднократна употреба за 20, 100 и 500 µL.
- Пластмасови хемолизни епруветки.
- Реактив за лизис на червени кръвни телца с етап на отмиване след лизис. Например: VersaLyse (Реф. A09777).
- Реактив за левкоцитна фиксация. Например: IOTest 3 фиксиращ разтвор (Реф. A07800).
- Изотипна контрола PE: Реактив IOTest (Реф. № A07796).
- Буфер (PBS: 0,01 M натриев фосфат; 0,145 M натриев хлорид; pH 7,2).
- Центрофугирайте.
- Автоматичен агитатор (тип вортекс).
- Поточен цитометър.

ПРОЦЕДУРА С РЕАКТИВ VERSALYSE

За всяка анализирана проба освен тестовата епруветка може да се добави и една контролна епруветка, в която клетките да са смесени в присъствието на изотипната контрола (Реф. A07796).

1. Добавете 20 µL специфично IOTest конюгирано антитяло във всяка тестова епруветка и, ако е необходимо, 20 µL изотипна контрола във всяка контролна епруветка.
2. Добавете 100 µL от тестовата проба във всяка епруветка. Внимателно разбъркайте във вортекс епруветките.
3. Инкубирайте за 15 до 20 минути при стайна температура (18–25°C), като предпазвате от светлина.
4. След това се изпълнява лизиране на червените кръвни телца. Вижте брошурата на VersaLyse (Реф. A09777) и изпълнете за предпочитане процедурата, наречена „със съпътстващо фиксиране“, която се състои от добавяне на 1 mL от сместа „Фиксиране и лизиране“, приготвена за незабавно приложение. Незабавно завъртете епруветките с вортекс за една секунда и инкубирайте за 10 минути при стайна температура на защитено от светлина място.
5. Центрофугирайте 5 минути при 150 x g при стайна температура.
6. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация.
7. Разтворете отново клетъчната утайка, като използвате 3 mL PBS.
8. Повторете стъпка 5.
9. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация и ресуспендирайте клетъчната утайка с:

- 0,5 mL или 1 mL PBS плюс 0,1 % формалдехид, ако препаратите трябва да бъдат съхранявани по-малко от 24 часа. (Може да се получи 0,1 % формалдехид PBS чрез разреждане на 12,5 µL разтвор за фиксиране IOTest 3 (Реф. A07800) при 10X концентрация в 1 mL PBS).

- 0,5 mL или 1 mL PBS без формалдехид, ако препаратите ще бъдат анализирани в рамките на 2 часа.

Забележка: Във всички случаи съхранявайте препаратите при температури между 2 и 8°C и защитени от светлина.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

В нашите лаборатории бяха третирани пробите цялостна кръв на 25 видимо здрави донори с описания по-горе реактив. Получените с този реактив резултати за броя на положителните събития, които са от значение, са дадени в таблицата по-долу:

Положителна цел	Брой	Средна (%)	SD	CV (%)
Гранулоцити	25	98,75	2,26	2,29

Тези стойности са само представителни. Всяка лаборатория трябва да установи свои очаквани стойности от местната популация нормални донори.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данните за ефективността се получават с помощта на описаната по-горе процедура за кръвни проби до 24 часа, предварително събрани в стерилни епруветки със сол EDTA като антикоагулант. Анализ се извършва в рамките на 2 часа след имуноцветяване.

СПЕЦИФИЧНОСТ

Генът CALLA кодира трансмембранен гликол протеин, тип II, 100-kD. CALLA-свързани секвенции на ДНК се откриват в човешка хромозома 3J (10). CALLA, (CD10), се описва като ензим на повърхността, експресиран в предшественици на лимфоидни прогенитори и неутрофили и идентифициран като цинковата металопротеаза, неутрална ендопептидаза 24.11 (NEP, „енкефалиназа“). За ензимът CD10 е известно, че хидролизира различни биологично активни пептиди, включително мет-енкефалин, формил-мет-лев-фе (f-MLP) и вещество P, които са включени в процеса на клетъчна диференциация и узряване.

Моноклоналното антитяло (ALB1) беше разглеждано по време на 1-та HLDA работна сесия върху определя нето на човешки левкоцитни диференци ационни антигени, проведена в Париж, Франция, през 1982 г (11).

ТОЧНОСТ

Процентните положителни стойности са определени посредством цялостна кръв. Всяка проба е обработена 4 пъти, два пъти на ден за 1 ден на 2 инструмента, като са използвани 2 партиди реактиви с CD10-PE моноклонално антитяло. Измерванията (% положителни) са направени на поточен цитометър Navios. Анализът е проведен на основата на CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods. (Метод EP5-A2 на CLSI: Оценка на точността на методите за количествено измерване.)

Нашите критерии за приемливост зависят от броя положителни събития, измерени за всяка популация:

- Ако положителните събития са < 1500, CV < 15 %
- Ако положителните събития са > 1500, CV < 10 %

Гранулоцити							
Брой положителни събития (средно) = 6080							
	Между оператори	Между цитометри	Вътрепартидна	Между партиди	Между цикли	В рамките на цикъл	Общо
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
РЕЗУЛТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТ

Точността на CD10-PE е изследвана чрез сравняване на резултатите с референтен реактив като потвърждение върху група от проби от цялостна кръв, обработени на поточен цитометър Navios. Отклонението между тестовия и референтния реактив се определя въз основа на разликата между резултатите от теста. Ако отклонението е в рамките на допустимия обхват на грешка или p-стойността не показва значима разлика (> 0,05), резултатите от теста за двата реактива се считат за еквивалентни.

Получените резултати са обобщени в таблицата, дадена по-долу:

Брой донори = 25				
Положителна цел	Средна Δ	Критерии Δ % клетки	p-стойност	РЕЗУЛТАТИ
Гранулоцити	0,16	<5	0,001	PASS

ГРАНИЦА НА СЛЯПА ПРОБА И ГРАНИЦА НА ОТКРИВАНЕ

Проведено е проучване в съответствие с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оценка на възможността за детекция за измервателни процедури в клинични лаборатории). Границата на откриване (LOD) е най-ниската концентрация на аналита, която може да бъде стабилно открита. Получените резултати са обобщени в следващата таблица:

Positive Target	Граница на сляпата проба (клетки/µL)	Граница на откриване (клетки/µL)
Гранулоцити	2	4

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Поточната цитометрия може да даде неточни резултати, ако цитометърът не е бил идеално приравнен, ако течове на флуоресценция не са били правилно компенсирани или ако регионите не са били внимателно позиционирани.
2. Предпочита се използването на техника за лизиране на червени кръвни клетки със стъпка за промиване, тъй като този реактив не е оптимизиран за техники за лизиране „без промиване“.
3. Ще бъдат получени точни и възпроизводими резултати, при условие, че използваните процедури са в съответствие с техническата листовка и са съвместими с добрите лабораторни практики.
4. Конюгираното антитяло на този реактив е калибрирано, за да се осигури най-доброто съотношение между специфичен сигнал/неспецифичен сигнал. Затова е важно да се придържате към съотношението обем на реактива/обем на пробата във всеки тест.

5. В случай на хиперлевкоцитоза кръвта се разрежда в PBS, така че да се получи стойност приблизително 5 x 10^9 левкоцити/L (12).
6. При определени болестни състояния, например тежка бъбречна недостатъчност или хемоглобинопатии, лизирането на червените кръвни телца може да бъде бавно, непълно или дори невъзможно. В този случай се препоръчва да се изолират мононуклеарни клетки, като се използва градиент на плътността (Ficoll например) преди оцветяване (13).
7. При пациенти, лекувани с терапии с античовешко моноклонално антитяло, отриването на специфични целеви антигени може да бъде занижено или да липсват поради частично или цялостно блокиране от терапевтичното антитяло.
8. Резултатите от CD10-PE трябва да се интерпретират спрямо общата клинична презентация на пациента, включваща: симптоми, клинична анамнеза, данни от допълнителни тестове и друга съответстваща информация.

Вижте Приложението за примери и справки.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ

Beckman Coulter, стилизираното лого и марките на продуктите и услугите на Beckman Coulter, присъстващи в този документ, са търговски марки или регистрирани търговски марки на Beckman Coulter, Inc. в САЩ и в други държави.

ДОПЪЛНИТЕЛНА ИНФОРМАЦИЯ

За пациенти/потребители/трети лица в Европейския съюз и в страни с идентичен регулаторен режим (Регламент 2017/746/ЕС относно ин витро диагностичните медицински изделия); ако по време на използването на това изделие или в резултат на използването му е настъпил сериозен инцидент, моля, съобщете за това на производителя и/или неговия упълномощен представител и на Вашия национален орган.

Summary of Safety and Performance (Обобщение на безопасността и работата) е налично в базата данни EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ХРОНОЛОГИЯ НА РЕДАКЦИИТЕ

РЕДАКЦИЯ AE:	Дата на издаване: септември 2019 г.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AW	февруари 2022 г.
Актуализации с цел съответствие с Глобалната политика за етикетиране на Beckman Coulter и съгласно изискванията на Регламент (ЕС) 2017/746 за медицинските изделия за ин витро диагностика (IVD-R):	
Добавени раздели	Номер 2797 на BSI, Предвиден потребител, Клинична значимост, Концентрация, Прецизност, Точност, Граница на сляпата проба и граница на откриване, Допълнителна информация, Хронология на редакциите.
Добавена информация	Вижте разделите „Ограничения“
Актуализации във формулировките или типографията	Вижте раздели „Процедура“, „Работни характеристики“, „Ограничения“, „Предупреждения и предпазни мерки“, „Съхранение и стабилност“, „Необходими, но непредоставени с комплекта материали“.
Премахнати раздели	Пример за клинични приложения, Реактиви, Вътрешнолабораторна възпроизводимост, Линейност
Актуализирани раздели	Предвидена употреба, Класификация на опасностите по GHS, Признаци за влошаване, Процедура, Приложение.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AX	юни 2022 г.
Добавена информация	Добавен нов език - казахски

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AY	Април 2023
Актуализирани раздели	Съхранение и стабилност

Редактирана версия	AZ
Редактирана дата	Май 2024
Актуализирани преводи	**Клинична значимост:**
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Редактирана версия	BA
Редактирана дата	Юли 2024
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Легенда на символите

Речник на символите е наличен на beckman.com/techdocs (номер на документа B60062)

	規格
專一性	CD10
轉殖	ALB1
融合瘤	NS1 x balb/c
免疫原	Human leukaemic cells
免疫球蛋白	IgG1
物種	小鼠
純化	親和層析法
螢光染料	R Phycoerythrin (PE)
莫耳比率	PE/Ig： 0.5 - 1.5
λ 激發	488 nm
發射峰	575 nm
緩衝劑	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 及 0.1% NaN_3

IOTest
結合抗體
CD10-PE

REF A07760 100 次檢測；2 mL, 20 µL/測試

***體外*診斷使用**

預期用途

使用此螢光染料結合的抗體，能夠以流式細胞分析儀器對人體生物檢體中出現的表現 CD10 抗原之細胞群進行非自動化定性鑑別（請參閱下列「檢體」部分）。

原理

本測試的基礎在於特異性單株抗體結合由白血球表現之抗原決定簇的能力。

以 IOTest 試劑與檢體反應，對白血球進行特異性染色。然後以溶解作用去除紅血球，而白血球不受此程序影響，並可透過流式細胞分析儀器進行分析。

流式細胞分析儀器可測量細胞的光漫射和螢光。這樣可以界定直方圖上定義的電子窗口內的目標群體，直方圖可以關聯光的正交漫射（側向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。細胞分析儀器上可用之結合兩個不同參數的其他直方圖，可用於支持圈選階段，這取決於使用者所選的應用。

為了區分陽性染色事件和未染色事件，對劃定細胞的螢光進行了分析。結果表示為陽性事件相對於圈選所得全部事件的百分比。

預期使用者

本產品應當用於實驗室內的專業用途。

臨床相關性

CD10-PE 是一種 CD10 抗體，以流式細胞分析儀器使用此抗體庫可辨認表達 CD10 抗原的細胞並鑑別其特徵。單獨使用此程序並不足以診斷出任何結果。

本產品搭配其他標誌物使用時，可用於以下一或多個功能：

- 可輔助疑似罹患造血組織腫瘤之血液異常患者的鑑別診斷，並可監測已知罹患造血組織腫瘤的患者。
- 有助於罹患造血組織腫瘤之患者的預後情況。

請參閱下列參考資料：

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

檢體

靜脈血必須使用無菌試管抽取，此無菌試管中含有 EDTA 鹽作為抗凝劑。

檢體應存放在室溫 (18~25°C)，且不得搖晃。取用測試檢體前，應將檢體輕輕攪動，使之均勻化。

檢體必須在靜脈穿刺後 24 小時內進行分析。

濃度

請參閱 www.beckman.com 參閱各批次專屬的分析證書。

警告和預防措施

1. 請勿使用過期試劑。
2. 切勿冷凍。
3. 使用前，請將其恢復至室溫 (18~25°C)。
4. 儘量避免陽光直射。
5. 請避免試劑受到微生物污染，否則可能會出現錯誤結果。
6. 含有疊氮化鈉 (NaN_3) 的抗體溶液應謹慎處理。請勿內服，並避免接觸皮膚、黏膜和眼睛。

   此外，在酸性介質中，疊氮化鈉可形成具有潛在危害的疊氮酸。若需要對其進行處置，建議在試劑倒入排水系統前以大量清水稀釋，避免疊氮化鈉在金屬管道中累積並預防爆炸。
7. 所有血液檢體必須視為具有潛在傳染性，且必須小心處理（務必穿戴防護手套、防護衣和護目鏡）。
8. 切勿用嘴吸液，並避免檢體接觸皮膚、黏膜和眼睛。

9. 用於處理的血液試管和一次性材料應放入焚化專用的特殊容器中處置。
10. 應根據當地要求清除試劑和廢棄物。

GHS 危害分類

未歸類為危險物質

SDS 安全性資料表載於 beckmancoulter.com/techdocs

存儲和穩定性

在打開試劑瓶前後，試劑必須避光保存於 2~8°C。

穩定性研究的封閉式藥瓶有效期限：1095 天。

開瓶後穩定性：試劑穩定性可維持 180 天。

變質的證據

試劑外觀的任何變化表示可能發生變質，因此不應使用該試劑。

如需瞭解其他資訊，或如果收到已損壞的產品，請撥打 800-742-2345（美國或加拿大）聯絡貝克曼庫爾特客戶服務部，或聯絡您當地的貝克曼庫爾特代表。

內容物

疊氮化鈉防腐劑可能會在金屬排水管道中形成爆炸性化合物。請參閱 NIOSH Bulletin： Explosive Azide Hazard（爆炸性疊氮化物危害）(76/8/16)。為防止疊氮化合物可能累積，丟棄未稀釋的試劑後請用水沖洗污水管。必須依照相關當地法規丟棄疊氮化鈉。

試劑盒未提供但卻需要的材料：

- 採樣時需要採樣試管和材料。
- 帶有可吸取 20、100 和 500 µL 一次性吸頭的自動移液器。
- 塑膠溶血試管。
- 用於溶解後洗滌階段的紅血球溶解試劑。舉例：VersaLyse (參考 A09777)。
- 白血球固定試劑。舉例：IOTest 3 固定液 (參考 A07800)。
- 同型品管劑 PE：IOTest 試劑 (參考 A07796)。
- 緩衝劑 (PBS：0.01 M 磷酸鈉；0.145 M 氯化鈉；pH 7.2）。
- 離心機。
- 自動攪拌器（漩渦型）。
- 流式細胞分析儀器。

使用 VERSALYSE 試劑的程序

對於已分析的每項檢體，除使用測試試管外，可再增加一個品管劑試管，以在其中混合細胞與同型品管劑 (參考 A07796)。

1. 向每個測試試管添加 20 µL 特異性 IOTest 結合抗體，如果需要，向每個質控試管添加 20 µL 同型質控品。
2. 向每個試管中添加 100 µL 測試檢體。輕輕漩渦振盪試管。
3. 在室溫 (18~25°C) 下避光反應 15~20 分鐘。
4. 然後將紅血球溶解。請參閱 VersaLyse (參考 A09777) 的手冊，最好按照名為「共伴固定」的程序操作，其包含添加臨時製備的 1 mL「固定加溶解」混合物。立即震盪 1 秒後，在室溫下避光反應 10 分鐘。
5. 在室溫下以 150 x g 離心 5 分鐘。
6. 吸除上清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新懸浮細胞團塊。
8. 重複第 5 步。
9. 吸除上清液並按照以下方式重新懸浮細胞團塊：

- 若製劑存放時間不超過 24 小時，則以 0.5 mL 或 1 mL PBS 加 0.1% 甲醛。（可在 1 mL PBS 中稀釋 10X 濃度的 12.5 µL IOTest 3 固定液 (參考 A07800)，得到含有 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 若製劑將在 2 小時內分析，使用 0.5 mL 或 1 mL PBS（無甲醛）。

註：在所有情況下，將製劑在 2~8°C 避光保存。

預期值

在我們的實驗室中，採用上述試劑處理 25 名明顯健康的捐贈者的全血檢體。使用該試劑進行陽性目標事件計數得到的結果如下表所示：

陽性目標	數量	平均值 (%)	SD	CV (%)
顆粒性白血球	25	98.75	2.26	2.29

這些數值是具代表性的參考值。每個實驗室都應運用當地正常捐贈者族群的檢測結果，自行確立適用的預期值。

性能

對於之前採集在無菌試管（含有 EDTA 鹽作為抗凝劑）中短於 24 小時的血液檢體，使用上面描述的程序獲取了性能資料。在免疫染色後的 2 小時內進行分析。

專一性

CALLA 基因編碼了分子量為 100-kD 的 II 型跨細胞膜醣蛋白。在人類染色體 3J (10) 上可以找到 CALLA 相關的 DNA 序列。CALLA (CD10) 在初期的淋巴祖細胞和嗜中性白血球上表達為表面酵素，並且被視為鋅金屬蛋白酶、中性肽鏈內切酶 24.11 (NEP，「腦啡胜肽酶」)。CD10 酵素已知可水解多種生物活性胜肽，包括甲硫腦啡胜肽、甲醯基-甲硫胺醯基-白胺醯基-苯丙胺酸 (f-MLP) 及 P 物質，這些生物活性胜肽參與了細胞分化和成熟的過程。

在 1982 年於法國巴黎舉行的 1st HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (第 1 屆 HLDA 人類白細胞分化抗原會議) 上討論了 ALB1 單株抗體 (11)。

準確度

使用全血測定了百分比陽性值。每項檢體皆使用 2 個批次的 CD10-PE 單株抗體試劑，以 2 台儀器 1 天運行 2 次，共運行了 4 次。使用 Navios 流式細胞分析儀器檢測結果（陽性 %）。根據 CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：評估定量檢測方法的準確度性能）進行分析。

我們的接受標準視各族群所檢測的陽性事件數量而定：

- 若陽性事件數量 < 1,500，則 CV < 15%
- 若陽性事件數量 > 1,500，則 CV < 10%

顆粒性白血球							
陽性事件數量（平均值）= 6080							
	各操作者間	各台細胞分析儀器間	批內	批間	各次執行間	各次執行內	總計
CV (%)	0.04	0.04	0.06	0.01	0.01	0.04	0.07
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

準確性

評估 CD10-PE 準確性的方式，是比較它與參考試劑用於添加了陽性細胞的一組全血檢體，在 Navios 流式細胞分析儀器上進行化驗時，其結果有何差異。根據測試結果間的差異，測定了測試與參考試劑之間的偏差。如果此偏倚在允許的誤差範圍內或 P 值並未顯示顯著差異 (> 0.05)，則兩種試劑的測試結果視為相當。

所得結果總結於下表：

捐贈者數量 = 25				
陽性目標	平均值差	細胞標準 Δ %	P 值	結果
顆粒性白血球	0.16	<5	0.001	PASS

空白檢體的偵測極限與偵測極限

按照 CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2，臨床實驗室測定程序的偵測能力評估）開展了一項試驗。偵測極限 (LOD) 是指可始終被偵測出的最低分析物濃度。所得結果總結於下表：

Positive Target	空白檢體的偵測極限（細胞數/µL）	偵測極限（細胞數/µL）
顆粒性白血球	2	4

限制條件

1. 流式細胞分析儀器在下列情況下可能產生錯誤結果：細胞分析儀器未正確校正、螢光洩漏未正確補償、相關區域並未仔細定位。
2. 最好採用帶洗滌步驟的 RBC 溶解方法，因該試劑不能在「無洗滌」溶解方法中取得最佳效果。
3. 按照技術手冊採用相關流程並遵循優良實驗室操作規範，便可得到準確且可重複的結果。
4. 此試劑的結合抗體已經過校正，以提供最佳的特異性訊號/非特異性訊號比率。因此，在每次測試中遵守試劑體積/檢體體積比率很重要。
5. 如果白血球過多，請在 PBS 中稀釋血液，使白血球濃度約為 5 x 10^9 顆/L (12)。
6. 在嚴重腎衰竭、血色素病變等特定疾病狀態中，紅血球溶解可能會變得緩慢、不完全，甚至無法溶解。在這種情況下，建議在染色前使用密度梯度（例如聚蔗糖）分離單核球 (13)。
7. 使用抗人單株抗體療法治療患者時，由於治療抗體的部分或完全阻斷，偵測到的特定目標抗原可能會減少或完全偵測不到。
8. CD10-PE 結果的判讀應結合患者的整體臨床表徵，包括：症狀、臨床病史、其他測試的資料以及其他相關資訊。

請參閱附錄以閱讀舉例和參考文獻。

商標

Beckman Coulter、徽標以及本文述及的貝克曼庫爾特公司產品和服務標記是美國貝克曼庫爾特有限公司在美國和其他國家的商標或註冊商標。

其他資訊

對於患者/使用者/第三方（在歐盟和有相同監管制度（體外診斷醫療裝置法規，2017/746/EU）的國家）；如果在使用中或由於使用而導致嚴重事件，請將情況回報製造商和/或授權代表，以及貴國主管機關。

Summary of Safety and Performance（安全與性能）的摘要請參見 EUDAMED 資料庫：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修訂歷程記錄

修訂版 AE：	發佈日期：2019 年 9 月

修訂	**發行日期**
AW	2022 年 2 月

更新以遵守貝克曼庫爾特公司全球標籤政策以及 IVD-R (EU)2017/746 規定：	
已新增部分	BSI 2797 編號、預期使用者、臨床相關性、濃度、精密度、準確性、空白檢體的偵測極限和偵測極限、其他資訊、修訂記錄。
已新增資訊	請參閱「限制」部分
修辭或印刷更新	請參閱「程序」、「性能」、「限制」、「警告和預防措施」、「存儲和穩定性」、「試劑盒未提供但卻需要的材料」等部分。
已移除的部分	臨床應用範例、試劑、實驗室內再現性、線性
已更新部分	預期用途、GHS 危害分類、變質的證據、程序、附錄。

修訂	**發行日期**
AX	2022 年 6 月
已新增資訊	增加新的語言 - 哈薩克語

修訂	**發行日期**
AY	4 月 2023
已更新部分	存儲和穩定性

修訂版本	AZ
修訂日期	5 月 2024
已更新的譯文	**臨床關聯性：**
已更新部分	修訂歷史

修訂版本	BA
修訂日期	7 月 2024
已更新部分	修訂歷史

符號釋義

符號術語表請參見網站：beckman.com/techdocs（文件編號 B60062）

	Specificații
Specificitate	CD10
Clonă	ALB1
Hibridom	NS1 x balb/c
Imunogen	Human leukaemic cells
Imunoglobulină	IgG1
Specie	Șoarece
Purificare	Cromatografia afinităților
Fluorocrom	R Phycoerythrin (PE)
Raport molar	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Excitare λ	488 nm
Vârful de emisie	575 nm
Soluție tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA și 0,1% NaN_3

IOTest
Anticorp conjugat
CD10-PE

REF A07760 100 de teste; 2 ml, 20 µl/test

Pentru diagnosticare *in vitro*

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

Acest anticorp conjugat cu fluorocrom permite identificarea calitativă și non-automată a populațiilor celulare care exprimă antigenul CD10 prezent în probele biologice umane prin citometrie în flux (consultați secțiunea „probe" de mai jos).

PRINCIPIU

Acest test se bazează pe abilitatea anticorpilor monoclonali specifici de a se lega de determinanții antigenici exprimați de leucocite.

Colorarea specifică a leucocitelor este efectuată prin incubarea probei cu reactivul IOTest. Eritrocitele sunt ulterior îndepărtate prin liză, iar leucocitele, care nu sunt afectate de acest proces, sunt analizate prin citometrie în flux.

Citometrul în flux măsoară difuzia luminii și fluorescența celulelor. Acesta face posibilă delimitarea populațiilor de interes în fereastra electronică definită pe o histogramă, care corelează difuzia ortogonală a luminii (Dispersia perpendiculară sau SS – Side Scatter) și difuzia luminii sub un unghi ascuțit (Dispersia pe direcția înainte sau FS – Forward Scatter). Alte histograme care combină doi dintre parametrii diferiți disponibili pe citometru pot fi utilizate ca suporturi în faza de stabilire a porților (gating) în funcție de aplicația aleasă de către utilizator.

Fluorescența celulelor delimitate se analizează pentru distingerea evenimentelor colorate pozitiv de cele necolorate. Rezultatele sunt exprimate ca procentaj de evenimente pozitive în raport cu toate evenimentele obținute de gating.

UTILIZATOR PRECONIZAT

Acest produs este destinat utilizării profesionale în laborator.

RELEVANȚĂ CLINICĂ

CD10-PE este un anticorp CD10 utilizat pentru a identifica și caracteriza celulele care exprimă antigenul CD10 prin citometrie în flux. Acest produs în sine nu poate și nu este conceput pentru a genera concluzii cu rol de diagnostic.

Atunci când este utilizat în combinație cu alți markeri, acest produs poate fi utilizat pentru una sau mai multe dintre următoarele funcții:

- Pentru a ajuta la obținerea unui diagnostic diferențial pentru pacienții cu anormalități hematologice suspecți de neoplasm hematopoietic și la monitorizarea pacienților cu neoplasm hematopoietic diagnosticat.
- Pentru a ajuta la obținerea unui prognostic pentru pacienții cu neoplasm hematopoietic.

Consultați următoarele referințe:

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

PROBE

Sângele venos trebuie recoltat utilizând eprubete sterile care conțin o sare de EDTA drept anticoagulant.

Se recomandă păstrarea probelor la temperatura camerei (18–25°C). Acestea nu se vor scutura. Se recomandă omogenizarea probelor prin agitare ușoară înainte de recoltarea probei de test.

Proba trebuie analizată în decurs de 24 de ore de la puncția venoasă.

CONCENTRAȚIE

Consultați certificatul de analiză specific lotului la adresa www.beckman.com.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Nu utilizați reactivul după data expirării.
2. Nu congelați.
3. Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei (18–25°C).
4. Reduceți la minimum expunerea la lumină.
5. Evitați contaminarea microbiană a reactivilor. În caz contrar, se pot obține rezultate false.
6. Soluțiile de anticorpi care conțin azidă de sodiu (NaN_3) trebuie manipulate cu atenție. A nu se ingera și a se evita contactul cu pielea, mucoasele și ochii.

În plus, într-un mediu acid, azida de sodiu poate forma acid hidrazoic, un compus potențial periculos. Dacă este necesară eliminarea reactivului, se recomandă ca acesta să fie diluat într-un volum mare de apă înainte de a fi vărsat în sistemul de canalizare pentru a evita acumularea de azidă de sodiu în conductele metalice și pentru a preveni riscul de explozie.

7. Toate probele de sânge trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie manipulate cu grijă (în special: purtarea de mănuși de protecție, halate și ochelari de protecție).
8. Nu pipetați niciodată cu gura și evitați contactul probelor cu pielea, mucoasele și ochii.
9. Eprubetele pentru sânge și materialele de unică folosință utilizate pentru manipulare trebuie eliminate în recipiente ad-hoc destinate incinerării.
10. Reactivii și deșeurile trebuie eliminați în conformitate cu cerințele locale.

CLASIFICAREA RISCURILOR ÎN SISTEMUL GHS

Nu este clasificat ca periculos

SDS Fișa tehnică de securitate este disponibilă la beckmancoulter.com/techdocs

DEPOZITAREA ȘI STABILITATEA

Înainte și după desigilarea fiolei, acest reactiv trebuie păstrat la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C într-un loc ferit de lumină.

Perioada de valabilitate în fiolă închisă în conformitate cu studiul de stabilitate: 1095 zile.

Stabilitatea fiolei desigilate: reactivul este stabil timp de 180 (de) zile.

DOVADĂ DE DETERIORARE

Orice modificare a aspectului fizic al reactivilor poate indica degradarea. În acest caz, nu se recomandă utilizarea reactivului.

Pentru informații suplimentare sau dacă s-a primit un produs deteriorat, sunați la Serviciul Clienți Beckman Coulter la 800-742-2345 (SUA sau Canada) sau contactați-vă reprezentantul Beckman Coulter local.

CONȚINUT

Azida de sodiu folosită drept conservant poate forma compuși cu risc de explozie în conductele de drenaj metalice. Consultați buletinul informativ al NIOSH: Explosive Azide Hazard (Azidă cu risc de explozie) (08/16/76).
Pentru a evita posibila acumulare de compuși de azidă, spălați cu apă conductele pentru evacuarea deșeurilor după eliminarea reactivului nediluat. Eliminarea azidei de sodiu trebuie realizată în conformitate cu reglementările locale aplicabile.

MATERIALE NECESARE, DAR NEFURNIZATE CU SETUL:

- Eprubete pentru probe și materiale necesare pentru prelevarea probelor.
- Pipete automate cu vârfuri de unică folosință pentru 20, 100 și 500 µl.
- Eprubete din plastic pentru hemoliză.
- Reactiv de liză a eritrocitelor cu faza de spălare după liză. De exemplu: VersaLyse (ref. A09777).
- Reactiv de fixare a leucocitelor. De exemplu: Soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800).
- Ser de control izotipic PE: Reactiv IOTest (ref. A07796).
- Soluție tampon (PBS: 0,01 mol de fosfat de sodiu; 0,145 mol de clorură de sodiu; pH 7,2).
- Centrifugați.
- Agitator automat (tip Vortex).
- Citometru de flux.

PROCEDURA CU REACTIVUL VERSALYSE

Pentru fiecare probă analizată, în afară de eprubeta de testare, poate fi adăugată o eprubetă de ser de control în care celulele sunt amestecate în prezența serurilor de control izotipic (ref. A07796).

1. Adăugați 20 µl de anticorp conjugat IOTest specific în fiecare eprubetă de test și, dacă este necesar, 20 µl de ser de control izotipic în fiecare eprubetă cu ser de control.
2. Adăugați 100 µl de probă de test în fiecare eprubetă. Amestecați cu grijă eprubetele în agitatorul vortex.
3. Incubați timp de 15–20 de minute la temperatura camerei (18–25°C) într-un loc ferit de lumină.
4. Apoi efectuați liza eritrocitelor. Consultați prospectul VersaLyse (ref. A09777) și urmați, de preferat, procedura denumită „cu fixare concomitentă”, care constă în adăugarea a 1 ml de amestec „Fixare și liză” preparat extemporaneu. Amestecați imediat în agitatorul vortex timp de o secundă și incubați timp de 10 minute la temperatura camerei, într-un loc ferit de lumină.
5. Centrifugați timp de 5 minute la 150 x g la temperatura camerei.
6. Îndepărtați supernatantul prin aspirare.
7. Resuspendați peleta de celule utilizând 3 ml de PBS.
8. Repetați pasul 5.
9. Îndepărtați supernatantul prin aspirare și resuspendați peleta de celule utilizând:

- 0,5 ml sau 1 ml de PBS plus 0,1% formaldehidă dacă preparatele trebuie păstrate mai puțin de 24 (de) ore. (O soluție PBS cu 0,1% formaldehidă poate fi obținută prin diluarea unei cantități de 12,5 µl de soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800) la concentrația sa de 10X în 1 ml de PBS).
- 0,5 ml sau 1 ml de PBS fără formaldehidă, dacă preparatele trebuie analizate în decurs de 2 (de) ore.

Observație: În toate cazurile, păstrați preparatele la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C, în locuri ferite de lumină.

VALORI PRECONIZATE

În laboratoarele noastre, probele de sânge integral de la 25 donatori aparent sănătoși au fost tratate utilizându-se reactivul descris mai sus. Rezultatele obținute pentru numărul de evenimente pozitive de interes cu acest reactiv sunt date în tabelul de mai jos:

Ținta pozitivă	Număr	Medie (%)	SD (deviație standard)	CV (%)
Granulocite	25	98,75	2,26	2,29

Aceste valori au doar caracter exemplificativ. Fiecare laborator trebuie să stabilească propriile valori așteptate de la populația locală de donatori normali.

PERFORMANȚĂ

Datele de performanță se obțin folosindu-se procedeul descris mai sus pe probe de sânge cu o vechime mai mică de 24 de ore recoltate anterior în eprubete sterile cu sare EDTA ca anticoagulant. Analiza se efectuează în decurs de 2 ore de la imunocolorare.

SPECIFICITATE

Gena CALLA include o glicoproteină transmembranară de tip II cu 100 kD. Secvențele de ADN legate de CALLA se găsesc în cromozomul uman 3J (10). CALLA (CD10) a fost descrisă ca o enzimă de suprafață care se regăsește în progenitorii limfoizi timpurii și în neutrofile; ea a fost identificată drept metaloprotează de zinc, endopeptidază neutră 24.11 (NEP, „enkefalinază"). Despre enzima CD10 se cunoaște că hidrolizează o varietate de peptide active biologic, inclusiv met-enkefalină, formil-met-leu-phe (f-MLP) și substanța P, care sunt implicate în procesul de diferențiere și maturare celulară.

Anticorpul monoclonal ALB1 a fost studiat la 1st HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Primul congres HLDA consacrat antigenilor de diferențiere a leucocitelor umane), organizat la Paris, în Franța, în 1982 (11).

PRECIZIE

Valorile procentuale pozitive au fost stabilite folosind sânge integral. Fiecare probă a fost analizată de 4 ori, de două ori pe zi timp de 1 zi, pe 2 instrumente, folosind 2 loturi de reactivi cu anticorp monoclonal CD10-PE. Măsurătorile (% pozitive) au fost efectuate pe un citometru în flux Navios. Analiza a fost efectuată în conformitate cu metoda CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluarea performanței de precizie a metodelor de măsurare cantitativă).

Criteriile noastre de acceptare depind de numărul de evenimente pozitive măsurate pentru fiecare populație:

- Dacă evenimentul pozitiv < 1500, CV < 15%
- Dacă evenimentul pozitiv > 1500, CV < 10%

Granulocite							
Număr de evenimente pozitive (medie) = 6080							
	Inter-operator	Inter-citometru	Intra-lot	Inter-lot	Inter-ciclu	Intra-testare	Total
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
REZULTATE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACURATEȚE

Acuratețea CD10-PE a fost evaluată prin compararea rezultatelor cu un reactiv de referință ca predicat pe un set de probe de sânge integral analizate cu un citometru în flux Navios. Eroarea sistematică dintre test și reactivul de referință a fost determinată în funcție de diferența dintre rezultatele testului. Dacă eroarea sistematică se încadrează în intervalul de eroare permis sau dacă valoarea p nu indică o diferență semnificativă (> 0,05), rezultatele testului pentru cei doi reactivi sunt considerate ca fiind echivalente.

Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul de mai jos:

Număr de donatori = 25				
Ținta pozitivă	Medie Δ	Criterii celulă Δ%	Valoarea p	REZULTATE
Granulocite	0,16	<5	0,001	PASS

LIMITA DE BLANC ȘI LIMITA DE DETECȚIE

A fost realizat un studiu în conformitate cu documentul CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluarea capacității de detecție în cazul procedurilor de măsurare din laborator). Limita de detecție (LOD) este cea mai redusă concentrație de analit care poate fi detectată în mod constant. Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul următor:

Positive Target	Limită de blanc (celulă/µl)	Limită de detecție (celulă/µl)
Granulocite	2	4

LIMITĂRI

1. Citometria în flux poate furniza rezultate false dacă citometrul nu a fost aliniat perfect, dacă scurgerile de fluorescență nu au fost compensate corect și dacă regiunile nu au fost poziționate corect.
2. Este de preferat să se utilizeze o tehnică de liză a eritrocitelor (RBC) cu o etapă de spălare, deoarece acest reactiv nu a fost optimizat pentru tehnici de liză „fără spălare".
3. Se vor obține rezultate corecte și reproductibile dacă procedurile utilizate respectă prospectul tehnic și bunele practici de laborator.
4. Anticorpul conjugat din acest reactiv este calibrat astfel încât să ofere cel mai bun raport semnal specific/semnal nespecific. Prin urmare, este important ca la fiecare test să se respecte raportul volum de reactiv/volum de probă.
5. În cazul unei hiperleucocitoze, diluați sângele în PBS astfel încât să obțineți o valoare de aproximativ 5 x 10^9 leucocite/l (12).
6. În anumite stări patologice, cum ar fi insuficiența renală severă sau hemoglobinopatiile, liza eritrocitelor poate fi lentă, incompletă sau chiar imposibilă. În acest caz, se recomandă izolarea celulelor mononucleare cu ajutorul unui gradient de densitate (de exemplu, Ficoll), înainte de colorare (13).
7. În cazul pacienților tratați cu terapii cu anticorp monoclonal anti-uman, detecția antigenilor specifici țintiți poate fi diminuată sau absentă din cauza blocării parțiale sau complete asigurată de anticorpul terapeutic.
8. Rezultatele CD10-PE trebuie interpretate în lumina prezentării clinice integrale a pacientului, inclusiv: simptome, istoric clinic, date din teste suplimentare și alte informații corespunzătoare.

Consultați Anexa pentru exemple și referințe.

MĂRCI COMERCIALE

Beckman Coulter, logoul stilizat și mărcile de produse și servicii Beckman Coulter menționate aici sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Beckman Coulter, Inc. în Statele Unite și în alte țări.

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

În cazul unui pacient/utilizator/terț aflat în Uniunea Europeană sau în țări cu un regim de reglementare identic (Regulamentul 2017/746/UE privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro); dacă, în timpul utilizării acestui dispozitiv sau în urma utilizării acestuia, are loc un incident grav, raportați acest incident către producător și/sau reprezentantul său autorizat și către autoritatea națională din țara dvs.

Rezumatul secțiunilor Siguranță și Performanță este disponibil din baza de date EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORICUL REVIZUIRILOR

REVIZIA AE:	Data publicării: Septembrie 2019

REVIZIE	**Data publicării**
AW	Februarie 2022
Se actualizează pentru a respecta politica globală de etichetare Beckman Coulter și cerințele regulamentului IVD-R (UE) 2017/746:	
Secțiuni adăugate	Număr BSI 2797, Utilizator propus, Relevanță clinică, Concentrație, Precizie, Acuratețe, Limita de blanc și limita de detecție, Informații suplimentare, Istoric revizuiri.
Informații adăugate	Consultați secțiunile Limitări
Actualizări referitoare la frazare și tipografice	Consultați secțiunile Procedură, Performanță, Limitări, Avertizări și măsuri de precauție, Depozitare și stabilitate, Materiale necesare, dar nefurnizate cu setul.
Secțiuni eliminate	Exemplu de utilizări clinice, Reactivi, Reproductibilitate intralaborator, Liniaritate
Secțiuni actualizate	Utilizare propusă, Clasificarea riscurilor în sistemul GHS, Dovadă de deteriorare, Procedură, Anexă.

REVIZIE	**Data publicării**
AX	Iunie 2022
Informații adăugate	A fost adăugată o limbă nouă – kazahă

REVIZIE	**Data publicării**
AY	Aprilie 2023
Secțiuni actualizate	Depozitare și stabilitate

Versiunea revizuită	AZ
Data revizuirii	Mai 2024
Au fost actualizate traducerile	**Relevanță clinică:**
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Versiunea revizuită	BA
Data revizuirii	Iulie 2024
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Cheie simboluri

Glosarul de simboluri este disponibil la beckman.com/techdocs (număr document B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD10
Klon	ALB1
Hibridom	NS1 x balb/c
Imunogen	Human leukaemic cells
Imunoglobulin	IgG1
Vrsta	Miš
Prečiščevanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molarno razmerje	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisij	575 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA in 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano protitelo CD10-PE

REF A07760 100 testov; 2 ml, 20 µl/test

Za diagnostično uporabo *in vitro*

NAMEN UPORABE

To protitelo, konjugirano s fluorokromi, omogoča kvalitativno in neavtomatizirano identifikacijo celičnih populacij, ki izražajo antigen CD10, prisoten v človeških bioloških vzorcih, z uporabo pretočne citometrije (oglejte si poglavje »Vzorci« spodaj).

NAČELO

Ta test temelji na sposobnosti specifičnih monoklonskih protiteles, da se vežejo na antigenske determinante, ki jih izražajo levkociti.

Specifično barvanje levkocitov izvedemo z inkubacijo vzorca z reagentom IOTest. Rdeče krvničke nato odstranimo z lizo, levkocite, na katere ta proces ne vpliva, pa analiziramo s pretočno citometrijo.

Pretočni citometer meri difuzijo svetlobe in fluorescenco celic. Omogoča razmejitev opazovane populacije v elektronskem oknu, opredeljenem v histogramu, ki je povezan z ortogonalno difuzijo svetlobe (stransko sipanje ali SS) in difuzijo svetlobe pri majhnemu kotu (sipanje naprej ali FS). Glede na uporabo, ki jo izbere uporabnik, lahko druge histograme, ki uporabljajo kombinacijo dveh različnih parametrov, ki so na voljo na citometru, uporabimo kot nosilce v fazi uokvirjanja.

Fluorescenco razmejenih celic analiziramo z namenom razlikovanja med pozitivno obarvanimi dogodki in tistimi, ki niso obarvani. Rezultati so izraženi kot odstotek pozitivnih dogodkov glede na vse dogodke, pridobljene z uokviranjem.

PREDVIDENI UPORABNIK

Izdelek je namenjen profesionalni laboratorijski uporabi.

KLINIČNI POMEN

CD10-PE je protitelo CD10, ki se uporablja za identifikacijo in karakterizacijo celic, ki izražajo antigen CD10 s pomočjo pretočne citometrije. Ta izdelek sam ne more ustvariti in ni namenjen za ustvarjanje kakršnih koli diagnostičnih zaključkov.

Če se izdelek uporablja v kombinaciji z drugimi označevalci, se lahko uporablja pri eni ali več naslednjih funkcij:

- Uporablja se kot pripomoček pri diferencialnem diagnosticiranju hematološko neobičajnih bolnikov, pri katerih obstaja sum, da imajo hematopoetsko neoplazmo, in za spremljanje bolnikov z znano hematopoetsko neoplazmo.
- Za pomoč pri napovedi stanja bolnikov s hematopoetsko neoplazmo.

Oglejte si naslednje reference:

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

VZORCI

Pri jemanju venske krvi je treba uporabiti sterilne epruvete, ki vsebujejo sol EDTA kot antikoagulant.

Vzorce je treba hraniti pri sobni temperaturi (18–25 °C) in jih ni dovoljeno pretresati. Vzorce je treba homogenizirati z rahlim stresanjem pred odvzemom testnega vzorca.

Vzorce je treba analizirati v 24 urah po venepunkciji.

KONCENTRACIJA

Oglejte si ustrezen certifikat o analizi za izbrano serijo na spletni strani www.beckman.com.

OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI

1. Ne uporabljajte reagenta po izteku roka uporabnosti.
2. Ne zamrzujte.
3. Pred uporabo počakajte, da se ogrejejo na sobno temperaturo (18–25 °C).
4. Čim manj izpostavljajte svetlobi.
5. Preprečite mikrobno kontaminacijo reagentov, sicer lahko pride do napačnih rezultatov.
6. Z raztopinami protiteles, ki vsebujejo natrijev azid (NaN_3), je treba ravnati previdno. Ne zaužijte in se izogibajte vsakršnemu stiku s kožo, sluznico in očmi.

Poleg tega lahko natrijev azid v kislem mediju tvori potencialno nevaren vodikov azid. Če ga je treba odstraniti, je reagent priporočljivo razredčiti z veliko količino vode pred izlivanjem v kanalizacijo, da bi se izognili kopičenju natrijevega azida v kovinskih ceveh in preprečili nevarnost eksplozije.

7. Vse vzorce krvi je treba obravnavati kot potencialno kužne in je treba z njimi ravnati previdno (predvsem je treba nositi zaščitne rokavice, halje in očala).
8. Nikoli ne pipetirajte z usti in se izogibajte vsakršnemu stiku vzorcev s kožo, sluznico in očmi.
9. Epruvete za kri in material za enkratno uporabo je treba odstraniti v zabojnike na licu mesta, namenjene sežigu.
10. Reagente in odpadke je treba odstraniti skladno z lokalnimi predpisi.

KLASIFIKACIJA NEVARNOSTI PO GHS

Ni razvrščeno kot nevarno

SDS Varnostni list je na voljo na povezavi beckmancoulter.com/techdocs

SHRANJEVANJE IN OBSTOJNOST

Ta reagent je treba shranjevati pri temperaturi od 2 do 8 °C in zaščiteno pred svetlobo pred odprtjem vial in po njem.

Rok uporabnosti zaprte viale po študiji stabilnosti: 1095 dni.

Stabilnost odprte stekleničke: reagent je stabilen 180 dni.

DOKAZ O POSLABŠANJU STANJA

Vsaka sprememba fizičnega videza reagentov lahko kaže na poslabšanje stanja in reagenta ni dovoljeno uporabljati.

Za dodatne informacije ali ob prejemu poškodovanega izdelka pokličite službo za pomoč strankam družbe Beckman Coulter na številko 800-742-2345 (ZDA ali Kanada) ali se obrnite na lokalnega predstavnika podjetja Beckman Coulter.

VSEBINA

Konzervans iz natrijevega azida lahko tvori eksplozivne spojine v kovinskih odvodnih ceveh. Oglejte si NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16. 8. 76) (Nevarnost eksplozivnih azidov).
Da bi se izognili morebitnemu kopičenju azidnih spojin, po odstranjevanju nerazredčenega reagenta sperite odtočne cevi z vodo. Odstranjevanje natrijevega azida mora biti skladno z ustreznimi lokalnimi predpisi.

POTREBEN MATERIAL, KI NI PRILOŽEN V KOMPLETU:

- Epruvete za vzorčenje in material, potreben za vzorčenje.
- Samodejne pipete s konicami za enkratno uporabo za 20, 100 in 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizo.
- Reagent za lizo rdečih krvničk z izpiranjem po lizi. Na primer: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagent za fiksacijo levkocitov. Na primer: fiksirna raztopina IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotipska kontrola PE: Reagent IOTest (Ref. A07796).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijev fosfat; 0,145 M natrijev klorid; pH 7,2).
- Centrifugirajte.
- Samodejni stresalnik (za stresanje).
- Pretočni citometer.

POSTOPEK Z REAGENTOM VERSALYSE

Za vsak analizirani vzorec lahko poleg testne epruvete dodamo še kontrolno epruveto, v kateri so celice pomešane v prisotnosti izotipskih kontrol (Ref. A07796).

1. V vsako testno epruveto dodajte 20 µl konjugiranih protiteles IOTest, po potrebi pa 20 µl izotipske kontrole v vsako kontrolno epruveto.
2. V vsako epruveto dodajte 100 µl testnega vzorca. Epruvete nežno stresajte.
3. Inkubirajte ga 15 do 20 minut pri sobni temperaturi (18–25 °C), zaščitenega pred svetlobo.
4. Nato izvedite lizo rdečih celic. Oglejte si brošuro VersaLyse (Ref. A09777) in po možnosti upoštevajte postopek, imenovan »s hkratno fiksacijo«, po katerem je treba dodati 1 ml mešanice »Fix-and-Lyse«, pripravljene sprotno. Takoj stresajte eno sekundo in inkubirajte 10 minut pri sobni temperaturi, zaščiteno pred svetlobo.
5. Centrifugirajte 5 minut pri 150 x g na sobni temperaturi.
6. Supernatant odstranite z aspiracijo.
7. Celično usedlino znova suspendirajte z uporabo 3 ml PBS.
8. Ponovite 5. korak.
9. Supernatant odstranite z aspiracijo in znova suspendirajte celično usedlino z uporabo:

- 0,5 ml ali 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehida, če je pripravke treba hraniti manj kot 24 ur. (0,1-% formaldehid PBS lahko dobimo z redčenjem 12,5 µl fiksirne raztopine IOTest 3 (Ref. A07800) pri njeni 10X koncentraciji v 1 ml PBS).
- 0,5 ml ali 1 ml PBS brez formaldehida, če je pripravke treba analizirati v 2 urah.

Opomba: v vseh primerih pripravke hranite na temperaturi od 2 do 8 °C in zaščitite pred svetlobo.

PRIČAKOVANE VREDNOSTI

V naših laboratorijih smo z zgoraj opisanim reagentom obdelali vzorce polne krvi 25 na videz zdravih darovalcev. Rezultati, pridobljeni s štetjem pozitivnih dogodkov, ki nas zanimajo v zvezi s tem reagentom, so navedeni v spodnjih preglednicah:

Pozitivna tarča	Številka	Povprečje (%)	SD (SO)	CV (%)
Granulociti	25	98,75	2,26	2,29

Te vrednosti so zgolj reprezentativne. Vsak laboratorij mora določiti lastne pričakovane vrednosti za lokalno populacijo običajnih darovalcev.

USPEŠNOST

Podatke o zmogljivosti pridobimo z zgoraj opisanim postopkom na vzorcih krvi, starih manj kot 24 ur, ki so bili predhodno zbrani v sterilnih epruvetah s soljo EDTA kot antikoagulantom. Analizo se izvede v 2 urah po imunohistokemičnem barvanju.

SPECIFIČNOST

Gen CALLA kodira 100-kD transmembranski glikoprotein tipa II. Zaporedja DNK, povezana s CALLA, najdemo na človeškem kromosomu 3J (10). CALLA, (CD10), je bil opisan kot površinski encim, izražen na zgodnjih limfoidnih progenitorjih in nevtrofilcih, ter identificiran kot cinkova metaloproteaza, nevtralna endopeptidaza 24.11 (NEP, »enkefalinaza«). Znano je, da encim CD10 hidrolizira različne biološko aktivne peptide, vključno z met-enkefalinom, formilmetionil-levcil-fenilalaninom (f-MLP) in snovjo P, ki sodelujejo v procesu diferenciacije in zorenja celic.

Monoklonsko protitelo ALB1 so preučevali med 1. HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (delavnica HLDA o antigenih za diferenciacijo človeških levkocitov), ki je potekala v Parizu v Franciji leta 1982 (11).

NATANČNOST

Odstotke pozitivnih vrednosti smo določili z uporabo polne krvi. Vsak vzorec je bil obravnavan 4-krat, dvakrat dnevno 1 dan na 2 napravah z uporabo 2 serij reagentov z monoklonskimi protitelesi CD10-PE. Meritve (% pozitivnih) so bile opravljene na pretočnem citometru Navios. Analiza je bila izvedena na podlagi metode CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vrednotenje natančnosti kvantitativnih merilnih metod).

Naša merila sprejemljivosti so odvisna od števila pozitivnih dogodkov, izmerjenih za vsako populacijo:

- Če je pozitiven dogodek < 1.500, je CV < 15 %
- Če je pozitiven dogodek > 1.500, je CV < 10 %

Granulociti							
Število pozitivnih dogodkov (povprečje) = 6080							
	Med upravljavci	Med citometri	Znotraj serije	Med serijami	Med postopki	Znotraj postopka	Skupaj
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost CD10-PE smo ocenili s primerjavo rezultatov z referenčnim reagentom kot reagentom s potrjeno skladnostjo na nizu vzorcev polne krvi, obdelane na pretočnem citometru Navios. Odstopanje med testnim in referenčnim reagentom je bilo določeno na podlagi razlike med rezultati testa. Če je odstopanje znotraj dovoljenega območja napake ali vrednost p ne kaže pomembne razlike (> 0,05), se rezultati testov za oba reagenta štejejo za enakovredne.

Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Število darovalcev = 25				
Pozitivna tarča	Povprečje Δ	Δ % celičnega kriterija	vrednost p	REZULTATI
Granulociti	0,16	<5	0,001	PASS

MEJA SLEPEGA VZORCA IN MEJA ZAZNAVANJA

Študija je bila izvedena skladno z metodo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zmogljivosti zaznavanja za merilne postopke v kliničnih laboratorijih). Meja zaznavanja (LOD) je najnižja koncentracija analita, ki jo je mogoče dosledno zaznati. Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Positive Target	Meja slepega vzorca (celic/µl)	Meja zaznavanja (celic/µl)
Granulociti	2	4

OMEJITVE

1. S pretočno citometrijo lahko pride do napačnih rezultatov, če citometer ni bil točno nameščen, če puščanje fluorescence ni bilo ustrezno izravnano in če območja niso bila natančno pozicionirana.
2. Priporočljivo je uporabiti tehniko liziranja RBC s korakom pranja, saj ta reagent ni optimiziran za tehnike liziranja »brez pranja«.
3. Točne in ponovljive rezultate se bo doseglo, če se bo uporabilo postopke, ki so skladni s priloženim tehničnim listom in z načeli dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugirano protitelo tega reagenta je umerjeno, tako da zagotavlja najboljše razmerje med specifičnim/nespecifičnim signalnim razmerjem. Zato je pomembno, da pri vsakem testu upoštevamo razmerje med količino reagenta/količino vzorca.
5. V primeru hiperlevkocitoze razredčite kri v PBS, da se tako dobi vrednost približno 5 x 10^9 levkocitov/l (12).
6. Pri nekaterih bolezenskih stanjih, kot je huda ledvična odpoved ali hemoglobinopatije, je lahko liza rdečih krvničk počasna, nepopolna ali celo nemogoča. V tem primeru je priporočljivo izolirati mononuklearne celice z uporabo gradienta gostote (na primer Ficoll) pred barvanjem (13).
7. Pri bolnikih, ki se zdravijo s terapijo z antihumanimi monoklonskimi protitelesi, je lahko odkrivanje specifičnih ciljnih antigenov zmanjšano ali pa ga sploh ni zaradi delnega ali popolnega blokiranja s strani terapevtskega protitelesa.

8. Rezultate CD10-PE je treba razlagati v luči celotne klinične slike bolnika, vključno s: simptomi, anamnezo, podatki dodatnih testov in drugimi ustreznimi podatki.

Primere in reference si oglejte v prilogi.

BLAGOVNE ZNAMKE

Beckman Coulter, stiliziran logotip ter znamke izdelkov in storitev podjetja Beckman Coulter, omenjene v tem dokumentu, so blagovne znamke ali registrirane blagovne znamke podjetja Beckman Coulter, Inc. v Združenih državah Amerike in drugih državah.

DRUGI PODATKI

Za bolnike/uporabnike/tretje osebe v Evropski uniji in v državah z enakim regulativnim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskih pripomočkih za in vitro diagnostiko): če med uporabo tega pripomočka ali kot rezultat njegove uporabe pride do resnega incidenta, o tem poročajte proizvajalcu in/ali njegovemu pooblaščenemu predstavniku in svojemu nacionalnemu organu.

Summary of Safety and Performance (Povzetek o varnosti in zmogljivosti) je na voljo v bazi podatkov EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ZGODOVINA REVIZIJ

REVIDIRANA IZDAJA AE:	Datum izdaje: September 2019

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AW	Februar 2022
Posodobitve za skladnost z globalno politiko označevanja Beckman Coulter in v skladu z zahtevami IVD-R (EU) 2017/746:	
Dodana poglavja	Številka BSI 2797, predvideni uporabnik, klinični pomen, koncentracija, točnost, natančnost, meja slepega vzorca in meja zaznavanja, dodatne informacije, zgodovina revizij.
Dodatne informacije	Oglejte si poglavja Omejitve
Izrazne ali tipografske posodobitve	Oglejte si poglavja Postopek, Zmogljivost, Omejitve, Opozorila in previdnostni ukrepi, Shranjevanje in stabilnost, Potreben material, ki ni priložen v kompletu.
Odstranjena poglavja	Primer klinične uporabe, reagenti, ponovljivost znotraj laboratorija, linearnost
Posodobljena poglavja	Predvidena uporaba, Klasifikacija nevarnosti po GHS, Dokaz o poslabšanju stanja, Postopek, Priloga.

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AX	Junij 2022
Dodatne informacije	Dodajte nov jezik – kazaščina

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AY	April 2023
Posodobljena poglavja	Shranjevanje in stabilnost

Revidirana različica	AZ
Revidiran datum	Maj 2024
Posodobljeni prevodi	**Klinični pomen:**
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Revidirana različica	BA
Revidiran datum	Julij 2024
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Seznam simbolov

Glosar simbolov je na voljo na beckman.com/techdocs (številka dokumenta B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD10
Klon	ALB1
Hibridom	NS1 x balb/c
Imunogen	Human leukaemic cells
Imunoglobulin	IgG1
Vrste	Miš
Prečišćavanje	Afinitetna hromatografija
Fluorohrom	R Phycoerythrin (PE)
Molarni odnos	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisije	575 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Konjugovano antitelo CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 ml, 20 µl/testu

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu

NAMENA

Ovo fluorohromno-konjugovano antitelo omogućava kvalitativnu i neautomatizovanu identifikaciju ćelijskih populacija koje eksprimiraju CD10 antigen prisutnih u humanim biološkim uzorcima pomoću protočne citometrije (pogledati odeljak „Uzorci“ u nastavku).

PRINCIP

Ovaj test se zasniva na sposobnosti određenih monoklonskih antitela da se vežu za antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično bojenje leukocita se obavlja inkubiranjem uzorka sa reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utiče, analiziraju se protočnom citometrijom.

Protočni citometar meri difuziju svetlosti i fluorescenciju ćelija. On omogućava razgraničenje populacije od interesa u okviru elektronskog prozora definisanog na histogramu, što je u korelaciji sa ortogonalnom difuzijom svetlosti (bočno rasejanje ili SS) i difuzijom uskougaone svetlosti (prednje rasejanje ili FS). Drugi histogrami koji kombinuju dva različita parametra koja postoje na citometru mogu se koristiti kao podrška u fazi regulacije, u zavisnosti od primene koju je korisnik odabrao.

Fluorescencija ograničenih ćelija se analizira kako bi se razlikovali pozitivno obojeni događaji od neobojenih događaja. Rezultati su prikazani kao procenat pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobijene regulacijom.

PREDVIĐENI KORISNIK

Ovaj proizvod je namenjen za upotrebu od strane laboratorijskih stručnjaka.

KLINIČKI ZNAČAJ

CD10-PE predstavlja CD10 antitelo korišćeno za identifikovanje i karakterizaciju ćelija koje eksprimiraju CD10 antigen pomoću protočne citometrije. Ovaj proizvod sam po sebi ne može da se koristi i nije namenjen za donošenje bilo kog dijagnostičkog zaključka.

Kada se koristi u kombinaciji sa drugim markerima, ovaj proizvod može da se koristi kod jedne ili više od sledećih funkcija:

- Kao pomoć u diferencijalnoj dijagnozi kod hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu i za nadgledanje pacijenata sa poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć u prognozi za pacijente koji imaju hematopoetsku neoplazmu.

Pogledajte sledeće reference:

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

UZORCI

Uzorci iz venske krvi moraju se uzimati sterilnim epruvetama koje sadrže EDTA so kao antikoagulans.

Uzorke treba čuvati na sobnoj temperaturi (18–25°C) i ne tresti. Uzorke treba pre uzimanja uzorka za testiranje homogenizovati blagim mešanjem.

Uzorci se moraju analizirati u roku od 24 sati od venepunkcije.

KONCENTRACIJA

Pogledajte dokument „Certificate of Analysis“ (Sertifikat analize) za određeni lot na veb-sajtu www.beckman.com.

UPOZORENJE I MERE OPREZA

1. Ne koristite reagense nakon isteka roka trajanja.
2. Ne zamrzavajte.
3. Pre upotrebe sačekajte da se približi sobnoj temperaturi (18–25°C).
4. Izbegavati izloženost svetlosti.
5. Sprečite mikrobsku kontaminaciju reagenasa ili se mogu javiti netačni rezultati.
6. Rastvorima antitela koji sadrže natrijum azid (NaN_3) treba pažljivo rukovati. Ne uzimajte interno i izbegavajte svaki dodir sa kožom, sluzokožom i očima.

Pored toga, u kiseloj sredini, natrijum azid može formirati potencijalno opasnu hidrazoinsku kiselinu. Ako je potrebno da se odloži u otpad, preporučuje se da se reagens razblaži u velikoj zapremini vode pre sipanja u sistem kanalizacije kako bi se izbeglo taloženje natrijum azida u metalnim cevima i sprečila opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno infektivnim i njima se mora pažljivo rukovati (posebno: nošenje zaštitnih rukavica, odeće i zaštitnih naočara).
8. Nikada ne pipetirajte ustima i izbegavajte svaki kontakt uzoraka sa kožom, sluzokožom i očima.
9. Epruvete za uzorak krvi i potrošni materijal koji je korišćen za rukovanje treba odložiti u ad hoc kontejnere predviđene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad treba ukloniti prema lokalnim zahtevima.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno

SDS Dokument „Bezbednosni list“ dostupan je na internet stranici beckmancoulter.com/techdocs

SKLADIŠTENJE I STABILNOST

Ovaj reagens se mora čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C i zaštićen od svetlosti, pre i posle otvaranja bočice.

Ispitivanje roka trajanja zatvorene bočice u odnosu na stabilnost: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dan(a).

DOKAZI POGORŠANJA

Bilo koja promena u fizičkom izgledu reagensa može ukazivati na pogoršanje i reagens ne treba koristiti.

Za dodatne informacije ili ako dobijete oštećen proizvod, pozovite korisnički servis kompanije Beckman Coulter na broj 800-742-2345 (SAD ili Kanada) ili pozovite svog lokalnog predstavnika kompanije Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans sa natrijum azidom može formirati eksplozivna jedinjenja u metalnim odvodnim vodovima. Pogledajte „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (16.8.76.) (Bilten Nacionalnog instituta za bezbednost i zdravlje na radu: Opasnost od eksplozivnih azida).
Da biste sprečili moguće taloženje jedinjenja azida, isperite cevi za otpad vodom nakon odlaganja u otpad nerazblaženog reagensa. Odlaganje u otpad natrijum azida mora biti u skladu sa odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI SE NE ISPORUČUJU UZ KOMPLET:

- Epruvete za uzorkovanje i materijal potreban za uzorkovanje.
- Automatske pipete sa nastavcima za jednokratnu upotrebu za 20 100 µl i 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizu.
- Reagens za liziranje eritrocita sa fazom ispiranja nakon liziranja. Na primer: VersaLyse (referentni broj A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primer: IOTest 3 fiksativni rastvor (referentni broj A07800).
- Izotipska kontrola PE: IOTest reagens (referentni broj A07796).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijum-fosfat; 0,145 M natrijum-hlorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska mešalica (vrtložnog tipa).
- Protočni citometar.

POSTUPAK SA VERSALYSE REAGENSOM

Za svaki analiziran uzorak je pored epruvete za uzorak moguće dodati i jednu kontrolnu epruvetu u kojoj se ćelije mešaju u prisustvu izotipske kontrole (referentni broj A07796).

1. Dodajte 20 µl specifičnog IOTest konjugovanog antitela u svaku epruvetu za uzorak i, ako je to potrebno, 20 µl kontrole izotipa u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µl uzorka za testiranje u svaku epruvetu za uzorak. Pažljivo izmešajte epruvete u vrtložnoj mešalici.
3. Inkubirajte 15 do 20 minuta na sobnoj temperaturi (18–25°C), zaštićeno od svetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje crvenih ćelija. Pogledajte VersaLyse (referentni broj A09777) letak i poželjno pratite postupak pod nazivom „sa istovremenom fiksacijom“, koji se sastoji od dodavanja 1 ml nezavisno pripremljene smeše za fiksiranje i liziranje („Fix-and-Lyse“). Odmah izmešajte u vrtložnoj mešalici jednu sekundu i inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi, zaštićeno od svetlosti.
5. Centrifugirajte 5 minuta na 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Ponovo suspendujte talog ćelija u 3 ml PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Aspiracijom uklonite supernatant i ponovo suspendujte talog ćelija u:

- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a plus 0,1% formaldehida ako će se preparati čuvati kraće od ovog broja sati: 24. (PBS sa 0,1% formaldehida može se dobiti razblaživanjem 12,5 µl IOTest 3 rastvora za fiksiranje (referentni broj A07800) u 10X koncentraciji u 1 ml PBS-a).
- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a bez formaldehida ako će se preparati analizirati u roku od ovog broja sati – 2.

Napomena: U svim slučajevima preparate čuvajte na temperaturi između 2°C i 8°C i zaštićene od svetlosti.

OČEKIVANE VREDNOSTI

U našim laboratorijama, uzorci pune krvi 25 očigledno zdravih donora tretirani su pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati dobijeni za broj pozitivnih događaja od interesa sa ovim reagensom navedeni su u tabeli u nastavku:

Pozitivan cilj	Broj	Srednja vrednost (%)	SD	CV (%)
Granulociti	25	98,75	2,26	2,29

Ove vrednosti treba da služe samo kao reprezentativne vrednosti. Svaka laboratorija treba da uspostavi sopstvene očekivane vrednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o delovanju dobijeni su pomoću prethodno opisanog postupka na manje od 24 sata starim uzorcima krvi koji su prethodno prikupljeni sterilnim epruvetama za uzorke sa EDTA solju kao antikoagulansom. Analiza se vrši u roku od 2 sata od imunobojenja.

SPECIFIČNOST

CALLA gen kodira transmembranski glikoprotein tipa II od 100 kD. DNK sekvence povezane sa CALLA nalaze se na ljudskom hromozomu 3J (10). CALLA, (CD10), je opisan kao površinski enzim izražen na ranim limfoidnim progenitorima i neutrofilima i identifikovan kao cink metaloproteaza, neutralna endopeptidaza 24.11 (NEP, „enkefalinaza“). Poznato je da CD10 enzim hidrolizuje različite biološki aktivne peptide, uključujući met-enkefalin, formil-met-leu-fe (f-MLP) i supstancu P, koji su uključeni u proces diferencijacije i maturacije ćelije.

Monoklonalno antitelo ALB1 je proučavano tokom radionice „1st HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens“ (Prva HLDA konferencija o ljudskim antigenima leukocitne diferencijacije), koja je održana u Parizu, u Francuskoj, 1982. godine (11).

PRECIZNOST

Procenat pozitivnih vrednosti utvrđen je pomoću pune krvi. Svaki uzorak je analiziran 4 puta, dva puta dnevno tokom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagenasa monoklonskog antitela CD10-PE. Merenja (% pozitivnog) su izvršena na Navios protočnom citometru. Analiza je obavljena na osnovu CLSI metoda EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procena preciznosti učinka kvantitativnih metoda merenja).

Naši kriterijumi prihvatljivosti zavise od broja pozitivnih događaja izmerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivan događaj <1.500, CV <15%
- Ako je pozitivan događaj >1.500, CV <10%

Granulociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrednost) = 6080							
	Između više operatera	Između više citometara	Unutar jednog lota	Između više lotova	Između više analiziranja	Unutar jednog analiziranja	Ukupno
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TAČNOST

Tačnost testa CD10-PE procenjena je poređenjem rezultata sa referentnim reagensom kao osnovom na kompletu uzoraka pune krvi analiziranim na Navios protočnom citometru. Odstupanje između testa i referentnog reagensa određeno je na osnovu razlike između rezultata testova. Ako je odstupanje u okviru dozvoljenog opsega greške ili p-vrednost ne ukazuje na značajnu razliku (>0,05), rezultati testova za ova dva reagensa se smatraju ekvivalentnim.

Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivan cilj	Srednja vrednost Δ	Δ % ćelijskih kriterijuma	p-vrednost	REZULTATI
Granulociti	0,16	<5	0,001	PASS

LIMIT SLEPE PROBE I LIMIT DETEKCIJE

Izvršeno je ispitivanje u skladu s protokolom CLSI EP17-A2, „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Procena sposobnosti detekcije za postupke merenja u kliničkoj laboratoriji). Limit detekcije (LoD) je najniža koncentracija analita koja se može dosledno detektovati. Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli:

Positive Target	Limit slepe probe (ćelija/µl)	Limit detekcije (ćelija/µl)
Granulociti	2	4

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti netačne rezultate ako citometar nije pravilno postavljen, ako fluorescentna curenja nisu ispravno kompenzirana ili ako regioni nisu pažljivo postavljeni.
2. Poželjno je koristiti tehniku liziranja RBC sa korakom ispiranja jer ovaj reagens nije optimizovan za tehnike liziranja „bez pranja“.
3. Tačni i ponovljivi rezultati će se dobijati sve dok su korišćeni postupci u skladu sa listom sa tehničkim podacima i postupci kompatibilni sa smernicama dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugovano antitelo ovog reagensa je kalibrisano tako da ponudi najbolji odnos specifičnog i nespecifičnog signala. Prema tome, važno je u svakom testu koristiti utvrđeni odnos zapremine reagensa i zapremine uzorka.
5. U slučaju hiperleukocitoze, razredite krv u PBS-u kako biste dobili vrednost od približno 5 x 10^9 leukocita/l (12).
6. U određenim stanjima bolesti, kao što su teška bubrežna insuficijencija ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak nemoguće. U tom slučaju se pre bojenja preporučuje izoliranje mononuklearnih ćelija upotrebom gradijenta gustine (na primer, fikol) (13).
7. Kod pacijenata lečenih terapijama antihumanim monoklonskim antitelima, detekcija specifičnih ciljanih antigena može biti umanjena ili odsutna usled delimične ili potpune blokade od strane terapijskog antitela.

8. Rezultate CD10-PE testa treba tumačiti u svetlu celokupne kliničke slike pacijenta, uključujući: simptome, kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i druge prikladne informacije.

Za primere i referentne materijale pogledati Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizovani logotip i Beckman Coulter robni i servisni žigovi koji se navode u ovom dokumentu jesu žigovi ili registrovani žigovi kompanije Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim zemljama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta/korisnika/treću stranu u Evropskoj uniji i zemljama sa identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o in vitro dijagnostičkim medicinskim sredstvima); ako je tokom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe došlo do ozbiljnog incidenta, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlašćenom predstavniku i svom nacionalnom organu.

Dokument Summary of Safety and Performance (Sažetak informacija o bezbednosti i učinku) dostupan je u EUDAMED bazi podataka: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORIJA REVIZIJA

REVIZIJA AE:	Datum izdavanja: Septembar, 2019.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AW	Februar 2022.
Ažurirano radi usklađenosti sa smernicama za globalno obeležavanje kompanije Beckman Coulter u skladu sa zahtevima IVD-R (EU)2017/746:	
Dodati odeljci	BSI 2797 broj, Predviđeni korisnik, Klinički značaj, Koncentracija, Preciznost, Tačnost, Limit slepe probe i limit detekcije, Dodatne informacije, Istorija revizija.
Dodate informacije	Pogledati odeljke Ograničenja
Ažuriranje formulacija ili tipografije	Pogledati odeljke Postupak, Učinak, Ograničenja, Upozorenja i mere opreza, Čuvanje i stabilnost, Neophodni materijali koji nisu isporučeni uz komplet.
Uklonjeni odeljci	Primeri kliničkih primena, Reagensi, Intralaboratorijska reproducibilnost, Linearnost
Dopunjeni odeljci	Namena, GHS klasifikacija opasnosti, Dokaz propadanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AX	Jun 2022.
Dodate informacije	Dodati novi jezik - kazaški

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AY	April 2023
Dopunjeni odeljci	Skladištenje i stabilnost

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Maj 2024
Ažurirani prevodi	**Klinički značaj:**
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Revidirana verzija	BA
Datum revizije	Jul 2024
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Ključ za simbole

Rečnik simbola je dostupan na adresi beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Specifikācijas
Specifika	CD10
Klons	ALB1
Hibridoma	NS1 x balb/c
Imunogēns	Human leukaemic cells
Imūnglobulīns	IgG1
Suga	Pele
Attīrīšana	Radniecības noteikšanas hromatogrāfija
Fluorohroms	R Phycoerythrin (PE)
Molārā attiecība	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ierosme	488 nm
Izstarojuma lielākā vērtība	575 nm
Buferšķīdums	PBS pH 7,2 ar 2 mg/ml BSA un 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugētā antiviela
CD10-PE

REF A07760 100 testi; 2 ml, 20 µl uz testu

***In vitro* diagnostikas lietošanai**

PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

Ar fluorohromu konjugētā antiviela nodrošina tādu šūnu populāciju kvalitatīvo un neautomatizēto noteikšanu, kam ir CD10 antigēna ekspresija un kas ir cilvēka bioloģiskajos paraugos, izmantojot plūsmas citometriju (skatīt tālāk sadaļu „Paraugi").

PRINCIPS

Šī testa pamatā ir specifisku monoklonālu antivielu spēja saistīties ar leikocītu izdalītām antigēnu determinantēm.

Leikocītu specifiskā iekrāsošana tiek veikta, inkubējot paraugu ar IOTest reaģentu. Pēc tam eritrocīti tiek atdalīti lizēšanas procesā, un leikocīti, ko šis process neietekmē, tiek analizēti, izmantojot plūsmas citometriju.

Plūsmas citometrs mēra gaismas difūziju un šūnu fluorescenci. Tādēļ ir iespējama interesējošās populācijas ierobežošana elektroniskajā logā, kas definēts histogrammā, kas korelē ar gaismas ortogonālo difūziju (sānu izkliede jeb SS) un šaurleņķa gaismas difūziju (priekšējā izkliede jeb FS). Kā papildu metodes sinhronizācijas procesā iespējams izmantot citas histogrammas, kurās iespējams kombinēt divus dažādus citometrā pieejamos parametrus atkarībā no lietotāja izvēlētā izmantojuma.

Tiek analizēta atdalīto šūnu fluorescence, lai atšķirtu pozitīvi iekrāsotos notikumus no neiekrāsotajiem. Rezultāti tiek izteikti kā procentuālais lielums no pozitīviem notikumiem attiecībā pret visiem notikumiem, kas iegūti selekcijā.

PAREDZĒTAIS LIETOTĀJS

Šis produkts ir paredzēts profesionālai lietošanai laboratorijā.

KLĪNISKAIS NOZĪMĪGUMS

CD10-PE ir CD10 antiviela, ko izmanto, lai ar plūsmas citometriju noteiktu un raksturotu šūnas, kas ekspresē CD10 antigēnu. Ar vienu pašu šo izstrādājumu nevar iegūt nekādu diagnostisku secinājumu, un tas nav tam paredzēts.

Izmantojot kopā ar citiem marķieriem, šo izstrādājumu var lietot vienai vai vairākām tālāk norādītajām funkcijām.

- Lai palīdzētu veikt diferenciāldiagnostiku pacientiem ar hematoloģiskām patoloģijām, kuriem, iespējams, ir asinsrades neoplazma, un lai kontrolētu pacientus ar zināmu asinsrades neoplazmu.
- Lai palīdzētu noteikt prognozi pacientiem ar asinsrades neoplazmu.

Skatiet tālāk sniegtās atsauces.

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

PARAUGI

Venozās asinis jāņem, izmantojot sterilas mēģenes, kurās kā antikoagulants ir izmantots EDTA sāls.

Paraugi ir jāuzglabā istabas temperatūrā (18–25 °C), un tos nedrīkst sakratīt. Pirms testa parauga ņemšanas ir jāveic paraugu homogenizācija, viegli saskalojot paraugus.

Paraugu analīze ir jāveic 24 stundu laikā pēc vēnas punkcijas.

KONCENTRĀCIJA

Konkrētai partijai atbilstošo analīzes sertifikātu skatiet vietnē www.beckman.com.

BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

1. Neizmantojiet reaģentu pēc derīguma termiņa beigām.
2. Nedrīkst sasaldēt.
3. Pirms izmantošanas ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai (18–25 °C).
4. Minimizējiet ekspozīciju gaismas iedarbībai.
5. Izvairieties no reaģentu bakteriālas kontaminācijas, jo iespējami viltus rezultāti.
6. Strādājot ar antivielu šķīdumiem, kuru sastāvā ir nātrija azīds (NaN_3), jāievēro piesardzība. Neizmantojiet iekšķīgi un nepieļaujiet saskari ar ādu, gļotādu un acīm.

   Turklāt skābā vidē nātrija azīds var radīt potenciāli bīstamo hidrazoīdskābi. Ja to nepieciešams izmest, reaģentu ieteicams šķīdināt lielā daudzumā ūdens un izliet to kanalizācijas sistēmā, lai novērstu nātrija azīda uzkrāšanos metāla caurulēs un novērstu sprādziena risku.

7. Visi asins paraugi ir jāuzskata par potenciāli infekcioziem, un ar tiem jārīkojas, ievērojot piesardzību (respektīvi, jāvalkā aizsargcimdi, aizsargtērpi un brilles).
8. Nekādā gadījumā neizmantojiet muti, lai darbotos ar pipeti. Paraugi nekādā gadījumā nedrīkst saskarties ar ādu, gļotādu un acīm.
9. Darbā izmantotās asiņu mēģenes un vienreizlietojamie materiāli ir jāizmet ad hoc konteineros, kas paredzēti sadedzināšanai.
10. Ir jāveic reaģentu un atkritumu utilizācija atbilstoši vietējām prasībām.

ĶĪMISKO VIELU KLASIFICĒŠANAS UN MARĶĒŠANAS VISPĀRĒJI SASKAŅOTĀS SISTĒMAS BĪSTAMĪBAS KLASIFIKĀCIJA

Nav klasificēts kā bīstams

SDS Drošības datu lapa ir pieejama vietnē beckmancoulter.com/techdocs

GLABĀŠANA UN STABILITĀTE

Reaģents ir jāuzglabā 2–8 °C temperatūrā un jāsargā no gaismas pirms un pēc flakona atvēršanas.

Aizvērta flakona glabāšanas laiks saskaņā ar stabilitātes pētījumu: 1095 dienas.

Atvērta flakona stabilitāte: reaģents ir stabils 180 dienas.

SADALĪŠANĀS PAZĪMES

Jebkuras reaģentu pazīmju izmaiņas var norādīt, ka reaģents sadalās un to nedrīkst izmantot.

Lai iegūtu papildu informāciju vai arī ja saņemtais izstrādājums ir bojāts, zvaniet Beckman Coulter klientu servisam pa tālruni 800-742-2345 (ASV vai Kanāda) vai sazinieties ar vietējo Beckman Coulter pārstāvi.

SATURS

Nātrija azīda konservants var izveidot sprādzienbīstamus savienojumus metāla notekcaurulēs. Skatīt NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (NIOSH biļetens: Azīdu sprādzienbīstamība) (16.8.76.).
Lai nepieļautu iespējamo azīda savienojumu uzkrāšanos, pēc neatšķaidītā reaģenta izmešanas izskalojiet kanalizācijas caurules ar ūdeni. Nātrija azīda izmešana ir jāveic saskaņā ar atbilstošajiem vietējiem noteikumiem.

NEPIECIEŠAMIE MATERIĀLI, KAS NEIETILPST KOMPLEKTĀ

- Paraugu ņemšanai nepieciešamās mēģenes un materiāli.
- Automātiskās pipetes ar vienreizlietojamiem uzgaļiem, kas paredzētas 20, 100 un 500 µl.
- Plastmasas hemolīzes mēģenes.
- Eritrocītu lizēšanas reaģents ar mazgāšanas fāzi pēc lizēšanas. Piemērs: VersaLyse (ats. A09777).
- Leikocītu fiksācijas reaģents. Piemērs: IOTest 3 fiksatīvais šķīdums (ats. A07800).
- Izotipa kontrole PE: IOTest reaģents (ats. A07796).
- Buferšķīdums (PBS: 0,01 M nātrija fosfāta; 0,145 M nātrija hlorīda; pH 7,2).
- Centrifugējiet.
- Automātisks maisītājs (samaisīšanas tipa).
- Plūsmas citometrs.

PROCEDŪRA AR REAĢENTU VERSALYSE

Katram analizētajam paraugam papildus testa mēģenei var izmantot vienu kontroles mēģeni, kurā šūnas tiek sajauktas izotipu kontroles klātbūtnē (ats. A07796).

1. Katrai testa mēģenei pievienojiet 20 µl specifiskas IOTest konjugētas antivielas un, ja nepieciešams, katrai kontroles mēģenei pievienojiet 20 µl izotipa kontroles.
2. Pievienojiet 100 µl testa parauga katrai mēģenei. Saudzīgi samaisiet mēģenes.
3. Inkubējiet 15–20 minūtes istabas temperatūrā (18–25 °C), sargājot no gaismas.
4. Pēc tam veiciet eritrocītu lizēšanu. Skatiet VersaLyse (ats. A09777) lietošanas instrukciju, un ir vēlams izmantot procedūru ar nosaukumu „ar vienlaicīgu fiksāciju", kas tiek veikta, pievienojot 1 ml ekstemporāli izgatavota „Fix-and-Lyse" maisījuma. Nekavējoties samaisiet uz vienu sekundi un inkubējiet mēģeni 10 minūtes istabas temperatūrā, sargājot to no gaismas iedarbības.
5. Centrifugējiet 5 minūtes istabas temperatūrā, izmantojot 150 x g.
6. Aspirējot noņemiet virsējo slāni.
7. Atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu ar 3 ml PBS.
8. Atkārtojiet 5. darbību.
9. Aspirējot noņemiet virsējo slāni un atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu, izmantojot:

- 0,5 ml vai 1 ml PBS ar 0,1 % formaldehīda, ja preparātus ir paredzēts uzglabāt mazāk nekā 24 stundas. (0,1 % formaldehīda PBS var iegūt, atšķaidot 12,5 µl IOTest 3 fiksācijas šķīduma (ats. A07800) 10X koncentrācijā ar 1 ml PBS).
- 0,5 ml vai 1 ml PBS bez formaldehīda, ja ir paredzēts analizēt sagataves 2 stundu laikā.

Piezīme. Sagatavotos maisījums vienmēr uzglabājiet 2–8 °C temperatūrā un sargājiet no gaismas.

PAREDZAMĀS VĒRTĪBAS

Mūsu laboratorijās tika apstrādāti 25 acīmredzami veselu donoru pilnasins paraugi, izmantojot iepriekš aprakstīto reaģentu. Ar šo reaģentu iegūtie interesējošo pozitīvo notikumu rezultāti skaitliskā veidā ir sniegti tālāk tabulā.

Pozitīvais mērķis	Numurs	Aritmētiskais vidējais (%)	SN	Variācijas koeficients (%)
Granulocīti	25	98,75	2,26	2,29

Šīm vērtībām ir tikai raksturojošs nolūks. Katrai laboratorijai jānosaka savas paredzamās vērtības, kas iegūtas no veseliem vietējās populācijas donoriem.

VEIKTSPĒJA

Veiktspējas dati tiek iegūti, izmantojot iepriekš aprakstīto procedūru mazāk nekā 24 stundu veciem asins paraugiem, kas iepriekš paņemti sterilās mēģenēs ar EDTA sāli kā antikoagulantu. Analīze tiek veikta 2 stundu laikā pēc imūnkrāsošanas metodes izmantošanas.

SPECIFIKA

CALLA gēnā ir iekodēts 100-kD II tipa transmembrānas glikoproteīns. Ar CALLA saistītas DNS virknes ir atrodamas cilvēka hromosomā 3J (10). CALLA (CD10) tika aprakstīts kā virsmas enzīms, ko izdala agrīnie limfas progenitori un neitrofili, un tas ir identificēts kā cinka metālproteāze un neitrāla endopeptidāze 24.11 (NEP, „enkefalināzs"). CD10 enzīms hidrolizē dažādus bioloģiski aktīvus peptīdus, tostarp metenkefalīnu, formilmetionīna leicilfenilalanīnu (f-MLP) un substanci P, kas ir iesaistīti šūnu diferenciācijas un nobriešanas procesā.

Monoklonālā antiviela ALB1 tika pētīta pasākumā 1st HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (1. HLDA darbnīca saistībā ar cilvēku leikocītu diferencēšanas antivielām), kas notika Parīzē, Francijā, 1982. gadā (11).

PRECIZITĀTE

Procentuāli pozitīvās vērtības tika noteiktas, izmantojot pilnasinis. Katru paraugu analizēja 4 reizes: divreiz dienā 1 dienu 2 instrumentos, izmantojot 2 partijas CD10-PE monoklonālu antivielu reaģentu. Mērījumus (% pozitīvs) veica Navios plūsmas citometrā. Analīzi veica, pamatojoties uz CLSI metodi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatīvo mērīšanas metožu precizitātes veiktspējas novērtēšana).

Mūsu pieņemšanas kritēriji ir atkarīgi no katrai populācijai noteikto pozitīvo notikumu skaita.

- Ja pozitīvs notikums < 1500, variācijas koeficients < 15 %
- Ja pozitīvs notikums > 1500, variācijas koeficients < 10 %

Granulocīti							
Pozitīvo notikumu skaits (aritmētiskais vidējais) = 6080							
	Starp operatoriem	Starp citometriem	Partijā	Starp partijām	Starp analīzēm	Analīzē	Kopā
Variācijas koeficients (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
REZULTĀTI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRECIZITĀTE

CD10-PE precizitāti novērtēja, pilnasins paraugu kopas, kas analizēti Navios plūsmas citometrā, rezultātus salīdzinot ar atsauces reaģentu kā predikātu. Novirzi starp testa un atsauces reaģentu noteica, pamatojoties uz testu rezultātu atšķirību. Ja novirze atbilst pieļaujamajam kļūdas diapazonam vai p vērtība neliecina par nozīmīgu atšķirību (> 0,05), tad abu reaģentu testu rezultāti uzskatāmi par līdzvērtīgiem.

Iegūtie rezultāti ir apkopoti nākamajā tabulā.

Donoru skaits = 25				
Pozitīvais mērķis	Aritmētiskais vidējais Δ	Δ % šūnu kritēriji	p vērtība	REZULTĀTI
Granulocīti	0,16	<5	0,001	PASS

TUKŠO PARAUGU ROBEŽVĒRTĪBA UN NOTEIKŠANAS ROBEŽVERTĪBA

Pētījums tika veikts saskaņā ar CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klīniskās laboratorijas mērījumu procedūru noteikšanas spēju izvērtējums). Noteikšanas robežvērtība (NR) ir zemākā analīta koncentrācija, ko iespējams konsekventi noteikt. Iegūtie rezultāti ir apkopoti tālāk tabulā.

Positive Target	Tukšo paraugu robežvērtība (šūnas/µl)	Noteikšanas robežvērtība (šūnas/µl)
Granulocīti	2	4

IEROBEŽOJUMI

1. Ja citometrs nav novietots precīzi līdzeni, ja nav pareizi kompensētas fluorescences noplūdes un ja reģioni nav uzmanīgi novietoti, plūsmas citometrija var radīt viltus rezultātus.
2. Ir ieteicams izmantot RBC lizēšanas paņēmienu ar mazgāšanas darbību, jo šis reaģents nav optimizēts izmantošanai lizēšanas paņēmienā „bez mazgāšanas".
3. Iegūtie rezultāti ir precīzi un reproducējami, ja visas izmantotās procedūras tiek izpildītas atbilstoši tehniskajai lietošanas instrukcijai un ir saskaņā ar labu laboratorijas praksi.
4. Šī reaģenta konjugētā antiviela ir kalibrēta tā, lai nodrošinātu labāko specifiska signāla/nespecifiska signāla attiecību. Tāpēc ir ļoti svarīgi ievērot reaģenta tilpuma/parauga tilpuma attiecību katrā testā.
5. Hiperleikocitozes gadījumā atšķaidiet asinis ar PBS, lai iegūtā vērtība būtu apmēram 5 x 10^9 leikocīti/l (12).
6. Dažos slimību stāvokļos, piemēram, izteiktas nieru mazspējas vai hemoglobinopātijas gadījumā, eritrocītu lizēšana var būt lēna, nepilnīga vai pat neiespējama. Šajā gadījumā pirms iekrāsošanas ir ieteicams izolēt mononukleārās šūnas, izmantojot blīvuma gradientu (piemēram, Ficoll) (13).
7. Pacientiem, ko ārstē ar anti-cilvēka monoklonālas antivielas līdzekļiem, specifisku mērķa antigēnu noteikšana var būt pasliktināta vai tās var nebūt, jo to daļēji vai pilnībā bloķē terapeitiskā antiviela.
8. CD10-PE rezultāti jāinterpretē, ņemot vērā pacienta kopējo klīnisko prezentāciju, tajā skaitā simptomus, slimības vēsturi, papildu testu rādītājus un citu atbilstošu informāciju.

Pielikumā skatiet piemērus un atsauces.

PREČU ZĪMES

Beckman Coulter, stilizētais logotips un Beckman Coulter preču un pakalpojumu zīmes, kas minētas šeit, ir Beckman Coulter, Inc. preču zīmes vai reģistrētas preču zīmes Amerikas Savienotajās Valstīs un citās valstīs.

PAPILDINFORMĀCIJA

Attiecībā uz pacientiem/lietotājiem/trešajām personām Eiropas Savienībā vai valstīs ar identisku regulatīvo režīmu (Regula (ES) 2017/746 par in vitro diagnostikas medicīniskām ierīcēm); ja ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā rodas nopietns negadījums, informējiet par to ražotāju un/vai tā pilnvaroto pārstāvi, kā arī valsts iestādi.

Summary of Safety and Performance (Drošuma un veiktspējas kopsavilkums) ir pieejams EUDAMED datubāzē: ec.europa.eu/tools/eudamed.

PĀRSKATĪŠANAS VĒSTURE

AE VERSIJA:	Laidiena datums: 2019. gada septembris

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AW	2022. gada februāris
Atjauninājumi atbilst Beckman Coulter vispārējai marķēšanas politikai un IVD-R (ES)2017/746 prasībām:	
Pievienotas iedaļas	BSI 2797 numurs, Paredzētais lietotājs, Klīniskais nozīmīgums, Koncentrācija, Precizitāte, Precizitāte, Tukšo paraugu robežvērtība un noteikšanas robežvērtība, Papildinformācija, Pārskatīšanas vēsture.
Pievienota informācija	Skatīt iedaļas Ierobežojumi.
Formulējuma vai tipogrāfiski atjauninājumi	Skatīt iedaļas Procedūra, Veiktspēja, Ierobežojumi, Brīdinājumi un piesardzības pasākumi, Glabāšana un stabilitāte, Nepieciešamie materiāli, kas neietilpst komplektā.
Izņemtās iedaļas	Klīniskā lietojuma piemērs, reaģenti, reproducējamība laboratorijā, linearitāte.
Atjauninātās sadaļas	Paredzētā lietošana, Ķīmisko vielu klasificēšanas un marķēšanas vispārēji saskaņotās sistēmas bīstamības klasifikācija, Sadalīšanās pazīmes, Procedūra, Pielikums.

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AX	2022. gada jūnijs
Pievienota informācija	Pievienota jauna valoda – Kazahu

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AY	Aprīlis 2023
Atjauninātās sadaļas	Glabāšana un stabilitāte

Pārskatītā versija	AZ
Pārskatītā izdevuma datums	Maijs 2024
Atjauninātie tulkojumi	**Klīniskais nozīmīgums:**
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Pārskatītā versija	BA
Pārskatītā izdevuma datums	Jūlijs 2024
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Simbolu skaidrojumi

Simbolu glosārijs ir pieejams vietnē beckman.com/techdocs (dokumenta numurs B60062)

	Специфікації
Специфічність	CD10
Клон	ALB1
Гібридома	NS1 x balb/c
Імуноген	Human leukaemic cells
Імуноглобулін	IgG1
Вид	Миша
Очищення	Афінна хроматографія
Флуорохром	R Phycoerythrin (PE)
Молярне співвідношення	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-збудження	488 нм
Пік випромінювання	575 нм
Буфер	Розчин ФСБ pH 7,2 плюс бичачий сироватковий альбумін (БСА) 2 мг/мл та 0,1% NaN_3

Кон'юговане антитіло IOTest CD10-PE

REF A07760 100 тестів; 2 мл, 20 мкл/тест

Для діагностики *in vitro*.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Ці антитіла, кон'юговані з флуорохромом, забезпечують якісну та неавтоматизовану ідентифікацію популяцій клітин, що експресують антиген CD10, присутніх у біологічних пробах людини, за допомогою проточної цитометрії (див. розділ «Проби» нижче).

ПРИНЦИП

Цей тест базується на здатності специфічних моноклональних антитіл зв'язуватися з антигенними детермінантами, які експресуються лейкоцитами.

Специфічне забарвлення лейкоцитів здійснюється через інкубацію проби з реагентом IOTest. Еритроцити далі видаляють за допомогою лізису, а лейкоцити, на які не впливає цей процес, досліджують методом проточної цитометрії.

Проточний цитометр вимірює розсіювання світла та флуоресценцію клітин. Це робить можливим розмежування досліджуваної популяції всередині електронного вікна, що визначається на гістограмі, яка співвідносить ортогональне розсіювання світла (бічне розсіювання або Side Scatter — SS) і вузькокутове розсіювання світла (пряме розсіювання або Forward Scatter — FS). Інші гістограми, що поєднують два різні параметри, доступні на цитометрі, можна використовувати для допомоги на етапі гейтингу залежно від програми, вибраної користувачем.

Флуоресценція обмеженої популяції клітин аналізується, щоб розрізнити події з позитивно забарвленими клітинами й незабарвленими. Результати виражаються як відсоток позитивних подій відносно всіх подій, зареєстрованих за допомогою гейтингу.

ПЕРЕДБАЧУВАНИЙ КОРИСТУВАЧ

Цей продукт призначений для професійного використання в лабораторії.

КЛІНІЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ

CD10-PE — це антитіло CD10, яке використовується для ідентифікації та характеристики клітин, що експресують антиген CD10, методом проточної цитометрії. Цей виріб за ізольованого використання не може застосовуватись для генерації жодних діагностичних висновків, він не призначений для цього.

Під час використання разом з іншими маркерами цей продукт можна використовувати в одному або декількох з нижченаведених застосувань.

- Як допоміжний засіб під час проведення диференціальної діагностики в пацієнтів з відхиленнями в результатах гематологічних досліджень із підозрою на наявність гематопоетичного новоутворення, а також для моніторингу пацієнтів з відомим гематопоетичним новоутворенням.
- У якості допоміжного засобу при прогнозуванні подальшого перебігу хвороби у пацієнтів з гематопоетичним новоутворенням.

Див. такі посилання:

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

ПРОБИ

Венозну кров потрібно брати в стерильні пробірки, що містять ангикоагулянт — сіль ЕДТА.

Проби слід зберігати за кімнатної температури (18–25°C), і їх не слід струшувати. Перш ніж узяти пробу для тестування, проби потрібно гомогенізувати за допомогою обережного перемішування.

Проби потрібно проаналізувати не пізніше ніж через 24 години після венепункції.

КОНЦЕНТРАЦІЯ

Див. сертифікат аналізу для серії на вебсайті www.beckman.com.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.
2. Не заморожуйте.
3. Доведіть до кімнатної температури (18–25°C) перед використанням.
4. Зведіть до мінімуму вплив світла.
5. Уникайте мікробної контамінації реагентів, інакше можуть бути отримані помилкові результати.
6. Розчини антитіл, які містять азид натрію (NaN_3), треба обробляти обережно. Не приймайте внутрішньо й уникайте будь-якого контакту зі шкірою, слизовими оболонками та очима.

Крім того, у кислому середовищі азид натрію може утворити потенційно небезпечну азотистоводневу кислоту. Якщо його потрібно утилізувати, рекомендується розвести реагент у великій кількості води перед зливанням у водостічну систему, щоб уникнути накопичення азиду натрію на поверхні металевих труб і запобігти небезпеці вибуху.

7. Усі проби крові слід розглядати як потенційно інфекційні та поводитися з ними обережно (зокрема, використовуючи захисні рукавички, халати й окуляри).
8. У жодному разі не піпетуйте ротом та уникайте потрапляння проб на шкіру, слизові оболонки та в очі.
9. Пробірки для крові та одноразові матеріали, які використовуються для оброблення, слід викидати в спеціальні контейнери, вміст яких призначений для спалювання.
10. Реагенти та відходи потрібно утилізувати відповідно до місцевих вимог.

КЛАСИФІКАЦІЯ НЕБЕЗПЕКИ ЗА СИСТЕМОЮ GHS

Не класифікуються як небезпечні

SDS Паспорт безпеки доступний на сторінці beckmancoulter.com/techdocs

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Цей реагент потрібно зберігати за температури від 2 до 8°C у захищеному від світла місці, як до, так і після відкриття флакона.

Термін придатності вмісту закритого флакону відповідно до дослідження стабільності: 1095 день.

Стабільність після відкриття флакона: реагент стабільний 180 діб.

ОЗНАКИ ПСУВАННЯ

Будь-яка зміна зовнішнього вигляду реагентів може вказувати на псування, і реагент не слід використовувати.

Щоб отримати додаткову інформацію або повідомити про отримання пошкодженого продукту, зателефонуйте до Служби обслуговування клієнтів Beckman Coulter за номером 800-742-2345 (США або Канада) чи зверніться до місцевого представника компанії Beckman Coulter.

ЗМІСТ

Консервант азид натрію може утворювати вибухонебезпечні сполуки в металевих зливних трубопроводах. Див. Бюлетень Національного інституту з охорони праці та промислової гігієни (NIOSH) Explosive Azide Hazard (Вибухонебезпечні азиди) (16.8.76).
Щоб уникнути можливого утворення сполук азиду, промийте зливні труби водою відразу після утилізації нерозведеного реагенту. Реагенти, що містять азид натрію, треба утилізувати з дотриманням відповідних місцевих норм.

ПОТРІБНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ У КОМПЛЕКТ

- Пробірки для проб і матеріали, потрібні для забору проб.
- Автоматичні піпетки з одноразовими наконечниками на 20, 100 і 500 мкл.
- Пластикові пробірки для гемолізу.
- Реагент для лізису еритроцитів з етапом промивання після лізису. Наприклад: VersaLyse (Ref. A09777).
- Реагент для фіксації лейкоцитів. Наприклад: розчин для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ізотипічний контроль PE: реагент IOTest (Ref. A07796).
- Буфер (ФСБ: 0,01 моль фосфату натрію; 0,145 моль хлориду натрію; pH 7,2).
- Центрифугування.
- Автоматичний змішувач (типу вортекс).
- Проточний цитометр.

ПРОЦЕДУРА З РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для кожної аналізованої проби на додачу до тест-пробірки може бути використана одна контрольна пробірка, у якій клітини змішано в присутності ізотипічного контролю (Ref. A07796).

1. Додайте до кожної тестової пробірки 20 мкл специфічних кон'югованих антитіл IOTest, і, якщо потрібно, 20 мкл ізотипічного контролю до кожної контрольної пробірки.
2. Додайте 100 мкл проби для тестування в кожну пробірку. Обережно змішайте вміст пробірок вихровим способом.
3. Витримайте протягом 15–20 хвилин за кімнатної температури (18–25°C) у захищеному від світла місці.
4. Потім виконують лізис еритроцитів. Перегляньте вкладний листок VersaLyse (Ref. A09777) і за можливості дотримуйтеся процедури з одночасною фіксацією, яка полягає в додаванні 1 мл суміші Fix-and-Lyse, приготованої безпосередньо перед використанням. Відразу змішайте вихровим способом упродовж однієї секунди й витримайте протягом 10 хвилин за кімнатної температури в захищеному від світла місці.
5. Центрифугуйте за кімнатної температури протягом 5 хвилин зі швидкістю 150 g.
6. Видаліть надосадову рідину аспіратором.
7. Ресуспендуйте осад клітин у 3 мл ФСБ.
8. Повторіть крок 5.
9. Видаліть надосадову рідину аспіратором і ресуспендуйте осад клітин, використовуючи наведене далі.

- 0,5 мл або 1 мл ФСБ плюс 0,1% формальдегіду, якщо препарати передбачається зберігати менше ніж 24 годин. (Розчин ФСБ, що містить 0,1% формальдегіду, можна отримати за допомогою розведення 12,5 мкл розчину для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800) за його 10-кратної концентрації в 1 мл ФСБ).
- 0,5 мл або 1 мл ФСБ без формальдегіду, якщо препарати будуть аналізувати впродовж наступних 2 годин.

Примітка. У всіх випадках препарати слід зберігати в захищеному від світла місці за температури 2–8°C.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

У наших лабораторіях проби цільної крові 25 практично здорових донорів обробляли з використанням реагенту, описаного вище. Отримані результати підрахунку позитивних подій, які досліджуються, з використанням цього реагенту наведено в таблиці нижче:

Цільова позитивна популяція	Число	Середнє значення (%)	СВ	КВ (%)
Гранулоцити	25	98,75	2,26	2,29

Ці значення призначені лише для репрезентативних цілей. Кожна лабораторія має встановити власний діапазон очікуваних значень серед місцевої популяції здорових донорів.

ЕФЕКТИВНІСТЬ

Робочі показники ефективності отримуються з використанням процедури, описаної вище, на пробах крові, які були відібрані в стерильні пробірки із сіллю ЕДТА як антикоагулянтом, а також зберігалися менше ніж 24 години. Аналіз проводиться впродовж 2 годин після імунного фарбування.

СПЕЦИФІЧНІСТЬ

Ген CALLA кодує трансмембранний глікопротеїн типу II 100-кД. Споріднена з геном CALLA послідовність ДНК розташована у людській хромосомі 3J (10). CALLA (CD10) був описаний як поверхневий фермент, що експресується на ранніх клітинах-попередниках лімфатичних клітин і нейтрофілів та ідентифікувався як металопротеаза цинку, нейтральна ендопептидаза 24.11 (NEP, «енкефаліназа»). Фермент CD10 відомий як такий, що гідролізує деякі біологічно активні пептиди, включаючи мет-енкефалін, форміл-мет-лей-фен (f-MLP), та речовину P, яка бере участь в процесі диференціації та дозрівання клітин.

Моноклональне антитіло ALB1 вивчалось під час 1st HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (1-го семінару із питань антигенів для диференціації лейкоцитів людини), що проходив у Парижі, Франція, в 1982 р. (11).

ПРЕЦИЗІЙНІСТЬ

Процент позитивних значень визначали за допомогою цільної крові. Кожну пробу обробляли 4 рази, двічі на добу впродовж 1 доби на 2 приладах, використовуючи 2 серії реагентів моноклональних антитіл CD10-PE. Вимірювання (% позитивних значень) виконували на проточному цитометрі Navios. Аналіз проводили на основі методу CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оцінювання прецизійності кількісних методів вимірювання).

Наші критерії прийнятності залежать від кількості позитивних подій, виміряних для кожної популяції.

- Якщо кількість позитивних подій < 1500, КВ < 15%
- Якщо кількість позитивних подій > 1500, КВ < 10%

Гранулоцити							
Кількість позитивних подій (середнє значення) = 6080							
	Між операторами	Між цитометрами	У межах однієї серії	Між серіями	Між серіями вимірювань	У межах однієї серії вимірювань	Усього
КВ (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
РЕЗУЛЬТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНІСТЬ

Точність CD10-PE оцінювали через порівняння результатів з еталонним реагентом як контролем якості для набору проб цільної крові на проточному цитометрі Navios. Систематичну помилку між тестовим та еталонним реагентами визначали на основі різниці між результатами тесту. Якщо систематична помилка знаходиться в межах діапазону допустимої похибки або p-значення вказує на відсутність значущої різниці (> 0,05), тоді результати тесту для двох реагентів вважаються еквівалентними.

Отримані результати підсумовано в таблиці, наведеній нижче.

Кількість донорів = 25				
Цільова позитивна популяція	Середня Δ	Критерії Δ % клітин	p-значення	РЕЗУЛЬТАТИ
Гранулоцити	0,16	<5	0,001	PASS

МЕЖА ХОЛОСТОЇ ПРОБИ Й МЕЖА ВИЯВЛЕННЯ

Дослідження проводилося відповідно до рекомендацій CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оцінювання можливості виявлення для методик клінічних лабораторних вимірювань). Межа виявлення (LOD) — це найнижча концентрація аналіту, яку стабільно можна виявити. Отримані результати підсумовано в наведеній нижче таблиці.

Positive Target	Межа холостої проби (клітин/мкл)	Межа виявлення (клітин/мкл)
Гранулоцити	2	4

ОБМЕЖЕННЯ

1. Результати проточної цитометрії можуть бути помилковими, якщо вказане нижче не було виконано належним чином: вирівняно цитометр, скомпенсовано витік флуоресценції, здійснено позиціонування ділянок.
2. Бажано використовувати метод лізису еритроцитів з етапом промивання, оскільки цей реагент не оптимізовано для методів лізису «без промивання».
3. Буде отримано точні й відтворювані результати, якщо процедури застосовуються відповідно до технічної інструкції, що додається, і стандартів належної лабораторної практики.

4. Кон'юговані антитіла цього реагенту відкалібровано таким чином, щоб забезпечити краще співвідношення специфічного сигналу та неспецифічного сигналу. Тому важливо дотримуватися співвідношення об'єму реагенту та об'єму проби в кожному тесті.
5. У разі гіперлейкоцитозу кров слід розводити у ФСБ так, щоб отримати концентрацію приблизно 5×10^9 лейкоцитів/л (12).
6. У разі деяких захворювань або станів, як-от тяжка ниркова недостатність або гемоглобінопатії, лізис еритроцитів може бути повільним, неповним або навіть неможливим. У цьому разі рекомендується виділяти мононуклеарні клітини за градієнтом щільності (наприклад, з використанням фіколу) перед фарбуванням (13).
7. У пацієнтів, які отримують лікування антилюдськими моноклональними антитілами, виявлення специфічних цільових антигенів може бути зниженим або відсутнім через часткове або повне блокування терапевтичним антитілом.
8. Результати CD10-PE слід інтерпретувати у світлі загальної клінічної картини пацієнта, включно із симптомами, клінічним анамнезом, даними додаткових тестів та іншою відповідною інформацією.

Див. приклади й посилання в додатку.

ТОРГОВЕЛЬНІ МАРКИ

Beckman Coulter, стилізований логотип, товарні знаки й сервісні марки Beckman Coulter, вказані тут, є торговельними марками або зареєстрованими торговельними марками компанії Beckman Coulter, Inc. у Сполучених Штатах Америки й інших країнах.

ДОДАТКОВА ІНФОРМАЦІЯ

Для пацієнта / користувача / третьої сторони в Європейському Союзі та в країнах з ідентичною системою нормативного регулювання (Регламент 2017/746/ЄС про медичні вироби для діагностики in vitro); якщо під час використання цього пристрою або в результаті його використання стався серйозний інцидент, повідомте про це виробнику й (або) його уповноваженому представнику та місцевому національному органу.

The Summary of Safety and Performance (Огляд безпеки та основних характеристик) доступний у базі даних EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ІСТОРІЯ ЗМІН

РЕДАКЦІЯ AE	Дата випуску: вересень 2019 р.

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AW	Лютий 2022 р.
Оновлення мають відповідати Глобальній політиці щодо маркування компанії Beckman Coulter і вимогам IVD-R (ЄС)2017/746:	
Додані розділи	«Номер BSI 2797», «Цільовий користувач», «Клінічна значущість», «Концентрація», «Прецизійність», «Точність», «Межа холостої проби й межа виявлення», «Додаткова інформація», «Історія змін».
Додана інформація	Див. розділ «Обмеження»
Оновлення формулювання або типографічні оновлення	Див. розділи «Процедура», «Робочі показники», «Обмеження», «Попередження та застереження», «Зберігання та стабільність», «Необхідні матеріали, які не поставляються в наборі».
Видалені розділи	«Приклад клінічного застосування», «Реагенти», «Міжлабораторна відтворюваність», «Лінійність»
Оновлені розділи	«Призначення», «Класифікація небезпек GHS», «Ознаки погіршення характеристик», «Процедура», «Додаток».

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AX	Червень 2022 р.
Додана інформація	Додати нову мову — казахська

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AY	Квітень 2023
Оновлені розділи	Зберігання й стабільність

Переглянута версія	AZ
Дата перегляду	Травень 2024
Оновлені переклади	**Клінічна значущість:**
Оновлені розділи	Історія змін

Переглянута версія	BA
Дата перегляду	Липень 2024
Оновлені розділи	Історія змін

Список символів

Глосарій символів доступний на сайті beckman.com/techdocs (документ № B60062)

	Especificações
Especificidade	CD10
Clone	ALB1
Hibridoma	NS1 x balb/c
Imunógeno	Human leukaemic cells
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Camundongo
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	R Phycoerythrin (PE)
Razão molar	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	575 nm
Tampão	PBS com pH de 7,2 mais 2 mg/mL de BSA e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado CD10-PE

REF A07760 100 testes; 2 mL, 20 µL/teste

Para uso em diagnóstico *in vitro*

USO PREVISTO

Esse anticorpo conjugado com fluorocromo permite a identificação qualitativa e não automatizada das populações de células que expressam o antígeno CD10 presente em amostras biológicas humanas utilizando a citometria de fluxo (consulte a seção “Amostras” a seguir).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade que os anticorpos monoclonais específicos têm de se ligarem aos determinantes antigênicos expressos por leucócitos.

A coloração específica de leucócitos é realizada incubando-se a amostra com o reagente IOTest. As hemácias são então removidas por lise e os leucócitos, que não são afetados por esse processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citômetro de fluxo mede a difusão da luz e a fluorescência das células. Ele possibilita a delimitação da população de interesse na janela eletrônica definida por um histograma, que correlaciona a difusão ortogonal da luz (dispersão lateral ou SS) e a difusão da luz em ângulo estreito (dispersão frontal ou FS). Outros histogramas que combinam dois dos diferentes parâmetros disponíveis no citômetro podem ser utilizados como auxílio no estágio de delimitação, dependendo da aplicação escolhida pelo usuário.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são expressos como uma porcentagem dos eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos pela delimitação.

USUÁRIO PREVISTO

Este produto destina-se ao uso laboratorial profissional.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD10-PE é um anticorpo para CD10 usado para identificar e caracterizar, por citometria de fluxo, as células que expressam o antígeno CD10. Este produto por si só não pode e não se destina a originar qualquer conclusão diagnóstica.

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

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com anormalidades hematológicas com suspeita de terem neoplasia hematopoiética e para monitorar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.
- Para auxiliar no prognóstico de pacientes que possuem neoplasia hematopoiética.

Consulte as referências a seguir:

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

AMOSTRAS

Sangue venoso deve ser coletado usando tubos estéreis contendo um sal de EDTA como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas em temperatura ambiente (18-25°C) e não devem ser agitadas. A amostra deve ser homogeneizada por agitação suave antes que a amostra para teste seja retirada.

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

CONCENTRAÇÃO

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

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não use o reagente após o prazo de validade.
2. Não congele.
3. Deixe atingir a temperatura ambiente antes de usar (18-25°C).
4. Minimize a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, pois isso pode gerar falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos contendo azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não utilize internamente e evite o contato com a pele, mucosas e olhos.

Além disso, em um meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazoico potencialmente perigoso. Se precisar descartar essa substância, recomenda-se que o reagente seja diluído em um grande volume de água antes de despejá-lo no sistema de drenagem para evitar o acúmulo de azida sódica nos canos de metal e o risco de explosão.

7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas como potencialmente infecciosas e devem ser manipuladas com cuidado (em particular: uso de luvas, jalecos e óculos de proteção).
8. Nunca coloque a pipeta na boca e evite qualquer contato das amostras com a pele, mucosas e olhos.
9. Os tubos de sangue e o material descartável utilizado para manuseio deve ser descartado em recipientes ad hoc destinados à incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO DO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Folha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido entre 2 e 8°C e protegido da luz, antes e depois do frasco ter sido aberto.

Validade do frasco fechado de acordo com o estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente é estável por 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DETERIORAÇÃO

Qualquer alteração no aspecto físico dos reagentes poderá indicar deterioração e o reagente não deverá ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, entre em contato com o serviço de atendimento ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou entre em contato com o representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em canos de escoamento metálicos. Consulte o Boletim do NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health [Instituto de segurança e saúde ocupacional dos EUA]): Explosive Azide Hazard (Perigos de explosão de azida) (16/8/76).
Para evitar o possível acúmulo de compostos de azida, enxágue os canos de escoamento com água após o descarte do reagente não diluído. O descarte da azida sódica deve ser efetuado de acordo com as normas locais apropriadas.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostra e material necessário para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 20, 100 e 500 µL.
- Tubos plásticos de hemólise.
- Reagente de lise de hemácias com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: Reagente VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: Solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controle do isótipo PE: reagente IOTest (Ref. A07796).
- Tampão (PBS: fosfato de sódio a 0,01 M; cloreto de sódio a 0,145 M; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citômetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM O REAGENTE VERSALYSE

Para cada amostra analisada, além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controle no qual as células são misturadas na presença do controle de isótipo (Ref. A07796).

1. Adicione 20 µL de anticorpo conjugado IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 20 µL do controle do isótipo a cada tubo de controle.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos em temperatura ambiente (18-25°C), protegido da luz.
4. Em seguida, faça a lise das hemácias. Consulte o folheto da VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento chamado “with concomitant fixation (com fixação concomitante)”, que consiste em adicionar 1 mL da mistura de fixação e lise preparada extemporaneamente. Agite em vórtex imediatamente durante um segundo e incube durante 10 minutos em temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue por 5 minutos a 150 x g em temperatura ambiente.
6. Retire o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita a etapa 5.
9. Retire o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular usando:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído, se as preparações forem mantidas por um prazo inferior a 24 horas. (É possível obter uma solução PBS com 0,1% de formaldeído diluindo-se 12,5 µL de Solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na concentração de 10X em 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído, se as preparações forem analisadas dentro de 2 horas.

Nota: Em qualquer dos casos, mantenha as preparações entre 2 e 8°C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Em nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 doadores aparentemente saudáveis foram tratadas usando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos positivos de interesse com esse reagente são fornecidos na tabela a seguir:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP (Desvio padrão)	CV (%)
Granulócitos	25	98,75	2,26	2,29

Esses valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores esperados da população local de doadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos usando o procedimento descrito anteriormente em amostras de sangue com menos de 24 horas, coletadas previamente em tubos estéreis com sal de EDTA como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

O gene CALLA codifica uma glicoproteína transmembrana de 100 kD de tipo II. As sequências de ADN relacionadas com o CALLA encontram-se no cromossoma humano 3J (10). O CALLA (CD10) foi descrito como uma enzima de superfície expressa em células progenitoras linfoides precoces e neutrófilos e identificado como a metaloprotease de zinco, endopeptidase neutra 24.11 (NEP, "encefalinase"). É sabido que a enzima do CD10 hidrolisa uma variedade de peptídeos biologicamente ativos, incluindo met-encefalina, formil-metionil-leucil-fenilalanina (f-MLP) e substância P, que estão envolvidas no processo de diferenciação e maturação de células.

O anticorpo monoclonal ALB1 foi estudado no 1º HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Workshop sobre HLDA de diferenciação de antígenos de leucócitos humanos) em Paris, França, 1982 (11).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados usando-se sangue total. Cada amostra foi processada 4 vezes, duas vezes por dia durante 1 dia em 2 instrumentos, usando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD10-PE. As medições (% de positivos) foram realizadas no citômetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação de desempenho de precisão de métodos de medição quantitativos).

Nossos critérios de aceitação dependem do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Se eventos positivos <1.500, CV <15%
- Se eventos positivos >1.500, CV <10%

Granulócitos							
Número de eventos positivos (média) = 6080							
	Entre operadores	Entre citômetros	Dentro do lote	Entre lotes	Entre processamentos	Dentro do processamento	Total
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD10-PE foi avaliada comparando-se os resultados com um reagente de referência como o predicado em um conjunto de amostras de sangue total processadas em um citômetro de fluxo Navios. A tendência entre o reagente de teste e o de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados dos testes. Se a tendência estiver dentro da faixa de erro aceitável ou o valor p não indicar diferenças significativas (>0,05), então os resultados dos testes para os dois reagentes são considerados como equivalentes.

Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Número de doadores = 25				
Alvo positivo	Δ média	Critérios de Δ % de células	valor p	RESULTADOS
Granulócitos	0,16	<5	0,001	PASS

LIMITE DE BRANCO E LIMITE DE DETECÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com a diretriz EP17-A2 do CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de detecção para procedimentos de medição de laboratório clínico). O Limite de detecção (LOD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detectada consistentemente. Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite de branco (células/µL)	Limite de detecção (células/µL)
Granulócitos	2	4

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo pode produzir resultados falsos se o citômetro não for alinhado perfeitamente, se os vazamentos de fluorescência não forem corretamente compensados e se as regiões não forem cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível usar uma técnica de lise de RBC com uma etapa de lavagem, já que esse reagente não foi otimizado para técnicas de lise "sem lavagem".
3. Serão obtidos resultados exatos e reproduzíveis desde que os procedimentos utilizados estejam em conformidade com o folheto técnico e sejam compatíveis com as boas práticas de laboratório.
4. O anticorpo conjugado desse reagente é calibrado para oferecer a melhor razão entre sinal específico e sinal não específico. Por isso, é importante manter a razão entre volume do reagente e volume da amostra em cada teste.
5. No caso de hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (12).
6. Em certos estados da doença, como insuficiência renal grave e hemoglobinopatias, a lise das hemácias pode ser lenta, incompleta ou até mesmo impossível. Nesse caso, recomenda-se isolar as células mononucleadas usando um gradiente de densidade (Ficoll, por exemplo) antes da coloração (13).

7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a detecção dos antígenos-alvo específicos pode ser diminuída ou não ocorrer devido ao bloqueio parcial ou total pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de CD10-PE devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, histórico clínico, dados de testes adicionais e outras informações apropriadas.

Consulte o anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logotipo estilizado e as marcas dos produtos e serviços da Beckman Coulter mencionados neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registradas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e em outros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/usuário/terceiro na União Europeia e em países com regime regulatório idêntico (Regulamentação 2017/746/UE sobre In vitro Diagnostic Medical Devices [Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro]), se, durante o uso deste dispositivo ou como resultado de seu uso, ocorrer um incidente grave, relate-o ao fabricante e/ou ao seu representante autorizado e à sua autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível no banco de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO AE:	Data de publicação: setembro de 2019

REVISÃO	**Data de publicação**
AW	Fevereiro de 2022
Atualizações para o cumprimento da Global labelling Policy (Política de rotulagem global) da Beckman Coulter e de acordo com os requisitos da IVD-R (UE)2017/746:	
Seções adicionadas	Número BSI 2797, Usuário previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite de branco e limite de detecção, Informações adicionais, Histórico de revisão.
Informações adicionadas	Consulte as seções: Limitações
Atualizações tipográficas ou de fraseado	Consulte as seções Procedimento, Desempenho, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade, Materiais necessários mas não fornecidos com o kit.
Seções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Seções atualizadas	Uso previsto, Classificação de perigo do GHS, Evidência de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de publicação**
AX	Junho de 2022
Informações adicionadas	Inserção de novo idioma — cazaque

REVISÃO	**Data de publicação**
AY	Abril 2023
Seções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revisada	AZ
Data da revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Versão revisada	BA
Data da revisão	Julho 2024
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Legenda dos símbolos

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

	Specificaties
Specificiteit	CD10
Kloon	ALB1
Hybridoom	NS1 x balb/c
Immunogeen	Human leukaemic cells
Immunoglobuline	IgG1
Soort	Muis
Purificatie	Affiniteitschromatografie
Fluorochroom	R Phycoerythrin (PE)
Molaire verhouding	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ excitatie	488 nm
Emissiepiek	575 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA en 0,1% NaN_3

IOTest

Geconjugeerd antilichaam CD10-PE

REF A07760 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik

BEOOGD GEBRUIK

Met dit fluorochroom-geconjugeerde antilichaam kunnen celpopulaties die het CD10-antigeen tot expressie brengen, kwalitatief en niet-geautomatiseerd worden geïdentificeerd in menselijke biologische monsters met behulp van flowcytometrie (zie het gedeelte 'Monsters' hieronder).

PRINCIPE

Deze test is gebaseerd op het vermogen van specifieke monoklonale antilichamen om zich te binden aan de antigene determinanten die tot expressie worden gebracht door leukocyten.

Specifieke kleuring van de leukocyten wordt uitgevoerd door het monster te incuberen met het IOTest -reagens. De rode cellen worden vervolgens via lysering verwijderd en de leukocyten (die ongevoelig zijn voor dit proces) worden geanalyseerd voor middel van flowcytometrie.

De flowcytometer meet de lichtdiffusie en de fluorescentie van cellen. Het maakt de afbakening van de betrokken populatie mogelijk binnen het elektronische venster gedefinieerd op een histogram, wat de orthogonale verspreiding van licht (zijwaartse verstrooiing of ZV) in verband brengt met de verspreiding van smalhoekig licht (voorwaartse verstrooiing of VV). Andere histogrammen die twee van de verschillende beschikbare parameters op de cytometer combineren, kunnen worden gebruikt als ondersteuning bij de gating-fase, afhankelijk van de door de gebruiker gekozen toepassing.

De fluorescentie van de afgeperkte cellen wordt geanalyseerd om de positief-gekleurde gebeurtenissen te onderscheiden van de niet-gekleurde. De resultaten worden uitgedrukt als een percentage van positieve gebeurtenissen ten opzichte van alle gebeurtenissen verzameld door de gating.

BEOOGDE GEBRUIKER

Dit product is bedoeld voor professioneel gebruik in het laboratorium.

KLINISCHE RELEVANTIE

Het CD10-PE is een CD10-antilichaam dat wordt gebruikt om door middel van flowcytometrie cellen te identificeren en te karakteriseren die het CD10-antigeen tot expressie brengen. Dit product alleen kan niet worden gebruikt voor en is niet bedoeld voor de totstandbrenging van diagnostische conclusies.

Bij gebruik in combinatie met andere markers kan dit product worden gebruikt voor een of meer van de volgende functies:

- Ter ondersteuning van de differentiaaldiagnostiek bij patiënten met een hematologische afwijking met verdenking op het hebben van een hematopoiëtisch neoplasma en ter controle van patiënten met een bekend hematopoiëtisch neoplasma.
- Ter ondersteuning van de prognose van patiënten met hematopoiëtisch neoplasma.

Zie de volgende referenties:

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

MONSTERS

Veneus bloed moet worden afgenomen met steriele buisjes die EDTA-zout bevatten als anticoagulans.

De monsters moeten op kamertemperatuur (18-25 °C) worden gehouden en mogen niet worden geschud. De monsters moeten gehomogeniseerd worden door licht te schudden voordat het testmonster wordt afgenomen.

De monsters moeten worden geanalyseerd binnen 24 uur van venapunctie.

CONCENTRATIE

Zie batch-specifiek analysecertificaat op www.beckman.com.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Gebruik het reagens niet na de uiterste houdbaarheidsdatum.
2. Niet invriezen.
3. Laat het op kamertemperatuur (18-25 °C) komen voor gebruik.
4. Beperk de blootstelling aan licht.
5. Vermijd microbiële verontreiniging van de reagentia, anders kunnen verkeerde resultaten optreden.

6. Antilichaamoplossingen die natriumazide (NaN_3) bevatten moeten voorzichtig gehanteerd worden. Niet innemen en elk contact met huid, slijmvliezen en ogen vermijden.

   In een zuur medium kan natriumazide bovendien de potentieel gevaarlijke waterstofazide vormen. Indien verwijdering nodig is, wordt het aanbevolen om het reagens te verdunnen in een groot volume water voordat het in het afvoersysteem wordt gegoten, om de accumulatie van natriumazide in metalen buizen en explosiegevaar te vermijden.
7. Alle bloedmonsters moeten worden beschouwd als mogelijk besmettelijk en moeten voorzichtig worden gehanteerd (met name: veiligheidshandschoenen, -jas en -bril dragen).
8. Pipetteer nooit met de mond en vermijd elk contact van de monster met huid, slijmvliezen en ogen.
9. Bloedbuisjes en wegwerpmateriaal die gebruikt zijn, moeten verwijderd worden in afvalcontainers bestemd voor verbranding.
10. Reagentia en afval moeten verwijderd worden volgens de plaatselijke voorschriften.

GHS GEVARENCLASSIFICATIE

Niet geclassificeerd als gevaarlijk

SDS Het veiligheidsinformatieblad is beschikbaar op beckmancoulter.com/techdocs

OPSLAG EN STABILITEIT

Dit reagens moet tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht worden bewaard, voor- en nadat het buisje wordt geopend.

Houdbaarheidsdatum van ongeopend buisje volgens stabiliteitsstudie: 1095 dagen.

Stabiliteit van geopend buisje: het reagens is stabiel gedurende 180 dagen.

BEWIJS VAN BEDERF

Elke wijziging in de fysieke verschijning van de reagentia kan wijzen op aantasting; het reagens mag dan niet langer gebruikt worden.

Bel voor meer informatie, of als het product beschadigd is, met de klantenservice van Beckman Coulter op 800-742-2345 (VS of Canada) of neem contact op met uw plaatselijke vertegenwoordiger van Beckman Coulter.

INHOUD

Een conserveringsmiddel van natriumazide kan explosieve verbindingen vormen in metalen afvoerleidingen. Zie NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (Explosiegevaar van azide, 16-08-1976).
Om de ophoping van azideverbindingen te vermijden, spoelt u de afvoerbuizen met water na verwijdering van onverdund reagens. Natriumazide moet worden verwijderd volgens de toepasselijke plaatselijke voorschriften.

BENODIGD MATERIAAL DAT NIET IS MEEGELEVERD IN DE KIT:

- Monsterbuisjes en materiaal vereist voor monsterneming.
- Automatische pipetten met wegwerppunten voor 20, 100 en 500 µL.
- Plastic hemolysebuisjes.
- Ontbindingsreagens voor rode cellen met spoelfase na de lysis. Bijvoorbeeld: VersaLyse (ref. A09777).
- Fixatiereagens voor leukocyten. Bijvoorbeeld: IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800).
- Isotypecontrole PE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfaat; 0,145 M natriumchloride; pH 7,2).
- Centrifugeer.
- Automatische schudder (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MET VERSALYSE-REAGENS

Voor elk geanalyseerd monster kan, naast het testbuisje, één controlebuisje worden toegevoegd waarin de cellen worden gemengd in aanwezigheid van de isotypecontrole (ref. A07796).

1. Voeg 20 µL specifiek IOTest-geconjugeerd antilichaam toe aan elk testbuisje en, indien nodig, 20 µL isotypecontrole aan elk controlebuisje.
2. Voeg 100 µL van het testmonster toe aan elk buisje. Wervel de buisjes voorzichtig.
3. Incubeer 15 tot 20 minuten op kamertemperatuur (18-25 °C), beschermd tegen licht.
4. Lyseer vervolgens de rode cellen. Raadpleeg de VersaLyse-bijsluiter (ref. A09777) en volg bij voorkeur de procedure genaamd 'met gelijktijdige fixatie', die bestaat uit het toevoegen van 1 mL 'fixeer-en-lyseer'-oplossing die ex tempore wordt bereid. Wervel onmiddellijk gedurende één seconde en incubeer 10 minuten op kamertemperatuur, beschermd tegen licht.
5. Centrifugeer gedurende 5 minuten bij 150 x g op kamertemperatuur.
6. Verwijder het supernatant door opzuiging.
7. Suspendeer de celpellet opnieuw met 3 mL van PBS.
8. Herhaal stap 5.
9. Verwijder het supernatant door opzuiging en suspendeer de celpellet opnieuw met:

- 0,5 mL of 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyde, indien de bereidingen minder dan 24 uur worden bewaard. (Een PBS met 0,1% formaldehyde kan worden verkregen door 12,5 µL IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800) bij de 10X-concentratie te verdunnen in 1 mL PBS).
- 0,5 mL of 1 mL PBS zonder formaldehyde, indien de bereidingen moeten worden geanalyseerd binnen 2 uur.

Opmerking: houd de bereidingen in alle gevallen tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht.

VERWACHTE WAARDEN

In onze laboratoria werden de volbloedmonsters van 25 ogenschijnlijk gezonde donoren behandeld met het hierboven beschreven reagens. De verkregen resultaten voor de telling van de relevante positieve gebeurtenissen voor dit reagens worden in de onderstaande tabel weergegeven:

Positieve target	Nummer	Gemiddeld (%)	SD	VC (%)
Granulocyten	25	98,75	2,26	2,29

Deze waarden zijn uitsluitend bedoeld als referentie. Elk laboratorium moet zijn eigen verwachte waarden bepalen op basis van de lokale populatie van normale donoren.

PRESTATIES

Prestatiegegevens worden verkregen met de hierboven beschreven procedure op minder dan 24 uur oude bloedmonsters die eerder zijn verzameld in steriele buisjes met EDTA-zout als anticoagulans. De analyse wordt uitgevoerd binnen 2 uur na immunokleuring.

SPECIFICITEIT

Het CALLA-gen codeert een type II transmembraan glycoproteïne van 100 kDa. De CALLA-gerelateerde DNA-sequenties worden gevonden op menselijk chromosoom 3J (10). CALLA, (CD10), werd beschreven als een oppervlakte-enzym dat tot expressie werd gebracht op vroege lymfoïde voorlopers en neutrofielen, en geïdentificeerd als het zink-metalloprotease, neutraal endopeptidase 24.11 (NEP, 'enkefalinase'). Van het CD10-enzym is bekend dat het een verscheidenheid aan biologisch actieve peptiden hydrolyseert, waaronder met-enkefaline, formyl-met-leu-phe (f-MLP) en substantie P, die een rol spelen bij het proces van celdifferentiatie en -rijping.

Het monoklonale antilichaam ALB1 werd bestudeerd tijdens de 1st HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (1e HLDA workshop over differentiatie-antigenen van humane leukocyten), gehouden in Parijs, Frankrijk, 1982 (11).

PRECISIE

De procentuele positieve waarden werden bepaald met behulp van volbloed. Elk monster werd 4 maal getest, tweemaal per dag gedurende 1 dag op 2 instrumenten, waarbij gebruik werd gemaakt van 2 batches CD10-PE monoklonale antilichaamreagentia. Metingen (% positief) werden uitgevoerd op de Navios-flowcytometer. Analyse werd uitgevoerd op basis van de CLSI-methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluatie van de precisie van kwantitatieve meetmethoden).

Onze acceptatiecriteria zijn afhankelijk van het aantal positieve gebeurtenissen dat voor elke populatie wordt gemeten:

- In het geval van een positieve gebeurtenis <1500, VC <15%
- In het geval van een positieve gebeurtenis >1500, VC <10%

Granulocyten							
Aantal positieve gebeurtenissen (gemiddelde) = 6080							
	Tussen gebruikers	Tussen cytometers	Van dezelfde batch	Tussen batches	Tussen runs	Tijdens run	Totaal
VC (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
RESULTATEN	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NAUWKEURIGHEID

De nauwkeurigheid van CD10-PE werd beoordeeld door de resultaten te vergelijken met een referentiereagens als het vergelijkbare hulpmiddel op een reeks volbloedmonsters die op een Navios-flowcytometer werden uitgevoerd. De afwijking tussen test- en referentiereagens werd bepaald op basis van het verschil tussen de testresultaten. Als de afwijking binnen het toegestane foutbereik ligt of de p-waarde geen significant verschil (>0,05) aangeeft, worden de testresultaten voor de twee reagentia als gelijkwaardig beschouwd.

De resultaten worden samengevat in de onderstaande tabel:

Aantal donoren = 25				
Positieve target	Gemiddelde Δ	Δ % Celcriteria	p-waarde	RESULTATEN
Granulocyten	0,16	<5	0,001	PASS

BLANCOLIMIET EN DETECTIELIMIET

Een studie is uitgevoerd in overeenstemming met CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluatie van detectiecapaciteit voor meetprocedures in klinische laboratoria). Het detectielimiet (LOD) is de laagste concentratie analiet die consistent kan worden gedetecteerd. De verkregen resultaten worden samengevat in de volgende tabel:

Positive Target	Blancolimiet (cel/µL)	Detectielimiet (cel/µL)
Granulocyten	2	4

BEPERKINGEN

1. Flowcytometrie kan leiden tot verkeerde resultaten indien de cytometer niet perfect is uitgelijnd, indien fluorescentielekken niet juist zijn gecompenseerd en indien de gebieden niet zorgvuldig zijn gepositioneerd.
2. Gebruik bij voorkeur een RBC-lyseertechniek met een wasstap, aangezien dit reagens niet is geoptimaliseerd voor lyseertechnieken zonder wassen.
3. Nauwkeurige en reproduceerbare resultaten worden verkregen zolang de gebruikte procedures in overeenstemming zijn met de technische brochure en compatibel met goede laboratoriumpraktijken.
4. Het geconjugeerde antilichaam van dit reagens wordt gekalibreerd om de beste verhouding van specifiek signaal/niet-specifiek signaal te bieden. Daarom is het belangrijk dat de verhouding van reagensvolume/monstervolume in acht wordt genomen bij elke test.
5. In het geval van een hyperleukocytose verdunt u het bloed in PBS om een waarde van ongeveer 5 x 10^9 leukocyten/L te verkrijgen (12).

6. In sommige stadia van een aandoening, zoals ernstig nierfalen of hemoglobinopathieën, kan de ontbinding van rode cellen traag verlopen, onvolledig of zelfs onmogelijk zijn. In dit geval wordt het aanbevolen om cellen met één kern te isoleren met een dichtheidsgradiënt (bijvoorbeeld Ficoll) voorafgaand aan de kleuring (13).
7. Bij patiënten die worden behandeld met anti-humane monoklonale antilichaamtherapieën kan de detectie van de specifieke doelantigenen verminderd of afwezig zijn als gevolg van een gedeeltelijke of volledige blokkering door het therapeutische antilichaam.
8. De CD10-PE-resultaten moeten worden geïnterpreteerd in het licht van het totale klinische beeld van de patiënt, met onder meer: symptomen, klinische anamnese, gegevens van aanvullende tests en andere relevante informatie.

Zie de bijlage voor voorbeelden en referenties.

Handelsmerken

Beckman Coulter, het gestileerde logo en de merken van Beckman Coulter-producten en -services in dit document zijn handelsmerken of gedeponeerde handelsmerken van Beckman Coulter, Inc. in de Verenigde Staten en andere landen.

AANVULLENDE INFORMATIE

Voor patiënten/gebruikers/derden in de EU en in landen met soortgelijke regelgeving (Verordening 2017/746/EU inzake in-vitro diagnostische medische apparaten); als er zich tijdens of als gevolg van het gebruik van dit apparaat een ernstig incident voordoet, dient u dit te melden bij de fabrikant en/of diens bevoegde vertegenwoordiger en bij uw nationale autoriteiten.

Het overzicht van de veiligheid en prestaties is beschikbaar in de database EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed

REVISIEGESCHIEDENIS

REVISIE AE:	Uitgiftedatum: September 2019

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AW	Februari 2022
Bijgewerkt om te voldoen aan het wereldwijde etiketteringsbeleid van Beckman Coulter en volgens de vereisten van IVD-R (EU)2017/746:	
Toegevoegde paragrafen	BSI 2797-nummer, Beoogde gebruiker, Klinische relevantie, Concentratie, Precisie, Nauwkeurigheid, Blancolimiet en detectiegrens, Aanvullende informatie, Revisiegeschiedenis.
Toegevoegde informatie	Zie paragraaf Beperkingen
Bijgewerkte formulering of typografie	Zie paragrafen Procedure, Prestaties, Beperkingen, Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen, Opslag en Stabiliteit, Benodigde materialen die niet in de kit zitten.
Verwijderde paragrafen	Voorbeeld van klinische toepassingen, Reagentia, Reproduceerbaarheid intra-laboratoria, Lineariteit
Bijgewerkte paragrafen	Beoogd gebruik, GHS-gevarenclassificatie, Bewijs van bederf, Procedure, Bijlage.

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AX	Juni 2022
Toegevoegde informatie	Nieuwe taal toegevoegd - Kazachs

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AY	April 2023
Bijgewerkte paragrafen	Opslag en stabiliteit

Bijgewerkte versie	AZ
Herzieningsdatum	Mei 2024
Bijgewerkte vertalingen	**Klinische relevantie:**
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Bijgewerkte versie	BA
Herzieningsdatum	Juli 2024
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Verklaring van symbolen

Overzicht met verklaring van symbolen is beschikbaar op beckman.com/techdocs (documentnummer B60062)

	Thông số kỹ thuật
Độ đặc hiệu	CD10
Dòng vô tính	ALB1
Tế bào lai	NS1 x balb/c
Chất sinh miễn dịch	Human leukaemic cells
Globulin miễn dịch	IgG1
Các loài	Chuột
Tinh chế	Sắc ký ái lực
Chất nhuộm huỳnh quang	R Phycoerythrin (PE)
Tỷ lệ mol	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Kích thích λ	488 nM
Đỉnh phát xạ	575 nM
Dung dịch đệm	PBS pH 7,2 cộng với 2 mg/mL BSA và 0,1% NaN_3

Kháng thể cộng hợp IOTest CD10-PE

REF A07760 100 xét nghiệm; 2 mL, 20 µL/xét nghiệm

Dùng để chẩn đoán *In Vitro*

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Kháng thể cộng hợp chất nhuộm huỳnh quang này cho phép xác định theo phương thức định tính và không tự động các quần thể tế bào biểu hiện kháng nguyên CD10 có trong mẫu sinh học của người bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy (xem phần "Mẫu" bên dưới).

NGUYÊN TẮC

Xét nghiệm này dựa trên khả năng liên kết của kháng thể đơn dòng đặc hiệu với yếu tố quyết định kháng nguyên biểu hiện bởi bạch cầu.

Nhuộm đặc hiệu bạch cầu bằng cách ủ mẫu với thuốc thử IOTest. Sau đó, loại bỏ tế bào hồng cầu bằng cách ly giải và tế bào bạch cầu không bị ảnh hưởng bởi quá trình này sẽ được phân tích bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy.

Máy đếm tế bào dòng chảy đo mức khuếch tán ánh sáng và phát huỳnh quang của các tế bào. Điều này giúp phân định được quần thể quan tâm trong cửa sổ điện tử được xác định trên biểu đồ, tương quan với sự khuếch tán trực giao ánh sáng (Tán xạ góc bên hay SS) và khuếch tán ánh sáng góc hẹp (Tán xạ góc thẳng hay FS). Có thể dùng các biểu đồ khác (kết hợp hai trong các thông số có sẵn trên máy đếm tế bào) để hỗ trợ trong giai đoạn khoanh vùng tùy thuộc vào ứng dụng mà người dùng chọn.

Huỳnh quang của các tế bào đã phân định được phân tích để phân biệt các sự kiện nhuộm dương tính với các sự kiện không nhuộm. Kết quả được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm số sự kiện dương tính so với tất cả sự kiện thu được từ việc khoanh vùng.

ĐỐI TƯỢNG SỬ DỤNG

Sản phẩm này chỉ dùng cho mục đích chuyên môn trong phòng xét nghiệm.

TÍNH THÍCH HỢP VỀ LÂM SÀNG

CD10-PE là một kháng thể CD10 dùng để nhận dạng và xác định đặc điểm của các tế bào biểu thị kháng nguyên CD10 bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy. Chỉ riêng sản phẩm này không thể và không nhằm tạo ra bất kỳ kết luận chẩn đoán nào.

Khi kết hợp với các chỉ dấu khác, có thể dùng sản phẩm này trong một hoặc nhiều chức năng sau:

- Để hỗ trợ chẩn đoán phân biệt những bệnh nhân bị bất thường về huyết học nghi ngờ mắc ung thư máu và để theo dõi những bệnh nhân đã được xác định là mắc ung thư máu.
- Để hỗ trợ tiên lượng những bệnh nhân bị ung thư máu.

Xem tài liệu tham khảo sau đây:

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

MẪU

Phải lấy mẫu máu tĩnh mạch vào ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA.

Phải bảo quản mẫu ở nhiệt độ phòng (18–25°C) và không lắc mẫu. Phải khuấy nhẹ mẫu trước khi lấy mẫu xét nghiệm để mẫu có trạng thái đồng nhất.

Phải phân tích các mẫu trong vòng 24 giờ sau khi lấy từ tĩnh mạch.

NỒNG ĐỘ

Xem Giấy chứng nhận phân tích theo lô cụ thể tại www.beckman.com.

CẢNH BÁO VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG NGỪA

1. Không dùng thuốc thử đã hết hạn sử dụng.
2. Không làm đông lạnh.
3. Để dung dịch trở về nhiệt độ phòng (18–25°C) trước khi sử dụng.
4. Giảm thiểu tiếp xúc với ánh sáng.
5. Tránh làm thuốc thử bị nhiễm khuẩn, nếu không, có thể dẫn đến kết quả sai.
6. Phải xử lý cẩn thận dung dịch kháng thể chứa natri azit (NaN_3). Không được uống và tránh mọi tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.

Ngoài ra, trong môi trường axit, natri azit có thể tạo thành axit hydrazoic nguy hiểm. Nếu cần phải thải bỏ, bạn nên pha loãng thuốc thử trong nhiều nước trước khi thải vào hệ thống thoát nước để tránh tích tụ natri azide trong ống kim loại và để tránh nguy cơ nổ.

7. Phải coi tất cả mẫu máu là có nguy cơ lây nhiễm và xử lý cẩn thận (cụ thể: đeo găng tay, mặc áo choàng và đeo kính bảo vệ).
8. Tuyệt đối không dùng pipet bằng miệng và tránh để mẫu tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.
9. Phải bỏ ống máu và vật liệu dùng một lần đã dùng để xử lý trong thùng chứa đặc biệt cho mục đích thiêu hủy.
10. Phải thải bỏ thuốc thử và chất thải theo yêu cầu của địa phương.

PHÂN LOẠI MỐI NGUY HIỂM THEO GHS

Không được phân loại là chất nguy hiểm

SDS Phiếu dữ liệu an toàn có sẵn tại beckmancoulter.com/techdocs

BẢO QUẢN VÀ ĐỘ ỔN ĐỊNH

Phải bảo quản thuốc thử này ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng, trước và sau khi mở ống.

Hạn sử dụng của ống khi chưa mở nắp theo nghiên cứu về độ ổn định: 1095 ngày.

Độ ổn định của ống đã mở: thuốc thử ổn định trong 180 ngày.

BẰNG CHỨNG BIẾN CHẤT

Mọi sự biến đổi về vẻ ngoài của thuốc thử có thể là dấu hiệu suy giảm chất lượng và bạn không nên dùng thuốc thử đó.

Để biết thêm thông tin hoặc nếu bạn nhận được sản phẩm bị hỏng, hãy gọi điện cho Dịch vụ khách hàng của Beckman Coulter theo số 8007422345 (Hoa Kỳ hoặc Canada) hoặc liên hệ với Đại diện của Beckman Coulter tại địa phương bạn.

HÀM LƯỢNG

Chất bảo quản natri azit có thể hình thành hợp chất nổ trong ống dẫn bằng kim loại. Xem Thông Báo của Viện quốc gia về an toàn và sức khỏe nghề nghiệp (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Nguy cơ nổ azit) (16/8/76).
Để tránh khả năng tích tụ hợp chất azit, hãy xả sạch các ống thải bằng nước sau khi xử lý vứt bỏ thuốc thử chưa pha loãng. Phải xử lý vứt bỏ natri azit theo đúng quy định sở tại.

VẬT LIỆU CẦN DÙNG (KHÔNG KÈM THEO BỘ THUỐC THỬ):

- Ống lấy mẫu và vật liệu cần dùng để lấy mẫu.
- Pipet tự động có đầu hút dùng một lần để lấy mẫu có thể tích 20, 100 và 500 µL.
- Ống chứa mẫu tan huyết bằng nhựa.
- Thuốc thử ly giải hồng cầu với bước rửa sau khi ly giải. Ví dụ: VersaLyse (Số tham chiếu A09777).
- Thuốc thử cố định Leucocyte. Ví dụ: Dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800).
- Mẫu chứng âm PE: Thuốc thử IOTest (Số tham chiếu: A07796).
- Dung dịch đệm (PBS: 0,01 Mol natri photphat; 0,145 Mol natri clorua; pH 7,2).
- Máy ly tâm.
- Máy trộn tự động (loại khuấy).
- Máy đếm tế bào dòng chảy.

QUY TRÌNH VỚI THUỐC THỬ VERSALYSE

Đối với mỗi mẫu phân tích, ngoài ống xét nghiệm, có thể thêm một ống kiểm chuẩn, trong đó tế bào được trộn với mẫu chứng âm (Số tham chiếu A07796).

1. Thêm 20 µL kháng thể cộng hợp IOTest đặc hiệu vào mỗi ống xét nghiệm và nếu cần, 20 µL mẫu chứng âm vào từng ống kiểm chuẩn.
2. Thêm 100 µL mẫu xét nghiệm vào từng ống. Lắc nhẹ các ống.
3. Ủ trong 15 đến 20 phút ở nhiệt độ phòng (18–25°C), tránh ánh sáng.
4. Sau đó, ly giải hồng cầu. Tham khảo tờ hướng dẫn về VersaLyse (Số tham chiếu A09777) và tốt nhất là làm theo quy trình tên là “có cố định đồng thời”, bao gồm thêm 1 mL hỗn hợp “Cố định và ly giải” được chuẩn bị tùy ứng. Lắc ngay trong một giây và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.
5. Quay ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 150 x g tại nhiệt độ phòng.
6. Hút bỏ dịch nổi.
7. Tái huyền phù viên tế bào bằng 3 mL PBS.
8. Lặp lại bước 5.
9. Hút bỏ dịch nổi và tái huyền phù viên tế bào bằng:

- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS cộng với 0,1% formaldehyde nếu sử dụng chế phẩm trong vòng chưa đến 24 giờ. (Có thể thu được PBS chứa 0,1% formaldehyde bằng cách pha loãng 12,5 µL dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800) ở nồng độ 10X trong 1 mL PBS).
- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS không có formaldehyde, nếu phân tích các chế phẩm trong vòng 2 giờ.

Ghi chú: Trong mọi trường hợp, phải bảo quản chế phẩm ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng.

GIÁ TRỊ DỰ KIẾN

Trong phòng xét nghiệm của chúng tôi, mẫu máu toàn phần của 25 người hiến khỏe mạnh được điều trị bằng thuốc thử mô tả ở trên. Bảng dưới đây trình bày kết quả đếm số lượng sự kiện dương tính quan tâm với thuốc thử này:

Mục tiêu dương tính	Số	Giá trị trung bình (%)	SD	CV (%)
Bạch cầu hạt	25	98,75	2,26	2,29

Các giá trị sau chỉ có tính chất đại diện. Mỗi phòng xét nghiệm phải thiết lập giá trị dự kiến riêng từ quần thể người hiến bình thường của mình.

HIỆU SUẤT

Dữ liệu hiệu suất thu được bằng cách sử dụng quy trình mô tả ở trên với các mẫu máu được thu thập dưới 24 giờ trong các ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA. Phân tích trong vòng 2 giờ sau khi nhuộm hóa mô miễn dịch.

ĐỘ ĐẶC HIỆU

Gen CALLA mã hóa glucoprotein xuyên màng 100 kD loại II. Chuỗi DNA liên quan đến CALLA được tìm thấy trên nhiễm sắc thể người 3J (10). CALLA, (CD10), được mô tả là một enzym bề mặt biểu hiện trên bạch cầu trung tính và tế bào tiền thân lympho sớm, đồng thời được xác định là protease phụ thuộc vào kẽm, enzym tiêu hóa trung tính 24.11 (NEP, “enkephalinase”). Enzym CD10 được xác định là thủy phân nhiều loại peptit có hoạt tính sinh học, bao gồm met-enkephalin, formyl-met-leu-phe (f-MLP) và chất P, có liên quan đến quá trình biệt hóa và trưởng thành của tế bào.

Kháng thể đơn dòng ALB1 đã được nghiên cứu trong HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Hội thảo HLDA về Kháng nguyên biệt hóa bạch cầu ở người) lần thứ 1, được tổ chức tại Paris, Pháp, 1982 (11).

ĐỘ CHỤM

Tỷ lệ phần trăm của các giá trị dương tính được xác định bằng cách sử dụng máu toàn phần. Mỗi mẫu được chạy 4 lần, hai lần một ngày trong 1 ngày trên 2 thiết bị sử dụng 2 lô thuốc thử kháng thể đơn dòng CD10-PE. Các phép đo (% dương tính) được thực hiện trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Phân tích được tiến hành theo phương pháp EP5-A2 của CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Đánh giá hiệu suất độ chụm của phương pháp đo định lượng).

Tiêu chí chấp nhận của chúng tôi phụ thuộc vào số lượng sự kiện dương tính đo được cho mỗi quần thể:

- Nếu sự kiện dương tính <1.500, CV <15%
- Nếu sự kiện dương tính >1.500, CV <10%

Bạch cầu hạt							
Số sự kiện dương tính (Giá trị trung bình) = 6080							
	Giữa những người thao tác	Giữa các máy đếm tế bào	Trong lô	Giữa các lô	Giữa các lần chạy	Trong lần chạy	Toàn phần
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
KẾT QUẢ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ĐỘ CHÍNH XÁC

Độ chính xác của CD10-PE được đánh giá bằng cách so sánh kết quả với thuốc thử tham chiếu để khẳng định trên một tập hợp các mẫu máu toàn phần chạy trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Độ lệch giữa xét nghiệm và thuốc thử tham chiếu được xác định dựa trên sự chênh lệch giữa các kết quả xét nghiệm. Nếu độ lệch nằm trong phạm vi sai số cho phép hoặc giá trị p cho thấy không có sự khác biệt đáng kể (> 0,05), thì kết quả xét nghiệm cho hai thuốc thử được coi là tương đương.

Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Số người hiến = 25				
Mục tiêu dương tính	Giá trị trung bình Δ	Tiêu chí tế bào Δ %	giá trị p	KẾT QUẢ
Bạch cầu hạt	0,16	<5	0,001	PASS

GIỚI HẠN TRỐNG VÀ GIỚI HẠN PHÁT HIỆN

Một nghiên cứu đã được thực hiện theo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Đánh giá khả năng phát hiện cho các quy trình đo lường trong phòng xét nghiệm lâm sàng). Giới hạn phát hiện (LOD) là nồng độ thấp nhất của chất phân tích có thể phát hiện một cách nhất quán. Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Positive Target	Giới hạn trống (tế bào/µL)	Giới hạn phát hiện (tế bào/µL)
Bạch cầu hạt	2	4

GIỚI HẠN

1. Phương pháp đếm tế bào dòng chảy có thể cho kết quả sai nếu điều chỉnh máy đếm tế bào không phù hợp, nếu mức bù huỳnh quang rò rỉ không phù hợp và nếu định vị các vùng không cẩn thận.
2. Tốt nhất là sử dụng kỹ thuật ly giải RBC có bước rửa vì thuốc thử này chưa được tối ưu hóa cho các kỹ thuật ly giải “không rửa”.
3. Sẽ thu được kết quả chính xác và có thể tái lặp nếu sử dụng quy trình theo tờ hướng dẫn kỹ thuật và phù hợp với biện pháp xét nghiệm hợp lý.
4. Kháng thể cộng hợp của thuốc thử này được hiệu chuẩn để đưa ra tỷ lệ tín hiệu đặc hiệu/tín hiệu không đặc hiệu tốt nhất. Do đó, điều quan trọng là phải tuân thủ tỷ lệ thể tích thuốc thử/thể tích mẫu trong mỗi xét nghiệm.
5. Trong trường hợp tăng bạch cầu, hãy pha loãng máu trong PBS để thu được giá trị xấp xỉ 5 x 10^9 bạch cầu/L (12).
6. Trong một số tình trạng bệnh, chẳng hạn như suy thận nặng hoặc bệnh rối loạn máu, hồng cầu có thể ly giải chậm, ly giải không hoàn toàn, hoặc thậm chí là không thể ly giải. Trong trường hợp này, bạn nên phân lập tế bào đơn nhân bằng phương pháp ly tâm phân lớp theo tỷ trọng (ví dụ: Ficoll) trước khi nhuộm (13).
7. Ở những bệnh nhân được điều trị bằng các liệu pháp kháng thể đơn dòng kháng người, khả năng phát hiện các kháng nguyên mục tiêu đặc hiệu có thể giảm đi hoặc không xảy ra do bị kháng thể điều trị chặn một phần hoặc toàn bộ.
8. Phải diễn giải kết quả CD10-PE dựa trên toàn bộ các dấu hiệu lâm sàng của bệnh nhân, bao gồm: triệu chứng, tiền sử lâm sàng, dữ liệu từ các xét nghiệm khác và thông tin thích hợp khác.

Xem Phụ lục để biết ví dụ và tài liệu tham khảo.

NHÃN HIỆU

Beckman Coulter, logo cách điệu và các nhãn hiệu sản phẩm cũng như dịch vụ của Beckman Coulter nêu trong tài liệu này là nhãn hiệu hoặc nhãn hiệu đã đăng ký của Beckman Coulter, Inc. ở Hoa Kỳ và các quốc gia khác.

THÔNG TIN BỔ SUNG

Đối với bệnh nhân/người dùng/bên thứ ba tại Liên minh Châu Âu và ở các quốc gia có chế độ quản lý giống nhau (Quy định 2017/746/EU về Thiết bị y tế chẩn đoán In vitro); nếu xảy ra sự cố nghiêm trọng trong quá trình sử dụng thiết bị này hoặc do sử dụng thiết bị này, vui lòng báo cáo cho nhà sản xuất và/hoặc đại diện ủy quyền của nhà sản xuất cũng như cơ quan có thẩm quyền tại quốc gia của bạn.

Summary of Safety and Performance (Tóm tắt về an toàn và hiệu suất) có trong cơ sở dữ liệu EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

LỊCH SỬ SỬA ĐỔI

PHIÊN BẢN AE:	Ngày phát hành: Tháng 09 năm 2019

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AW	Tháng 02 năm 2022
Cập nhật để tuân thủ Chính sách ghi nhãn toàn cầu của Beckman Coulter và theo các yêu cầu IVD-R (EU) 2017/746:	
Bổ sung các phần	Số BSI 2797, Đối tượng sử dụng, Tính thích hợp về lâm sàng, Nồng độ, Độ chụm, Độ chính xác, Giới hạn trống và giới hạn phát hiện, Thông tin bổ sung, Lịch sử sửa đổi.
Bổ sung thông tin	Xem các phần Giới hạn
Cập nhật cách diễn đạt hoặc câu chữ	Xem các phần Quy trình, Hiệu suất, Hạn chế, Cảnh báo và Biện pháp phòng ngừa, Bảo quản và Độ ổn định, Vật liệu cần dùng (không kèm theo bộ thuốc thử).
Các phần bị xóa	Ví dụ về các ứng dụng lâm sàng, Thuốc thử, Khả năng tái lập trong phòng xét nghiệm, Độ tuyến tính
Các phần cập nhật	Mục đích sử dụng, Phân loại mối nguy hiểm theo GHS, Bằng chứng biến chất, Quy trình, Phụ lục.

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AX	Tháng 06 năm 2022
Bổ sung thông tin	Thêm Ngôn ngữ Mới - Tiếng Kazakh

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AY	Tháng 4 2023
Các phần cập nhật	Bảo quản và độ ổn định

Phiên bản sửa đổi	AZ
Ngày sửa đổi	Tháng 5 2024
Đã cập nhật bản dịch	**Tính thích hợp về lâm sàng:**
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Phiên bản sửa đổi	BA
Ngày sửa đổi	Tháng 7 2024
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Bảng chú giải các ký hiệu

Danh mục thuật ngữ ký hiệu có sẵn tại beckman.com/techdocs (số tài liệu B60062)

	Сипаттамалары
Ерекшелік	CD10
Клон	ALB1
Гибридома	NS1 x balb/c
Иммуноген	Human leukaemic cells
Иммунды глобулин	IgG1
Түрлері	Тышқан
Тазарту	Үйірлік хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin (PE)
Молярлық қатынасы	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ қозу	488 нм
Эмиссияның жоғарғы шегі	575 нм
Буфер	PBS pH 7,2 + 2 мг / мл BSA және 0,1% NaN_3

Конъюгацияланған
IOTest антиденесі
CD10-PE

REF A07760 100 сынақ; 2 мл, 20 мкл / сынақ

***In Vitro* диагностикасында пайдалануға арналған**

ПАЙДАЛАНУ МАҚСАТЫ

Бұл флуорохроммен конъюгацияланған антидене адамның биологиялық үлгілерінде CD10 антигеннің болуын көрсететін жасуша популяциясын ағын цитометриясы көмегімен сапалы және автоматтандырылмаған анықтауға мүмкіндік береді (төмендегі «Үлгілер» бөлімін қараңыз).

ҚАҒИДА

Бұл сынақ нақты моноклоналды антиденелердің лейкоциттер айқындайтын антигендік детерминанттармен байланысу қабілетіне негізделген.

Лейкоциттердің арнайы бояуы үлгіні IOTest реагентімен инкубациялау арқылы жүзеге асады. Сол кезде эритроциттер лизис арқылы шығарылады, ал осы процесс әсер етпейтін лейкоциттерге ағын цитометриясы арқылы талдау жасалады.

Ағын цитометрі жарық диффузиясы мен жасушалардың флуоресценттенуін өлшейді. Бұл гистограммада анықталған электронды терезеде қызығушылық популяциясын ажыратуға мүмкіндік береді, ол жарықтың ортогональды диффузиясын (бүйірлік шашырау немесе SS) және тар бұрышты жарықтың диффузиясын (тікелей шашырау немесе FS) байланыстырады. Цитометрде қолжетімді екі түрлі параметрді біріктіретін басқа гистограммаларды пайдаланушы таңдаған қолданбаға байланысты гейтинг кезеңінде тірек ретінде пайдалануға болады.

Оң боялған оқиғаларды боялмаған оқиғалардан ажырату үшін шектеулі жасушалардың флуоресценттенуіне талдау жүргізілді. Оның нәтижесі оң оқиғалардың гейтинг арқылы алынған барлық оқиғаларға қатынасының пайыздық көрсеткіші ретінде көрсетіледі.

МАҚСАТТЫ ПАЙДАЛАНУШЫ

Бұл өнім зертханалық жағдайда кәсіби пайдалануға арналған.

КЛИНИКАЛЫҚ МАҢЫЗЫ

CD10-PE – ағын цитометриясы арқылы CD10 антигенін экспрессиялайтын жасушаларды сәйкестендіру және сипаттау үшін пайдаланылатын CD10 антиденесі. Бұл өнімді жалғыз өзін пайдаланып қандай да бір диагностикалық қорытынды жасау мүмкін емес және жасауға арналмаған.

Басқа маркерлермен бірлесіп пайдаланылғанда, бұл өнімді келесі функциялардың біреуінде немесе бірнешеуінде пайдалануға болады:

- Гемопоэтикалық неоплазмаға күдікті гематологиялық аномальды пациенттерді дифференциалды диагностикалауға көмектесу және белгілі гемопоэтикалық неоплазмасы бар пациенттерді бақылау үшін.
- Гемопоэтикалық жаңа ісігі бар пациенттерге болжау жасауға көмектесу.

Келесі анықтамаларды қараңыз:

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

ҮЛГІЛЕР

Көктамыр қанын антикоагулянт ретінде EDTA тұзы бар стерильді түтіктердің көмегімен алу керек.

Үлгілерді бөлме температурасында (18–25°C) сақтау керек және оларды шайқауға болмайды. Үлгілерді сынақ үлгісін алмастан бұрын жеңіл араластыру жолымен гомогендеу керек.

Үлгілерді көк тамырды тескен соң 24 сағат ішінде талдау қажет.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Нақты топтама бойынша талдау сертификатын мына сайттан қараңыз www.beckman.com.

ЕСКЕРТУ ЖӘНЕ САҚТЫҚ ШАРАЛАРЫ

1. Жарамдылық мерзімі өткеннен кейін реагентті қолдануға болмайды.
2. Қатыруға болмайды.
3. Оны пайдаланбас бұрын, температурасының бөлме температурасына (18–25°C) жетуін күтіңіз.
4. Жарық әсерін азайтыңыз.
5. Реагенттердің микробтармен ластануына жол бермеңіз немесе жалған нәтижелер орын алуы мүмкін.

6. Құрамында натрий азиды бар антидене ерітінділермен (NaN_3) жұмыс істегенде абай болу керек. Ішке қабылдамаңыз. Теріге, шырышты қабыққа және көзге тиігізбеңіз.

   Оған қоса, қышқылды ортада натрий азиды ықтимал қауіпті азотты сутек қышқылын түзуі мүмкін. Оны жою қажет болған жағдайда реагентті алдымен судың көп мөлшерінде сұйылтып, артынан кәріз жүйесіне төгуге кеңес беріледі. Осылайша, натрий азидының металл құбырларда жиналуын болдырмай, жарылыс қаупінің алдын алуға болады.

7. Қанның барлық үлгілері ықтимал жұқпалы деп есептелуі және сақтықпен өңделуі (атап айтқанда: қорғаныс қолғабын, халат және көзілдірік кию) керек.
8. Ешқашан оны аузыңызға құймаңыз және үлгілерді теріге, шырышты қабыққа және көзге тигізбеңіз.
9. Өңдеу үшін пайдаланылатын қан түтіктері мен бір реттік материалдарды өртеуге арналған арнайы контейнерлерге тастау керек.
10. Реагенттер мен қалдықтар жергілікті талаптарға сәйкес жойылуы тиіс.

GHS ҚАУІПТЕР КЛАССИФИКАЦИЯСЫ

Қауіпті деп жіктелмейді

SDS Қауіпсіздік парағы beckmancoulter.com/techdocs мекенжайы бойынша қолжетімді

САҚТАУ ЖӘНЕ ТҰРАҚТЫЛЫҚ

Құтыны ашпай тұрып және оны ашқаннан кейін, бұл реагентті 2–8°C температурада жарықтан қорғалған жерде сақтау керек.

Тұрақтылық зерттеуіне сәйкес жабық күйіндегі сауыт сөресінің жарамдылық мерзімі: 1095 күндер.

Ашық құтының тұрақтылығы: реагент 180 күн бойы тұрақты болады.

ЗАҚЫМДАЛУ БЕЛГІЛЕРІ

Реагенттердің сыртқы түрінің кез келген өзгерісі олардың зақымдалғандығын көрсетуі мүмкін және реагентті пайдаланбаған жөн.

Қосымша ақпарат алу үшін немесе зақымдалған өнімді алған жағдайда 800-742-2345 (АҚШ немесе Канада) арқылы Beckman Coulter тұтынушыларға қызмет көрсету орталығына қоңырау шалыңыз немесе жергілікті Beckman Coulter компаниясының өкіліне хабарласыңыз.

МАЗМҰНЫ

Натрий азиді консерванты металдан жасалған құбыр желілерінде жарылғыш қосылыстар түзуі мүмкін. NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76) (NIOSH бюллетенін қараңыз: азидтердің жарылу қаупі (16.08.1976)).
Азид қосылыстарының ықтимал түзілуін болдырмау үшін сұйылтылмаған реагентті жойғаннан кейін су құбырларын шайыңыз. Натрий азидін жою тиісті жергілікті ережелерге сәйкес жүзеге асырылуы тиіс.

ҚАЖЕТТІ, БІРАҚ ЖИНАҚПЕН БІРГЕ ЖЕТКІЗІЛМЕГЕН МАТЕРИАЛДАР

- Үлгі алу түтіктері және үлгі алу үшін қажетті материал.
- 20, 100 және 500 мкл ерітінділерге арналған бір реттік ұшы бар автоматты тамызғыштар.
- Эритроциттер гемолизіне арналған пластикалық түтіктер.
- Лизистен кейін жуу әдісі пайдаланылатын эритроцит лизисінің реагенті. Мысалы: VersaLyse (Сілт A09777).
- Лейкоцит фиксация реагенті. Мысалы: IOTest 3 бекіту ерітіндісі (A07800 қараңыз).
- Изотиптік бақылау PE: IOTest реагенті (анық. A07796).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрий фосфаты; 0,145 M натрий хлориді; pH 7,2).
- Центрифугалау
- Автоматты араластырғыш (араластырғыш түрі).
- Ағын цитометрі.

VERSALYSE РЕАГЕНТІ КӨМЕГІМЕН ОРЫНДАЛАТЫН ПРОЦЕДУРА

Әрбір талданатын үлгі үшін сынақ түтігіне қосымша, жасушалар изотиптік бақылаудың қатысуымен араласатын бір бақылау түтігін пайдалану ұсынылады (анық. A07796).

1. Әрбір түтікке 20 мкл арнайы конъюгацияланған IOTest антиденесін және, қажет болса, әрбір сынақ түтігіне 20 мкл изотиптік бақылауды қосыңыз.
2. Әр түтікке сынақ үлгісінің 100 мкл қосыңыз. Түтіктерді абайлап араластырыңыз.
3. Жарықтан қорғалған бөлме температурасында (18–25°C) 15–20 минут инкубациялаңыз.
4. Содан соң қызыл жасушалардың лизисін орындаңыз. VersaLyse (анық. A09777) парақшасын қарап, жоспардан тыс дайындалған 1 мл «Бекіту және еріту» қоспасын қосудан тұратын «ілеспе бекітумен» деп аталатын процедураны орындаңыз. Бір секунд дереу араластырыңыз және жарықтан қорғалған бөлме температурасында 10 минут бойы инкубациялаңыз.
5. 150 x г шамасында 5 минут бойы бөлме температурасында центрифугалаңыз.
6. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастаңыз.
7. 3 мл PBS ерітіндісін пайдаланып, жасуша массасын қайта ерітіңіз.
8. 5-қадамды қайталаңыз.
9. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастап, жасуша массасын төмендегіні қолдану арқылы қайта ерітіңіз:

- Егер препараттар 24 сағаттан аз сақталатын болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне 0,1% формальдегид қосылады. (0,1% формальдегидті PBS ерітіндісі 12,5 мкл IOTest 3 бекіту ерітіндісін (анық. A07800) 10 еселік концентрациясында 1 мл PBS ерітіндісін сұйылту арқылы алуға болады).

- Егер 2 сағат ішінде талдануы керек болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне формальдегид қосылмайды.

Ескертпе: барлық жағдайда препараттарды 2–8°C температурада, күн көзінен алыс жерде сақтау керек.

КҮТІЛЕТІН МӘНДЕР

Біздің зертханаларда 25 тиісті дені сау донорлардан жаңа алынған қан үлгілері жоғарыда сипатталған реагентпен өңделді. Осы реагентпен қызығушылық тудыратын оң оқиғаларды санау үшін алынған нәтижелер төмендегі кестеде келтірілген:

Оңтайлы нысана	Сан	Орташа мән (%)	SD	CV (%)
Гранулоциттер	25	98,75	2,26	2,29

Бұл мәндер тек ұсыну үшін арналған. Әр зертхана қалыпты донорлардың жергілікті популяциясынан күтілетін өзіндік мәндерді белгілеуі керек.

ӨНІМДІЛІК

Өнімділік жөніндегі деректер 24 сағаттық үлгілерді пайдаланып, жоғарыда сипатталған процедура арқылы алынады. Бұл үлгілер алдын ала антикоагулянт ретінде EDTA тұзы арқылы стерильді түтіктерге жиналады. Талдау иммундық бояудан соң 2 сағат ішінде жасалады.

ЕРЕКШЕЛІГІ

CALLA гені молекулалық салмағы 100 кД құрайтын, II типті трансмембраналық гликопротеинді кодтайды. CALLA генімен байланысқан ДНҚ тізбектері 3J адам хромосомасынан табылады (10). CALLA (CD10) ерте лимфоидті ізашар жасушалар мен нейтрофилдерде көрінетін беткі фермент ретінде сипаттала отырып, мырыш металлопротеиназасы, 24.11 бейтарап эндопептидазасы (NEP, «энкефалиназа») ретінде анықталды. CD10 ферменті мет-энкефалин, формил-мет-лей-фен (f-MLP) және P затын қоса алғанда жасуша дифференциациясы мен жетілдіру процесіне қатысатын көптеген биологиялық белсенді пептидтерді гидролиздейтін қасиетімен белгілі.

ALB1 моноклоналды антиденесі 1982 жылы Францияның Париж қаласында өткен 1st HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens («Адам лейкоциттерінің дифференциациясының антигендері» атты HLDA 1-ші семинар) кезінде зерттелді (11).

ДӘЛДІК

Оң мәндердің пайызы жаңа алынған қанды қолдану арқылы анықталды. Әрбір үлгі CD10-PE моноклоналды антидене реагентінің 2 топтамасын пайдаланып 2 аспапта 1 күн бойы күніне екі рет 4 рет талданды. Өлшемдер (% оң) Navios ағын цитометрінде жүргізілді. Талдау CLSI EP5-A2 әдісі негізінде жүргізілді: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Сандық өлшеу әдістерінің дәлдік өнімділігін бағалау).

Біздің қабылдау критерийлері әрбір популяция үшін өлшенген оң оқиғалардың санына байланысты:

- Оң оқиға болса <1500, CV <15%
- Оң оқиға болса >1500, CV <10%

Гранулоциттер							
Оң оқиғалар саны (Орташа мән) = 6080							
	Аралық оператор	Цитометрараралық	Топтама ішілік	Топтама аралық	Жүгіру арасында	Жүгіру ішінде	Жалпы
CV (%)	0,04	0,04	0,06	0,01	0,01	0,04	0,07
НӘТИЖЕЛЕР	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ДҰРЫСТЫҚ

CD10-PE дұрыстығы Navios ағын цитометрінде өңделген жаңа алынған қан үлгілерінің жинағындағы, предикат ретінде анықтамалық реагентпен нәтижелерді салыстыру арқылы бағаланған. Сынақ пен анықтамалық реагент арасындағы ауытқу, сынақ нәтижелері арасындағы айырмашылық негізінде анықталған. Егер қателік рұқсат етілген қателер ауқымында болса немесе p-мәні айтарлықтай айырмашылықты көрсетпесе (>0,05), онда екі реагенттің сынау нәтижелері баламалы болып саналады.

Алынған нәтижелер келесі кестеде толық көрсетілген:

Донорлар саны = 25				
Оңтайлы нысана	Орташа мән Δ	Δ % Жасуша критерийлері	p-мәні	НӘТИЖЕЛЕР
Гранулоциттер	0,16	<5	0,001	PASS

БОС СЫНАМА ШЕГІ ЖӘНЕ АНЫҚТАУ ШЕГІ

Зерттеу CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, клиникалық зертханалық өлшеу процедураларын анықтау мүмкіндігін бағалау) нұсқауына сәйкес жүргізілді. Анықтау шегі (LOD) – бұл рет-ретімен анықтауға болатын аналиттің ең төмен концентрациясы. Алынған нәтижелер келесі кестеде жинақталған:

Positive Target	Бос сынама шегі (жасуша/мкл)	Анықтау шегі (жасуша/мкл)
Гранулоциттер	2	4

ШЕКТЕУЛЕР

1. Цитометр дұрыс бапталмаған, флуоресценттенудің ағып кетуі дұрыс өтелмеген және аймақтар мұқият орналастырмаған жағдайда, ағын цитометриясы қате нәтижелер беруі мүмкін.
2. RBC лизис әдісін жуу қадамымен пайдаланған жөн, себебі бұл реагент «жуусыз» лизис әдістері үшін оңтайландырылмаған.
3. Жүргізілген процедуралар техникалық нұсқау брошюрасына сәйкес және тиісті зертханалық тәжірибемен үйлесімді болған жағдайда ғана дұрыс, әрі жаңғыртылуы мүмкін нәтижелерді алуға болады.
4. Осы реагенттің конъюгацияланған антиденесі арнайы сигнал мен арнайы емес сигналдың ең жақсы қатынасын қамтамасыз ететіндей калибрленген. Сондықтан әрбір сынақты жүргізгенде реагент көлемінің үлгі көлеміне қатынасын сақтау маңызды.
5. гиперлейкоцитоз жағдайында шамамен 5 x 10^9 лейкоцит/л (12) мәнін алу үшін PBS ерітіндісінде қанды сұйылтыңыз.

6. Кейбір жіті бүйрек жеткіліксіздігі немесе гемоглобинопатия сияқты аурулар жағдайында, эритроциттер лизисі баяу, толық емес немесе тіпті мүмкін емес болуы мүмкін. Бұл жағдайда бояудан бұрын тығыздық градиентін (мысалы, Ficoll) пайдаланып мононуклеарлы жасушаларды оқшаулап алу ұсынылады (13).
7. Адамға қарсы моноклоналды антиденелер терапиясымен емделген пациенттерде арнайы мақсатты антигендерді анықтау емдік антиденеңің ішінара немесе толық бұғатталуына байланысты төмендеуі немесе болмауы мүмкін.
8. Нәтижелер CD10-PE пациенттің жалпы клиникалық деректері тұрғысынан түсіндірілуге тиіс, соның ішінде: симптомдар, клиникалық анамнез, қосымша сынақтардың деректері және басқа тиісті ақпарат.

Мысалдар мен анықтамалар алу үшін қосымшаны қараңыз.

САУДА БЕЛГІЛЕРІ

Beckman Coulter, стильденген логотип, сонымен қатар Beckman Coulter өнім мен қызмет көрсету белгілері –— бұл АҚШ және басқа елдердегі Beckman Coulter, Inc. сауда белгілері немесе тіркелген сауда белгілері.

ҚОСЫМША АҚПАРАТ

Еуропалық Одақтағы және бірдей реттеу режимі (зертханалық жағдайдағы медициналық диагностикалық құрылғылар туралы 2017/746/ЕО қаулысы) бар елдердегі пациент/пайдаланушы/үшінші тарап үшін; егер осы құрылғыны пайдалану кезінде немесе оны пайдалану нәтижесінде елеулі оқиға орын алса, өндірушіге және/немесе оның уәкілетті өкіліне және ұлттық органыңызға хабарлаңыз.

Қауіпсіздік пен өнімділік бойынша қорытынды мәліметтер EUDAMED дерекқорында қолжетімді: ec.europa.eu/tools/eudamed.

Өзгерту тарихы

Жағымсыз оқиға (AE) ҚАЙТА ҚАРАУ:	Шығарылған күні: Қыркүйек 2019

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AW	Ақпан 2022 ж.
Beckman Coulter ғаламдық таңбалау саясатына және IVD-R (ЕО) 2017/746 талаптарына сәйкес жасалған жаңартулар:	
Қосылған бөлімдер	«BSI 2797 нөмірі», «Мақсатты пайдаланушы», «Клиникалық маңызы», «Концентрациясы», «Анықтық», «Дұрыстық», «Бос сынама шегі және анықтау шегі», «Қосымша ақпарат», «Өзгерту тарихы».
Қосылған ақпарат	«Шектеулер» бөлімінен қараңыз
Фразалар және типографиялық жаңартулар	«Процедура», «Өнімділік», «Шектеулер», «Ескерту және сақтық шаралары» «Сақтау және тұрақтылық», «Қажетті, бірақ жинақпен бірге берілмеген материалдар» бөлімдерін қараңыз.
Жойылған бөлімдер	«Клиникалық қолдану мысалы», «Реагенттер», «Зертханаішілік жаңғыртылу», «Сызықтық»
Жаңартылған бөлімдер	«Пайдалану мақсаты», «GHS қауіптер классификациясы», «Зақымдалу белгілері», «Процедура», «Қосымша».

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AX	Маусым 2022 ж.
Қосылған ақпарат	Жаңа тіл қосу – Қазақ

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AY	Сәуір 2023
Жаңартылған бөлімдер	Сақтау және тұрақтылық

Қайта қаралған нұсқасы	AZ
Қайта қаралған күні	Мамыр 2024
Жаңартылған аудармалар	**Клиникалық маңызы:**
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Қайта қаралған нұсқасы	BA
Қайта қаралған күні	Шілде 2024
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Таңбалар пернесі

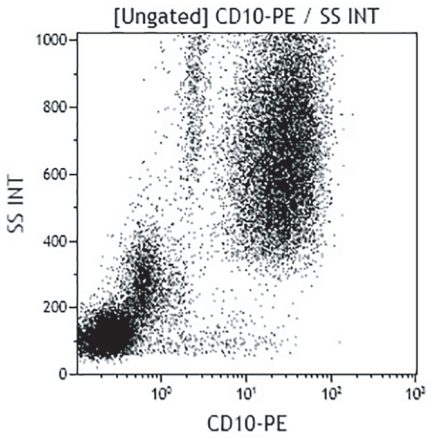
Таңбалар глоссарийі beckman.com/techdocs сайтында (құжат нөмірі: B60062) қолжетімді

APPENDIX

- EXAMPLES

Whole blood samples stained with IOTest CD10-PE Conjugated Antibody.

Acquisition is performed with a Beckman Coulter Navios flow cytometer equipped with the Navios analysis software.



REFERENCES

1. Gudowius S, Recker K, LawsA33:F41 HJ, Dirksen U, TrÃger A, Wieczorek U, Furlan S, GÃbel U, Hanenberg H; "Identification of candidate target antigens for antibody-based immunotherapy in childhood B-cell precursor ALL", Klin Padiatr. 2006 Nov-Dec.
2. Dakka N, Bellaoui H, Bouzid N, Khattab M, Bakri Y, Benjouad A, "CD10 and CD34 expression in childhood acute lymphoblastic leukemia in Morocco: clinical relevance and outcome", Pediatr Hematol Oncol. 2009 Jun.
3. Baseggio L, Berger F, Morel D, Delfau-Larue MH, Goedert G, Salles G, Magaud JP, Felman P, "Identification of circulating CD10 positive T cells in angioimmunoblastic T-cell lymphoma", Leukemia. 2006 Feb.
4. Landgren O, Albitar M, Ma W, Abbasi F, Hayes RB, Ghia P, Marti GE, Caporaso NE, "B-cell clones as early markers for chronic lymphocytic leukemia", N Engl J Med. 2009 Feb 12.
5. Cutrona G, Tasso P, Dono M, Roncella S, Ulivi M, Carpaneto EM, Fontana V, Comis M, Morabito F, Spinelli M, Frascella E, Boffa LC, Basso G, Pistoia V, Ferrarini M, "CD10 is a marker for cycling cells with propensity to apoptosis in childhood ALL", Br J Cancer. 2002 Jun 5.
6. Uherova P, Ross CW, Schnitzer B, Singleton TP, Finn WG, "The clinical significance of CD10 antigen expression in diffuse large B-cell lymphoma", Am J Clin Pathol. 2001 Apr.
7. S. Schwartz, H. Rieder, B. Schläger, T. Burmeister, L. Fischer, E. Thiel, "Expression of the human homologue of rat NG2 in adult acute lymphoblastic leukemia: close association with MLL rearrangement and a CD10(-)/CD24(-)/CD65s(+)/CD15(+) B-cell phenotype.", Leukemia. 17, 1589–1595 (2003).
8. Morice WG, Kurtin PJ, Hodnefield JM, Shanafelt TD, Hoyer JD, Remstein ED, Hanson CA, "Predictive value of blood and bone marrow flow cytometry in B-cell lymphoma classification: comparative analysis of flow cytometry and tissue biopsy in 252 patients", Mayo Clin Proc. 2008 Jul.
9. B. H. Davis, J.T. Holden, M. C. Bene, et al. "2006 Bethesda International Consensus Recommendations on the Flow Cytometric Immunophenotypic Analysis of Hematolymphoid Neoplasia: Medical Indications." Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 72B:S5-S13 (2007).
10. Barker PE1, Shipp MA, D'Adamio. The common acute lymphoblastic leukemia antigen gene maps to chromosomal region 3 (q21-q27). Immunol. 1989 Jan 1; 142(1):283-7.
11. Boucheix, C., Perrot, J.Y., Mirshahi, M., Fournier, N., Billard, M.,Giannoni, F., Bernadou, A., Rosenfeld, C., "Monoclonal antibodies against acute lymphoblastic leukemia differentiation antigens", 1984, Leucocyte Typing I, Bernard, A. et al., Springer Verlag, 671-672.
12. H42-A2 Vol.27 No. 16. P30. Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry; Approved Guideline - Second Edition.
13. Ibrahim FF, Ghannam MM, Ali FM., "Effect of dialysis on erythrocyte membrane of chronically hemodialyzed patients"., 2002. Ren Fail., Nov;24(6):779-90.

IMMUNOTECH SAS 是贝克曼库尔特公司的旗下公司，地址：130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France，电话：+(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda
Alameda Rio Negro, 500, 15 andar, Torre B Alphaville Industrial
CEP 06.454-000 Barueri, São Paulo, Brasil
CNPJ: 42.160.812/0001-44 Telefone: 0800-771-8818

製造販売業者: ベックマン·コールター株式会社
〒135-0063
東京都江東区有明三丁目5 番7号
TOC有明ウエストタワー

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

 IMMUNOTECH SAS A Beckman Coulter Company, 130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France, +(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

BECKMAN COULTER
MADE IN France

CE 2797

IOTest
Conjugated Antibody
CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

TABLE OF CONTENTS

English . . . 2
Français (France) (fr-fr) . . . 6
Deutsche (de-de) . . . 10
Italiano (it-it) . . . 15
Español (es-es) . . . 19
Português (Portugal) (pt-pt) . . . 23
Dansk (da-dk) . . . 27
Svenska (sv-se) . . . 31
Norsk (nb-no) . . . 35
Suomi (fi-fi) . . . 39
Ελληνικά (el-gr) . . . 43
日本語 (ja-jp) . . . 48
中文（中国）(zh-cn) . . . 52
Lietuvių (lt-lt) . . . 56
Magyar (hu-hu) . . . 60
Polski (pl-pl) . . . 65
Čeština (cs-cz) . . . 70
Slovák (sk-sk) . . . 74
한국어 (ko-kr) . . . 78
Türkçe (tr-tr) . . . 82
Русский (ru-ru) . . . 86
Eestlane (et-ee) . . . 91
Hrvatski (hr-hr) . . . 95
Български (bg-bg) . . . 99
中文（台灣）(zh-tw) . . . 104
Română (ro-ro) . . . 108
Slovenščina (sl-si) . . . 112
Srpski (sr-sp) . . . 116
Latviešu (lv-lv) . . . 120
Українська (uk-ua) . . . 124
Português (Brasil) (pt-br) . . . 129
Nederlands (nl-nl) . . . 133
Tiếng Việt (vi-vn) . . . 137
Қазақша (kk-kz) . . . 141
APPENDIX . . . 145
REFERENCES . . . 146

© 2024 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

	Specifications
Specificity	CD13
Clone	SJ1D1
Hybridoma	SP2/0 x balb/c
Immunogen	KG1a cell line
Immunoglobulin	IgG1
Species	Mouse
Purification	Affinity Chromatography
Fluorochrome	R Phycoerythrin (PE)
Molar ratio	PE / Ig: 0.5 - 1.5
λ excitation	488 nm
Emission Peak	575 nm
Buffer	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA and 0.1% NaN_3

IOTest
Conjugated Antibody
CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

For *In Vitro* Diagnostic Use

INTENDED USE

This fluorochrome-conjugated antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the CD13 antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

PRINCIPLE

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

Specific staining of the leucocytes is performed by incubating the sample with the IOTest reagent. The red cells are then removed by lysis and the leucocytes, which are unaffected by this process, are analyzed by flow cytometry.

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

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

INTENDED USER

This product is intended for laboratory professional use.

CLINICAL RELEVANCE

The CD13-PE is a CD13 antibody used to identify and characterize cells expressing the CD13 antigen by flow cytometry. This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.

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

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

See following references :

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

SAMPLES

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

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

The samples must be analyzed within 24 hours of venipuncture.

CONCENTRATION

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

WARNING AND PRECAUTIONS

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

6. Antibody solutions containing sodium azide (NaN_3) should be handled with care. Do not take internally and avoid all contact with the skin, mucosa and eyes.

   Moreover, in an acid medium, sodium azide can form the potentially dangerous hydrazoic acid. If it needs to be disposed of, it is recommended that the reagent be diluted in a large volume of water before pouring it into the drainage system so as to avoid the accumulation of sodium azide in metal pipes and to prevent the risk of explosion.
7. All blood samples must be considered as potentially infectious and must be handled with care (in particular: the wearing of protective gloves, gowns and goggles).
8. Never pipet by mouth, and avoid all contact of the samples with the skin, mucosa and eyes.
9. Blood tubes and disposable material used for handling should be disposed of in ad hoc containers intended for incineration.
10. Reagents and waste should be eliminated according to local requirements.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

SDS Safety Data Sheet is available at beckman.com/techdocs

STORAGE AND STABILITY

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

Closed vial shelf life per stability study: 1095 days.

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

EVIDENCE OF DETERIORATION

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

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

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).
To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

MATERIALS NEEDED BUT NOT SUPPLIED WITH KIT:

- Sampling tubes and material necessary for sampling.
- Automatic pipettes with disposable tips for 20, 100 and 500 µL.
- Plastic haemolysis tubes.
- Red cell lysis reagent with washing stage after lysis. For example: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leucocyte fixation reagent. For example : IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800).
- Isotype control PE : IOTest reagent (Ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0.01 M sodium phosphate; 0.145 M sodium chloride; pH 7.2).
- Centrifuge.
- Automatic agitator (Vortex type).
- Flow cytometer.

PROCEDURE WITH VERSALYSE REAGENT

For each sample analyzed, in addition to the test tube, one control tube can be added in which the cells are mixed in the presence of the isotype control (Ref. A07796).

1. Add 20 µL of specific IOTest conjugated antibody to each test tube and if necessary, 20 µL of the isotype control to each control tube.
2. Add 100 µL of the test sample to each tube. Vortex the tubes gently.
3. Incubate for 15 to 20 minutes at room temperature (18 – 25°C), protected from light.
4. Then perform lysis of the red cells. Refer to VersaLyse (Ref. A09777) leaflet and follow preferably the procedure called “with concomitant fixation”, which consists of adding 1 mL of the “Fix-and-Lyse” mixture prepared extemporaneously. Vortex immediately for one second and incubate for 10 minutes at room temperature, protected from light.
5. Centrifuge for 5 minutes at 150 x g at room temperature.
6. Remove the supernatant by aspiration.
7. Resuspend the cell pellet using 3 mL of PBS.
8. Repeat step 5.
9. Remove the supernatant by aspiration and resuspend the cell pellet using:

- 0.5 mL or 1 mL of PBS plus 0.1% of formaldehyde if the preparations are to be kept less than 24 hours. (A 0.1% formaldehyde PBS can be obtained by diluting 12.5 µL of the IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800) at its 10X concentration in 1 mL of PBS).
- 0.5 mL or 1 mL of PBS without formaldehyde, if the preparations are to be analyzed within 2 hours.

Note: In all cases, keep the preparations between 2 and 8°C and protected from light.

EXPECTED VALUES

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

Positive Target	Number	Mean (%)	SD	CV (%)
Monocytes	25	98.28	0.88	0.90
Granulocytes	25	99.69	0.42	0.42

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

PERFORMANCE

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

SPECIFICITY

The CD13 molecule, also known as N Aminopeptidase (APN), is a type II transmembranous metalloprotease with a molecular weight of 150 – 170 kDa. This molecule has an extensive extracellular sequence and a short intracytoplasmic region. The CD13 molecule appears to bind as a homodimer in a non-covalent manner at the surface of cells (11). The CD13 antigen is expressed early on in the granulo-monocytic line, (monocytes, neutro-phils, eosinophils and basophils) and their committed progenitors (intermediate proge-nitors forming mixed granulo-monocytic colonies or CFU-GM) (11,12,13,14).

The CD13 molecule is also expressed on cells of non-haematopoietic tissues, such as epithelial cells from the proximal renal tubules, cells making up the brush border of the intestines, endothelial cells, fibroblasts, stromal cells from bone marrow, osteoclasts and basal cells from the biliary ducts (15).

The monoclonal antibody SJ1D1 reacts in peripheral blood with monocytes, neutrophils, eosinophils and with basophils. It was assigned to CD13 during the 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens, held in Oxford, Great-Britain, in 1986 (WS Code: 285, Section M) (12).

PRECISION

The percent positive values were determined using Whole Blood. Each sample was run 4 times, twice a day for 1 day on 2 instruments using 2 lots of CD13-PE Monoclonal Antibody Reagents. Measurements (% positive) were made on Navios flow cytometer. Analysis was conducted based on the CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.

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

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

Monocytes							
Number of positive events (Mean) = 1119							
	Inter-Operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-run	Intra-run	Total
CV (%)	0.16	0.17	0.51	0.13	0.15	0.46	0.55
RESULTS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocytes							
Number of positive events (Mean) = 23248							
	Inter-Operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-run	Intra-run	Total
CV (%)	0.01	0.04	0.05	0.01	0.02	0.05	0.07
RESULTS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURACY

The accuracy of CD13-PE was assessed by comparing the results with a reference reagent as the predicate on a set of whole blood samples run on a Navios flow cytometer. The bias between test and reference reagent was determined based on the difference between test results. If the bias is within the allowable error range or the p-value indicates no significant difference (> 0.05), then test results for the two reagents are considered as equivalent.

The results obtained are summarized in the following table below:

Number of donors = 25				
Positive Target	Mean Δ	Δ % Cell criteria	p-value	RESULTS
Monocytes	-0.19	<5	0.120	PASS
Granulocytes	-0.23	<5	4.003E-03	PASS

LIMIT OF BLANK AND LIMIT OF DETECTION

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

Positive Target	Limit of Blank (cell/µL)	Limit of Detection (cell/µL)
Monocytes	0	4
Granulocytes	2	4

LIMITATIONS

1. Flow cytometry may produce false results if the cytometer has not been aligned perfectly, if fluorescence leaks have not been correctly compensated for and if the regions have not been carefully positioned.
2. It is preferable to use a RBC lysis technique with a washing step, as this reagent has not been optimized for "no wash" lysis techniques.
3. Accurate and reproducible results will be obtained as long as the procedures used are in accordance with the technical insert leaflet and compatible with good laboratory practices.

4. The conjugated antibody of this reagent is calibrated so as to offer the best specific signal/non-specific signal ratio. Therefore, it is important to adhere to the reagent volume/sample volume ratio in every test.
5. In the case of a hyperleucocytosis, dilute the blood in PBS so as to obtain a value of approximately 5 x 10^9 leucocytes/L (16).
6. In certain disease states, such as severe renal failure or haemoglobinopathies, lysis of red cells may be slow, incomplete or even impossible. In this case, it is recommended to isolate mononucleated cells using a density gradient (Ficoll, for example) prior to staining (17).
7. In patients treated with anti-human monoclonal antibody therapies, detection of the specific targeted antigens may be diminished or absent due to partial or complete blocking by the therapeutic antibody.
8. The CD13-PE results should be interpreted in light of the total clinical presentation of the patient, including: symptoms, clinical history, data from additional tests, and other appropriate information.

See the Appendix for examples and references.

TRADEMARKS

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

ADDITIONAL INFORMATION

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

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

REVISION HISTORY

REVISION AD:	Release date : October 2019

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

REVISION	**Release Date**
AX	
Updated sections	Add Kazakh
Updated sections	Storage and stability

Revised Version	AY
Revised Date	May 2024
Updated Translations	**Clinical relevance :**
Updated sections	Revision History

Symbols Key

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

	Spécifications
Spécificité	CD13
Clone	SJ1D1
Hybridome	SP2/0 x balb/c
Immunogène	KG1a cell line
Immunoglobuline	IgG1
Espèce	Souris
Purification	Chromatographie d'affinité
Fluorochrome	R Phycoerythrin (PE)
Rapport molaire	PE/Ig : 0,5 - 1,5
Excitation λ	488 nm
Pic d'émission	575 nm
Solution tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA et 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticorps conjugué CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Pour une utilisation en Diagnostic *In Vitro*

UTILISATION

Cet anticorps conjugué-fluorochrome permet l'identification qualitative non automatisée des populations de cellules exprimant l'antigène CD13 présent dans les échantillons biologiques humains à l'aide d'une cytométrie en flux (voir la section « Échantillons » ci-dessous).

PRINCIPE

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

Une coloration spécifique des leucocytes est effectuée en incubant l'échantillon avec le réactif IOTest. Les globules rouges sont ensuite supprimés par lyses et les leucocytes, qui ne sont pas affectés par cette procédure, sont analysés par cytométrie en flux.

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

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

UTILISATEUR PRÉVU

Ce produit est destiné à un usage professionnel en laboratoire.

PERTINENCE CLINIQUE

Le CD13-PE est un anticorps CD13 utilisé pour identifier et caractériser les cellules exprimant l'antigène CD13 par cytométrie en flux. Ce produit seul ne peut pas et n'est pas destiné à générer une quelconque conclusion diagnostique.

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

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

Voir les références suivantes :

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

ÉCHANTILLONS

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

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

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

CONCENTRATION

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

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Ne pas utiliser le réactif au-delà de la date de péremption.
2. Ne pas congeler.
3. Laisser le réactif passer à la température ambiante (18–25 °C) avant de l'utiliser.
4. Minimiser l'exposition à la lumière.
5. Éviter la contamination microbienne des réactifs, ou des résultats erronés peuvent se produire.
6. Les solutions d'anticorps contenant de l'azide de sodium (NaN_3) doivent être manipulées avec précautions. Ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau, les muqueuses et les yeux.

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

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

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux

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

CONSERVATION ET STABILITÉ

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

Durée de conservation du flacon fermé selon l'étude de stabilité : 1095 jours.

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

PREUVE DE DÉTÉRIORATION

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

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

CONTENU

Les agents de conservation à base d'azide de sodium peuvent former des composés explosifs dans les conduites d'évacuation métalliques. Voir le bulletin NIOSH : Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Dangers d'explosion de l'azide).
Pour éviter l'accumulation potentielle des composés d'azide, rincer les tuyaux d'évacuation à l'eau après l'élimination de réactifs non dilués. L'élimination de l'azide de sodium doit se faire conformément aux réglementations locales en vigueur.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI AVEC CE COFFRET:

- Les tubes d'échantillonnage et le matériel nécessaires pour l'échantillonnage.
- Pipettes automatiques aux embouts jetables pour 20, 100 et 500 µL.
- Tubes d'hémolyse en plastique.
- Réactif de lyse des érythrocytes avec étape de lavage post-lyse. Par exemple : VersaLyse (Réf. A09777).
- Réactif de fixation de leucocyte. Par exemple : Solution fixative IOTest 3 (Réf. A07800).
- Contrôle d'isotype PE : Réactif IOTest (Réf. A07796).
- Tampon (PBS : 0,01 M phosphate de sodium ; 0,145 M chlorure de sodium ; pH 7,2).
- Centrifugeuse.
- Agitateur automatique (type vortex).
- Cytomètre en flux.

PROCÉDURE AVEC RÉACTIF VERSALYSE

Pour chaque échantillon analysé, en plus du tube de test, un tube de contrôle peut être ajouté dans lequel les cellules sont mélangées en présence du contrôle isotypique (Réf. A07796).

1. Ajouter 20 µL d'anticorps conjugué spécifique IOTest à chaque tube de test et si nécessaire,20 µL de contrôle isotypique dans chaque tube de contrôle.
2. Ajouter 100 µL de l'échantillon à tester dans chaque tube. Vortexer doucement les tubes.
3. Incuber pendant 15 à 20 minutes à température ambiante (18–25 °C), à l'abri de la lumière.
4. Puis effectuer la lyse des globules rouges. Consulter la notice VersaLyse (Réf. A09777) et suivre de préférence la procédure appelée « with concomitant fixation » (avec fixation concomitante), qui consiste à ajouter 1 mL du mélange « Fixer et Lyser » préparé à n'importe quel moment. Vortexer immédiatement pendant une seconde et incuber pendant 10 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière.
5. Centrifuger pendant 5 minutes à 150 x g à température ambiante.
6. Retirer le surnageant par aspiration.
7. Remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant 3 mL de PBS.
8. Répéter l'étape 5.
9. Éliminer le liquide surnageant par aspiration et remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant :

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS plus 0,1 % de formaldéhyde si les préparations doivent être conservées moins de 24 heures. (Un PBS à 0,1 % de formaldéhyde peut être obtenu en diluant 12,5 µL de solution de fixation IOTest 3 (Réf. A07800) à 10 fois sa concentration dans 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sans formaldéhyde, si les préparations doivent être analysées dans les 2 heures.

Remarque : dans tous les cas, conserver les préparations entre 2 et 8 °C et à l'abri de la lumière.

VALEURS ATTENDUES

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

Cible positive	Nombre	Moyenne (%)	ET (Écart type)	CV (%)
Monocytes	25	98,28	0,88	0,90
Granulocytes	25	99,69	0,42	0,42

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

PERFORMANCE

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

SPÉCIFICITÉ

La molécule CD13, aussi appelée aminopeptidase N (APN), est une métalloprotéase transmembranaire de type II avec un poids moléculaire de 150–170 kDa. Cette molécule possède une séquence extracellulaire extensive et une courte région intracytoplasmique. La molécule CD13 semble se lier comme un homodimère de façon non covalente à la surface des cellules (11). L'antigène CD13 s'exprime de façon précoce dans la lignée granulo-monocytaire (monocytes, neutrophiles, éosinophiles et basophiles) et leurs cellules progénitrices déterminées (cellules progénitrices intermédiaires formant des colonies granulo-monocytaires mélangées ou CFU-GM) (11,12,13,14).

La molécule CD13 s'exprime également sur les cellules des tissus non hématopoïétiques, comme les cellules épithéliales provenant des tubules rénaux proximaux, les cellules formant la bordure en brosse des intestins, les cellules endothéliales, les fibroblastes, les cellules stromales provenant de la moelle épinière, les ostéoclastes et les cellules basales provenant des voies biliaires (15).

L'anticorps monoclonal SJ1D1 réagit dans le sang périphérique avec les monocytes, les neutrophiles, les éosinophiles et les basophiles. Il a été assigné au CD13 au cours du 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3ème groupe de travail et conférence internationale sur les antigènes des leucocytes humains HLDA) organisé à Oxford, en Grande-Bretagne, en 1986 (Code WS : 285, Section M) (12).

PRÉCISION

Les valeurs de percentile positives ont été déterminées à l'aide de sang total. Chaque échantillon a été analysé 4 fois, deux fois par jour pendant 1 jour sur 2 instruments à l'aide de 2 lots de réactifs d'anticorps monoclonal CD13-PE. Les mesures (% positif) ont été effectuées sur le cytomètre en flux Navios. L'analyse a été conduite conformément au document CLSI Méthode EP5-A2 : Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Évaluation de la performance de précision des méthodes de mesures quantitatives).

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

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

Monocytes							
Nombre d'événements positifs (Moyenne) = 1119							
	Inter-opérateur	Inter-cytomètre	Intra-lot	Inter-lot	Inter-analyse	Intra-analyse	Total
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
RÉSULTATS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocytes							
Nombre d'événements positifs (Moyenne) = 23248							
	Inter-opérateur	Inter-cytomètre	Intra-lot	Inter-lot	Inter-analyse	Intra-analyse	Total
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
RÉSULTATS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUDE

L'exactitude de CD13-PE a été évaluée en comparant les résultats avec un réactif de référence comme prédicat sur un ensemble d'échantillons de sang total analysé sur un cytomètre en flux Navios. L'écart systématique entre le test et le réactif de référence a été déterminé en fonction de la différence entre les résultats du test. Si l'écart systématique se situe dans la plage d'erreurs autorisée ou que la valeur p n'indique aucune différence significative (> 0,05), alors les résultats du test pour les deux réactifs sont considérés comme équivalent.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Nombre de donneurs = 25				
Cible positive	Moyenne Δ	Critères de cellules Δ %	Valeur-p	RÉSULTATS
Monocytes	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulocytes	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

LIMITE DU BLANC ET LIMITE DE DÉTECTION

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

Positive Target	Limite du blanc (cellules/µL)	Limite de détection (cellules/µL)
Monocytes	0	4
Granulocytes	2	4

LIMITES

1. La cytométrie en flux peut produire des résultats erronés si le cytomètre n'a pas été parfaitement aligné, si les fuites de fluorescence n'ont pas été correctement compensées et si les régions n'ont pas été soigneusement positionnées.
2. Il est préférable d'utiliser une technique de lyse des GR comprenant une étape de lavage, comme ce réactif n'a pas été optimisé pour les techniques de lyse « sans lavage ».
3. Des résultats précis et reproductibles seront obtenus tant que les procédures utilisées sont en conformité avec la notice technique et compatibles avec les bonnes pratiques de laboratoire.
4. L'anticorps conjugué de ce réactif est étalonné de manière à offrir le meilleur ratio de signal spécifique/signal non spécifique. Par conséquent, il est important de respecter le ratio de volume de réactif/volume d'échantillon à chaque test.
5. En cas d'hyperleucocytose, diluer le sang dans du PBS de façon à obtenir une valeur d'approximativement 5 x 10^9 leucocytes/L (16).
6. Dans certains états pathologiques, tels qu'une grave insuffisance rénale ou une hémoglobinopathie, la lyse des globules rouges peut être lente, incomplète ou même impossible. Dans ce cas, il est recommandé d'isoler les cellules mononucléées à l'aide d'un gradient de densité (Ficoll, par exemple) avant la coloration (17).
7. Chez les patients traités par thérapie d'anticorps monoclonal anti-humain, la détection d'antigènes ciblés spécifiques peut être diminuée ou absente en raison d'un blocage partiel ou total par l'anticorps thérapeutique.
8. Les résultats de CD13-PE doivent être interprétés à la lumière du tableau clinique complet du patient, y compris : les symptômes, l'anamnèse, les résultats de tests supplémentaires et toute autre information appropriée.

Voir l'annexe pour des exemples et des références.

MARQUES

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

INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES

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

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

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

RÉVISION AD :	Date de publication : octobre 2019

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

RÉVISION	**Date de publication**
AX	
Sections mises à jour	Ajouter le kazakh
Sections mises à jour	Conservation et stabilité

Version révisée	AY
Date de révision	Mai 2024
Traductions mises à jour	**Pertinence clinique :**
Sections mises à jour	Historique des révisions

Légende des symboles

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

	Spezifikationen
Spezifität	CD13
Klon	SJ1D1
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	KG1a cell line
Immunglobulin	IgG1
Spezies	Maus
Aufreinigung	Affinitätschromatografie
Fluorochrom	R Phycoerythrin (PE)
Molverhältnis	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-Anregung	488 nm
Emissionspeak	575 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA und 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugierter Antikörper CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20 µL/Test

Zur Verwendung als *In vitro*-Diagnostikum

VERWENDUNGSZWECK

Dieser mit einem Fluorochrom konjugierte Antikörper ermöglicht mithilfe der Durchflusszytometrie eine qualitative und nicht automatisierte Identifikation von Zellpopulationen, die das CD13-Antigen exprimieren, das in biologischen Proben menschlicher Herkunft vorhanden ist (siehe den Abschnitt „Proben“ unten).

PRINZIP

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

Die spezifische Färbung der Leukozyten erfolgt durch Inkubation der Probe mit dem IOTest-Reagenz. Die Erythrozyten können dann mittels Lyse entfernt werden. Die von diesem Vorgang unberührten Leukozyten werden mittels Durchflusszytometrie analysiert.

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

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

VORGESEHENER BENUTZER

Dieses Produkt ist für den Einsatz durch Laborfachkräfte vorgesehen.

KLINISCHE RELEVANZ

CD13-PE ist ein CD13-Antikörper zur durchflusszytometrischen Identifikation und Charakterisierung von Zellen, die das CD13-Antigen exprimieren. Es ist weder möglich noch vorgesehen, alleine anhand dieses Produkts zu einer diagnostischen Schlussfolgerung zu kommen.

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

- Als Hilfsmittel zur Differenzialdiagnose von hämatologisch anormalen Patienten mit Verdacht auf ein hämatopoetisches Neoplasma und zur Überwachung von Patienten mit bestätigtem hämatopoetischem Neoplasma.
- Als Hilfsmittel bei der Prognose für Patienten mit hämatopoetischem Neoplasma.

Siehe die nachstehenden Literaturhinweise:

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

PROBEN

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

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

Die Proben müssen innerhalb von 24 Stunden analysiert werden.

KONZENTRATION

Siehe das chargenspezifische Analysezertifikat unter www.beckman.com.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Das Reagenz nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden.
2. Nicht einfrieren.
3. Vor der Verwendung auf Raumtemperatur (18–25 °C) bringen.
4. Vor Licht schützen.
5. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien muss vermieden werden, damit kein falsches Ergebnis erzielt wird.
6. Antikörperlösungen, die Natriumazid (NaN_3) enthalten, vorsichtig handhaben. Nicht einnehmen und Berührungen mit Haut, Schleimhäuten und Augen vermeiden.

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

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

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft

SDS Das Sicherheitsdatenblatt ist auf beckman.com/techdocs verfügbar.

LAGERUNG UND STABILITÄT

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

Haltbarkeit der geschlossenen Durchstechflasche gemäß Stabilitätsstudie: 1095 Tage.

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

VERFALLSANZEICHEN

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

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

INHALT

Natriumazid als Konservierungsmittel kann in metallischen Abflussleitungen explosive Verbindungen bilden. Siehe NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (NIOSH-Bulletin: Gefahr durch explosive Azide).
Um eine mögliche Akkumulation von Azidverbindungen zu vermeiden, die Abwasserrohre nach der Entsorgung von unverdünntem Reagenz mit Wasser spülen. Natriumazid muss entsprechend den örtlichen behördlichen Vorschriften entsorgt werden.

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT IM KIT ENTHALTENE ARTIKEL:

- Probenahmeröhrchen und für die Probenahme benötigte Materialien.
- Automatische Pipetten mit Einwegspritzen für 20, 100 und 500 µL.
- Hämolyseröhrchen aus Kunststoff.
- Reagenz zur Lyse der Erythrozyten mit Waschstufe nach der Lyse. Beispiel: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagenz zur Leukozytenfixierung. Beispiel: IOTest 3-Fixierungslösung (Ref. A07800).
- Isotypkontrolle PE: IOTest-Reagenz (Ref. A07796).
- Puffer (PBS: 0,01 M Natriumphosphat; 0,145 M Natriumchlorid; pH 7,2).
- Zentrifuge.
- Automatisches Mischgerät (Typ Vortex-Mischer).
- Durchflusszytometer.

VERFAHREN MIT VERSALYSE-REAGENZ

Für jede analysierte Probe kann zusätzlich zum Teströhrchen noch ein Kontrollröhrchen verwendet werden, in dem die Zellen in Gegenwart der Isotypkontrolle (Ref. A07796) gemischt werden.

1. 20 µL des spezifischen konjugierten IOTest-Antikörpers in jedes Teströhrchen und bei Bedarf 20 µL der Isotypkontrolle in jedes Kontrollröhrchen geben.
2. 100 µL der Testprobe in jedes Röhrchen geben. Die Röhrchen sachte mittels Vortex-Mischer mischen.
3. Bei Raumtemperatur (18–25 °C) 15 bis 20 Minuten lang lichtgeschützt inkubieren.
4. Im Anschluss die Erythrozyten lysieren. Das Merkblatt für VersaLyse (Ref. A09777) beachten und vorzugsweise das Verfahren mit dem Titel „with concomitant fixation“ (mit gleichzeitiger Fixierung) befolgen, das eine Zugabe von 1 mL des spontan zubereiteten „Fix-and-Lyse“(Fixierung und Lyse)-Gemisches vorsieht. Sofort eine Sekunde lang auf dem Vortex-Mischer mischen und 10 Minuten lang lichtgeschützt bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Bei 150 x g 5 Minuten lang bei Raumtemperatur zentrifugieren.
6. Den Überstand absaugen.
7. Das Zellpellet in 3 mL PBS resuspendieren.
8. Schritt 5 wiederholen.
9. Den Überstand absaugen und das Zellpellet resuspendieren mit:

- 0,5 mL oder 1 mL PBS plus 0,1 % Formaldehyd, wenn die Präparate weniger als 24 Stunden aufbewahrt werden sollen. (Ein 0,1%iges Formaldehyd-PBS-Gemisch kann hergestellt werden, indem 12,5 µL der IOTest 3-Fixierlösung (Ref. A07800) bei 10-facher Konzentration in 1 mL PBS verdünnt werden.)
- 0,5 mL oder 1 mL PBS ohne Formaldehyd, wenn die Präparate innerhalb von weniger als 2 Stunden analysiert werden sollen.

Hinweis: Die Präparate in jedem Fall zwischen 2 und 8 °C und vor Licht geschützt aufbewahren.

ERWARTETE WERTE

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

Positives Ziel	Nummer	Mittelwert (%)	SD	VK (%)
Monozyten	25	98,28	0,88	0,90
Granulozyten	25	99,69	0,42	0,42

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

LEISTUNG

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

SPEZIFITÄT

Das Molekül CD13, auch als N-Aminopeptidase (APN) bekannt, ist eine transmembrane Metalloprotease vom Typ II mit einem Molekulargewicht von 150–170 kDa. Dieses Molekül besitzt eine extensive extrazellulare Sequenz und eine kurze intrazytoplasmische Region. Das Molekül CD13 bindet sich scheinbar als Homodimer auf nicht kovalente Weise an die Oberfläche von Zellen (11). Das Antigen CD13 wird früh in der granulo-monozytischen Linie (Monozyten, Neutrophile, Eosinophile und Basophile) und ihren zugehörigen Vorfahren (Zwischenvorfahren bilden gemischte granulo-monozytische Kolonien oder CFU-GM) exprimiert (11,12,13,14).

Das CD13-Molekül wird ebenfalls auf Zellen nicht hämatopoetischen Gewebes exprimiert, beispielsweise bei Epithelzellen aus den proximalen Nierentubuli, Zellen, aus denen der Bürstensaum der Därme besteht, auf endothelialen Zellen, Fibroblasten, Bindegewebszellen aus dem Knochenmark, Osteoklasten und basalen Zellen aus den Gallenröhren (15).

Der monoklonale Antikörper SJ1D1 reagiert in peripherem Blut mit Monozyten, Neutrophilen, Eosinophilen und Basophilen. Das Antigen wurde 1986 auf dem 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Dritter HLDA-Workshop zu menschlichen Leukozyten-Differenzierungsantigenen) in Oxford, Großbritannien (WS-Code: 285, Abschnitt M) dem Molekül CD13 zugeordnet (12).

PRÄZISION

Die prozentualen positiven Werte wurden unter Verwendung von Vollblut bestimmt. Jede Probe wurde zweimal täglich 1 Tag lang unter Verwendung von 2 Chargen der Reagenzien mit dem monoklonalen Antikörper CD13-PE 4 Mal auf 2 Instrumenten analysiert. Messungen (% positiv) wurden mit dem Navios-Durchflusszytometer vorgenommen. Die Analyse folgte den Vorgaben der CLSI-Methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Beurteilung der Präzisionsleistung von quantitativen Messmethoden).

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

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

Monozyten							
Anzahl der positiven Ereignisse (Mittelwert) = 1119							
	Zwischen Bedienern	Zwischen Durchflusszytometern	Innerhalb einer Charge	Zwischen Chargen	Zwischen Läufen	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
VK (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
ERGEBNISSE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulozyten							
Anzahl der positiven Ereignisse (Mittelwert) = 23248							
	Zwischen Bedienern	Zwischen Durchflusszytometern	Innerhalb einer Charge	Zwischen Chargen	Zwischen Läufen	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
VK (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
ERGEBNISSE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit von CD13-PE wurde anhand eines Vergleichs der Ergebnisse mit einem Referenzreagenz als Prädikat für einen Satz aus Vollblutproben bewertet, die auf einem Navios-Durchflusszytometer analysiert wurden. Die Abweichung zwischen Test- und Referenzreagenz wurde auf der Grundlage der Differenz zwischen Testergebnissen bestimmt. Sollte die Abweichung innerhalb des zulässigen Fehlerbereichs liegen oder der p-Wert keine signifikante Differenz (> 0,05) nahelegen, gelten die Testergebnisse für die beiden Reagenzien als gleichwertig.

Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Anzahl der Spender = 25				
Positives Ziel	Mittelwert Δ	Δ % Zellkriterien	p-Wert	ERGEBNISSE
Monozyten	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulozyten	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

GRENZWERT FÜR LEERWERT UND NACHWEISGRENZE

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

Positive Target	Grenzwert für Leerwert (Zelle/µL)	Nachweisgrenze (Zelle/µL)
Monozyten	0	4
Granulozyten	2	4

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Die Durchflusszytometrie kann falsche Ergebnisse liefern, wenn das Zytometer nicht perfekt ausgerichtet wurde, wenn Fluoreszenzlecks nicht korrekt kompensiert wurden und wenn die Bereiche nicht sorgfältig positioniert wurden.
2. Vorzugsweise sollte eine ERY-Lysetechnik mit einem Waschschritt angewandt werden, da dieses Reagenz nicht für Lysetechniken ohne Waschen optimiert wurde.
3. Genaue und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, sofern die verwendeten Verfahren der technischen Packungsbeilage entsprechen und mit der guten Laborpraxis kompatibel sind.
4. Der konjugierte Antikörper dieses Reagenzes ist so kalibriert, dass er das beste Verhältnis von spezifischem zu unspezifischem Signal bietet. Daher ist es wichtig, das Verhältnis Reagenzvolumen/Probenvolumen bei jedem Test einzuhalten.
5. Im Falle einer Hyperleukozytose das Blut in PBS verdünnen, um einen Wert von ungefähr 5 x 10^9 Leukozyten/L zu erhalten(16).
6. Bei bestimmten Krankheitszuständen, beispielsweise einem schweren Nierenversagen oder Hämoglobinopathien, kann die Lyse der Erythrozyten möglicherweise nur langsam oder unvollständig erfolgen oder sogar unmöglich sein. In diesem Fall empfiehlt es sich, vor dem Färben einkernige Zellen mittels eines Dichtegradienten (beispielsweise Ficoll) zu isolieren (17).
7. Bei Patienten, die sich Therapien mit anti-humanen monoklonalen Antikörpern unterziehen, kann das Nachweisvermögen für die spezifischen anvisierten Antigene aufgrund einer teilweisen oder vollständigen Blockierung durch die therapeutischen Antikörper vermindert sein oder gänzlich ausbleiben.
8. Die Ergebnisse für CD13-PE müssen unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde für den Patienten interpretiert werden, einschließlich Symptomen, klinischer Vorgeschichte, Daten zusätzlicher Tests sowie sonstiger relevanter Informationen.

Beispiele und Literaturhinweise siehe Anhang.

MARKEN

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

WEITERE INFORMATIONEN

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

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

REVISIONSVERLAUF

REVISION AD:	Freigabedatum: Oktober 2019

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

REVISION	**Freigabedatum**
AX	
Aktualisierte Abschnitte	Kasachisch hinzufügen
Aktualisierte Abschnitte	Lagerung und Stabilität

Überarbeitete Version	AY
Überarbeitungsdatum	Mai 2024
Aktualisierte Übersetzungen	**Klinische Relevanz:**
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Liste der Symbole

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

	Specifiche
Specificità	CD13
Clone	SJ1D1
Ibridoma	SP2/0 x balb/c
Immunogeno	KG1a cell line
Immunoglobulina	IgG1
Specie	Topo
Purificazione	Cromatografia di affinità
Fluorocromo	R Phycoerythrin (PE)
Rapporto molare	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Eccitazione λ	488 nm
Picco di emissione	575 nm
Tampone	PBS pH 7,2 più 2 mg/mL di BSA e NaN_3 0,1%

IOTest
Anticorpo coniugato CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Per uso diagnostico *in vitro*

USO PREVISTO

Questo anticorpo coniugato con fluorocromo consente l'identificazione qualitativa e non automatizzata di popolazioni cellulari che esprimono l'antigene CD13 presente nei campioni biologici umani mediante citometria a flusso (vedere la sezione "Campioni" di seguito).

PRINCIPIO

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

La colorazione specifica dei leucociti viene eseguita incubando il campione con il reagente IOTest. Gli eritrociti vengono quindi rimossi tramite lisi e i leucociti, non interessati da questo processo, vengono analizzati tramite citometria a flusso.

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

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

UTENTE PREVISTO

Questo prodotto è destinato all'uso professionale in laboratorio.

RILEVANZA CLINICA

CD13-PE è un anticorpo CD13 utilizzato per identificare e caratterizzare le cellule che esprimono l'antigene CD13 mediante citometria a flusso. Questo prodotto da solo non può e non intende generare alcuna conclusione diagnostica.

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

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

Vedere i riferimenti seguenti:

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

CAMPIONI

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

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

I campioni devono essere analizzati entro 24 ore dalla venipuntura.

CONCENTRAZIONE

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

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza.
2. Non congelare.
3. Prima dell'uso, portare a temperatura ambiente (18-25 °C).
4. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce.
5. Evitare la contaminazione microbica dei reagenti, poiché potrebbe falsare i risultati.
6. Le soluzioni di anticorpi che contengono sodio azide (NaN_3) devono essere maneggiate con cura. Non ingerire ed evitare qualsiasi contatto con cute, mucose e occhi.

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

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

CLASSIFICAZIONE DEI PERICOLI GHS

Classificato come non pericoloso

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

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

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

Durata di conservazione della fiala chiusa secondo studi di stabilità: 1095 giorni.

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

INDICI DI DETERIORAMENTO

Qualsiasi cambiamento dell'aspetto fisico dei reagenti può indicare un deterioramento. In tale caso, non utilizzare il reagente.

Per ulteriori informazioni, o nel caso in cui il prodotto ricevuto risulti danneggiato, rivolgersi all'assistenza clienti Beckman Coulter al numero 800-742-2345 (USA o Canada) o mettersi in contatto con il rappresentante locale Beckman Coulter.

SOMMARIO

Il conservante sodio azide può formare composti esplosivi nelle tubazioni metalliche di scarico. Vedere il bollettino NIOSH: Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Bollettino dell'Istituto Nazionale per la Sicurezza e la Salute sul Lavoro: Rischio di esplosione del sodio azide).
Per evitare il possibile accumulo di azidi, lavare i tubi di scarico con acqua dopo lo smaltimento del reagente puro. Il sodio azide deve essere eliminato conformemente alle normative locali applicabili.

COMPONENTI NECESSARI MA NON FORNITI CON IL KIT:

- Provette per campioni e materiale necessario per il campionamento.
- Pipette automatiche con punte monouso per 20, 100 e 500 µL.
- Provette per emolisi in plastica.
- Reagente per lisi degli eritrociti con fase di lavaggio successiva alla lisi. Ad esempio: VersaLyse (Rif. A09777).
- Reagente di fissaggio dei leucociti. Ad esempio: Soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800).
- Controllo di isotipo PE: reagente IOTest (Rif. A07796).
- Tampone (PBS: 0,01 M di fosfato di sodio, 0,145 M di cloruro di sodio, pH 7,2).
- Centrifugare.
- Agitatore automatico (tipo Vortex).
- Citometro a flusso.

PROCEDURA CON REAGENTE VERSALYSE

Per ogni campione analizzato, oltre alla provetta del test, si può aggiungere una provetta di controllo in cui miscelare le cellule in presenza di controllo di isotipo (Rif. A07796).

1. Aggiungere 20 µL di anticorpo coniugato IOTest specifico in ogni provetta del test e, se necessario, 20 µL di controllo di isotipo in ogni provetta di controllo.
2. Aggiungere 100 µL di campione del test in ogni provetta. Agitare delicatamente le provette con Vortex.
3. Incubare a temperatura ambiente (18-25 °C) per 15-20 minuti, al riparo dalla luce.
4. Quindi eseguire la lisi degli eritrociti. Consultare il foglietto illustrativo di VersaLyse (Rif. A09777) e seguire preferibilmente la procedura denominata "with concomitant fixation" (con fissazione concomitante), che consiste nell'aggiungere 1 mL della miscela fissante e lisante preparata estemporaneamente. Miscelare immediatamente con Vortex per un secondo e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente, al riparo dalla luce.
5. Centrifugare per 5 minuti a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Rimuovere il surnatante mediante aspirazione.
7. Risospendere il pellet cellulare utilizzando 3 mL di PBS.
8. Ripetere il passaggio 5.
9. Eliminare il surnatante tramite aspirazione e risospendere il pellet cellulare tramite:

- 0,5 mL o 1 mL di PBS più 0,1% di formaldeide, se i preparati devono essere conservati per meno di 24 ore. È possibile ottenere PBS con formaldeide allo 0,1% diluendo 12,5 µL di soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800) alla sua concentrazione di 10X in 1 mL di PBS.
- 0,5 mL o 1 mL di PBS senza formaldeide, se i preparati devono essere analizzati entro 2 ore.

Nota: in tutti i casi, mantenere i preparati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce.

VALORI ATTESI

Nei nostri laboratori, i campioni di sangue intero di donatori apparentemente sani 25 sono stati trattati utilizzando il reagente descritto sopra. I risultati ottenuti dal conteggio degli eventi positivi pertinenti a questo reagente sono riportati nella tabella di seguito:

Target positivo	Numero	Media (%)	SD	CV (%)
Monociti	25	98,28	0,88	0,90
Granulociti	25	99,69	0,42	0,42

Tali valori sono forniti unicamente a scopo indicativo. Ogni laboratorio deve definire i propri valori attesi a partire dalla popolazione locale di donatori normali.

PRESTAZIONI

I dati delle prestazioni si ottengono adottando la procedura descritta in precedenza su campioni di sangue raccolti da meno di 24 ore in provette sterili con anticoagulante EDTA. L'analisi viene eseguita entro 2 ore dall'immunocolorazione.

SPECIFICITÀ

La molecola CD13, nota anche come aminopeptidasi N (APN), è una metalloproteasi transmembranale di tipo II con peso molecolare di 150–170 kDa. Questa molecola presenta una sequenza extracellulare estesa e una regione intracitoplasmatica breve. La molecola CD13 sembra legarsi come omodimero in modo non covalente alla superficie delle cellule (11). L'antigene CD13 viene espresso precocemente nella linea granulo-monocitica (monociti, neutrofili, eosinofili e basofili) e nei rispettivi progenitori (progenitori intermedi che formano colonie granulo-monocitiche miste o CFU-GM) (11,12,13,14).

La molecola CD13 viene anche espressa su cellule di tessuti non ematopoietici, come cellule epiteliali dei tubuli renali prossimali, cellule che costituiscono l'orletto a spazzola dell'intestino, cellule endoteliali, fibroblasti, cellule stromali del midollo osseo, osteoclasti e cellule basali dei dotti biliari (15).

L'anticorpo monoclonale SJ1D1 reagisce nel sangue periferico con monociti, neutrofili, eosinofili e basofili. È stato assegnato a CD13 durante il 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (III Workshop HLDA sugli antigeni di differenziazione dei leucociti umani), tenutosi a Oxford, Regno Unito, nel 1986 (Codice WS: 285, Sezione M) (12).

PRECISIONE

I valori percentuali positivi sono stati determinati utilizzando sangue intero. Ogni campione è stato analizzato 4 volte, due volte al giorno per 1 giorno su 2 strumenti utilizzando 2 lotti di reagenti per anticorpi monoclonali CD13-PE. Le misurazioni (% positive) sono state eseguite sul citometro a flusso Navios. L'analisi è stata condotta secondo il metodo EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Valutazione delle prestazioni di precisione dei metodi di misurazione quantitativa).

I nostri criteri di accettazione dipendono dal numero di eventi positivi misurati per ogni popolazione:

- Se evento positivo < 1.500, CV < 15%
- Se evento positivo > 1.500, CV < 10%

Monociti							
Numero di eventi positivi (media) = 1119							
	Inter-operatore	Inter-citometro	Intra-lotto	Inter-lotto	Inter-analisi	Intra-analisi	Totale
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
RISULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulociti							
Numero di eventi positivi (media) = 23248							
	Inter-operatore	Inter-citometro	Intra-lotto	Inter-lotto	Inter-analisi	Intra-analisi	Totale
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
RISULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURATEZZA

L'accuratezza di CD13-PE è stata valutata confrontando i risultati con un reagente di riferimento come predicato su una serie di campioni di sangue intero eseguiti su un citometro a flusso Navios. La distorsione tra il reagente in esame e quello di riferimento è stata determinata in base alla differenza tra i risultati del test. Se la distorsione rientra nell'intervallo di errore consentito o il valore p indica che non vi è una differenza significativa (> 0,05), allora i risultati dei test per i due reagenti sono considerati equivalenti.

I risultati ottenuti sono riepilogati nella tabella seguente:

Numero di donatori = 25				
Target positivo	Δ medio	Criteri cellulari Δ %	Valore p	RISULTATI
Monociti	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulociti	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

LIMITE DEL BIANCO E LIMITE DI RILEVAZIONE

È stato effettuato uno studio in conformità al documento EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Valutazione delle capacità di rilevamento delle procedure di misurazione del laboratorio clinico). Il limite di rilevazione (LoD) è la più bassa concentrazione di analita che può essere costantemente rilevata. I risultati ottenuti sono riepilogati nella seguente tabella:

Positive Target	Limite del bianco (cellula/µL)	Limite di rilevazione (cellula/µL)
Monociti	0	4
Granulociti	2	4

LIMITAZIONI

1. La citometria a flusso può produrre falsi risultati se il citometro non viene allineato perfettamente, le perdite di fluorescenza non vengono correttamente compensate e le regioni non vengono posizionate attentamente.

2. È preferibile utilizzare una tecnica di lisi RBC con una fase di lavaggio, in quanto il reagente non è stato ottimizzato per tecniche di lisi "senza lavaggio".
3. Seguendo le procedure descritte nel foglietto illustrativo con le informazioni tecniche, compatibili con le buone pratiche di laboratorio, è possibile ottenere risultati accurati e riproducibili.
4. L'anticorpo coniugato di questo reagente è calibrato in modo da offrire un rapporto segnale specifico/segnale non specifico ottimale. Di conseguenza, è importante rispettare il rapporto fra volume di reagente e volume di campione in tutti i test.
5. In caso di iperleucocitosi, diluire il sangue in PBS in modo da ottenere un valore di circa 5 x 10^9 leucociti/L (16).
6. In alcuni stati patologici, come insufficienza renale grave o emoglobinopatie, la lisi degli eritrociti può risultare lenta, incompleta o persino impossibile. In questo caso, è consigliabile isolare le cellule mononucleate usando un gradiente di densità (ad esempio, Ficoll) prima della colorazione (17).
7. In pazienti trattati con terapie a base di anticorpi monoclonali anti-umani, il rilevamento di antigeni specifici può essere minore o assente a causa del blocco parziale o completo da parte dell'anticorpo terapeutico.
8. I risultati CD13-PE devono essere interpretati alla luce del quadro clinico completo del paziente che comprende: sintomatologia, anamnesi clinica, risultati di altri test e altre informazioni appropriate.

Per esempi e riferimenti, vedere l'appendice.

MARCHI COMMERCIALI

Beckman Coulter, il logo stilizzato ed i marchi commerciali dei prodotti e servizi di Beckman Coulter menzionati qui, sono marchi commerciali o marchi commerciali registrati di Beckman Coulter, Inc., negli Stati Uniti e in altri paesi.

INFORMAZIONI AGGIUNTIVE

Per un paziente/utente/terza parte nell'Unione Europea e in paesi con identico regime normativo (Regolamento 2017/746/UE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro): se, durante l'utilizzo di questo dispositivo o in seguito al suo utilizzo, si fosse verificato un incidente grave, si prega di segnalarlo al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e all'autorità nazionale competente.

Il Summary of Safety and Performance (Sintesi relativa alla sicurezza e alle prestazioni) è disponibile nel database EUDAMED all'indirizzo: ec.europa.eu/tools/eudamed.

CRONOLOGIA REVISIONI

REVISIONE AD:	Data di pubblicazione: Ottobre 2019

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AW	Febbraio 2022
Aggiornamenti conformi alla politica sull'etichettatura globale di Beckman Coulter e ai requisiti IVD-R (UE)2017/746:	
Sezioni aggiunte	Numero BSI 2797, Utente previsto, Rilevanza clinica, Concentrazione, Precisione, Accuratezza, Limite del bianco e limite di rilevazione, Informazioni aggiuntive, Cronologia revisioni.
Aggiunta di informazioni	Vedere le sezioni Limitazioni
Aggiornamenti testuali o tipografici	Vedere le sezioni Procedura, Prestazioni, Limitazioni, Avvertenze e precauzioni, Conservazione e stabilità.
Sezioni rimosse	Esempio di applicazioni cliniche, Reagenti, Riproducibilità intra-laboratorio, Linearità
Sezioni aggiornate	Uso previsto, Classificazione pericoli GHS, Indici di deterioramento, Procedura, Appendice.

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AX	
Sezioni aggiornate	Aggiungere la lingua kazaka
Sezioni aggiornate	Conservazione e stabilità

Versione revisionata	AY
Data di revisione	Maggio 2024
Traduzioni aggiornate	**Rilevanza clinica:**
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Legenda dei simboli

Il Glossario dei simboli è disponibile all'indirizzo beckman.com/techdocs (documento numero B60062)

	Especificaciones
Especificidad	CD13
Clon	SJ1D1
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Inmunógeno	KG1a cell line
Inmunoglobulina	IgG1
Especie	Ratón
Purificación	Cromatografía de afinidad
Fluorocromo	R Phycoerythrin (PE)
Proporción molar	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Excitación λ	488 nm
Pico de emisión	575 nm
Tampón	PBS pH 7,2 más 2 mg/mL BSA y 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticuerpo conjugado CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20 µL/prueba

Para uso diagnóstico *in vitro*

USO PREVISTO

Este anticuerpo conjugado con un fluorocromo permite la identificación cualitativa y no automatizada de poblaciones de células que expresan el antígeno CD13 presente en muestras biológicas humanas mediante citometría de flujo (véase la sección «Muestras» más adelante).

PRINCIPIO

Esta prueba se basa en la capacidad de anticuerpos monoclonales específicos para unirse a los determinantes antigénicos expresados por leucocitos.

La tinción específica de los leucocitos se realiza incubando la muestra con el reactivo IOTest. A continuación, se eliminan los eritrocitos mediante lisis y los leucocitos, que no se ven afectados por este proceso, se analizan mediante citometría de flujo.

El citómetro de flujo mide la dispersión de la luz y la fluorescencia de las células. Permite acotar la población de interés dentro de una ventana electrónica, definida en un histograma que correlaciona la dispersión lateral de luz (Side Scatter o SS) con la dispersión frontal de la luz (Forward Scatter o FS). Se pueden utilizar otros histogramas que combinen dos de los distintos parámetros disponibles en el citómetro como apoyo para la fase de selección en función de la aplicación utilizada por el usuario.

La fluorescencia de las células acotadas se analiza para distinguir los eventos con tinción positiva de los eventos sin teñir. Los resultados se expresan como un porcentaje de eventos positivos en relación con todos los eventos adquiridos mediante la selección.

USUARIO PREVISTO

Este producto está diseñado para su uso en un laboratorio profesional.

IMPORTANCIA CLÍNICA

El reactivo CD13-PE es un anticuerpo frente a CD13 utilizado para identificar y caracterizar células que expresan el antígeno CD13 mediante citometría de flujo. Este producto por sí solo no puede y no está diseñado para generar una conclusión diagnóstica.

Cuando se usa en combinación con otros marcadores, este producto puede utilizarse en una o más de las siguientes funciones:

- Ayudar al diagnóstico diferencial de pacientes con anomalías hematológicas en los que se sospecha la presencia de una neoplasia hematopoyética y realizar el seguimiento de pacientes con una neoplasia hematopoyética conocida.
- Ayudar en el pronóstico de pacientes que padecen una neoplasia hematopoyética.

Consulte las siguientes referencias:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MUESTRAS

La sangre venosa debe recogerse en tubos de muestra estériles que contengan una sal de EDTA como anticoagulante.

Las muestras deben mantenerse a temperatura ambiente (18-25 °C) y no agitarse. Antes de tomar la muestra de prueba, es necesario homogeneizarla mediante una agitación suave.

Las muestras deben analizarse en el plazo de 24 horas tras la venopunción.

CONCENTRACIÓN

Consulte el certificado de análisis específico del lote en www.beckman.com.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. No use el reactivo después de la fecha de caducidad.
2. No lo congele.
3. Déjelo a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su utilización.
4. Minimice el tiempo de exposición a la luz.
5. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, ya que esto puede provocar resultados falsos.
6. Las soluciones de anticuerpo que contienen azida sódica (NaN_3) deben manipularse con precaución. No ingerir y evitar todo contacto con la piel, la mucosa y los ojos.

Asimismo, en un medio ácido, la azida sódica puede formar ácido hidrazoico potencialmente peligroso. Cuando se vaya a desechar, se recomienda diluir el reactivo en abundante agua antes de verterlo en el sistema de drenaje para evitar la acumulación de azida sódica en tubos metálicos y el riesgo de explosión.

7. Todas las muestras sanguíneas deben considerarse posiblemente infecciosas y deben manipularse con cuidado (en especial, hay que llevar guantes, bata y gafas de protección).
8. No pipetee nunca con la boca y evite todo contacto de las muestras con la piel, las mucosas y los ojos.
9. Los tubos para sangre y el material desechable utilizados para la manipulación deben eliminarse en recipientes especiales previstos para la incineración.
10. Los reactivos y los desechos deben eliminarse de acuerdo con los requisitos locales.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico

SDS La hoja de datos de seguridad está disponible en beckman.com/techdocs

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Este reactivo debe conservarse entre 2 y 8 °C en un lugar protegido de la luz, antes y después de abrir el vial.

Vida útil del vial cerrado según estudio de estabilidad: 1095 días.

Estabilidad del vial abierto: el reactivo es estable durante 180 días.

SIGNOS DE DETERIORO

Cualquier cambio en el aspecto físico de los reactivos puede indicar un deterioro, por lo que no debe utilizarse el reactivo.

Para obtener información adicional o si el producto está dañado, llame al servicio de atención al cliente de Beckman Coulter en el 800-742-2345 (EE. UU. o Canadá) o póngase en contacto con su representante local de Beckman Coulter.

CONTENIDO

El conservante de azida sódica puede formar compuestos explosivos en las tuberías metálicas del desagüe. Véase el NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Boletín de NIOSH: Peligro de explosión con la azida) (16/8/76).
Para evitar la posible acumulación de compuestos de azida, limpie con agua los tubos de desagüe tras la eliminación del reactivo sin diluir. Para desechar la azida sódica deben seguirse las normativas locales adecuadas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS CON EL KIT:

- Tubos y material de muestras necesarios para el muestreo.
- Pipetas automáticas para puntas desechables de 20, 100 y 500 µL.
- Tubos de hemólisis de plástico.
- Reactivo de lisis de glóbulos rojos con estado de lavado después de la lisis. Por ejemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reactivo de fijación de leucocitos. Por ejemplo: Solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800).
- Control de isotipo PE: Reactivo IOTest (Ref. A07796).
- Tampón (PBS: 0,01 M de fosfato de sodio; 0,145 M de cloruro sódico; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de flujo.

PROCEDIMIENTO CON EL REACTIVO VERSALYSE

Para cada muestra analizada, además del tubo de ensayo, se puede añadir un tubo de control en el que se mezclan las células en presencia de los controles de isotipo (Ref. A07796).

1. Añadir 20 µL de anticuerpos conjugados específicos IOTest a cada tubo de muestra problema y, si es necesario, 20 µL del control de isotipo a cada tubo de control.
2. Añadir 100 µL de la muestra problema a cada tubo. Mezclar suavemente los tubos en el Vórtex.
3. Incube entre 15 y 20 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C) y protegido de la luz.
4. A continuación, lleve a cabo la lisis de los eritrocitos. Consulte la ficha técnica VersaLyse (Ref. A09777) y siga preferiblemente el procedimiento denominado «with conconmitant fixation» (con fijación concomitante), que consiste en añadir 1 mL de la mezcla «Fijar y lisar» preparada extemporáneamente. Agite inmediatamente con vórtex durante un segundo e incube durante 10 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Elimine el sobrenadante mediante aspiración.
7. Vuelva a suspender el sedimento celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita el paso 5.
9. Retire el sobrenadante mediante aspiración y vuelva a suspender el sedimento celular con:

- 0,5 mL o 1 mL de PBS más el 0,1 % de formaldehído si las preparaciones deben conservarse menos de 24 horas. (Se puede obtener un 0,1 % de PBS de formaldehído mediante la dilución de 12,5 µL de la solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800) a su concentración de 10x en 1 mL de PBS).
- 0,5 mL o 1 mL de PBS sin formaldehído si las preparaciones deben analizarse en un plazo de 2 horas.

Nota: En todos los casos, mantenga las preparaciones protegidas de la luz entre 2 y 8 °C.

VALORES ESPERADOS

Se trataron en nuestros laboratorios las muestras de sangre total de 25 donantes aparentemente sanos utilizando el reactivo descrito. Los resultados obtenidos del recuento de eventos de interés positivos con este reactivo se proporcionan en la siguiente tabla:

Objetivo positivo	Cantidad	Media (%)	DE	CV (%)
Monocitos	25	98,28	0,88	0,90
Granulocitos	25	99,69	0,42	0,42

Estos valores tienen carácter meramente ilustrativo. Cada laboratorio deberá establecer sus valores esperados según la población local de donantes normales.

RENDIMIENTO

Los datos de rendimiento se obtuvieron utilizando el procedimiento descrito anteriormente en muestras de sangre con menos de 24 horas desde su extracción en tubos estériles con sal de EDTA como anticoagulante. El análisis se realizó en el plazo de 2 horas desde su inmunotinción.

ESPECIFICIDAD

La molécula CD13, también conocida como la aminopeptidasa N (APN), es una metaloproteinasa transmembranosa de tipo II con un peso molecular de 150-170 kDa. Esta molécula tiene una secuencia extracelular extensa y una corta región intracitoplásmica. Parece que la molécula CD13 se une como un homodímero en una forma no covalente en la superficie de las células (11). El antígeno CD13 se expresa de forma temprana en la línea granulo-monocítica, (monocitos, neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y sus progenitores comprometidos (progenitores intermedios formadores de colonias gránulo-monocíticas mezcladas o CFU-GM) (11,12,13,14).

La molécula CD13 también se expresa en las células de tejidos no hematopoyéticos, como las células epiteliales de los túbulos renales proximales, células que forman el borde ciliado de los intestinos, células endoteliales, fibroblastos, células estromales de la médula ósea, osteoclastos y células basales de los conductos biliares (15).

El anticuerpo monoclonal SJ1D1 reacciona en la sangre periférica con monocitos, neutrófilos, eosinófilos y basófilos. Fue asignado a la CD13 en el transcurso del 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3.er Taller de HLDA sobre los antígenos de diferenciación de los leucocitos humanos), celebrado en Oxford, Gran Bretaña, en 1986 (WS Código: 285, Sección M) (12).

PRECISIÓN

Los valores porcentuales positivos se determinaron utilizando sangre total. Cada muestra se procesó 4 veces, dos veces al día durante 1 día en 2 instrumentos utilizando 2 lotes de reactivos de anticuerpo monoclonal CD13-PE. Las mediciones (% de positivos) se realizaron en un citómetro de flujo Navios. El análisis se realizó según el método EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluación del rendimiento de la precisión de los métodos de medición cuantitativos).

Nuestro criterio de aceptación depende del número de eventos positivos determinado en cada población:

- Si el número de eventos positivos es < 1500, CV < 15 %
- Si el número de eventos positivos es > 1500, CV < 10 %

Monocitos							
Número de eventos positivos (media) = 1119							
	Entre operadores	Entre citómetros	Intralote	Entre lotes	Entre análisis	Intraanálisis	Total
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocitos							
Número de eventos positivos (media) = 23248							
	Entre operadores	Entre citómetros	Intralote	Entre lotes	Entre análisis	Intraanálisis	Total
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUD

La exactitud de CD13-PE se evaluó comparando los resultados con un reactivo de referencia como valor previsto en un conjunto de muestras de sangre total procesadas en un citómetro de flujo Navios. El sesgo entre la muestra problema y el reactivo de referencia se determinó en función de la diferencia entre los resultados de la prueba. Si el sesgo está dentro del rango de error permitido o el valor p indica una diferencia no significativa (> 0,05), entonces los resultados de la prueba de los dos reactivos se consideran equivalentes.

Los resultados obtenidos se resumen en la tabla que se muestra a continuación:

Número de donantes = 25				
Objetivo positivo	Δ medio	Criterios de Δ % de células	Valor p	RESULTADOS
Monocitos	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulocitos	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

LÍMITE DE BLANCO Y LÍMITE DE DETECCIÓN

Se realizó un estudio conforme a la norma EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluación de la capacidad de detección para procedimientos de medición en laboratorios clínicos). El límite de detección (LD) es la concentración de analito más baja que se puede detectar sistemáticamente. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla siguiente:

Positive Target	Límite de Blanco (células/µL)	Límite de Detección (células/µL)
Monocitos	0	4
Granulocitos	2	4

LIMITACIONES

1. La citometría de flujo puede producir resultados falsos si el citómetro no se ha alineado a la perfección, si las fugas de fluorescencia no se han compensado correctamente y si las regiones no se han colocado con atención.
2. Es preferible utilizar una técnica de lisis de ERIT con un paso de lavado, ya que este reactivo no se ha optimizado para técnicas de lisis «sin lavado».
3. Se obtendrán resultados exactos y reproducibles siempre que los procedimientos utilizados sean conformes al folleto técnico y compatibles con las prácticas correctas de laboratorio.
4. El anticuerpo conjugado de este reactivo se calibra para ofrecer la mejor relación de señal específica/señal no específica. Por lo tanto, es importante cumplir la relación de volumen del reactivo/volumen de la muestra en cada prueba.
5. En caso de hiperleucocitosis, diluya la sangre en PBS para obtener un valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucocitos/L (16).
6. En algunos estados de la enfermedad, como el fallo renal grave o las hemoglobinopatías, la lisis de los eritrocitos puede ser lenta, incompleta o incluso imposible. En este caso, se recomienda aislar las células mononucleares por gradiente de densidad (por ejemplo, Ficoll) antes de la tinción (17).
7. En pacientes tratados con terapias con anticuerpos monoclonales anti-humanos, la detección de los antígenos diana específicos puede estar disminuida o ausente debido al bloqueo parcial o completo por el anticuerpo terapéutico.
8. Los resultados de CD13-PE deben interpretarse a la luz del cuadro clínico total del paciente, incluidos: síntomas, historial clínico, datos de pruebas adicionales y demás información pertinente.

Consulte el anexo para ver ejemplos y referencias.

MARCAS COMERCIALES

Beckman Coulter, el logotipo estilizado y las marcas de productos y servicios de Beckman Coulter aquí mencionadas son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de Beckman Coulter, Inc. en Estados Unidos y otros países.

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para pacientes/usuarios/terceros de la Unión Europea y países con el mismo régimen normativo (Reglamento 2017/746/UE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro); si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produjese un incidente grave, informe al fabricante y/o a su representante autorizado y a la autoridad nacional.

El Summary of Safety and Performance (Resumen de seguridad y rendimiento) está disponible en la base de datos EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIAL DE REVISIONES

REVISIÓN AD:	Fecha de publicación: Octubre de 2019

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AW	Febrero de 2022
Actualizaciones para cumplir con la política de etiquetado global de Beckman Coulter y conforme a los requisitos del Reglamento (UE)2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro:	
Se han añadido secciones	Número BSI 2797, Usuario previsto, Rendimiento clínico, Concentración, Precisión, Exactitud, Límite de blanco y límite de detección, Información adicional, Historial de revisiones.
Información añadida	Véase la sección Limitaciones
Actualizaciones de redacción y tipográficas	Véanse las secciones Procedimiento, Rendimiento, Limitaciones, Advertencias y precauciones, Conservación y Estabilidad.
Se han eliminado secciones	Ejemplo de aplicaciones clínicas, Reactivos, Reproducibilidad intralaboratorio, Linealidad
Se han actualizado las secciones	Uso previsto, Clasificación de material peligroso según el SGA, Signos de deterioro, Procedimiento, Anexo.

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AX	
Se han actualizado las secciones	Añadir kazajo
Se han actualizado las secciones	Conservación y Estabilidad

Versión revisada	AY
Fecha de revisión	Mayo 2024
Traducciones actualizadas	**Relevancia clínica:**
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Lista de símbolos

El glosario de símbolos está disponible en beckman.com/techdocs (número de documento B60062)

	Especificações
Especificidade	CD13
Clone	SJ1D1
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunogénio	KG1a cell line
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Rato
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	R Phycoerythrin (PE)
Razão molar	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	575 nm
Tampão	PBS com pH 7,2 mais 2 mg/mL de ASB e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20 µL/teste

Para fins de diagnóstico *in vitro*

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Este anticorpo conjugado com fluorocromos permite a identificação qualitativa e não automatizada de populações de células que expressam o antigénio CD13 presente em amostras biológicas humanas utilizando citometria de fluxo (consulte a secção «Amostras» abaixo).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade de os anticorpos monoclonais específicos se ligarem aos determinantes antigénicos expressados por leucócitos.

A coloração específica dos leucócitos é realizada incubando a amostra com o reagente IOTest. Em seguida, os glóbulos vermelhos são removidos por lise e os leucócitos, que não são afetados por este processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citómetro de fluxo mede a difusão de luz e a fluorescência das células. Permite delimitar a população de interesse dentro da janela eletrónica definida num histograma que correlaciona a difusão ortogonal de luz (dispersão lateral ou DL) e a difusão de luz em ângulos estreitos (dispersão frontal ou DF). É possível utilizar outros histogramas que combinam dois dos vários parâmetros disponíveis no citómetro como suporte na fase de delimitação, consoante a aplicação escolhida pelo utilizador.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são apresentados como uma percentagem de eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos por meio da delimitação.

UTILIZADOR PREVISTO

Este produto destina-se a ser utilizado por profissionais de laboratório.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD13-PE é um anticorpo de CD13 utilizado para identificar e caracterizar células que expressam o antigénio CD13 por citometria de fluxo. Este produto, por si só, não pode e não se destina a gerar qualquer conclusão de diagnóstico.

Quando utilizado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser utilizado numa ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com alterações hematológicas, suspeitos de padecerem de neoplasia hematopoiética, e para monitorizar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.
- Para auxiliar no prognóstico de pacientes com neoplasia hematopoiética.

Consulte as seguintes referências:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

AMOSTRAS

O sangue venoso deve ser recolhido utilizando tubos estéreis que contenham um sal de AEDT como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas à temperatura ambiente (18–25 °C) e não devem ser agitadas. As amostras devem ser homogeneizadas, agitando-as levemente, antes de a amostra de teste ser retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a punção venosa.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o Certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não utilize o reagente depois da data de validade.
2. Não congele.
3. Aguarde que fique à temperatura ambiente (18–25 °C) antes da utilização.
4. Evite a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, caso contrário, poderão ocorrer falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos que contêm azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não ingira e evite qualquer contacto com a pele, as mucosas e os olhos.

Adicionalmente, num meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazóico potencialmente perigoso. Se a sua eliminação for necessária, é recomendável que o reagente seja diluído num grande volume de água antes de ser vertido no sistema de drenagem, para evitar a acumulação de azida sódica em tubos metálicos e prevenir o risco de explosão.

7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas potencialmente infeciosas e manuseadas com cuidado (em especial, devem ser usados óculos, batas e luvas de proteção).
8. Nunca pipete com a boca e evite qualquer contacto das amostras com a pele, as mucosas e os olhos.
9. Os tubos de sangue e os materiais descartáveis utilizados para manuseamento devem ser eliminados em recipientes específicos destinados a incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Ficha de dados de segurança está disponível em beckman.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido a uma temperatura entre 2 e 8 °C e protegido da luz, antes e após a abertura do frasco.

Vida útil em frasco fechado para estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente permanece estável durante 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DEGRADAÇÃO

Uma alteração no aspeto físico dos reagentes poderá indicar deterioração, pelo que o reagente não deve ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, contacte a assistência ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou contacte o seu representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em sistemas de canalizações metálicas. Consulte o boletim do NIOSH: Explosive Azide Hazards (Perigos de explosão da azida) (16-8-76).
Para evitar a possível acumulação de compostos de azida, enxague as condutas de resíduos com água após a eliminação do reagente não diluído. A eliminação de azida sódica deve ser efetuada de acordo com os regulamentos locais adequados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostras e materiais necessários para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 20, 100 e 500 µL.
- Tubos de plástico para hemólise.
- Reagente de lise de glóbulos vermelhos com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controlo de isotipo PE de : reagente IOTest (Ref. A07796).
- Tampão (PBS: 0,01 M de fosfato de sódio; 0,145 M de cloreto de sódio; pH 7,2).
- Centrifugue.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM REAGENTE VERSALYSE

Além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controlo a cada amostra analisada, no qual as células são misturadas na presença do controlo de isotipo (Ref. A07796).

1. Adicione 20 µL de anticorpo conjugado com IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 20 µL dos controlos de isotipo a cada tubo de controlo.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos à temperatura ambiente (18–25 °C), protegido da luz.
4. Em seguida, realize a lise dos glóbulos vermelhos. Consulte o folheto VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento denominado «with concomitant fixation» (com fixação concomitante) que consiste em adicionar 1 mL da mistura de «Fixação e lise» preparada extemporaneamente. Agite imediatamente em vórtex durante um segundo e incube durante 10 minutos à temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g à temperatura ambiente.
6. Remova o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular com 3 mL de PBS.
8. Repita o passo 5.
9. Remova o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular com o seguinte:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído se as preparações se destinarem a ser mantidas por menos de 24 horas. (É possível obter PBS com 0,1% de formaldeído diluindo 12,5 µL de solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na respetiva concentração de 10X em 1 mL de SSTF).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído se as preparações se destinarem a ser analisadas no prazo de 2 horas.

Nota: Mantenha sempre as preparações entre 2 e 8 °C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Nos nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 dadores aparentemente saudáveis foram tratadas utilizando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos de interesse positivos com este reagente são fornecidos na tabela abaixo:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP	CV (%)
Monócitos	25	98,28	0,88	0,90
Granulócitos	25	99,69	0,42	0,42

Estes valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores esperados a partir da população local de dadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos utilizando o procedimento descrito acima em amostras de sangue colhidas há menos de 24 horas em tubos de amostra estéreis com sal de AEDT como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

A molécula CD13, também conhecida como Aminopeptidase N (APN), é uma metaloprotease transmembranar de tipo II com um peso molecular de 150 a 170 kDa. Esta molécula possui uma sequência extracelular extensa e uma pequena região intracitoplasmática. A molécula CD13 parece ligar-se como um homodímero de uma forma não covalente na superfície das células (11). O antigénio CD13 está expresso logo no início da linhagem de granulócitos-monócitos (monócitos, neutrófilos, eosinófilos e basófilos) e seus progenitores comprometidos (progenitores intermédios que formam colónias mistas de granulócitos-monócitos ou UFC-GM) (11,12,13,14).

A molécula CD13 também é expressa em células de tecidos não-hematopoiéticos, como células epiteliais dos túbulos renais proximais, células que formam a borda em escova do intestino, células endoteliais, fibroblastos, células estromais da medula óssea, osteoclastos e células basais dos ductos biliares (15).

O anticorpo monoclonal SJ1D1 reage em sangue periférico com monócitos, neutrófilos, eosinófilos e basófilos. Foi atribuído a CD13 durante o 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3.º workshop HLDA sobre antigénios de diferenciação de leucócitos humanos) em Oxford, Grã-Bretanha, em 1986 (Código WS: 285, Secção M) (12).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados utilizando sangue total. Cada amostra foi executada 4 vezes, duas vezes por dia para 1 dia em 2 instrumentos, utilizando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD13-PE. As medições (% de positivos) foram realizadas no citómetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação do desempenho de precisão dos métodos de medição quantitativos).

Os nossos critérios de aceitação estão dependentes do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Em caso de eventos positivos <1500, CV <15%
- Em caso de eventos positivos >1500, CV <10%

Monócitos							
Número de eventos positivos (média) = 1119							
	Interoperador	Intercitómetro	Intralote	Interlote	Interprocessamento	Intraprocessamento	Total
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulócitos							
Número de eventos positivos (média) = 23248							
	Interoperador	Intercitómetro	Intralote	Interlote	Interprocessamento	Intraprocessamento	Total
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD13-PE foi avaliada através da comparação dos resultados com um reagente de referência como equivalente, num conjunto de amostras de sangue total executadas num citómetro de fluxo Navios. A tendência entre o teste e o reagente de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados do teste. Se a tendência se encontrar dentro do intervalo de erro permitido ou o valor p não indicar uma diferença significativa (>0,05), os resultados do teste de ambos os reagentes são considerados equivalentes.

Os resultados obtidos encontram-se resumidos na tabela abaixo:

Número de dadores = 25				
Alvo positivo	Δ médio	Critérios celulares de % Δ	Valor p	RESULTADOS
Monócitos	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulócitos	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

LIMITE DO BRANCO E LIMITE DE DETEÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com o CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de deteção para procedimentos de medição em laboratórios clínicos). O Limite de deteção (LD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detetada consistentemente. Os resultados obtidos são resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite do branco (célula/µL)	Limite de deteção (célula/µL)
Monócitos	0	4
Granulócitos	2	4

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo poderá produzir falsos resultados se o citómetro não tiver sido perfeitamente alinhado, se as fugas de fluorescência não tiverem sido compensadas corretamente e se as regiões não tiverem sido cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível utilizar uma técnica de lise de RBC com um passo de lavagem, uma vez que este reagente não foi otimizado para técnicas de lise «sem lavagem».
3. Serão obtidos resultados exatos e reprodutíveis desde que os procedimentos utilizados estejam de acordo com o folheto técnico e cumpram as boas práticas laboratoriais.
4. O anticorpo conjugado deste reagente é calibrado para proporcionar a melhor relação entre sinal específico/sinal não específico. Por conseguinte, é importante respeitar a relação entre volume do reagente/volume da amostra em todos os testes.
5. No caso de uma hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (16).
6. Em determinados estados de doença, como insuficiência renal grave ou hemoglobinopatias, a lise de glóbulos vermelhos poderá ser lenta, incompleta ou até impossível. Neste caso, recomenda-se isolar células mononucleadas utilizando um gradiente de densidade (por exemplo, Ficoll) antes da coloração (17).
7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a deteção dos antigénios específicos visados pode ser reduzida ou inexistente devido ao bloqueio parcial ou total causado pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de CD13-PE devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, historial clínico, dados de testes adicionais e outras informações relevantes.

Consulte o Anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logótipo estilizado e as marcas de produtos e serviços da Beckman Coulter mencionadas neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e noutros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/utilizador/terceiro na União Europeia e em países com um regime regulamentar idêntico (Regulamento 2017/746/UE relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico in vitro): se, durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, ocorrer um incidente grave, comunique-o ao fabricante e/ou ao respetivo representante autorizado e à autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível a partir da base de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÕES

REVISÃO AD:	Data de lançamento: Outubro de 2019

REVISÃO	**Data de lançamento**
AW	Fevereiro de 2022
Atualizações no sentido de cumprir a política de rotulagem da Beckman Coulter Global e os requisitos do regulamento IVD-R (UE)2017/746:	
Secções adicionadas	Número BSI 2797, Utilizador previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite do branco e limite de deteção, Informações adicionais, Histórico de revisões.
Informações adicionadas	Consulte as secções Limitações
Atualizações à fraseologia ou tipografia	Consulte as secções Procedimento, Realização, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Secções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Secções atualizadas	Utilização prevista, Classificação de perigo GHS, Indícios de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de lançamento**
AX	
Secções atualizadas	Adicionar cazaque
Secções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revista	AY
Data de revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (número do documento B60062)

	Specifikationer
Specificitet	CD13
Klon	SJ1D1
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	KG1a cell line
Immunoglobulin	IgG1
Arter	Mus
Oprensning	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molarforhold	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-magnetisering	488 nm
Emissionsspids	575 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA og 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugeret antistof CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Til *in vitro*-diagnostisk brug

TILSIGTET BRUG

Dette fluorokromkonjugerede antistof muliggør, ved hjælp af flowcytometri, kvalitativ og ikke-automatiseret identifikation af cellepopulationer, der udtrykker CD13-antigenet, som findes i humane biologiske prøver (se afsnittet ”Prøver” forneden).

PRINCIP

Denne test er baseret på specifikke monoklonale antistoffers evne til at binde sig til de antigene determinanter, der udtrykkes af leukocytter.

Den specifikke farvning af leukocytterne udføres ved inkubation af prøven med IOTest-reagenset. Erytrocytterne fjernes derefter med lysering, og leukocytterne, som ikke påvirkes af denne proces, analyseres ved flowcytometri.

Flowcytometeret måler lysets diffusion og cellernes fluorescens. Dette gør det muligt at afgrænse interessepopulationen inden for det elektroniske vindue, der defineres på et histogram, som korrelerer den ortogonale diffusion af lys (Side Scatter (sidespredning) eller SS) og diffusionen af lys med en snæver vinkel (Forward Scatter (forlæns spredning) eller FS). Andre histogrammer, der kombinerer to af de forskellige parametre, der er til rådighed på cytometret, kan benyttes som støtte under gating-trinnet, afhængig af den af brugeren valgte applikation.

De afgrænsede cellers fluorescens analyseres med henblik på at kunne skelne de positive farvningshændelser fra de ufarvede. Resultaterne udtrykkes som en procentdel af positive hændelser i relation til alle de hændelser, som erhverves ved gatingen.

TILSIGTET BRUGER

Dette produkt er beregnet til professionel brug i laboratoriet.

KLINISK RELEVANS

CD13-PE er et CD13-antistof, der anvendes til at identificere og karakterisere celler, der udtrykker CD13-antigenet ved flowcytometri. Dette produkt, anvendt alene, kan ikke og er ikke beregnet til at generere nogen diagnostisk konklusion.

Anvendt i kombination med andre markører kan dette produkt benyttes i en eller flere af følgende funktioner:

- Til hjælp ved differentialdiagnosticering af hæmatologisk unormale patienter ved formodning om hæmatopoietisk neoplasme, samt til overvågning af patienter med kendt hæmatopoietisk neoplasme.
- Til hjælp ved prognosticering af patienter med hæmatologisk neoplasi.

Se følgende referencer:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PRØVER

Prøver af venøst blod skal udtages i sterile prøverør, der indeholder et EDTA-salt som antikoagulant.

Prøverne skal opbevares ved stuetemperatur (18-25 °C) og må ikke rystes. Prøverne skal homogeniseres ved forsigtig omrysten før udtagning af analyseprøven.

Prøverne skal behandles inden for 24 timer efter venepunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analysecertifikat på www.beckman.com.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Brug ikke reagenset efter udløbsdatoen.
2. Må ikke nedfryses.
3. Bring det til stuetemperatur (18-25 °C) før brug.
4. Minimér eksponering for lys.
5. Undgå mikrobiel kontaminering reagenserne, idet det kan føre til fejlagtige resultater.
6. Antistofopløsninger, der indeholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsigtighed. Må ikke indtages, og undgå enhver kontakt med hud, slimhinder og øjne.

I syremedier kan natriumazid desuden danne den potentielt farlige hydrogenazid. Hvis det skal bortskaffes, anbefales det, at reagenset fortyndes i en stor mængde vand, inden det hældes i kloakken, for at undgå ophobning af natriumazid i metalrør og dermed forebygge risikoen for eksplosioner.

7. Alle blodprøver skal anses som potentielt smittefarlige og skal behandles forsigtigt (husk især at bruge beskyttelseshandsker, forklæde og beskyttelsesbriller).
8. Sug aldrig med munden, og undgå at prøverne kommer i kontakt med hud, slimhinde og øjne.
9. Blodprøvetagningsrør og engangsmateriale, der bruges i forbindelse med håndteringen, skal bortskaffes i ad hoc-beholdere, der er beregnet til bortskaffelse.
10. Reagenser og affald skal bortskaffes i henhold til gældende lokale krav.

GHS FAREKLASSIFIKATION

Ikke klassificeret som farlig

SDS Sikkerhedsdatablad findes på beckman.com/techdocs

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Dette reagens skal opbevares ved mellem 2 og 8 °C og beskyttes mod lys før og efter, at hætteglasset er åbnet.

Stabilitet i lukket hætteglas: 1095 dage.

Stabilitet i åbent hætteglas: Reagenset er stabilt i 180 dage.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Ændringer i den måde, reagenset ser ud på, kan være tegn på forringelse, og reagenset må ikke anvendes.

Ring til Beckman Coulters kundeservice på 800-742-2345 (USA eller Canada), eller kontakt den lokale Beckman Coulter-repræsentant for at få flere oplysninger, eller hvis du modtager et beskadiget produkt.

INDHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive forbindelser i drænledninger af metal. Se NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (Fare for eksplosiv azid). For at undgå en eventuel akkumulering af azidforbindelser, skylles afløbsrør med vand efter bortskaffelse af ufortyndet reagens. Natriumazid skal bortskaffes i overensstemmelse med relevante lokale forskrifter.

PÅKRÆVEDE MATERIALER, SOM IKKE LEVERES MED SÆT:

- Prøvetagningsrør og materiale, der er påkrævet til prøvetagning.
- Automatiske pipetter med engangsspidser til 20, 100 og 500 µL.
- Plasthæmolyserør.
- Reagens til lysering af erytrocytter med vaskefase efter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens til leukocytfiksering. For eksempel: IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800).
- IsotypekontrolPE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumphosphat; 0,145 M natriumchlorid; pH 7,2).
- Centrifuge
- Automatisk omrører (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MED VERSALYSE-REAGENS

Der kan tilføjes et kontrolrør for hvert prøverør, der analyseres, hvormed cellerne blandes under isotype-kontrollerne (ref. A07796).

1. Tilføj 20 µL specifikt IOTest-konjugeret antistof til hvert prøverør og, om nødvendigt, 20 µL negativ kontrol til hvert kontrolprøverør.
2. Tilføj 100 µL af prøven til hvert prøverør. Vortex rørene forsigtigt.
3. Inkubér i 15 til 20 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C), beskyttet mod lys.
4. Udfør derefter analyse af de røde celler. Se brochure fra VersaLyse (ref. A09777) og følg den foretrukne procedure kaldet “med sideløbende fiksering”, som består i at tilsætte 1 mL af blandingen “Fix-and-Lyse”, der fremstilles samtidig. Vortex øjeblikkeligt i et sekund, og inkubér i 10 minutter ved stuetemperatur, beskyttet imod lys.
5. Centrifugér i 5 minutter ved 150 x g ved stuetemperatur.
6. Fjern supernatanten via aspiration.
7. Resuspender cellepelleten med 3 mL PBS.
8. Gentag trin 5.
9. Fjern supernatanten vha. aspiration, og resuspender cellepelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyd, hvis præparaterne skal opbevares mindre end 24 timer. (En formaldehyd-PBS på 0,1% kan opnås ved fortynding af 12,5 µL af IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800) ved dets 10X koncentration i 1 mL af PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uden formaldehyd, hvis præparaterne skal analyseres inden for 2 timer.

Bemærk: Præparaterne skal under alle omstændigheder beskyttes mod lys og opbevares ved 2-8 °C.

FORVENTEDE VÆRDIER

I vores laboratorier blev fuldblodsprøver, fra 25 umiddelbart raske donorer, behandlet med det ovenfor beskrevne reagens. De opnåede resultater for optælling af relevante positive hændelser med dette reagens er angivet i nedenstående tabel:

Positivt mål	Antal	Middelværdi (%)	SD	CV (%)
Monocytter	25	98,28	0,88	0,90
Granulocytter	25	99,69	0,42	0,42

Disse værdier er beregnet til kun at være repræsentative. Hvert laboratorium bør fastlægge deres egne forventede værdier fra den lokale population af raske donorer.

YDEEVNE

Præstationsdata opnås, når proceduren beskrevet foroven, anvendes på mindre end 24 timer gamle blodprøver, tidligere indsamlet i sterile prøverør med EDTA-salt som antikoagulant. Analyse skal foretages senest 2 timer efter immunfarvning.

SPECIFICITET

CD13-molekylet, også kendt som N Aminopeptidase (APN), er en type II transmembranøs metalloprotease med en molekylvægt på 150-170 kDa. Dette molekyle har en omfattende ekstracellulær sekvens og en kort intracytoplasmisk region. CD13-molekylet binder sig tilsyneladende som en homodimer på en ikke-kovalent måde på celleoverfladen (11). CD13-antigenet udtrykkes tidligt i den granulo-monocytiske linje (monocytter, neutrofiler, eosinofiler og basofiler) og i deres tilknyttede progenitorceller (mellemliggende progenitorer, der danner blandede granulo-monocytiske kolonier eller CFU-GM) (11,12,13,14).

CD13-molekylet udtrykkes også på celler i ikke-hæmatopoietiske væv, såsom epitelceller fra de proximale nyretubuli, celler, der udgør tarmens børstegrænse, endotelceller, fibroblaster, stromaceller fra knoglemarv, osteoklaster og basalceller fra galdegangene (15).

Det monoklonale antistof SJ1D1 reagerer i perifert blod med monocytter, neutrofiler, eosinofiler og med basofiler. Det blev tildelt CD13 under den 3. HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (HLDA-workshop om humane leukocytdifferentieringsantigener), afholdt i Oxford, Storbritannien, i 1986 (WS-kode: 285, afsnit M) (12).

PRÆCISION

De procentvise positive værdier blev bestemt ved anvendelse af fuldblod. Hver prøve blev kørt 4 gange, to gange dagligt i 1 dag, på 2 instrumenter med CD13-PE monoklonale antistofreagenser fra 2 lots. Målingerne (% positiv) blev foretaget på Navios-flowcytometer. Analysen blev udført i henhold til CLSI-protokollen EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering af kvantitative målemetoders præcisionsevne).

Vores acceptkriterier afhænger af antallet af positive hændelser målt for hver population:

- Hvis positiv hændelse < 1500, CV < 15%
- Hvis positiv hændelse > 1500, CV < 10%

Monocytter							
Antal positive hændelser (middelværdi) = 1119							
	Inter-operatør	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-kørsel	Intra-kørsel	I alt
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocytter							
Antal positive hændelser (middelværdi) = 23248							
	Inter-operatør	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-kørsel	Intra-kørsel	I alt
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØJAGTIGHED

Nøjagtigheden af CD13-PE blev vurderet ved sammenligning af resultaterne med et referencereagens som prædikat på et sæt fuldblodsprøver, kørt på et Navios-flowcytometer. Bias mellem test- og referencereagens blev bestemt på basis af forskellen mellem testresultaterne. Hvis bias er inden for det tilladte fejlområde, eller hvis p-værdien ikke indikerer nogen signifikant forskel (> 0,05), anses testresultaterne for de to reagenser for at være ækvivalente.

De opnåede resultater opsummeres i nedenstående tabel:

Antal donorer = 25				
Positivt mål	Middelværdi Δ	Δ % cellekriterie	p-værdi	RESULTATER
Monocytter	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulocytter	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

GRÆNSE FOR BLANK OG DETEKTIONSGRÆNSE

En undersøgelse blev gennemført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering af detektionsevne for kliniske laboratoriemåleprocedurer). Detektionsgrænsen (LOD) er den laveste koncentration af analyt, der kan detekteres konsekvent. De opnåede resultater er opsummeret i nedenstående tabel:

Positive Target	Grænse for blank (celle/µL)	Detektionsgrænse (celle/µL)
Monocytter	0	4
Granulocytter	2	4

BEGRÆNSNINGER

1. Flowcytometri kan give forkerte resultater, hvis cytometeret ikke er perfekt justeret, hvis der ikke er blevet kompenseret korrekt for fluorescenslækager, eller hvis områderne ikke er blevet placeret omhyggeligt.
2. Det anbefales at anvende en RBC-lyseringsteknik med et vasketrin, da dette reagens ikke er blevet optimeret til ”no wash”-lyseringsteknikker.
3. Der genereres nøjagtige og reproducerbare resultater, så længe de anvendte procedurer er i overensstemmelse med de tekniske anvisninger på indlæsgssedlen og god laboratoriepraksis.

4. Det konjugerede antistof for dette reagens kalibreres for at kunne tilbyde det bedste specifikke forhold mellem signal/ikke-specifikt signal. Det er derfor vigtigt at overholde forholdet mellem reagensvolumen og prøvevolumen i hver enkelt test.
5. I tilfælde af en hyperleukocytose skal blodet fortyndes i PBS for at opnå en værdi på ca. 5 x 10^9 leukocytter/L (16).
6. I visse sygdomstilstande, f.eks. alvorligt nyresvigt eller hæmoglobinopatier, kan lysering af røde celler være langsom, ufuldstændig eller endog umulig. I dette tilfælde anbefales det at isolere enkernede celler ved hjælp af en densitetsgradient (f.eks. Ficoll) forud for farvningen (17).
7. Hos patienter behandlet med anti-humane monoklonale antistofterapier, kan påvisning af de respektive specifikke antigener være formindsket eller fraværende, på grund af delvis eller fuldstændig blokering af det terapeutiske antistof.
8. CD13-PE-resultaterne bør fortolkes i lyset af patientens samlede kliniske præsentation, herunder symptomer, sygehistorie, data fra andre tests samt anden relevant information.

Se Tillæg for eksempler og referencer.

VAREMÆRKER

Beckman Coulter, det stiliserede logo og de Beckman Coulter produkt- og servicemærker, der er omtalt heri, er varemærker eller registrerede varemærker tilhørende Beckman Coulter, Inc. i USA og andre lande.

YDERLIGERE OPLYSNINGER

For en patient/bruger/tredjepart i Den Europæiske Union og i lande med identisk lovgivningsmæssig reguleringsordning (forordning 2017/746/EU om medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik); hvis der er sket en alvorlig hændelse under brugen af dette apparat eller som et resultat af dens anvendelse, skal du rapportere den til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og til din nationale myndighed.

Summary of Safety and Performance (Sammenfatning af Sikkerhed og Ydeevne) er tilgængeligt fra EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVISION AD:	Frigivelsesdato: Oktober 2019

REVISION	**Udgivelsesdato**
AW	Februar 2022
Opdateringer for at sikre overholdelse af Beckman Coulters globale mærkningspolitik og overensstemmelse med IVD-R (EU)2017/746:	
Tilføjede afsnit	BSI 2797-nummer, Tilsigtet bruger, Klinisk relevans, Koncentration, Præcision, Nøjagtighed, Grænse for blank og detektionsgrænse, Yderligere oplysninger, Revisionshistorik.
Tilføjet information	Se afsnittet Begrænsninger
Opdatering af formulering eller typografi	Se afsnittene Procedure, Præstation, Begrænsninger, Advarsel og forholdsregler, Opbevaring og Holdbarhed.
Fjernede afsnit	Eksempel på klinisk anvendelse, Reagenser, Intra-laboratorie reproducerbarhed, Linearitet
Opdaterede afsnit	Tilsigtet brug, GHS-fareklassifikation, Tegn på forringelse, Procedure, Tillæg.

REVISION	**Udgivelsesdato**
AX	
Opdaterede afsnit	Kasakhisk er blevet tilføjet
Opdaterede afsnit	Opbevaring og holdbarhed

Revideret version	AY
Revisionsdato	Maj 2024
Opdaterede oversættelser	**Klinisk relevans:**
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Symbolnøgle

En ordliste over symboler findes på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Specifikationer
Specificitet	CD13
Klon	SJ1D1
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	KG1a cell line
Immunglobulin	IgG1
Arter	Mus
Rening	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molförhållande	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ excitering	488 nm
Emissionstopp	575 nm
Buffert	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA och 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugerad antikropp CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

För *in vitro*-diagnostik

AVSEDD ANVÄNDNING

Denna fluorokromkonjugerade antikropp möjliggör kvalitativ och ej automatiserad identifiering av cellpopulationer som uttrycker CD13-antigenet som förekommer i humana biologiska prover med användning av flödescytometri (se avsnittet ”Prov” nedan).

PRINCIP

Detta test är baserat på förmågan hos specifika monoklonala antikroppar att bindas till de antigena determinanter som uttrycks av leukocyter.

Specifik färgning av leukocyterna utförs genom att inkubera provet med IOTest-reagenset. De röda cellerna avlägsnas sedan via lysering och leukocyterna, som inte påverkas av denna process, analyseras med flödescytometri.

Flödescytometern mäter ljusdiffusion och fluorescens av celler. Det möjliggör avgränsningen av populationen av intresse i det elektroniska fönstret definierat i ett histogram, som korrelerar den rätvinkliga ljusspridningen (sidospridning eller SS) och spridningen av snävt ljus (framåtspridning eller FS). Andra histogram som kombinerar två av de tillgängliga parametrarna på cytometern, kan användas som stöd i gating-skedet beroende på tillämpningen som användaren har valt.

Fluorescensen av de begränsade cellerna analyseras för att skilja ut positivt färgade händelser från ofärgade händelser. Resultaten uttrycks som en procentandel av positiva händelser i relation till alla händelser som samlats in med hjälp av gating.

AVSEDD ANVÄNDARE

Denna produkt är avsedd för yrkesmässig laboratorieanvändning.

KLINISK RELEVANS

CD13-PE är en CD13-antikropp som används för att identifiera och egenskapsbestämma celler som uttrycker CD13-antigenen med hjälp av flödescytometri. Denna produkt kan inte och är inte avsedd för att ta fram en diagnostisk slutsats.

Vid användning i kombination med andra markörer kan denna produkt användas i en eller flera av följande funktioner:

- Som hjälp vid differentialdiagnostisering av hematologiskt onormala patienter som misstänks ha en hematopoetisk tumör eller för övervakning av patienter med känd hematopoetisk tumör.
- Som hjälp vid prognostisering av patienter med blodsjukdomar.

Se följande referenser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROV

Venblod måste tas i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant.

Proverna bör förvaras i rumstemperatur (18–25 °C) och inte skakas. Prover bör vara homogeniserade genom försiktig omrörning innan provet tas.

Proverna måste analyseras inom 24 timmar efter venpunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analyscertifikat på www.beckman.com.

VARNING OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Använd inte reagenset efter utgångsdatumet.
2. Får ej frysas.
3. Låt den komma till rumstemperatur (18–25 °C) före användning.
4. Minimera exponering för ljus.
5. Undvik mikrobiell kontaminering av reagens. Det kan leda till felaktiga resultat.
6. Antikroppslösningar som innehåller natriumazid (NaN_3) bör hanteras med försiktighet. Inta inte internt och undvik all kontakt med hud, slemhinnor och ögon.

I syramedium kan natriumazid dessutom bilda potentiellt farlig hydrazinsyra. Om reagensen måste kasseras rekommenderar vi att den späds ut med en stor volym vatten innan den hälls ut i avloppssystemet för att undvika explosionsrisk och att natriumazid ackumuleras i metallrören.

7. Alla blodprover måste betraktas som potentiellt smittsamma och ska hanteras med försiktighet (i synnerhet vad gäller användande av skyddshandskar, rockar och skyddsglasögon).
8. Pipettera aldrig med munnen och se till att proverna inte kommer i kontakt med hud, slemhinnor och ögon.
9. Blodprovsrör och engångsmaterial som används för hantering ska kasseras i särskilda behållare avsedda för förbränning.
10. Reagens och avfall ska kasseras i enlighet med lokala krav.

RISKKLASSIFICERING ENLIGT GHS

Ej klassat som farligt

SDS Safety Data Sheet (Säkerhetsdatablad) finns på beckman.com/techdocs

FÖRVARING OCH STABILITET

Detta reagens måste hållas mellan 2 och 8 °C och skyddas mot ljus, före och efter att ampullen öppnats.

Hållbarhet för sluten ampull per stabilitetsstudie: 1095 dagar.

Stabilitet i öppen ampull: reagenset är stabilt i 180 dagar.

TECKEN PÅ FÖRSÄMRING

Alla förändringar i reagensens fysiska utseende kan indikera försämring och att reagenset inte ska användas.

För mer information eller om en skadad produkt tas emot, ring Beckman Coulter kundtjänst på 800-742-2345 (USA eller Kanada) eller kontakta din lokala Beckman Coulter-representant.

INNEHÅLL

Konserveringsmedlet natriumazid kan bilda explosiva föreningar i avloppsledningar av metall. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (76-8-16) (Bulletin från den amerikanska motsvarigheten till arbetsmiljöverket: Fara för azidexplosion).
För att undvika risken för ansamling av azidföreningar ska avloppsrören spolas igenom med vatten efter att outspädda reagenser har kasserats. Kassering av natriumazid måste ske i enlighet med tillämpliga lokala regler.

MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE FÖLJER MED KITET:

- Provrör och nödvändigt material för provtagning.
- Automatiska pipetter med engångsspetsar för 20, 100 och 500 µL.
- Hemolysrör av plast.
- Lyseringsreagens för röda blodceller med tvätt efter lyseringen. Till exempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens för leukocytfixering. Till exempel: IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800).
- Isotyp-kontroll PE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffert (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Centrifugera.
- Automatisk omrörare (Vortex-typ).
- Flödescytometer.

PROCEDUR MED VERSALYSE-REAGENS

För varje analyserat prov kan förutom provröret ett kontrollprovrör läggas till i vilket cellerna blandas i närvaro av isotypkontrollerna (ref. A07796).

1. Tillsätt 20 µL av specifik IOTest-konjugerad antikropp till varje provrör och vid behov 20 µL av isotypkontroll till varje kontrollprovrör.
2. Tillsätt 100 µL av testprovet i varje provrör. Vortexblanda provrören försiktigt.
3. Inkubera i 15 till 20 minuter vid rumstemperatur (18–25 °C) och skyddat mot ljus.
4. Utför sedan lysering av de röda blodkropparna. Se bladet VersaLyse (ref. A09777) och följ företrädesvis proceduren som benämns ”med samtidig fixering”, som består av att tillsätta 1 mL av ”Fixera-och-lysera”-blandningen som beretts strax innan. Vortexblanda omedelbart i en sekund och inkubera i 10 minuter vid rumstemperatur och skyddat mot ljus.
5. Centrifugera i 5 minuter vid 150 x g vid rumstemperatur.
6. Avlägsna ytskiktet genom aspiration.
7. Återsuspendera cellpelleten med 3 mL PBS.
8. Upprepa steg 5.
9. Avlägsna ytskiktet genom aspiration och återsuspendera cellpelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL av PBS plus 0,1 % formaldehyd om preparaten är avsedda att förvaras mindre än 24 timmar. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan erhållas genom spädning av 12,5 µL av IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800) i dess 10X-koncentration i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS utan formaldehyd, om preparaten är avsedda att analyseras inom 2 timmar.

Anmärkning: Behåll i samtliga fall beredningarna vid 2 till 8 °C och skyddade från ljus.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

I våra laboratorier behandlades helblodsprov från 25 till synes friska donatorer med den reagens som beskrivs ovan. Erhållna resultat för antalet positiva händelser av intresse med denna reagens anges i tabellen nedan:

Positivt mål	Nummer	Medelvärde (%)	SD	CV (%)
Monocyter	25	98,28	0,88	0,90
Granulocyter	25	99,69	0,42	0,42

Dessa värden är endast avsedda att vara representativa. Varje laboratorium ska fastställa sina egna förväntade värden utifrån den lokala populationen med normala donatorer.

PRESTANDA

Prestandadata erhålls med proceduren som beskrivs ovan på blodprov som är färskare än 24 timmar som tagits i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant. Analys utförs inom 2 timmar efter immunfärgning.

SPECIFICITET

CD13-molekylen, även kallad aminopeptidas N (APN), är ett transmembrant metalloproteas av typ II med en molekylvikt på 150–170 kDa. Molekylen har en extensiv extracellulär sekvens och en kort intracytoplasmisk region. CD13-molekylen verkar bindas som en homodimer på ett icke-kovalent sätt på ytan av celler (11). CD13-antigenet uttrycks tidigt på den granulo-monocytiska linjen (monocyter, neutrofiler, eosinofiler och basofiler) och deras bundna progenitorer (mellanliggande progenitorer som bildar blandade granulo-monocytiska kolonier eller CFU-GM) (11,12,13,14).

CD13-molekylen uttrycks även på celler från icke-hematopoetiska vävnader, till exempel epiteliala celler från proximala renala tubuli, celler som utgör tarmarnas stavbräm, endoteliala celler, fibroblaster, stromaceller från benmärg, osteoklaster och basalceller från gallgångarna (15).

Den monoklonala antikroppen SJ1D1 reagerar i perifert blod med monocyter, neutrofiler, eosinofiler och basofiler. Det tilldelades CD13 under 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3:e HLDA-workshopen om humana leukocytdifferentieringsantigener) som hölls i Oxford, Storbritannien 1986 (WS-kod: 285, sektion M) (12).

PRECISION

Procentvärdet för positiva värden bestämdes med helblod. Varje prov kördes 4 gånger, två gånger om dagen under 1 dag på 2 instrument med 2 loter CD13-PE monoklonala antikroppsreagens. Mätningar (% positiva) utfördes på Navios flödescytometer. Analys utfördes baserat på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Utvärdering av precisionsprestanda för kvantitativa mätmetoder).

Våra acceptanskriterier beror på antalet positiva händelser som uppmäts för varje population:

- Om positiv händelse < 1 500, CV < 15 %
- Om positiv händelse > 1 500, CV < 10 %

Monocyter							
Antal positiva händelse (medelvärde) = 1119							
	Mellan operatörer	Mellan cytometrar	Inom lot	Mellan loter	Mellan körningar	Inom körning	Totalt
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
RESULTAT	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocyter							
Antal positiva händelse (medelvärde) = 23248							
	Mellan operatörer	Mellan cytometrar	Inom lot	Mellan loter	Mellan körningar	Inom körning	Totalt
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
RESULTAT	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NOGGRANNHET

Noggrannheten hos CD13-PE bedömdes genom att jämföra resultaten med en referensreagens som predikat på en uppsättning helblodsprov körda på en Navios flödescytometer. Bias mellan test- och referensreagens bestämdes baserat på skillnaden mellan testresultat. Om bias ligger inom tillåtet felintervall eller p-värdet anger att det inte finns någon signifikant skillnad (> 0,05), så anses testresultaten för de två reagenserna vara likvärdiga.

Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell nedan:

Antal donatorer = 25				
Positivt mål	Medelvärde Δ	Δ % cellkriterier	p-värde	RESULTAT
Monocyter	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulocyter	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

BLANKGRÄNS OCH DETEKTIONSGRÄNS

En studie genomfördes i enlighet med CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Utvärdering av detekteringsförmåga för kliniska laboratoriemätningsprocedurer). Detektionsgräns (LoD) är den lägsta analytkoncentrationen som konsekvent kan detekteras. Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell:

Positive Target	Blankgräns (cell/µL)	Detektionsgräns (cell/µL)
Monocyter	0	4
Granulocyter	2	4

BEGRÄNSNINGAR

1. Flödescytometri kan ge falska resultat om cytometern inte har justerats perfekt, om fluorescensläckor inte har kompenserats korrekt och om regionerna inte har placerats noggrant.
2. Det är bäst att använda en RBC-lyseringsteknik med ett tvättsteg, eftersom denna reagens inte optimerats för lyseringstekniker ”utan tvätt”.
3. Noggranna och reproducerbara resultat kommer att erhållas så länge de förfaranden som används är i enlighet med den tekniska bipacksedeln och förenliga med god laboratoriepraxis.

4. Den konjugerade antikroppen för detta reagens är kalibrerad för att erbjuda det bästa specifik signal/icke-specifik signal-förhållandet. Därför är det viktigt att följa reagensvolym/provvolym-förhållandet i varje test.
5. Vid hyperleukocytos, späd blodet i PBS för att erhålla ett värde på cirka 5 x 10^9 leukocyter/L (16).
6. Vid vissa sjukdomstillstånd, såsom vid mycket svår njursvikt eller hemoglobinopatier, kan lysering av röda celler vara långsam, ofullständig eller till och med omöjlig. I detta fall är det rekommenderat att isolera mononukleära celler med användning av en densitetsgradient (till exempel Ficoll) innan färgningen (17).
7. Hos patienter som behandlas med anti-human monoklonala antikroppar kan detektering av de specifika eftersökta antigenerna minska eller utebli på grund av delvis eller fullständig blockering från behandlingens antikropp.
8. Resultat för CD13-PE bör tolkas med tanke på patientens totala kliniska bild, inklusive: symptom, anamnes, information från övriga test och annan lämplig information.

Se bilagan för exempel och referenser.

VARUMÄRKEN

Beckman Coulter, den stiliserade logotypen och Beckman Coulters produkt- och tjänstmärken som nämns häri är varumärken eller registrerade varumärken som tillhör Beckman Coulter, Inc. i USA eller andra länder.

YTTERLIGARE INFORMATION

För en patient/användare/tredje part inom EU och i länder med identiskt regelsystem (förordning 2017/746/EU om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik); om, vid användning av denna enhet eller som ett resultat av dess användning, en allvarlig incident inträffat ska den rapporteras till tillverkaren och/eller till dess auktoriserade representant och till den nationella myndigheten.

Summary of Safety and Performance (Sammanfattning av säkerhet och prestanda) finns tillgänglig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVIDERING AD:	Publiceringsdatum: Oktober 2019

REVISION	**Publiceringsdatum**
AW	Februari 2022
Uppdateringar för att uppfylla Beckman Coulter globala etiketteringspolicy och kraven i IVD-R (EU)2017/746:	
Tillagda avsnitt	BSI 2797 Nummer, Avsedd användare, Klinisk relevans, Koncentration, Precision, Noggrannhet, Blankgräns och detektionsgräns, Ytterligare information, Revisionshistorik.
Tillagd information	Se avsnittet Begränsningar
Ordval eller typografiska uppdateringar	Se avsnitten Procedur, Prestanda, Begränsningar, Varningar och försiktighetsåtgärder, Förvaring och stabilitet.
Borttagna avsnitt	Exempel på kliniska tillämpningar, Reagens, Reproducerbarhet inom laboratorium, Linearitet
Uppdaterade avsnitt	Avsedd användning, Faroklassificering enligt GHS, Tecken på försämring, Procedur, Bilaga.

REVISION	**Publiceringsdatum**
AX	
Uppdaterade avsnitt	Lägg till kazakiska
Uppdaterade avsnitt	Förvaring och hållbarhet

Reviderad version	AY
Datum för revidering	Maj 2024
Uppdaterade översättningar	**Klinisk relevans:**
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Teckenförklaring för symboler

Ordlista för symboler finns på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Spesifikasjoner
Spesifisitet	CD13
Klon	SJ1D1
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	KG1a cell line
Immunoglobulin	IgG1
Art	Mus
Rensing	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molart forhold	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-eksitasjon	488 nm
Strålingstopp	575 nm
Buffer	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/mL BSA og 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugert antistoff CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

For *in vitro*-diagnostisk bruk

TILTENKT BRUK

Dette fluorokromkonjugerte antistoffet muliggjør kvalitativ og ikke-automatisert identifisering av cellepopulasjoner som uttrykker CD13-antigenet som finnes i humane biologiske prøver, ved hjelp av flowcytometri (se avsnittet «Prøver» nedenfor).

PRINSIPP

Denne testen er basert på evnen spesifikke monoklonale antistoffer har til å binde seg til antigendeterminantene uttrykt av leukocytter.

Spesifikk farging av leukocyttene utføres ved inkubering av prøven med IOTest-reagenset. De røde cellene fjernes deretter ved lysering, og leukocyttene, som er uberørt av denne prosessen, analyseres ved flowcytometri.

Flytcytometeret måler lysdiffusjon og cellenes fluorescens. Det gjør det mulig å avgrense populasjonen som skal undersøkes innenfor det elektroniske vinduet som er definert på et histogram, og som korrelerer den ortogonale lysspredningen (sidespredning eller SS) og spredningen av trangvinklet lys (foroverpredning eller FS). Andre histogrammer som kombinerer to av de ulike parametrene på cytometeret kan brukes som støtte ved gatingstadiet, avhengig av programmet som velges av brukeren.

Fluorescensen i de avgrensede cellene analyseres for å skille de positivt fargede hendelsene fra de ufargede. Resultatene er uttrykt som en prosentandel positive hendelser i forhold til alle hendelser innhentet ved gatingen.

TILTENKT BRUKER

Dette produktet skal brukes av profesjonelle brukere på laboratorier.

KLINISK RELEVANS

CD13-PE er et CD13-antistoff som brukes til å identifisere og karakterisere celler som uttrykker CD13-antigenet, ved hjelp av flowcytometri. Dette produktet alene kan ikke og er ikke ment å generere en diagnostisk konklusjon.

Når dette produktet brukes i kombinasjon med andre markører, kan det brukes i én eller flere av følgende funksjoner:

- For å bistå ved differensialdiagnostisering av hematologisk unormale pasienter med mistenkt hematopoietisk neoplasi og følge opp pasienter med kjent hematopoietisk neoplasi.
- For å bidra ved prognostisering av pasienter med hematopoietisk neoplasi.

Se følgende referanser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PRØVER

Veneblod må tas ved bruk av sterile rør som inneholder EDTA-salt som antikoagulant.

Prøvene skal oppbevares i romtemperatur (18–25 °C) og ikke ristes. Prøvene skal homogeniseres ved forsiktig risting før du tar testprøven.

Prøvene må analyseres innen 24 timer etter venepunksjon.

KONSENTRASJON

Se lot-spesifikt analysesertifikat på www.beckman.com.

ADVARSEL OG FORHOLDSREGLER

1. Reagenset må ikke brukes etter utløpsdatoen.
2. Må ikke fryses.
3. La det nå romtemperatur (18–25 °C) før bruk.
4. Bør ikke utsettes for lys.
5. Unngå mikrobiell kontaminering av reagensene, ellers kan det gi feil resultater.
6. Antistoffløsninger som inneholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsiktighet. Ikke til innvortes bruk. Unngå all kontakt med hud, slimhinner og øyne.

Videre kan natriumazid i et syremedium danne potensielt farlig hydrogenazid. Hvis reagenset må kasseres, anbefales det at det fortynnes i store mengder vann før det tømmes i avløpssystemet, slik at man unngår opphopning av natriumazid i metallrør, og for å hindre eksplosjonsfare.

7. Alle blodprøver må betraktes som potensielt smittefarlige og må håndteres med forsiktighet (gjelder spesielt: bruk av vernehansker, laboratoriefrakk og vernebriller).
8. Pipetter aldri med munnen, og unngå at prøvene kommer i kontakt med huden, slimhinnene og øynene.
9. Blodprøverør og engangsmateriale som brukes til håndtering, skal kastes i beholdere beregnet for forbrenning.
10. Reagenser og avfall skal kastes i henhold til lokale krav.

GHS-FAREKLASSIFISERING

Ikke klassifisert som farlig

SDS Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på beckman.com/techdocs

OPPBEVARING OG STABILITET

Dette reagenset må oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttes mot lys før og etter at flasken er åpnet.

Holdbarhet i lukket flaske ifølge stabilitetsstudie: 1095 dager.

Stabilitet for åpnet flaske: reagenset er stabilt i 180 dager.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Endringer i reagensenes fysiske utseende kan være tegn på redusert kvalitet, og slike reagenser skal ikke brukes.

For ytterligere informasjon eller hvis produktet mottas skadet, kan Beckman Coulter kundeservice 800-742-2345 (USA og Canada) eller den lokale Beckman Coulter-representanten kontaktes.

INNHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive blandinger i metalliske avløpsrør. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Fare for eksplosive azider) (16.8.76). For å unngå mulig opphopning av azidforbindelser må avløpsrør skylles med vann etter avhending av ufortynnet reagens. Avfallshåndtering av natriumazid må skje i samsvar med relevante lokale forskrifter.

NØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE FØLGER MED SETTET:

- Prøvetakingsrør og materiale nødvendig for prøvetaking.
- Automatiske pipetter med engangsspisser til 20, 100 og 500 µL.
- Hemolyserør av plast.
- Rød cellelyseringsreagens med vasketrinn etter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Leukocytt-fikseringsreagens. For eksempel: IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800).
- -isotypekontroll PE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Sentrifuger.
- Automatisk omrører (vortekstype).
- Flytcytometer.

PROSEDYRE MED VERSALYSE-REAGENS

For hver prøve som analyseres, kan det i tillegg til testrøret legges til ett kontrollrør hvor cellene er blandet med tilstedeværelse av isotypekontrollen (ref. A07796).

1. Tilsett 20 µL spesifikt IOTest-konjugert antistoff i hvert testrør og ved behov 20 µL av isotypekontrollen i hvert kontrollrør.
2. Tilsett 100 µL av testprøven i hvert rør. Vorteks rørene forsiktig.
3. Inkuber i 15 til 20 minutter ved romtemperatur (18–25 °C), beskyttet mot lys.
4. Utfør deretter lysering av de røde blodcellene. Les brosjyren VersaLyse (ref. A09777), og prøv å følge prosedyren kalt «with concomitant fixation» (med samtidig fiksering) som består av å tilsette 1 mL av «fikserings- og lyseringsblandingen» som klargjøres prompte. Bland på vorteksmikser umiddelbart i ett sekund, og inkuber i 10 minutter ved romtemperatur, beskyttet mot lys.
5. Sentrifugeres i 5 minutter ved 150 x g ved romtemperatur.
6. Fjern supernatanten ved aspirasjon.
7. Resuspender cellepelleten i 3 mL PBS.
8. Gjenta trinn 5.
9. Fjern supernatanten ved aspirasjon, og resuspender cellepelleten ved hjelp av:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS pluss 0,1 % formaldehyd hvis preparatene skal oppbevares i mindre enn 24 timer. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan oppnås ved å fortynne 12,5 µL IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800) ved 10X konsentrasjon i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uten formaldehyd hvis preparatene skal analyseres innen 2 timer.

Merk: I alle tilfeller skal preparatene oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttet mot lys.

FORVENTEDE VERDIER

I våre laboratorier ble fullblodsprøvene fra 25 tilsynelatende friske donorer behandlet med reagenset beskrevet over. Resultatene som ble oppnådd for telling av de aktuelle positive hendelsene med dette reagenset, er angitt i tabellen nedenfor:

Positivt mål	Nummer	Gjennomsnitt (%)	SD	VK (%)
Monocytter	25	98,28	0,88	0,90
Granulocytter	25	99,69	0,42	0,42

Disse verdiene er bare representative. Hvert enkelt laboratorium bør fastsette egne forventede verdier ut fra den lokale populasjon av normaldonorer.

YTELSE

Ytelsesdata er fremskaffet ved bruk av prosedyren som er beskrevet ovenfor på mindre enn 24 timer gamle blodprøver som tidligere er samlet i sterile rør med EDTA-salt som antikoagulant. Analysen utføres innen 2 timer etter immunfarging.

SPESIFISITET

CD13-molekylet, også kjent som N-Aminopeptidase (APN), er en transmembran metalloprotease av type II med en molekylvekt på 150–170 kDa. Dette molekylet har en omfattende ekstracellulær sekvens og en kort intracytoplasmatisk region. CD13-molekylet synes å binde seg som en homodimer til celleoverflatene på en ikke-kovalent måte (11). CD13-antigenet uttrykkes tidlig i den granulo-monocyttiske linjen, (monocytter, nøytrofile, eosinofile og basofile) og deres engasjerte progenitorer (mellomliggende progenitorer danner blandede granulo-monocyttiske kolonier eller CFU-GM) (11,12,13,14).

CD13-molekylet uttrykkes også på celler av ikke-hematopoetisk vev, for eksempel epitelceller fra proksimale renale tubuli, celler som utgjør børstegrensen i tarmen, endotelceller, fibroblaster, stromale celler fra benmarg, osteoklaster og basalceller fra gallekanalene (15).

Det monoklonale antistoffet SJ1D1 reagerer med monocytter, nøytrofile, eosinofile og basofile i perifert blod. Det ble tildelt til CD13 under 3. HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3. HLDA-workshop om humane leukocyttdifferensieringsantigener), som ble avholdt i Oxford i Storbritannia i 1986 (WS-kode: 285, avsnitt M) (12).

PRESISJON

Prosentandelen positive verdier ble bestemt med fullblod. Hver prøve ble kjørt 4 ganger, to ganger om dagen i 1 dag på 2 instrumenter med 2 partier CD13-PE monoklonale antistoffreagenser. Målinger (% positiv) ble foretatt på et Navios-flytcytometer. Analysen ble utført basert på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering av presisjonsytelse ved kvantitative målemetoder).

Våre godkjenningskriterier er avhengige av antall positive hendelser som måles for hver populasjon:

- Hvis positiv hendelse < 1 500, VK < 15 %
- Hvis positiv hendelse > 1 500, VK < 10 %

Monocytter							
Antall positive hendelser (gjennomsnitt) = 1119							
	Mellom operatører	Mellom cytometere	Innenfor samme lot	Mellom loter	Mellom kjøringer	Innenfor samme kjøring	Total
VK (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocytter							
Antall positive hendelser (gjennomsnitt) = 23248							
	Mellom operatører	Mellom cytometere	Innenfor samme lot	Mellom loter	Mellom kjøringer	Innenfor samme kjøring	Total
VK (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØYAKTIGHET

Nøyaktigheten til CD13-PE ble vurdert ved å sammenligne resultatene med et referansereagens som predikatet på et sett med fullblodsprøver kjørt på et Navios-flytcytometer. Skjevheten mellom test- og referansereagens ble bestemt basert på forskjellen mellom testresultater. Hvis skjevheten er innenfor det tillatte feilområdet eller p-verdien angir ingen vesentlig forskjell (> 0,05), anses testresultatene for de to reagensene som tilsvarende.

De oppnådde resultatene er oppsummert i den følgende tabellen:

Antall donorer = 25				
Positivt mål	Gjennomsnittlig Δ	Δ % cellekriterier	p-verdi	RESULTATER
Monocytter	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulocytter	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

GRENSE FOR BLANKPRØVE OG DETEKSJONSGRENSE

En studie ble gjennomført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering av deteksjonsevne for måleprosedyrer på kliniske laboratorier). Deteksjonsgrensen (LOD) er den laveste analyttkonsentrasjonen som kan detekteres konsekvent. Resultatene som ble oppnådd, er oppsummert i tabellen nedenfor:

Positive Target	Grense for blankprøve (celle/µL)	Deteksjonsgrense (celle/µL)
Monocytter	0	4
Granulocytter	2	4

BEGRENSNINGER

1. Flowcytometri kan gi falske resultater hvis cytometeret ikke har blitt justert nøyaktig, hvis fluorescenslekkasjer ikke er kompensert riktig, og hvis regionene ikke er nøye plassert.
2. Det er best å bruke en RBC-lyseringsteknikk med et vasketrinn, ettersom dette reagenset ikke er optimert for lyseringsteknikker uten vask.

3. Nøyaktige og reproduserbare resultater vil oppnås så lenge de anvendte prosedyrene er i samsvar med det tekniske pakningsvedlegget og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerte antistoffet til dette reagenset er kalibrert for å oppnå best mulig forhold mellom spesifikt signal og ikke-spesifikt signal. Derfor er det viktig å overholde forholdet mellom reagensvolum og prøvevolum i hver test.
5. Ved hyperleukocytose fortynnes blodet i PBS for å oppnå en verdi på omtrent 5 x 10^9 leukocytter/L (16).
6. Ved visse sykdomstilstander, for eksempel alvorlig nyresvikt eller hemoglobinopatier, kan lyseringen av røde celler være langsom, ufullstendig eller til og med umulig. I dette tilfellet anbefales det å isolere mononukleærerte celler ved hjelp av en densitetsgradient (for eksempel Ficoll) før farging (17).
7. Hos pasienter som behandles med antihumane, monoklonale antistoffbehandlinger, kan deteksjon av bestemte målantigener reduseres eller være fraværende på grunn av delvis eller fullstendig blokkering av det terapeutiske antistoffet.
8. CD13-PE-resultatene skal tolkes i lys av den totale kliniske vurderingen av pasienten, inkludert: symptomer, klinisk historie, data fra flere tester og annen aktuell informasjon.

Se vedlegget for eksempler og referanser.

VAREMERKER

Beckman Coulter, den stiliserte logoen og vare- og servicemerkene til Beckman Coulter som er omtalt her, er varemerker eller registrerte varemerker som tilhører Beckman Coulter, Inc. i USA og andre land.

TILLEGGSINFORMASJON

For pasient/bruker/tredjepart i EU og land med identisk regelverk (EUs forordning nr. 2017/746 om in vitro-diagnostisk medisinsk utstyr); hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av dette utstyret, eller som et resultat av bruken, skal dette rapporteres til produsenten og/eller den autoriserte representanten samt til nasjonal myndighet.

Summary of Safety and Performance (Sammendrag av sikkerhet og ytelse) er tilgjengelig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISJONSHISTORIE

REVISJON AD:	Utgivelsesdato: Oktober 2019

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AW	Februar 2022
Oppdateringer skal overholde de globale merkingsreglene til Beckman Coulter og være i samsvar med krav iht. IVD-R (EU)2017/746:	
Innsatte avsnitt	BSI 2797-nummer, Tiltenkt bruker, Klinisk relevans, Konsentrasjon, Presisjon, Nøyaktighet, Grense for blankprøve og deteksjonsgrense, Tilleggsinformasjon, Revisjonshistorie.
Innsatt informasjon	Se avsnittet Begrensninger
Oppdatering av formulering eller typografi	Se avsnittene Prosedyre, Ytelse, Begrensninger, Advarsler og forholdsregler, Oppbevaring og stabilitet.
Fjernede avsnitt	Eksempel på kliniske bruksområder, Reagenser, Reproduserbarhet innenfor samme laboratorium, Linearitet
Oppdaterte avsnitt	Tiltenkt bruk, GHS-fareklassifisering, Tegn på nedbryting, Prosedyre, Vedlegg.

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AX	
Oppdaterte avsnitt	Lagt til kasakhisk
Oppdaterte avsnitt	Oppbevaring og stabilitet

Revidert versjon	AY
Revisjonsdato	mai 2024
Oppdatert oversettelser	**Klinisk relevans:**
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Symbolforklaring

Symbolordliste er tilgjengelig på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Tekniset tiedot
Spesifisyys	CD13
Klooni	SJ1D1
Hybridooma	SP2/0 x balb/c
Immunogeeni	KG1a cell line
Immunoglobuliini	IgG1
Lajit	Hiiri
Puhdistus	Affiniteettikromatografia
Fluorokromi	R Phycoerythrin (PE)
Moolisuhde	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-viritys	488 nm
Säteilyhuippu	575 nm
Puskuri	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA:ta ja 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugoitunut vasta-aine CD13-PE

REF A07762 100 testiä; 2 ml, 20 µl / testi

Diagnostiseen *In Vitro* -käyttöön

KÄYTTÖTARKOITUS

Tämän fluorokromikonjugoidun vasta-aineen avulla voidaan kvalitatiivisesti ja muilla kuin automaattisilla tavoilla tunnistaa solupopulaatioita, jotka ilmentävät ihmisen biologisissa näytteissä esiintyvää CD13-antigeeniä virtaussytometriaa käyttämällä (katso jäljempää kohta Näytteet).

PERIAATE

Testi perustuu tiettyjen monoklonaalisten vasta-aineiden kykyyn sitoutua leukosyyttien ilmentämiin antigeenideterminantteihin.

Leukosyyttien spesifinen värjäys tehdään inkuboimalla näyte IOTest-reagenssilla. Punasolut poistetaan sen jälkeen lyysaamalla, ja leukosyytit, joihin tämä prosessi ei vaikuta, analysoidaan virtaussytometrialla.

Virtaussytometri mittaa valonhajontaa ja solujen fluoresenssia. Sen avulla on mahdollista rajata kiinnostuksen kohteena olevan populaatio pylväskaavioon määritetyssä elektronisessa ikkunassa, jossa ortogonaalinen valonhajonta (sivusironta eli SS) vastaa kapean kulman valonhajontaa (eteenpäinsironta eli FS). Muita sytometrin kahta eri parametria yhdistäviä pylväskaavioita voidaan käyttää rajaamisvaiheen tukena käyttäjän valitseman sovelluksen mukaan.

Rajattujen solujen fluoresenssi analysoidaan, jotta positiivisesti värjäytyneet tapahtumat voidaan erottaa värjäytymättömistä tapahtumista. Tulokset ilmaistaan positiivisten tapahtumien prosenttimääränä suhteessa kaikkiin rajauksella kerättyihin tapahtumiin.

AIOTTU KÄYTTÄJÄ

Tämä tuote on tarkoitettu ammattimaiseen laboratoriokäyttöön.

KLIININEN RELEVANSSI

CD13-PE on CD13-vasta-aine, jonka avulla tunnistetaan ja karakterisoidaan CD13-antigeenia ilmentävät solut virtaussytometrialla. Tämä tuote yksinään ei voi eikä sen ole tarkoitus tuottaa mitään diagnostisia johtopäätöksiä.

Kun sitä käytetään yhdessä muiden merkkiaineiden kanssa, tuotetta voidaan käyttää yhteen tai useaan seuraavista toiminnoista:

- Erotusdiagnostiikan tueksi hematologisesti poikkeavilla potilailla, joilla epäillään olevan hematopoieettisia kasvaimia, ja sellaisten potilaiden seurantaan, joilla tiedetään olevan hematopoieettisia kasvaimia.
- Avuksi ennusteen tekemiseen potilaista, joilla on hematopoieettinen neoplasma.

Katso seuraavat viitteet:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

NÄYTTEET

Laskimoverinäytteet on otettava käyttäen steriilejä putkia, joissa on antikoagulanttina EDTA-suolaa.

Näytteet on säilytettävä huoneenlämmössä (18–25 °C), eikä niitä saa ravistaa. Näytteet on homogenoitava sekoittamalla hellävaraisesti ennen testinäytteen ottamista.

Näytteet on analysoitava 24 tunnin sisällä laskimopunktiosta.

PITOISUUS

Katso eräkohtainen analyysitodistus osoitteesta www.beckman.com.

VAROITUS JA VAROTOIMET

1. Älä käytä reagenssia viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
2. Ei saa jäätyä.
3. Anna sen lämmetä huoneenlämpöiseksi (18–25 °C) ennen käyttöä.
4. Minimoi altistuminen valolle.
5. Vältä reagenssien mikrobikontaminaatiota, muutoin vaarana ovat virheelliset tulokset.
6. Natriumatsidia (NaN_3) sisältäviä vasta-aineliuoksia tulee käsitellä varoen. Sitä ei saa niellä, ja sen joutumista iholle, limakalvoille ja silmiin on vältettävä.

Lisäksi happamassa liuoksessa natriumatsidi voi muodostaa mahdollisesti vaarallista hydratsoehappoa. Jos reagenssi on hävitettävä, se on suositeltavaa laimentaa suureen vesimäärään ennen sen kaatamista viemäriin, jotta natriumatsidia ei pääse kertymään metalliputkiin ja vältetään räjähdysvaara.

7. Kaikkia verinäytteitä on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina, ja niitä on käsiteltävä varovaisesti (erityisesti on muistettava suojakäsineiden, -pukujen ja -lasien käyttö).
8. Älä koskaan pipetoi suulla ja vältä näytteiden kaikkea kosketusta ihoon, limakalvoihin ja silmiin.
9. Veriputket ja käsittelyyn käytetyt kertakäyttöiset materiaalit on hävitettävä poltettaviksi tarkoitetuissa ad hoc -astioissa.
10. Reagenssit ja jätteet on hävitettävä paikallisten vaatimusten mukaisesti.

GHS-VAARALUOKITUS

Ei luokiteltu vaaralliseksi

SDS Käyttöturvallisuustiedote on saatavana osoitteessa beckman.com/techdocs

SÄILYTYS JA STABILITEETTI

Tätä reagensseja on säilytettävä 2–8 °C:n lämpötilassa ja suojattava valolta ennen ampullin avaamista ja sen jälkeen.

Suljetun ampullin säilyvyysaika stabiliteettitutkimuksen mukaan: 1095 päivää.

Avatun ampullin stabiliteetti: reagenssi on stabiili 180 päivän ajan.

MERKIT PILAANTUMISESTA

Mahdolliset muutokset reagenssin fyysisessä ulkonäössä voivat viitata huonontumiseen, eikä reagenssia saa tällöin käyttää.

Jos tarvitset lisätietoja tai jos sait vahingoittuneen tuotteen, soita Beckman Coulter -asiakaspalveluun numeroon 800 742 2345 (USA ja Kanada) tai ota yhteyttä Beckman Coulterin paikalliseen edustajaan.

SISÄLTÖ

Natriumatsidi-säilöntäaine saattaa muodostaa räjähtäviä yhdisteitä metallisissa viemäriputkissa. Katso NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.08.1976). Huuhtele viemäriputket vedellä laimentamattoman reagenssin poiston jälkeen mahdollisen atsidiyhdisteiden kerääntymisen estämiseksi. Hävitä natriumatsidi asianmukaisten paikallismääräysten mukaisesti.

TARVITTAVAT MATERIAALIT, JOITA EI TOIMITETA SARJAN MUKANA:

- Näytteenottoon tarvittavat näytteenottoputket ja materiaalit.
- Automaattiset pipetit, joissa kertakäyttökärjet 20, 100 ja 500 µl.
- Muoviset hemolyysiputket.
- Punasolujen lyysireagenssi ja pesuvaihe lyysin jälkeen. Esimerkiksi: VersaLyse (viite A09777).
- Leukosyyttien kiinnitysreagenssi. Esimerkiksi: IOTest 3 -fiksatiiviliuos (viite A07800).
- Isotyyppinen kontrolli PE: IOTest-reagenssi (viite A07796).
- Puskuri (PBS: 0,01 M natriumfosfaattia, 0,145 M natriumkloridia, pH 7,2).
- Sentrifugi.
- Automaattinen sekoitin (Vortex-/pyörretyyppinen).
- Virtaussytometri.

VERSALYSE-REAGENSSIN MENETTELY

Jokaiselle analysoidulle näytteelle voidaan lisätä testiputken lisäksi yksi kontrolliputki, jossa solut sekoitetaan käyttämällä isotyyppistä kontrollia (ref. A07796).

1. Lisää 20 µl spesifisiä IOTest-konjugoituja vasta-aineita jokaiseen testiputkeen ja tarvittaessa 20 µl isotyyppistä kontrollia jokaiseen kontrolliputkeen.
2. Lisää 100 µl testinäytettä kuhunkin putkeen. Sekoita putkia vorteksilla varovaisesti.
3. Inkuboi 15–20 minuuttia huoneenlämmössä (18–25 °C), valolta suojattuna.
4. Tee sitten punasolujen lyysaus. Tutustu VersaLyse (viite A09777) -selosteeseen ja noudata mieluiten menettelyä, jonka nimessä on maininta ”rinnakkaiskiinnityksen kanssa” ja johon sisältyy ohje lisätä 1 ml kiinnitys- ja lyysiseosta, joka on valmistettu kyseistä tapausta varten. Sekoita välittömästi vorteksilla yhden sekunnin ajan ja inkuboi 10 minuuttia huoneenlämmössä, valolta suojattuna.
5. Sentrifugoi 150 x g 5 minuutin ajan huoneenlämmössä.
6. Poista supernatantti aspiroimalla.
7. Suspendoi solupelletti uudelleen käyttämällä 3 ml PBS:ää.
8. Toista vaihe 5.
9. Poista supernatantti aspiroimalla ja suspendoi solupelletti käyttämällä:

- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää plus 0,1 % formaldehydiä, jos valmisteet aiotaan säilyttää alle 24 tuntia. (0,1 % formaldehydiä sisältävä PBS saadaan laimentamalla 12,5 µl IOTest 3 -fiksatiiviliuosta (viite A07800) sen 10-kertaisella pitoisuudella 1 ml:aan PBS:ää).
- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää ilman formaldehydiä, jos valmisteet tullaan analysoimaan 2 tunnin sisällä.

Huomautus: Pidä valmisteet kaikissa tapauksissa 2–8 °C:n lämpötilassa ja valolta suojattuna.

ODOTETUT ARVOT

Laboratorioissamme 25 ilmeisesti terveen luovuttajan kokoverinäytteet käsiteltiin edellä kuvatulla reagenssilla. Seuraavassa taulukossa esitetään tällä reagenssilla saadut tulokset, kun kiinnostuksen kohteena olleet positiiviset tapahtumat laskettiin:

Positiivinen kohde	Lukumäärä	Keskiarvo (%)	SD	CV (%)
Monosyytit	25	98,28	0,88	0,90
Granulosyytit	25	99,69	0,42	0,42

Nämä arvot on tarkoitettu vain esimerkeiksi. Jokaisen laboratorion tulee luoda omat odotetut arvonsa paikallisen normaalien luovuttajien populaation mukaan.

SUORITUSKYKY

Suorituskykytiedot saadaan edellä kuvatulla menetelmällä käyttämällä alle 24 tunnin ikäisistä näytteistä, jotka on aiemmin kerätty steriileihin putkiin, joissa antikoagulanttina on EDTA-suola. Analyysi suoritetaan 2 tunnin kuluessa immunovärjäyksestä.

SPESIFISYYS

CD13-molekyyli, joka tunnetaan myös N-aminopeptidaasina (APN), on tyypin II transmembraaninen metalloproteaasi ja molekyylipainoltaan 150–170 kDa. Tällä molekyylillä on suuri solunulkoinen sekvenssi ja lyhyt intrasytoplasminen alue. CD13-molekyyli näyttää sitoutuvan solujen pinnalle homodimeerinä, ei-kovalenttisella tavalla (11). CD13-antigeeniä ilmennetään varhain granulomonosyyttisessä linjassa (monosyytit, neutrofiilit, eosinofiilit ja basofiilit) ja niiden sitoutuneissa esisoluissa (granulosyytti-monosyyttipesäkkeitä muodostavat hermostolliset esisolut tai CFU-GM) (11,12,13,14).

CD13-molekyyliä ilmennetään myös muiden kuin hematopoieettisten kudosten soluissa, kuten proksimaalisten munuaistiehyeiden epiteelisoluissa, suolen harjareunuksen muodostavissa soluissa, endoteelisoluissa, fibroblasteissa, luuytimen stroomasoluissa, osteoklasteissa ja sappiteiden tyvisoluissa (15).

Monoklonaalinen vasta-aine SJ1D1 reagoi perifeerisessä veressä monosyyttien, neutrofiilien, eosinofiilien ja basofiilien kanssa. Se määritettiin kuuluvaksi ryhmään CD13 kolmannessa ihmisleukosyyttien differentiaatioantigeenejä käsitelleessä seminaarissa (Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens, HLDA), joka pidettiin Oxfordissa, Isossa-Britanniassa, vuonna 1986 (WS-koodi: 285, kohta M) (12).

TARKKUUS

Prosentuaaliset positiiviset arvot määritettiin käyttämällä kokoverta. Jokainen näyte käsiteltiin 4 kertaa, kahdesti päivässä päivänä 1 2 laitteessa käyttämällä 2 erää CD13-PE monoklonaalisia vasta-ainereagensseja. Mittaukset (% positiivisia) tehtiin Navios-virtaussytometrillä. Analyysi tehtiin perustuen CLSI:n menetelmään EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivisten mittausmenetelmien tarkkuussuorituskyvyn arviointi).

Hyväksyntäkriteerimme on riippuvainen kussakin populaatiossa mitattujen positiivisten tapahtumien määrästä:

- Jos tapahtuma on positiivinen < 1 500, CV < 15 %
- Jos tapahtuma on positiivinen > 1 500, CV < 10 %

Monosyytit							
Positiivisten näytteiden lukumäärä (keskiarvo) = 1119							
	Käyttäjien välinen	Sytometrin sisäinen	Erän sisäinen	Erien välinen	Ajojen välinen	Ajon sisäinen	Yhteensä
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
TULOKSET	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulosyytit							
Positiivisten näytteiden lukumäärä (keskiarvo) = 23248							
	Käyttäjien välinen	Sytometrin sisäinen	Erän sisäinen	Erien välinen	Ajojen välinen	Ajon sisäinen	Yhteensä
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
TULOKSET	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ULKOINEN TARKKUUS

Kohteen CD13-PE tarkkuus arvioitiin vertaamalla tuloksia viitereagenssiin, joka toimi Navios-virtaussytometrilla käsitellyn kokoverinäytesarjan predikaattina. Testireagenssin ja vertailureagenssin välinen poikkeama määritettiin testitulosten välisen eron perusteella. Jos poikkeama on sallitun virhealueen rajoissa tai p-arvo ei osoita merkityksellistä eroa (> 0,05), näiden kahden reagenssin testituloksia pidetään vastaavina.

Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Luovuttajien määrä = 25				
Positiivinen kohde	Keskiarvo Δ	Δ % -solukriteeri	p-arvo	TULOKSET
Monosyytit	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulosyytit	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

NOLLAMITTAUKSEN YLÄRAJA JA MITTAUKSEN ALARAJA

Tutkimus tehtiin CLSI EP17-A2:n mukaisesti, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Detektiokyvyn arviointi kliinisissä laboratoriomittausmenettelyissä). Mittauksen alaraja (LoD) on analyytin alhaisin pitoisuus, joka voidaan havaita johdonmukaisesti. Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Positive Target	Nollamittauksen yläraja (solu/µl)	Mittauksen alaraja (solu/µl)
Monosyytit	0	4
Granulosyytit	2	4

RAJOITUKSET

1. Virtaussytometrialla saadut tulokset voivat olla virheellisiä, jos sytometri on kohdistettu epätarkasti, jos fluoresenssivuotoja ei ole kompensoitu oikein ja jos alueita ei ole sijoitettu tarkasti.
2. On suositeltavaa käyttää punasolujen lyysaukseen pesuvaiheen sisältävää tekniikkaa, koska tätä reagenssia ei ole optimoitu lyysaustekniikoille, joihin ei sisälly pesua.
3. Tulokset oivat tarkkoja ja toistettavissa, kunhan käytetyt menetelmät ovat teknisen selosteen mukaisia ja noudattavat hyviä laboratoriokäytäntöjä.

4. Tämän reagenssin konjugoitu vasta-aine kalibroidaan siten, että saadaan paras spesifisen signaalin ja epäspesifisen signaalin suhde. Siksi on tärkeää noudattaa reagenssin tilavuuden / näytteen suhdetta jokaisessa testissä.
5. Jos kyseessä on hyperleukosytoosi, laimenna veri PBS:ään siten, että saat arvoksi noin 5 x 10^9 leukosyyttiä/l (16).
6. Tietyissä sairaustiloissa, kuten vaikeassa munuaisten vajaatoiminnassa tai hemoglobinopatioissa, punasolujen hajoaminen voi olla hidasta, epätäydellistä tai jopa mahdotonta. Tässä tapauksessa yksitumaiset solut on suositeltavaa eristää käyttämällä tiheysgradienttia (esimerkiksi Ficoll) ennen värjäystä (17).
7. Potilailla, joita on hoidettu muun kuin ihmisen monoklonaalisilla vasta-aineilla, kohdeantigeenin havaitseminen voi heikentyä tai estyä osittain tai kokonaan hoidossa käytetyn vasta-aineen vaikutuksesta.
8. CD13-PE-tulosten tulkinnassa on otettava huomioon potilaan kaikki kliiniset tiedot, mukaan lukien oireet, kliininen historia, lisätestien tiedot ja muut asianmukaiset tiedot.

Katso esimerkkejä ja viitteitä liitteestä.

TAVARAMERKIT

Beckman Coulter, tyylitelty logo ja tässä mainitut Beckman Coulter -tuotteiden ja palveluiden merkit ovat Beckman Coulter, Inc:in tavaramerkkejä tai rekisteröityjä tavaramerkkejä Yhdysvalloissa ja muissa maissa.

LISÄTIETOJA

Potilaalle / käyttäjälle / kolmannelle osapuolelle Euroopan unionin alueella ja maissa, joissa on samanlainen sääntelyjärjestelmä (in vitro -diagnostiikkaan tarkoitettuja lääkinnällisiä laitteita koskeva asetus 2017/746/EU): jos tämän laitteen käytön aikana tai sen käytön seurauksena on tapahtunut vakava tapahtuma, ilmoita siitä valmistajalle ja/tai valmistajan valtuutetulle edustajalle sekä kansalliselle viranomaiselle.

Turvallisuutta ja suorituskykyä koskeva yhteenveto on saatavilla EUDAMED-tietokannasta osoitteesta ec.europa.eu/tools/eudamed.

TARKISTUSHISTORIA

VERSIO AD:	Julkaisupäivä: Lokakuu 2019

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AW	Helmikuu 2022
Päivitetty noudattamaan Beckman Coulterin maailmanlaajuista merkintämenettelyä ja IVD-R (EU)2017/746 -standardin vaatimuksia:	
Lisätyt osat	BSI 2797 -numero, Käyttötarkoituksen mukainen käyttäjä, Kliininen relevanssi, Pitoisuus, Tarkkuus, Ulkoinen tarkkuus, Nollamittauksen yläraja ja mittauksen alaraja, Lisätietoja, Tarkistushistoria.
Lisätyt tiedot	Katso kohta Rajoitukset
Sanamuodot tai typografiset päivitykset	Katso kohdat Menettely, Suorituskyky, Rajoitukset, Varoitus ja varotoimet, Säilytys ja stabiliteetti.
Poistetut osat	Esimerkki kliinisistä käyttötarkoituksista, Reagenssit, Laboratorionsisäinen toistettavuus, Lineaarisuus
Päivitetyt osat	Käyttötarkoitus, GHS-vaaraluokitus, Merkit pilaantumisesta, Menettely, Liite.

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AX	
Päivitetyt osat	Lisää kazakki
Päivitetyt osat	Säilytys ja stabiliteetti

Tarkistettu versio	AY
Tarkistuksen päivämäärä	Toukokuu 2024
Päivitetyt käännökset	**Kliininen merkitys:**
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Symboliluettelo

Symbolisanasto on saatavana osoitteessa beckman.com/techdocs (asiakirjan numero B60062)

	Προδιαγραφές
Ειδικότητα	CD13
Κλώνος	SJ1D1
Υβρίδωμα	SP2/0 x balb/c
Ανοσογόνο	KG1a cell line
Ανοσοσφαιρίνη	IgG1
Είδος	Μυς
Κάθαρση	Χρωματογραφία συγγένειας
Φθορόχρωμα	R Phycoerythrin (PE)
Γραμμομοριακή αναλογία	PE/Ig: 0,5 - 1,5
διέγερση λ	488 nm
Μέγιστη τιμή εκπομπών	575 nm
Ρυθμιστικό Διάλυμα	PBS pH 7,2 συν 2 mg/mL BSA και 0,1% NaN_3

IOTest
Συζευγμένο αντίσωμα
CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20 µL/εξέταση

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Αυτό το συζευγμένο με φθοροχρώματα αντίσωμα επιτρέπει την ποιοτική και μη αυτοματοποιημένη ταυτοποίηση των κυτταρικών πληθυσμών που εκφράζουν το αντιγόνο CD13 που απαντάται σε ανθρώπινα βιολογικά δείγματα, με χρήση κυτταρομετρίας ροής (δείτε την παρακάτω ενότητα «Δείγματα»).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Αυτή η εξέταση βασίζεται στην ικανότητα συγκεκριμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων να δεσμεύονται στους αντιγονικούς καθοριστές που εκφράζονται από τα λευκοκύτταρα.

Η ειδική χρώση των λευκοκυττάρων πραγματοποιείται μέσω της επώασης του δείγματος με το αντιδραστήριο IOTest. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια αφαιρούνται στη συνέχεια με λύση και τα λευκοκύτταρα, τα οποία δεν επηρεάζονται από αυτήν τη διαδικασία, αναλύονται με κυτταρομετρία ροής.

Το κυτταρόμετρο ροής μετρά τη διάχυση φωτός και τον φθορισμό των κυττάρων. Καθιστά δυνατή την οριοθέτηση του πληθυσμού ενδιαφέροντος εντός του ηλεκτρονικού παραθύρου που ορίζεται σε ένα ιστόγραμμα, το οποίο συσχετίζει την ορθογώνια διάχυση φωτός (πλάγια σκέδαση ή SS) και τη διάχυση φωτός κλειστής γωνίας (πρόσθια σκέδαση ή FS). Άλλα ιστογράμματα που συνδυάζουν δύο από τις διαθέσιμες διαφορετικές παραμέτρους του κυτταρόμετρου μπορούν να χρησιμοποιηθούν υποστηρικτικά κατά το στάδιο της οριοθέτησης, ανάλογα με την εφαρμογή που επιλέγει ο χρήστης.

Ο φθορισμός των οριοθετημένων κυττάρων αναλύεται προκειμένου να είναι δυνατή η διάκριση μεταξύ των θετικά σημασμένων συμβάντων και των μη σημασμένων συμβάντων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ποσοστό των θετικών συμβάντων σε σχέση με το σύνολο των συμβάντων που ελήφθησαν από την οριοθέτηση.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΟΣ ΧΡΗΣΤΗΣ

Αυτό το προϊόν προορίζεται για επαγγελματική εργαστηριακή χρήση.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΝΑΦΕΙΑ

Το CD13-PE είναι ένα αντίσωμα CD13 που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό κυττάρων που εκφράζουν το αντιγόνο CD13 με κυτταρομετρία ροής. Αυτό το προϊόν από μόνο του δεν μπορεί να παράγει οποιοδήποτε διαγνωστικό συμπέρασμα και δεν προορίζεται για αυτήν τη χρήση.

Όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλους δείκτες, αυτό το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μία ή περισσότερες από τις ακόλουθες λειτουργίες:

- Ως βοήθημα στη διαφορική διάγνωση μη φυσιολογικών αιματολογικά ασθενών με υποψία αιμοποιητικής νεοπλασίας και για την παρακολούθηση ασθενών με γνωστή αιμοποιητική νεοπλασία.
- Ως βοήθημα στην πρόγνωση ασθενών με αιμοποιητική νεοπλασία.

Δείτε τις ακόλουθες παραπομπές:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Τα δείγματα φλεβικού αίματος πρέπει να διατηρούνται σε αποστειρωμένα σωληνάρια που περιέχουν άλας EDTA ως αντιπηκτικό.

Τα δείγματα θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) και δεν θα πρέπει να ανακινούνται. Πριν από τη λήψη του δείγματος προς εξέταση, τα δείγματα πρέπει να ομογενοποιούνται με ήπια ανάδευση.

Τα δείγματα πρέπει να αναλύονται εντός 24 ωρών από τη φλεβοκέντηση.

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ

Δείτε το ειδικό για την παρτίδα πιστοποιητικό ανάλυσης στη διεύθυνση www.beckman.com.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

1. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης.
2. Μην καταψύχετε.
3. Αφήστε το να περιέλθει σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) πριν από τη χρήση.
4. Ελαχιστοποιήστε την έκθεση στο φως.
5. Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διαφορετικά ενδέχεται να προκύψουν ψευδή αποτελέσματα.

6. Να χειρίζεστε τα διαλύματα αντισωμάτων που περιέχουν αζίδιο του νατρίου (NaN_3) με προσοχή. Μην εισπνέετε και αποφεύγετε κάθε επαφή με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.

   Επιπλέον, σε όξινο μέσο, το αζίδιο του νατρίου μπορεί να σχηματίσει ένα δυνητικά επικίνδυνο υδραζωτικό οξύ. Αν χρειαστεί να απορριφθεί, συνιστάται η αραίωση του αντιδραστηρίου με μεγάλη ποσότητα νερού πριν από την έκχυση στο αποχετευτικό σύστημα, προκειμένου να αποφευχθεί η συσσώρευση αζιδίου του νατρίου στις μεταλλικές σωληνώσεις και να αποτραπεί ο κίνδυνος έκρηξης.
7. Πρέπει να θεωρείτε όλα τα δείγματα αίματος δυνητικά μολυσματικά και να τα χειρίζεστε με προσοχή (ειδικότερα: να φοράτε προστατευτικά γάντια, ποδιές και γυαλιά).
8. Μην χρησιμοποιείτε ποτέ πιπέτα με το στόμα και αποφεύγετε κάθε επαφή των δειγμάτων με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.
9. Τα σωληνάρια αίματος και το υλικό μίας χρήσης που χρησιμοποιούνται για τον χειρισμό πρέπει να απορρίπτονται σε ειδικά δοχεία που προορίζονται για αποτέφρωση.
10. Τα αντιδραστήρια και τα απόβλητα πρέπει να απομακρύνονται σύμφωνα με τις τοπικές απαιτήσεις.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ GHS

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο

SDS Το Φύλλο Δεδομένων Ασφάλειας είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση beckman.com/techdocs

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Πρέπει να φυλάσσετε αυτό το αντιδραστήριο σε θερμοκρασία 2 έως 8 °C και να το προστατεύετε από το φως πριν και μετά το άνοιγμα του φιαλιδίου.

Διάρκεια ζωής κλειστού φιαλιδίου ανά μελέτη σταθερότητας: 1095 ημέρες.

Σταθερότητα ανοιχτού φιαλιδίου: το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό για 180 ημέρες.

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ

Οποιαδήποτε μεταβολή στην εμφάνιση των αντιδραστηρίων είναι πιθανό να υποδεικνύει αλλοίωση και το αντιδραστήριο δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται.

Για επιπλέον πληροφορίες ή σε περίπτωση παραλαβής ελαττωματικού προϊόντος, επικοινωνήστε με την υπηρεσία εξυπηρέτησης πελατών της Beckman Coulter στο 800-742-2345 (για ΗΠΑ και Καναδά) ή με τον τοπικό αντιπρόσωπο της Beckman Coulter.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Το συντηρητικό αζιδίου του νατρίου μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικές ενώσεις στους μεταλλικούς αποχετευτικούς αγωγούς. Δείτε το ενημερωτικό δελτίο του NIOSH: Explosive Azide Hazard (Κίνδυνος έκρηξης αζιδίου) (16/8/76)
Για να αποφύγετε την ενδεχόμενη συσσώρευση ενώσεων αζιδίου, να εκπλένετε τους σωλήνες αποβλήτων με νερό μετά την απόρριψη μη αραιωμένου αντιδραστηρίου. Η απόρριψη του αζιδίου του νατρίου πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους αντίστοιχους τοπικούς κανονισμούς.

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΚΙΤ:

- Σωλήνες δειγματοληψίας και υλικό που είναι απαραίτητο για τη δειγματοληψία.
- Αυτόματες πιπέτες με ρύγχη μιας χρήσης για 20, 100 και 500 µL.
- Πλαστικά σωληνάρια αιμόλυσης.
- Αντιδραστήριο λύσης ερυθροκυττάρων με στάδιο πλύσης μετά τη λύση. Για παράδειγμα: VersaLyse (Ref. A09777).
- Αντιδραστήριο μονιμοποίησης λευκοκυττάρων. Για παράδειγμα: Διάλυμα μονιμοποίησης IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ισοτυπικός μάρτυρας PE: Αντιδραστήριο IOTest (Ref. A07796).
- Ρυθμιστικό διάλυμα (PBS: 0,01 M φωσφορικό νάτριο, 0,145 M χλωριούχο νάτριο, pH 7,2).
- Φυγόκεντρος.
- Αυτόματος αναδευτήρας (τύπου περιδίνησης).
- Κυτταρόμετρο ροής.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ VERSALYSE

Για κάθε δείγμα που αναλύεται, εκτός του σωληναρίου εξέτασης, μπορεί να προστεθεί ένα σωληνάριο μάρτυρα μέσα στο οποίο αναμειγνύονται τα κύτταρα παρουσία του ισοτυπικού μάρτυρα (Ref. A07796).

1. Προσθέστε 20 µL ειδικού συζευγμένου αντισώματος IOTest σε κάθε δοκιμαστικό σωληνάριο και, εάν απαιτείται, 20 µL του ισοτυπικού μάρτυρα σε κάθε σωληνάριο μάρτυρα.
2. Προσθέστε 100 µL του αναλυόμενου δείγματος σε κάθε σωληνάριο. Περιδινήστε απαλά τα σωληνάρια.
3. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) για 15 έως 20 λεπτά, προστατεύοντας από το φως.
4. Στη συνέχεια, πραγματοποιήστε λύση των ερυθροκυττάρων. Ανατρέξτε στο φύλλο οδηγιών του VersaLyse (Ref. A09777) και ακολουθήστε κατά προτίμηση τη διαδικασία «με ταυτόχρονη μονιμοποίηση», που περιλαμβάνει την προσθήκη 1 mL μείγματος «μονιμοποίησης και λύσης», το οποίο παρασκευάστηκε πρόχειρα. Περιδινήστε αμέσως επί ένα δευτερόλεπτο και επωάστε επί 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, προστατεύοντας από το φως.
5. Φυγοκεντρήστε για 5 λεπτά στα 150 x g σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση.
7. Πραγματοποιήστε επαναιώρηση του κυτταρικού ιζήματος με 3 mL PBS.
8. Επαναλάβετε το βήμα 5.
9. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση και επαναιωρήστε το κυτταρικό ίζημα με:

- 0,5 mL ή 1 mL PBS συν 0,1% φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να φυλαχθούν για λιγότερο από 24 ώρες. (Μπορείτε να παρασκευάσετε διάλυμα 0,1% φορμαλδεΰδης/PBS με αραίωση 12,5 µL του μονιμοποιητικού διαλύματος IOTest 3 (Ref. A07800) 10πλάσιας συγκέντρωσης σε 1 mL PBS).
- 0,5 mL ή 1 mL PBS χωρίς φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να αναλυθούν εντός 2 ωρών.

Σημείωση: Σε κάθε περίπτωση, φυλάσσετε τα παρασκευάσματα προστατευμένα από το φως, σε θερμοκρασία μεταξύ 2 και 8 °C.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Στα εργαστήριά μας, τα δείγματα ολικού αίματος από 25 φαινομενικά υγιείς δότες υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με χρήση του αντιδραστηρίου που περιγράφεται παραπάνω. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν για την καταμέτρηση των θετικών συμβάντων ενδιαφέροντος με αυτό το αντιδραστήριο παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

Θετικός στόχος	Αριθμός	Μέση τιμή (%)	SD	CV (%)
Μονοκύτταρα	25	98,28	0,88	0,90
Κοκκιοκύτταρα	25	99,69	0,42	0,42

Οι τιμές αυτές παρέχονται αποκλειστικά για ενδεικτικούς σκοπούς. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να ορίσει τις δικές του αναμενόμενες τιμές βάσει του τοπικού πληθυσμού των φυσιολογικών δοτών.

ΑΠΟΔΟΣΗ

Τα δεδομένα απόδοσης λαμβάνονται με χρήση της διαδικασίας που περιγράφηκε παραπάνω σε δείγματα αίματος ηλικίας μικρότερης των 24 ωρών που συλλέχθηκαν προηγουμένως σε αποστειρωμένα σωληνάρια με άλας EDTA ως αντιπηκτικό. Η ανάλυση εκτελείται εντός 2 ωρών από την ανοσοχρώση.

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Το μόριο CD13, γνωστό επίσης ως αμινοπεπτιδάση N (APN), είναι μια διαμεμβρανική μεταλλοπρωτεϊνάση τύπου II με μοριακό βάρος 150–170 kDa. Αυτό το μόριο διαθέτει εκτεταμένη εξωκυτταρική αλληλουχία και μια μικρή ενδοκυτταροπλασματική περιοχή. Το μόριο CD13 φαίνεται να δεσμεύεται ως ομοδιμερές με μη ομοιοπολικό τρόπο στην επιφάνεια των κυττάρων (11). Το αντιγόνο CD13 εκφράζεται πρώιμα στην κοκκιομονοκυτταρική γραμμή, (μονοκύτταρα, ουδετερόφιλα, ηωσινόφιλα και βασεόφιλα) και τα δεσμευμένα προγονικά κύτταρά τους (ενδιάμεσα πρόδρομα κύτταρα που σχηματίζουν μικτές κοκκιομονοκυτταρικές αποικίες ή CFU-GM) (11,12,13,14).

Το μόριο CD13 εκφράζεται επίσης σε κύτταρα των μη αιμοποιητικών ιστών, όπως τα επιθηλιακά κύτταρα από τα εγγύς νεφρικά σωληνάρια, τα κύτταρα που αποτελούν την ψηκτροειδή παρυφή του εντέρου, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τους ινοβλάστες, τα στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών, τους οστεοκλάστες και τα βασικά κύτταρα από τους χοληφόρους πόρους (15).

Το μονοκλωνικό αντίσωμα SJ1D1 αντιδρά στο περιφερικό αίμα με μονοκύτταρα, ουδετερόφιλα, ηωσινόφιλα και βασεόφιλα. Αντιστοιχίστηκε στο CD13 κατά τη διάρκεια του 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3ου Συνάντηση εργασίας για τα αντιγόνα διαφοροποίησης των ανθρώπινων λευκοκυττάρων), που πραγματοποιήθηκε το 1986 στην Οξφόρδη, Μεγάλη Βρετανία (κωδικός WS: 285, ενότητα: M) (12).

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Οι ποσοστιαίες θετικές τιμές προσδιορίστηκαν με χρήση ολικού αίματος. Κάθε δείγμα αναλύθηκε 4 φορές, δύο φορές την ημέρα για 1 ημέρα σε 2 όργανα με χρήση 2 παρτίδων αντιδραστηρίων μονοκλωνικού αντισώματος CD13-PE. Οι μετρήσεις (% θετικών) πραγματοποιήθηκαν σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με βάση τη μέθοδο CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Αξιολόγηση της απόδοσης ακρίβειας για μεθόδους ποσοτικής μέτρησης).

Τα κριτήρια έγκρισης εξαρτώνται από τον αριθμό των θετικών συμβάντων που μετρώνται για κάθε πληθυσμό:

- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος <1.500, <15% CV
- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος >1.500, <10% CV

Μονοκύτταρα							
Αριθμός θετικών συμβάντων (μέσος όρος) = 1119							
	Μεταξύ χειριστών	Μεταξύ κυτταρόμετρων	Εντός παρτίδας	Μεταξύ παρτίδων	Μεταξύ αναλύσεων	Εντός ανάλυσης	Σύνολο
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Κοκκιοκύτταρα							
Αριθμός θετικών συμβάντων (μέσος όρος) = 23248							
	Μεταξύ χειριστών	Μεταξύ κυτταρόμετρων	Εντός παρτίδας	Μεταξύ παρτίδων	Μεταξύ αναλύσεων	Εντός ανάλυσης	Σύνολο
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ακρίβεια του CD13-PE αξιολογήθηκε με σύγκριση των αποτελεσμάτων με ένα αντιδραστήριο αναφοράς ως μέσο πρόγνωσης, σε ένα σύνολο δειγμάτων ολικού αίματος που αναλύθηκε σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Το συστηματικό σφάλμα μεταξύ εξέτασης και αντιδραστηρίου αναφοράς προσδιορίστηκε με βάση τη διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δοκιμής. Εάν το συστηματικό σφάλμα βρίσκεται εντός του επιτρεπόμενου εύρους σφαλμάτων ή η τιμή p δεν υποδεικνύει καμία σημαντική διαφορά (>0,05), τα αποτελέσματα δοκιμών για τα δύο αντιδραστήρια θεωρούνται ισοδύναμα.

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον πίνακα που ακολουθεί:

Αριθμός δοτών = 25				
Θετικός στόχος	Μέση τιμή Δ	Κριτήρια κυττάρων Δ %	Τιμή p	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
Μονοκύτταρα	-0,19	<5	0,120	PASS
Κοκκιοκύτταρα	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

ΟΡΙΟ ΤΥΦΛΟΥ ΚΑΙ ΟΡΙΟ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

Διεξήχθη μια μελέτη με βάση τις οδηγίες του CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Αξιολόγηση της ικανότητας ανίχνευσης για διαδικασίες μέτρησης κλινικών εργαστηρίων). Το όριο ανίχνευσης (OA) είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση αναλυόμενης ουσίας που μπορεί να ανιχνευτεί σταθερά. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Positive Target	Όριο τυφλού (κύτταρο/µL)	Όριο ανίχνευσης (κύτταρο/µL)
Μονοκύτταρα	0	4
Κοκκιοκύτταρα	2	4

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Η κυτταρομετρία ροής ενδέχεται να παράγει ψευδή αποτελέσματα αν το κυτταρόμετρο δεν είναι σωστά ευθυγραμμισμένο, αν οι διαρροές φθορισμού δεν έχουν αντισταθμιστεί σωστά και αν οι περιοχές δεν έχουν τοποθετηθεί προσεκτικά.
2. Η τεχνική λύσης RBC είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται με ένα βήμα πλύσης, καθώς το συγκεκριμένο αντιδραστήριο δεν έχει βελτιστοποιηθεί για τεχνικές λύσης «χωρίς πλύση».
3. Ακριβή και επαναλήψιμα αποτελέσματα προκύπτουν στο μέτρο που οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι σύμφωνες με το ένθετο τεχνικών οδηγιών και συμβατές με τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές.
4. Το συζευγμένο αντίσωμα αυτού του αντιδραστηρίου είναι βαθμονομημένο ώστε να προσφέρει την καλύτερη αναλογία ειδικής σήμανσης/μη ειδικής σήμανσης. Γι' αυτό είναι σημαντικό να τηρείτε την αναλογία όγκου αντιδραστηρίου/όγκου δείγματος σε κάθε εξέταση.
5. Σε περίπτωση υπερλευκοκυττάρωσης, αραιώστε το αίμα σε PBS ώστε να επιτευχθεί τιμή περίπου 5 x 10^9 λευκοκύτταρα/L (16).
6. Σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις, όπως η σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια ή οι αιμοσφαιρινοπάθειες, η λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων ενδέχεται να είναι αργή, ατελής ή και ανέφικτη. Σε αυτήν την περίπτωση, συνιστάται η απομόνωση των μονοπύρηνων κυττάρων με διαβάθμιση πυκνότητας (για παράδειγμα Ficoll) πριν από τη χρώση (17).
7. Σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπείες με αντι-ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα, η ανίχνευση των ειδικών στοχευόμενων αντιγόνων ενδέχεται να είναι μειωμένη ή να απουσιάζει λόγω μερικού ή πλήρους αποκλεισμού από το θεραπευτικό αντίσωμα.
8. Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων του CD13-PE θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η συνολική κλινική εικόνα του ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων των συμπτωμάτων, του κλινικού ιστορικού, των δεδομένων πρόσθετων εξετάσεων και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Δείτε το Παράρτημα για παραδείγματα και παραπομπές.

ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ

Η επωνυμία Beckman Coulter, το τυποποιημένο λογότυπο και τα σήματα προϊόντων και υπηρεσιών της Beckman Coulter που αναφέρονται στο παρόν είναι εμπορικά σήματα ή σήματα κατατεθέντα της Beckman Coulter, Inc. στις Ηνωμένες Πολιτείες και σε άλλες χώρες.

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Για ασθενή/χρήστη/τρίτους στην Ευρωπαϊκή Ένωση και σε χώρες με όμοιο ρυθμιστικό καθεστώς (Οδηγία 2017/746/ΕΕ σχετικά με τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα), εάν, κατά τη χρήση αυτής της συσκευής ή ως αποτέλεσμα της χρήσης της, προκύψει σοβαρό περιστατικό, πρέπει να το αναφέρετε στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στις εθνικές αρχές της χώρας στην οποία κατοικείτε.

Το Summary of Safety and Performance (Σύνοψη ασφάλειας και απόδοσης) είναι διαθέσιμο στη βάση δεδομένων EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΕΩΝ

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ AD:	Ημερομηνία έκδοσης: Οκτώβριος 2019

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AW	Φεβρουάριος 2022
Ενημερώσεις για την επίτευξη συμμόρφωσης με την παγκόσμια πολιτική σήμανσης της Beckman Coulter και σύμφωνα με τις απαιτήσεις IVD-R (ΕΕ)2017/746:	
Προσθήκη ενοτήτων	Αριθμός BSI 2797, προβλεπόμενος χρήστης, κλινική συνάφεια, συγκέντρωση, πιστότητα, ακρίβεια, όριο τυφλού και όριο ανίχνευσης, πρόσθετες πληροφορίες, ιστορικό αναθεωρήσεων.
Προσθήκη πληροφοριών	Δείτε τις ενότητες «Περιορισμοί»
Εκφραστικές ή τυπογραφικές ενημερώσεις	Δείτε τις ενότητες «Διαδικασία», «Απόδοση», «Περιορισμοί», «Προειδοποίηση και προφυλάξεις», «Αποθήκευση και σταθερότητα».
Αφαίρεση ενοτήτων	Παράδειγμα κλινικών εφαρμογών, αντιδραστήρια, διεργαστηριακή επαναληψιμότητα, γραμμικότητα
Ενημερωμένες ενότητες	Προβλεπόμενη χρήση, Ταξινόμηση επικινδυνότητας κατά GHS, Ενδείξεις αλλοίωσης, Διαδικασία, Παράρτημα.

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AX	
Ενημερωμένες ενότητες	Προσθήκη Καζακικών
Ενημερωμένες ενότητες	Φύλαξη και σταθερότητα

Αναθεωρημένη έκδοση	AY
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Μάιος 2024
Ενημέρωση μεταφράσεων	**Κλινική συνάφεια:**
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Υπόμνημα συμβόλων

Το γλωσσάριο συμβόλων είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση beckman.com/techdocs (αριθμός εγγράφου B60062)

	仕様
特異性	CD13
クローン	SJ1D1
ハイブリドーマ	SP2/0 x balb/c
免疫原	KG1a cell line
免疫グロブリン	IgG1
動物種	マウス
精製	アフィニティークロマトグラフィー
蛍光色素	R Phycoerythrin (PE)
モル比	PE / Ig： 0.5 - 1.5
λ励起	488 nm
発光のピーク	575 nm
緩衝化剤	PBS(pH 7.2) + 2 mg/mL BSAおよび0.1% NaN_3

IOTest

コンジュゲート抗体

CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20 µL/テスト

***体外*診断用医薬品**

用途

この蛍光色素結合抗体混合物により、フローサイトメトリーを用いてヒト生物検体に存在するCD13抗原を発現する細胞集団の定性的かつ非自動での同定が可能になります（以下の「検体」の項を参照）。

原理

このテストは、白血球が発現する抗原決定因子に対する特異的モノクローナル抗体の結合能に基づいています。

白血球の特異的染色は、検体をIOTest試薬とインキュベートすることによって行います。次に、赤血球を溶解によって除去し、このプロセスの影響を受けない白血球をフローサイトメトリーによって分析します。

フローサイトメーターは、細胞の光拡散および蛍光を測定します。これにより、直角散乱光（側方散乱、SS）および鋭角散乱光（前方散乱、FS）と相関するヒストグラム上で規定した電子枠内で対象集団の限界設定が可能になります。ユーザーが選択したアプリケーションに依存して、サイトメーターで利用可能な種々のパラメーターの2つを組み合わせたその他のヒストグラムが、ゲーティング段階の補助として利用できます。

陽性染色イベントと未染色イベントを鑑別するために、区分した細胞の蛍光を測定します。結果は、ゲーティングで得られた全イベントに対する陽性イベントの比率として表します。

対象ユーザー

本製品は、検査室での専門的な使用を目的としています。

臨床的妥当性

CD13-PEは、フローサイトメトリーでCD13抗原を発現する細胞を同定および特性評価するために使用する抗体です。CD13この製品だけで診断の結論を下すことはできず、そのように意図されていません。

本製品は、他のマーカーと組み合わせて使用する場合、次の機能の1つまたは複数で使用できます。

- 造血系新生物が疑われる血液学的に異常な患者の鑑別診断を補助し、既知の造血系新生物を有する患者をモニタリングするため。
- 造血系新生物を有する患者の予後を支援するため。

以下の参考文献を参照してください。

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

検体

静脈血は、抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブを用いて採取しなければなりません。

検体は室温（18～25°C）で保管し、揺らさないようにする必要があります。検体は、テスト検体を採取する前に、穏やかな撹拌によって均質化する必要があります。

この検体は、静脈穿刺から24時間以内に分析する必要があります。

濃度

www.beckman.comでロット固有の分析証明書を参照してください。

警告および注意

1. 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
2. 凍結しないでください。
3. 使用前に室温（18～25°C）にしてください。
4. 露光をできるだけ避けてください。
5. 試薬の微生物汚染を避けてください。誤った結果の原因となる場合があります。
6. アジ化ナトリウム（NaN_3）を含む抗体溶液は慎重に扱う必要があります。体内に摂取してはならず、皮膚、粘膜および眼との接触はすべて避けてください。

また、酸性媒体では、アジ化ナトリウムから潜在的危険性のあるアジ化水素酸が生成されることがあります。アジ化ナトリウムを含む試薬を廃棄する必要がある場合、金属製のパイプにアジ化ナトリウムが蓄積しないように、また爆発の危険性を防ぐために、試薬を多量の水で希釈してから排水システムに廃棄することを推奨します。

7. すべての血液検体は感染性の可能性があるとみなして慎重に取り扱う必要があります（特に保護手袋、実験着、ゴーグルの着用）。
8. 絶対に口でピペットを吸わないでください。また、皮膚、粘膜、目に検体が接触しないようにしてください。
9. 使用済みの採血管およびディスポーザブル製品は、焼却用の専用容器に入れて廃棄してください。
10. 試薬や廃棄物は地方自治体の要件に従って廃棄してください。

GHSハザード分類

危険有害物質には分類されない

SDS　安全性データシートは、beckman.com/techdocsで入手できます

保管および安定性

この試薬は、バイアル開封の前後に2～8℃で保管し、遮光する必要があります。

各安定性試験におけるクローズドバイアルの保存期間：1095日間

開封後のバイアル：試薬は180日間安定しています。

変質や劣化の兆候

試薬の物理的な外観の変化は劣化の徴候である場合があり、その試薬を使用してはなりません。

追加情報に関して、または損傷している製品をお受け取りになった場合、ベックマン・コールターのカスタマーサービス800-742-2345（米国またはカナダ）にお電話をくださるか、最寄りの代理店に連絡してください。

内容

保存剤のアジ化ナトリウムは、金属製排水管内で爆発性化合物を生成するおそれがあります。 NIOSH Bulletinを参照してください: アジド爆発危険性（76/8/16）
アジド化合物が蓄積する可能性を回避するため、未希釈の試薬を廃棄した後は排水管を水で洗い流します。アジ化ナトリウムは地方自治体の規定に従い適切に廃棄してください。

ご用意いただくもの:

- サンプリングに必要なサンプリングチューブと材料。
- 使い捨てチップ付き自動ピペット（100および500 µL用）。20
- プラスチックの溶血チューブ。
- 溶血処理後に洗浄操作した赤血球溶血試薬。例：VersaLyse（製品番号A09777）。
- 白血球固定試薬。例：IOTest 3固定液（製品番号A07800）。
- アイソタイプ対照PE：IOTest試薬（製品番号A07796）。
- 緩衝化剤（PBS：0.01 Mリン酸ナトリウム、0.145 M塩化ナトリウム、pH 7.2）。
- 遠心機
- 自動アジテーター（ボルテックスタイプ）。
- フローサイトメーター

VERSALYSE試薬による手順

測定する各検体について、テストチューブのほか、アイソタイプ対照存在下で細胞を混合した対照チューブ1本を追加することができます（製品番号A07796）。

1. 各テストチューブに20 µLの特異的IOTest結合抗体を加え、必要に応じて20 µLのアイソタイプ対照を各対照チューブに加えます。
2. 各チューブに100 µLのテスト検体を添加します。チューブを穏やかに攪拌します。
3. 遮光した状態で、室温（18～25°C）で15～20分間インキュベートします。
4. 次に、赤血球の溶解を行います。VersaLyse(製品番号A09777)のリーフレットを参照し、できれば「同時固定」と呼ばれる手順に従います。この手順では、その場で調製した「固定/溶解」混合液1 mLを加えます。直ちに1秒間撹拌し、室温、遮光下で10分間インキュベートします。
5. 室温で5分間遠心分離（150 x g）します。
6. 吸引により上清を除去します。
7. 3 mLのPBSを用いて細胞ペレットを懸濁します。
8. ステップ5を繰り返します。
9. 吸引により上清を除去し、以下により細胞ペレットを再懸濁します。

- 調製液の保存期間が24時間未満の場合、ホルムアルデヒド0.1％を含むPBS 0.5 mLまたは1 mL。（0.1%ホルムアルデヒドを含むPBSは、12.5 µLの10倍濃度のIOTest 3固定液（製品番号A07800）を1 mLのPBSに希釈して作製できます）。
- 調製液を2時間以内に分析する場合、ホルムアルデヒドを含まないPBS 0.5 mLまたは1 mL。

注記：いかなる場合でも、調製液は2～8°Cに保ち、遮光してください。

期待値

弊社検査室では、上記の試薬を用いて見かけ上健常なドナー25名の全血検体を処理しました。本試薬による陽性イベント数測定で得た結果を以下の表に示します。

陽性標的細胞	番号	平均（%）	SD	CV（%）
単球	25	98.28	0.88	0.90
顆粒球	25	99.69	0.42	0.42

これらの値は、代表的な値であることのみを意図しています。各検査室は、正常なドナーの現地の集団から独自の期待値を確立してください。

性能

性能データは、以前に抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブに採取した24時間未満経過した血液検体を対象に、上述の手順を用いて取得しなければなりません。分析は、免疫染色後2時間以内に行います。

特異性

CD13分子は、N アミノペプチダーゼ（APN）とも呼ばれ、分子量150 ~ 170 kDaのII型膜貫通型メタロプロテアーゼです。この分子は長い細胞外配列と短い細胞質内領域を持っています。CD13分子は、細胞表面において、非共有結合でホモダイマーとして結合しているようです（11）。CD13抗原は、顆粒単球性株（単球、好中球、好酸球、好塩基球）およびそれらの前駆細胞（顆粒単球混合コロニー（CFU-GM）を形成する中間的前駆細胞）で、早期から発現します（11、12、13、14）。

CD13分子は、近位尿細管からの上皮細胞、腸の刷子縁を構成する細胞、内皮細胞、線維芽細胞、骨髄からの間質細胞、破骨細胞、胆管からの基底細胞など、非造血組織の細胞でも発現します（15）。

モノクローナル抗体SJ1D1は、末梢血中で、単球、好中球、好酸球、および好塩基球と反応します。SJ1D1は、1986年に英国オックスフォードで開催された3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens（第3回ヒト白血球分化抗原に関するHLDAワークショップ）においてCD13にアサインされました（WSコード：285、セクションM）（12）。

精密性

陽性値の割合は、全血を使用して決定しました。各検体について、2つの装置で各4回を1日に2回、2ロットのCD13-PEモノクローナル抗体試薬を使用して測定しました。Naviosフローサイトメーターで測定（%陽性）しました。CLSIメソッドEP5-A2に基づいて分析しました。Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.（定量的測定メソッドの精密性性能の評価。）

当社の判定基準は、各集団について測定された陽性イベントの数によって異なります。

- 陽性イベント< 1,500の場合、CV< 15%
- 陽性イベント> 1,500の場合、CV< 10%

単球							
陽性イベント数（平均） = 1119							
	オペレータ間	血球計算器間	ロット内	ロット間	測定間	測定内	総計
CV（%）	0.16	0.17	0.51	0.13	0.15	0.46	0.55
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

顆粒球							
陽性イベント数（平均） = 23248							
	オペレータ間	血球計算器間	ロット内	ロット間	測定間	測定内	総計
CV（%）	0.01	0.04	0.05	0.01	0.02	0.05	0.07
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

正確性

CD13-PEの正確度は、一連の全血検体についてNaviosフローサイトメーターで測定した規準としての参照試薬と、結果を比較して評価しました。テスト試薬と参照試薬との間のバイアスは、テスト結果の差に基づいて決定しました。バイアスが許容誤差範囲内にある場合、またはp値が有意差を示さない場合（> 0.05）、2つの試薬のテスト結果は同等と見なされます。

得られた結果を、下表にまとめます。

ドナー数 = 25				
陽性標的細胞	平均Δ	Δ % 細胞基準	p値	結果
単球	-0.19	<5	0.120	PASS
顆粒球	-0.23	<5	4.003E-03	PASS

ブランク上限と検出限界

試験は、CLSI EP17-A2、Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（臨床検査室測定手順の検出能力の評価）に基づいて実施されました。検出限界（LoD）とは、一貫して検出可能な分析物の最小濃度です。取得した結果は、下表に表示されています。

Positive Target	ブランク上限（細胞/µL）	検出限界（細胞/µL）
単球	0	4
顆粒球	2	4

制限事項

1. フローサイトメトリーは、血球計数器が完全に配列されていない場合、蛍光リークが正しく相殺されていない場合、および領域が慎重に配置されていない場合、誤った結果を示す可能性があります。
2. この試薬は「洗浄なし」溶解手法用に最適化されていないため、洗浄ステップでRBC溶解法を使用することをお勧めします。
3. 取扱説明書および対応する検査室の実施基準に従って作業する限り、正確かつ再現性のある結果が得られます。
4. この試薬の結合抗体は、特異的シグナル/非特異的シグナル比が最適となるようにキャリブレーションされています。そのため、各テストでは、試薬量/検体量比を順守することが重要です。
5. 白血球増加症の場合、白血球数がおよそ5 x 10^9個/Lとなるよう、血液をPBSで希釈してください（16）。

6. 重度の腎不全やヘモグロビン異常など、特定の疾患状態では、赤血球の溶解が遅くなったり、不完全になったり、あるいは溶解できないことさえあります。この場合、染色する前に密度勾配（Ficollなど）を使用して単核細胞を分離することを推奨します（17）。
7. 抗ヒトモノクローナル抗体療法で治療を受けた患者では、治療用抗体による部分的または完全な遮断により、特定の標的抗原の検出が減少または消失する場合があります。
8. CD13-PEの結果は、患者の総合的な臨床像、例えば諸症状、病歴、他のテストデータ、その他の該当情報などを踏まえて解釈する必要があります。

附録にある例および参考文献を参照してください。

商標

ここに記載されているBeckman Coulter、ロゴマーク、ならびにベックマン・コールターの製品およびサービスマークは、ベックマン・コールターの米国およびその他の国における商標と登録商標です。

その他

欧州連合、および規制制度が欧州連合と同一の国の患者/ユーザー/第三者（体外診断医療機器規制2017/746/EU）については、本機器の使用中または使用の結果、重大な事故が発生した場合、製造元および/または認定代理店ならびに所管の行政機関に報告してください。

「安全性および性能の概要」はEUDAMEDデータベース：ec.europa.eu/tools/eudamedより入手できます。

改訂履歴

改訂番号 AD：	発売日：2019年10月

改訂	**発行日**
AW	2022年2月
ベックマン・コールターのグローバルラベリングポリシーおよびIVD-R（EU）2017/746の要件に準拠するための更新：	
セクションの追加	BSI 2797番号、対象ユーザー、臨床関連性、濃度、精度、正確度、ブランク上限および検出限界、その他、改訂履歴。
情報を追加	「制限事項」のセクションを参照してください
言い回しまたはタイプミスの更新	「手順」、「性能」、「制限」、「警告および注意」、「保管および安定性」のセクションを参照してください。
セクションの削除	臨床応用の例、試薬、検査室内再現性、直線性
セクションの更新	用途、GHSハザード分類、変質や劣化の兆候、手順、附録。

改訂	**発行日**
AX	
セクションの更新	カザフ語を追加
セクションの更新	コントロールの調製

改訂版	AY
改訂日	5月 2024
更新された翻訳	**臨床的妥当性：**
セクションの更新	保管および安定性

記号凡例

記号一覧は、beckman.com/techdocsで入手できます（文書番号B60062）

	规格
特异性	CD13
克隆	SJ1D1
杂交瘤	SP2/0 x balb/c
免疫原	KG1a cell line
免疫球蛋白	IgG1
种类	小鼠
纯化	亲和色谱法
荧光染料	R Phycoerythrin (PE)
摩尔比率	PE/Ig： 0.5 - 1.5
λ 激励	488 nm
辐射峰值	575 nm
缓冲液	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 和 0.1% NaN_3

IOTest

结合抗体
CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20 µL/测试

供体外 *诊断* 使用

预期用途

此种荧光染料结合抗体可通过流式细胞术对人体生物样本中存在的 CD13 抗原表达细胞群进行定性和非自动化鉴别（参阅下文“样本”部分）。

原理

该测试以特异性单克隆抗体能够与白细胞表达的抗原决定簇相结合这一特性为基础。

将样本与 IOTest 试剂一起培育，以便进行白细胞的特异性染色。然后通过裂解去除红细胞，再使用流式细胞术分析不受裂解过程影响的白细胞。

流式细胞仪可测定细胞的光漫射和荧光。这样可以限定直方图上定义的电子窗口内的感兴趣群体，直方图可以关联光的正交漫射（侧向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。细胞仪上可用的结合两个不同参数的其他直方图可以用于支持设门阶段，具体取决于用户所选的应用。

为了区分阳性染色事件和未染色事件，我们对划定细胞的荧光进行了分析。结果表示为阳性事件相对于设门获得的所有事件的百分比。

预期用户

本产品的预期用户为实验室专业人员。

临床意义

CD13-PE 是一种 CD13 抗体，这些抗体用于通过流式细胞术鉴定和表征表达 CD13 抗原的细胞。单独使用此产品不能产生任何诊断结论，这也并非其预期用途。

与其他标志物结合使用时，本产品可用于以下一种或多种用途：

- 对疑似有造血系统肿瘤的血液学异常患者进行辅助鉴别诊断，并对已知患有造血系统肿瘤的患者进行监测。
- 辅助造血系统肿瘤患者的预后诊断。

参阅以下参考文献：

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

样本

必须使用含有 EDTA 盐作为抗凝血剂的无菌试管采集静脉血。

样本应保存在室温 (18-25°C) 条件下，并注意避免摇动。在吸取测试样本之前，应通过轻轻搅动使样本均质化。

样本必须在静脉采血后的 24 小时内分析。

浓度

请参阅 www.beckman.com 上的特定批次分析证书。

警告和注意事项

1. 请勿使用已过失效日期的试剂。
2. 切勿冷冻。
3. 使用前使其达到室温 (18–25°C)。
4. 尽量减少曝光。
5. 避免试剂受到微生物污染，否则可能出现错误结果。
6. 应小心处理含有叠氮化钠 (NaN_3) 的抗体溶液。请勿内服，并避免接触皮肤、粘膜和眼睛。

   此外，在中度酸性条件下，叠氮化钠可形成具有潜在危害的叠氮酸。若需要对其进行处置，建议您在将试剂倒入排污系统前用大量清水将其稀释，以避免叠氮化钠在金属管中累积并预防爆炸。
7. 所有血样都必须被视为具有潜在传染性，并且必须小心处理（具体地讲：穿戴防护手套、防护服和护目镜）。
8. 不得通过嘴巴移液，并避免样本以任何方式接触皮肤、黏膜和眼睛。

9. 用于处理的血液试管和一次性材料应丢弃于专门用于焚化的容器中。
10. 应根据当地要求处置试剂和废物。

GHS 危险等级分类

未被归为危险品

SDS 化学品安全技术说明书提供于 beckman.com/techdocs

存储和稳定性

在开瓶前后，必须将此试剂保存在 2-8°C 环境下，并注意避免光照。

根据稳定性研究的开封前保质期：1095 天。

已开瓶试剂的稳定性：试剂可稳定保存 180 天。

变质的迹象

试剂物理外观的任何变化都可能表明试剂变质，此时不应使用试剂。

有关其他信息，或者如果收到受损产品，请致电贝克曼库尔特公司客服：800-742-2345（美国或加拿大），或联系您当地的贝克曼库尔特代表。

目录

叠氮化钠防腐剂可在金属下水管道中形成易爆化合物。 请参阅 NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76)（美国国家职业安全与卫生研究所公报：易爆的叠氮化物危险品 [76/8/16]）。
为避免可能产生的叠氮化合物堆积，请在丢弃未经稀释的试剂后用水冲洗排污管。对叠氮化钠的丢弃必须符合当地的相关规定。

试剂盒中未提供的必需材料：

- 采样所需的采样管和材料。
- 可吸取 20100 和 500 µL 试剂的带有一次性吸头的自动移液器。
- 塑料溶血管。
- 红细胞溶解试剂在溶解后清洗。例如：VersaLyse（REF A09777）。
- 白细胞固定剂。例如：IOTest 3 固定剂（REF A07800）。
- 同型质控品 PE：IOTest 试剂（REF A07796）。
- 缓冲液（PBS：0.01 M 磷酸钠；0.145 M 氯化钠；pH 7.2）。
- 离心处理。
- 自动搅动器（旋涡型）。
- 流式细胞仪。

VERSALYSE 试剂的使用程序

对于分析的每种样本，除使用分析测试试管外，还可增加一个质控品试管，以在其中混合细胞与同型质控品（REF A07796）。

1. 将 20 µL 特异性 IOTest 结合抗体添加到每个分析测试试管中，并视需要将 20 µL 同型质控品添加到每个质控品试管中。
2. 添加 100 µL 测试样本到每个试管中。轻轻摇动试管。
3. 在室温 (18–25°C) 下避光孵育 15-20 分钟。
4. 然后进行红细胞裂解。请参阅 VersaLyse（REF A09777）说明书，最好按照名为“同时固定”的程序实施：加入 1 mL 临时配制的“固定-裂解”混合液。立即摇动 1 秒，并在室温条件下培育 10 分钟，注意避光。
5. 在室温下以 150 x g 离心处理 5 分钟。
6. 通过吸样去除上层清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新悬浮细胞微粒。
8. 重复第 5 步。
9. 通过吸样去除上层清液并使用以下溶液重新悬浮细胞微粒：

- 0.5 mL 或 1 mL PBS 与 0.1% 甲醛，若备品的保存时间低于 24 小时。（可通过在 1 mL PBS 中稀释 10 倍浓度的 12.5 µL IOTest 3 固定剂 [REF A07800] 获取含 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 0.5 mL 或 1 mL PBS，无甲醛，若制剂将在 2 小时内分析。

注释：任何情况下，制备试剂均需在 2-8°C 下避光保存。

预计值

我们在实验室中采用上述试剂处理了 25 名表观健康供体的全血样本。使用该试剂进行阳性目标颗粒计数得到的结果如下表所示：

阳性目标	数量	平均值 (%)	标准差	CV (%)
单核细胞	25	98.28	0.88	0.90
粒细胞	25	99.69	0.42	0.42

这些值仅供参考。各实验室应通过当地正常供体群体确定自己的预期值。

性能

使用上文描述的程序，通过分析之前采集在无菌试管（含有 EDTA 盐作为抗凝血剂）中未达 24 小时的血液样本获得了性能数据。在免疫染色后的 2 小时内进行分析。

特异性

CD13 分子也被称为氨肽酶 N (APN)，是一种分子量为 150-170 kDa 的 II 型跨膜金属蛋白酶。此分子有一个广泛的细胞外序列和一段短的胞质内区域。CD13 分子以非共价方式在细胞表面结合成同型二聚体 (11)。CD13 抗原在粒-单核细胞株（单核细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞）及其定向祖细胞（形成混合粒-单细胞群或 CFU-GM 的中间祖细胞）上有早期表达 (11,12,13,14)。

CD13 分子在非造血组织的细胞上也有表达，如近端肾小管的上皮细胞、构成肠道刷状缘的细胞、内皮细胞、成纤维细胞、骨髓的基质细胞、破骨细胞和胆管的基底细胞 (15)。

单克隆抗体 SJ1D1 在外周血中与单核细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞发生反应。在 1986 年于英国牛津举办的 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens（第 3 届 HLDA 人类白细胞分化抗原会议）上，它被分配到 CD13（WS 代码：285，M 部分）(12)。

精度

阳性百分比值用全血测定。每份样本使用 2 个批次的 CD13-PE 单克隆抗体试剂，在 2 台仪器上运行 4 次，每天 2 次，持续 1 天。使用 Navios 流式细胞仪进行测量（阳性 %）。分析基于 CLSI method EP5-A2：Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：定量测量方法精度性能的评估）。

我们的接受限取决于针对每个群体所测得的阳性颗粒数：

- 如果阳性颗粒数 < 1,500，则 CV < 15%
- 如果阳性颗粒数 > 1,500，则 CV < 10%

单核细胞							
阳性颗粒数（平均值）= 1119							
	操作人员间	细胞仪间	批次内	批次间	运行间	运行内	总数
CV (%)	0.16	0.17	0.51	0.13	0.15	0.46	0.55
结果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

粒细胞							
阳性颗粒数（平均值）= 23248							
	操作人员间	细胞仪间	批次内	批次间	运行间	运行内	总数
CV (%)	0.01	0.04	0.05	0.01	0.02	0.05	0.07
结果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

准确性

评估 CD13-PE 的准确性的方法为：将其与参考试剂分别应用于一组全血样本，然后用 Navios 流式细胞仪进行检测，之后比较结果。该测试与参考试剂之间的偏差根据测试结果的差异而确定。如果偏差在允许的错误范围内，或者 p 值没有显著差异 (> 0.05)，则认为这两种试剂的测试结果是等效的。

所得结果如下表所示：

献血人次 = 25				
阳性目标	平均值 Δ	Δ % 细胞标准	p 值	结果
单核细胞	-0.19	<5	0.120	PASS
粒细胞	-0.23	<5	4.003E-03	PASS

空白检测限和检测限

研究人员根据 CLSI EP17-A2 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2 临床实验室测量程序检测能力的评估）进行了一项研究。检测限 (LOD) 指可被一致检出的最低分析物浓度。所得结果如下表所示：

Positive Target	空白检测限（个细胞/µL）	检测限（个细胞/µL）
单核细胞	0	4
粒细胞	2	4

限制

1. 若流式细胞术未完全校准、荧光泄漏未得到正确补偿或未在该区域谨慎定位，则流式细胞术可能会产生错误结果。
2. 最好使用包含洗涤步骤的 RBC 裂解技术，因为该试剂未针对“无洗涤”裂解技术进行优化。
3. 只要所使用的程序符合技术插页说明书并遵守实验室管理规范，就可以获得准确和可重现的结果。
4. 校准该试剂的结合抗体，以提供最佳的特异性信号/非特异性信号比率。因此，在每次测试中都务必遵从此试剂体积/样本体积比率。
5. 如果白细胞过多，请在 PBS 中稀释血液，使白细胞浓度降低到约 5 x 10^9 个/L (16)。
6. 在严重肾衰竭、血红蛋白病等特定疾病状态中，红细胞裂解会变得缓慢、不完全，甚至无法实现。在这种情况下，建议在染色前通过密度梯度（例如聚蔗糖）隔离单核细胞 (17)。
7. 接受抗人单克隆抗体治疗的患者可能会因治疗抗体的部分或完全阻断而难以或无法检测特定的靶抗原。
8. 在判读 CD13-PE 结果时，需参照患者的整体临床表现，包括：症状、临床病史、其他检查数据和其他适用的信息。

请参阅附录中的示例和参考文献。

商标

Beckman Coulter、标志以及文中提及的贝克曼库尔特产品和服务标记均是美国贝克曼库尔特有限公司在美国和其他国家/地区的商标或注册商标。

其他信息

对于欧盟及具有相同监管制度的国家/地区的患者/用户/第三方（Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices [有关体外诊断医疗装置的法规 2017/746/EU]）：如果在使用本装置期间或由于使用本装置而发生严重事件，请向制造商和/或其授权代表以及当地国家主管部门报告。

Summary of Safety and Performance（安全和性能摘要）提供在 EUDAMED 数据库中：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修订历史

修订版本 AD：	发布日期：2019 年 10 月

修订	**发布日期**
AW	2022 年 2 月
更新文档以符合贝克曼库尔特公司全球标签政策和 IVD-R (EU)2017/746 的要求：	
新增章节	BSI 2797 编号、预期用户、临床意义、浓度、精度、准确性、空白检测限和检测限、其他信息、修订记录。
添加了信息	参阅“限制”章节
更新了措辞或版面	参阅程序、性能、限制、警告和注意事项、储存和稳定性章节。
删除了几个章节	临床应用示例、试剂、实验室内重复性、线性度
更新后章节	预期用途、GHS 危险等级分类、变质的迹象、程序、附录。

修订	**发布日期**
AX	
更新后章节	添加哈萨克语
更新后章节	储存及稳定性

修订版本	AY
修订日期	5 月 2024
更新的翻译	**临床意义：**
更新后章节	修订历史

符号注解

符号词汇表发布于 beckman.com/techdocs（文档编号 B60062）

	Specifikacijos
Specifiškumas	CD13
Klonas	SJ1D1
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunogenas	KG1a cell line
Imunoglobulinas	IgG1
Rūšis	Pelė
Išgryninimas	Gimininguмo chromatografija
Fluorochromas	R Phycoerythrin (PE)
Molinis santykis	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ žadinimas	488 nm
Spinduliuotės smailė	575 nm
Buferinis tirpalas	7,2 pH fosfato buferinis tirpalas plius 2 mg/ml GSA ir 0,1 % NaN_3

„IOTest“
Konjuguotas antikūnas CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 ml, 20 µl vienam tyrimui

***In vitro* diagnostiniam naudojimui**

NAUDOJIMO PASKIRTIS

Naudojant šį su fluorochromu konjuguotą antikūną, srauto citometrijos būdu galima kokybiškai ir neautomatizuotu būdu identifikuoti ląstelių populiacijas, išreiškiančias CD13 antigeną, esantį žmogaus biologiniuose mėginiuose (žr. paskesnį skyrių „Mėginiai“).

PRINCIPAS

Šis tyrimas pagrįstas specifinių monokloninių antikūnų gebėjimu jungtis prie antigenų determinantų, kuriuos ekspresuoja leukocitai.

Specifinis leukocitų dažymo procesas atliekamas mėginį inkubuojant reagentu „IOTest“. Tada lizuojant pašalinami eritrocitai ir srauto citometrijos būdu analizuojami leukocitai, kurie per šį etapą nepaveikiami.

Srauto citometru matuojama ląstelių šviesos sklaida ir fluorescencija. Šiuo būdu galima tiriamąją populiaciją apriboti histogramoje apibrėžtu elektroniniu langu, kuris koreliuoja su šviesos sklaida stačiu kampu (šonine sklaida arba ŠS) ir šviesos sklaida smailu kampu (priekine sklaida arba FS). Kitos citometre įdiegtos histogramos, kuriose derinami du skirtingi parametrai, gali būti naudojamos kaip papildoma priemonė nustatant atrankos intervalus, žiūrint, kokį naudojimo būdą pasirinko naudotojas.

Analizuojant apribotų ląstelių fluorescenciją, teigiamai nudažyti įvykiai atskiriami nuo neigiamai nudažytų. Rezultatai išreiškiami kaip teigiamų įvykių procentinė dalis visų įvykių, gautų nustačius atrankos intervalą, atžvilgiu.

NUMATOMAS NAUDOTOJAS

Šis gaminys skirtas naudoti specialistams laboratorijose.

KLINIKINĖ SVARBA

CD13-PE yra CD13 antikūnas, naudojamas CD13 antigeną ekspresuojančioms ląstelėms identifikuoti ir charakterizuoti srauto citometrijos būdu. Naudojant vien šį gaminį negalima padaryti jokios diagnostinės išvados ir jis nėra tam skirtas.

Kartu su kitais žymenimis naudojamas šis gaminys gali būti naudojamas vienu ar keliais iš toliau nurodytų tikslų.

- Hematologiškai nenormalių pacientų, kuriems įtariama kraujodaros sistemos neoplazma, diferencinei diagnozei palengvinti ir pacientams, kuriems jau nustatyta kraujodaros sistemos neoplazma, stebėti.
- Kraujodaros sistemos neoplazma sergančių pacientų prognozės numatymui palengvinti.

Žr. šias nuorodas:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MĖGINIAI

Veninio kraujo mėginius reikia imti į sterilius mėgintuvėlius su EDTA druska kaip antikoaguliantu.

Mėginius reikia laikyti kambario temperatūroje (18–25 °C) ir nekratyti. Prieš paimant tiriamąjį mėginį reikia atsargiai sujudinti mėginus, kad jie taptų vienalyčiai.

Mėginiai turi būti išanalizuoti per 24 valandas po venų punkcijos.

KONCENTRACIJA

Žr. konkrečios partijos analizės sertifikatą, pateikiamą interneto svetainėje www.beckman.com.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. Reagento nenaudoti pasibaigus galiojimo laikui.
2. Neužšaldyti.
3. Prieš naudojant reikia leisti sušilti iki kambario temperatūros (18–25 °C).
4. Laikykite kuo mažiau apšviestoje vietoje.
5. Saugokite, kad reagentai nebūtų užteršti mikrobais, nes antraip gali būti gaunami klaidingi rezultatai.

6. Su antikūnų tirpalais, kurių sudėtyje yra natrio azido (NaN_3), reikia elgtis atsargiai. Nevartokite į vidų ir saugokitės, kad nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.

   Be to, rūgščioje terpėje natrio azidas gali išskirti potencialiai pavojingą hidrazo rūgštį. Jei jį reikia pašalinti, prieš pilant į nutekėjimo sistemą, reagentą rekomenduojama praskiesti dideliu vandens kiekiu, kad būtų išvengta natrio azido kaupimosi metaliniuose vamzdžiuose ir išvengta sprogimo pavojaus.
7. Visi kraujo mėginiai turi būti laikomi potencialiai užkrečiamais ir su jais turi būti elgiamasi atsargiai (itin svarbu dėvėti apsaugines pirštines, apsiaustus ir akinius).
8. Jokiu būdu nesiurbkite burna ir saugokitės, kad mėginių nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.
9. Panaudoti kraujo mėgintuvėliai ir vienkartinės medžiagos turėtų būti išmetami į sudeginamas ad hoc talpyklas.
10. Reagentai ir atliekos turi būti šalinami pagal vietinius reikalavimus.

GHS PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Neklasifikuojama kaip pavojinga

SDS Saugos duomenų lapą galima gauti interneto svetainėje beckman.com/techdocs

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Prieš atidarant ir atidarius buteliuką reagentas turi būti laikomas 2–8 °C temperatūroje ir saugomas nuo šviesos.

Uždaryto buteliuko tinkamumo naudoti laikas pagal stabilumo tyrimą: 1095 d.

Atidaryto buteliuko stabilumas: reagentas lieka stabilus 180 d.

KOKYBĖS PABLOGĖJIMO POŽYMIAI

Bet koks reagentų fizinės išvaizdos pokytis gali reikšti pablogėjusias gaminio savybes, todėl tokio reagento naudoti negalima.

Prireikus papildomos informacijos arba gavę sugadintą gaminį skambinkite į „Beckman Coulter“ klientų aptarnavimo skyrių telefonu 800-742-2345 (JAV arba Kanadoje) arba susisiekite su vietiniu „Beckman Coulter“ atstovu.

TURINYS

Natrio azido konservantas metalo vamzdynuose gali sudaryti sprogiuosius junginius. Žr. „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (Nacionalinio darbų saugos ir sveikatos instituto biuletenį: sprogstamojo azido pavojus) (76-8-16).
Norėdami išvengti galimo azido junginių susikaupimo, išpylę į kanalizacijos sistemą neatskiesto reagento, vandeniu praplaukite nutekamuosius vamzdžius. Natrio azidas turi būti šalinamas pagal taikomų vietos reglamentų reikalavimus.

REIKALINGOS, BET SU RINKINIU NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS

- Mėginiams imti reikalingi mėginių ėmimo mėgintuvėliai ir medžiagos.
- Automatinės pipetės su vienkartiniais antgaliais, skirtos 20, 100 ir 500 µl tūrio mėginiams.
- Plastikiniai hemolizės mėgintuvėliai.
- Raudonųjų kraujo kūnelių lizavimo reagentas su plovimo etapu baigus lizuoti. Pavyzdys: „VersaLyse“ (kat. nr. A09777).
- Leukocitų fiksavimo reagentas. Pavyzdys: fiksavimo tirpalas „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800).
- Izotipų kontrolinė medžiaga PE: „IOTest“ reagentas (kat. Nr. A07796).
- Buferinis tirpalas (fosfato buferinis tirpalas: 0,01 M natrio fosfato; 0,145 M natrio chlorido; pH 7,2).
- Nucentrifuguokite.
- Automatinis maišytuvas (sūkurinio tipo).
- Srauto citometras.

PROCEDŪRA NAUDOJANT REAGENTĄ „VERSALYSE“

Analizuojant kiekvieną mėginį, be tiriamojo mėgintuvėlio galima naudoti vieną kontrolinį mėgintuvėlį, kuriame ląstelės sumaišytos su izotipine kontroline medžiaga (kat. Nr. A07796).

1. Į kiekvieną tiriamąjį mėgintuvėlį įpilkite po 20 µl specifinio su „IOTest“ konjuguoto antikūno ir prireikus į kiekvieną kontrolinį mėgintuvėlį įpilkite po 20 µl kiekvieno izotipo kontrolinės medžiagos.
2. Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite po 100 µl tiriamojo mėginio. Mėgintuvėlius atsargiai išmaišykite sūkuriniu būdu.
3. 15–20 minučių inkubuokite kambario temperatūroje (18–25 °C), saugodami nuo šviesos.
4. Tai padarę sulizuokite eritrocitus. Žr. „VersaLyse“ (kat. Nr. A09777) informacinį lapelį; rekomenduojama laikytis procedūros, vadinamos „su vienalaikiu fiksavimu“, kurios metu įpilama 1 ml prieš pat naudojant paruošto fiksavimo ir lizavimo mišinio. Tuojau pat vieną sekundę maišykite sūkuriniu būdu ir 10 minučių inkubuokite kambario temperatūroje, saugodami nuo šviesos.
5. 5 minutes centrifuguokite veikiant 150 x g jėgai kambario temperatūroje.
6. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą.
7. Iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami 3 ml fosfato buferinį tirpalą.
8. Pakartokite 5 veiksmą.
9. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą ir iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami toliau nurodytas medžiagas.

- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo ir 0,1 % formaldehido, jeigu preparatai bus laikomi mažiau nei 24 val. (0,1 % formaldehido fosfato buferinio tirpalo galima gauti 12,5 µl 10X koncentracijos fiksavimo tirpalo „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800) atskiedus 1 ml fosfato buferinio tirpalo.)
- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo be formaldehido, jeigu preparatai bus analizuojami per 2 val.

Pastaba. Visais atvejais preparatus laikykite 2–8 °C temperatūroje ir saugodami nuo šviesos.

TIKĖTINOS VERTĖS

Mūsų laboratorijose 25 tariamai sveikų donorų viso kraujo mėginiai buvo apdoroti pirmiau aprašytu reagentu. Toliau pateiktoje lentelėje nurodyti dominančių teigiamų įvykių skaičiaus rezultatai, gauti naudojant šį reagentą.

Teigiamas taikinys	Skaičius	Vidurkis (%)	SN	VK (%)
Monocitai	25	98,28	0,88	0,90
Granulocitai	25	99,69	0,42	0,42

Šios vertės tėra reprezentacinės. Kiekviena laboratorija turi iš vietinės normalių donorų populiacijos nustatyti savo numatomas vertes.

VEIKIMAS

Veikimo duomenys gauti, pirmiau aprašytą procedūrą atliekant su mažiau nei 24 val. senumo mėginiais, kurie buvo anksčiau paimti į sterilius mėgintuvėlius su antikoaguliantu EDTA druska. Analizė atliekama ne vėliau kaip 2 val. po imunodažymo.

SPECIFIŠKUMAS

CD13 molekulė, dar vadinama N aminopeptidaze (APN), yra II tipo transmembraninė metaloprotezė, kurios molekulinis svoris yra 150–170 kDa. Ši molekulė turi ilgą užląstelinę seką ir trumpą intracitoplazminį regioną. Atrodo, kad CD13 molekulė kaip homodimeras nekovalentišku būdu jungiasi prie ląstelių paviršiaus (11). CD13 antigenas yra anksti ekspresuojamas granulo-monocitų linijoje (monocitai, neutrofilai, eozinofilai ir bazofilai) bei jų pradininkai (tarpiniai pradininkai, sudarantys mišrias granulo-monocitų kolonijas arba CFU-GM) (11, 12, 13, 14).

CD13 taip pat ekspresuojama ant ne kraujodaros audinių ląstelių, pavyzdžiui, artimųjų inkstų kanalėlių epitelio ląstelių, žarnų gaurelių ribą sudarančių ląstelių, endotelio ląstelių, fibroblastų, kaulų čiulpų stromos ląstelių, osteoklastų ir tulžies latakų bazalinių ląstelių (15).

Monokloninis antikūnas SJ1D1 periferiniame kraujyje reaguoja su monocitais, neutrofilais, eozinofilais ir bazofilais. Jis buvo CD13 priskirtas per „3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens“ (3-ąją konferenciją dėl žmogaus leukocitų diferencijavimo antigenų, ŽLDA), vykusią Oksforde, Didžiojoje Britanijoje, 1986 m., (WS kodas: 285, M skyrius) (12).

GLAUDUMAS

Procentinės teigiamosios vertės nustatytos naudojant visą kraują. Kiekvienas mėginys buvo analizuojamas 4 kartus: 1 dieną, po du kartus, naudojant 2 prietaisus ir 2 CD13-PE monokloninių antikūnų reagentų partijas. Matavimai (% teigiamų) buvo atlikti srauto citometru „Navios“. Analizė atlikta pagal „CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods“ (CLSI metodą EP5-A2 „Kiekybinių matavimo metodų glaudumo veikimo vertinimas“).

Mūsų priėmimo kriterijai priklauso nuo kiekvienoje populiacijoje nustatyto teigiamų įvykių skaičiaus:

- jeigu teigiamų įvykių < 1 500, VK < 15 %
- Jeigu teigiamų įvykių > 1 500, VK < 10 %

Monocitai							
Teigiamų įvykių skaičius (vidurkis) = 1119							
	Skirtingų operatorių	Skirtingų citometrų	Tos pačios partijos	Skirtingų partijų	Skirtingų analizių	Tos pačios analizės	Iš viso
VK (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
REZULTATAI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocitai							
Teigiamų įvykių skaičius (vidurkis) = 23248							
	Skirtingų operatorių	Skirtingų citometrų	Tos pačios partijos	Skirtingų partijų	Skirtingų analizių	Tos pačios analizės	Iš viso
VK (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
REZULTATAI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TIKSLUMAS

CD13-PE tikslumas vertintas palyginant rezultatus su etaloniniu reagentu kaip patvirtinamąja priemone, srauto citometru „Navios“ analizuojant viso kraujo mėginių rinkinį. Bandomojo ir etaloninio reagentų paklaida nustatyta pagal tyrimo rezultatų skirtumą. Jeigu paklaida neviršija leidžiamojo paklaidų diapazono arba p reikšmė nerodo reikšmingo skirtumo (> 0,05), abiejų reagentų tyrimo rezultatai laikomi lygiaverčiais.

Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Donorų skaičius = 25				
Teigiamas taikinys	Vidurkis Δ	Δ % ląstelių kriterijai	p reikšmė	REZULTATAI
Monocitai	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulocitai	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

RUOŠINIO RIBA IR APTIKIMO RIBA

Pagal CLSI EP17-A2 dokumentą „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Klinikinių laboratorinių matavimų procedūrų aptikimo pajėgumų vertinimas) atliktas mokslinis tyrimas. Aptikimo riba (LOD) yra mažiausioji analitės koncentracija, kurią galima nuolat aptikti. Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Positive Target	Ruošinio riba (ląst./µl)	Aptikimo riba (ląst./µl)
Monocitai	0	4
Granulocitai	2	4

RIBOJIMAI

1. Atliekant srauto citometriją klaidingi rezultatai gali būti gauti tuo atveju, jei citometras nebuvo tiksliai sureguliuotas, fluorescencijos nuotėkiai nebuvo tinkamai kompensuoti ar regionai nebuvo kruopščiai išdėstyti.

2. Pageidautina taikant RBC lizavimo metodą atlikti plovimo etapą, nes šis reagentas nėra optimizuotas lizavimo „be plovimo“ metodikoms.
3. Tikslūs ir atkuriami rezultatai bus gaunami tol, kol naudojamos procedūros atitiks techniniame lapelyje pateiktą informaciją ir bus atliekamos laikantis geros laboratorijos praktikos.
4. Šio reagento konjuguotas antikūnas sukalibruotas taip, kad būtų gaunamas geriausias specifinio ir nespecifinio signalų santykis. Dėl šios priežasties atliekant kiekvieną tyrimą svarbu tiksliai laikytis nurodyto reagento ir mėginio tūrių santykio.
5. Hiperleukocitozės atveju kraują atskieskite fosfato buferiniu tirpalu, kad gautumėte maždaug 5 x 10^9 leukocitų/l koncentraciją (16).
6. Sergant kai kuriomis ligomis, pavyzdžiui, sunkiu inkstų nepakankamumu arba hemoglobinopatijomis, eritrocitai gali būti lėtai arba nevisiškai sulizuojami arba jų visai neįmanoma lizuoti. Tokiu atveju rekomenduojama prieš dažant atskirti vienbranduoles ląsteles tankio gradiento būdu (pavyzdžiui, Ficollo) (17).
7. Jeigu pacientams atliekama žmogaus monokloninių antikūnų terapija, specifiniai tiksliniai antigenai gali būti aptinkami prasčiau arba visai neaptinkami dėl dalinio arba visiško terapinio antikūno blokavimo.
8. CD13-PE rezultatai turi būti interpretuojami remiantis bendra paciento klinikine būkle, atsižvelgiant į: simptomus, klinikinę anamnezę, papildomų tyrimų duomenis ir kitą atitinkamą informaciją.

Pavyzdžiai ir nuorodos pateikti priede.

PREKIŲ ŽENKLAI

„Beckman Coulter“, stilizuotas logotipas ir kiti šiame dokumente nurodyti „Beckman Coulter“ gaminių ir prekių ženklai yra „Beckman Coulter, Inc.“ prekių ženklai arba registruotieji prekių ženklai Jungtinėse Amerikos Valstijose ir kitose šalyse.

PAPILDOMA INFORMACIJA

Pacientams / naudotojams / trečiosioms šalims Europos Sąjungoje ir šalyse, kuriose galioja identiški reguliaciniai reikalavimai (Reglamentas (ES) 2017/746 dėl in vitro diagnostikos medicinos priemonių): jeigu naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko sunkus incidentas, apie jį praneškite gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui ir savo šalies nacionalinei institucijai.

„Summary of Safety and Performance“ (Saugos ir veikimo suvestinė) pateikiama EUDAMED interneto svetainėje ec.europa.eu/tools/eudamed.

PERŽIŪRŲ ISTORIJA

PERŽIŪRA AD:	Leidimo data: 2019 m. spalis

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AW	2022 m. vasaris
Atnaujinta pagal „Beckman Coulter“ visuotinių ženklinimo taisyklių ir IVD-R (ES)2017/746 reikalavimus.	
Pridėti skyriai	BSI 2797 numeris, „Numatomas naudotojas“, „Klinikinė svarba“, „Koncentracija“, „Glaudumas“, „Tikslumas“, „Ruošinio riba ir aptikimo riba“, „Papildoma informacija“, „Peržiūrų istorija“.
Pridėta informacija	Žr. skyrių „Ribojimai“
Frazavimo arba tipografiniai atnaujinimai	Žr. skyrius „Procedūra“, „Veikimas“, „Ribojimai“, „Įspėjimai ir atsargumo priemonės“, „Laikymas ir stabilumas“.
Pašalinti skyriai	„Klinikinio naudojimo pavyzdys“, „Reagentai“, „Laboratorijos vidaus atkartojamumas“, „Tiesiškumas“
Atnaujinti skyriai	„Paskirtis“, „Visuotiniai suderintos sistemos (GHS) pavojingumo klasifikacija“, „Kokybės pablogėjimo požymiai“, „Procedūra“, priedas.

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AX	
Atnaujinti skyriai	Pridėta kazachų kalba
Atnaujinti skyriai	Laikymas ir stabilumas

Peržiūrėta versija	AY
Peržiūros data	Gegužė 2024
Atnaujintas vertimas	**Klinikinė svarba:**
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Simbolių sutartiniai ženklai

Simbolių terminų žodynas pateikiamas interneto svetainėje beckman.com/techdocs (dokumento numeris B60062).

	Specifikációk
Specificitás	CD13
Klón	SJ1D1
Hibridóma	SP2/0 x balb/c
Immunogén	KG1a cell line
Immunglobulin	IgG1
Faj	Egér
Tisztítás	Affinitáskromatográfia
Fluorokróm	R Phycoerythrin (PE)
Moláris arány	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ gerjesztés	488 nm
Kibocsátási csúcs	575 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plusz 2 mg/mL BSA és 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugált antitest
CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20 µL/teszt

***In vitro* diagnosztikai használatra.**

RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

Ez a fluorokrómmal konjugált antitest lehetővé teszi a humán biológiai mintákban a(z) CD13 antigént expresszáló sejtpopulációk áramlási citometriával végzett kvalitatív és nem automatizált azonosítását (lásd a „Minták” című alábbi fejezet).

MŰKÖDÉSI ELV

A vizsgálat azon alapul, hogy a specifikus monoklonális antitestek képesek-e kötődni a leukociták által expresszált antigén-determinánsokhoz.

A leukociták specifikus festése a mintának az IOTest reagenssel való inkubálásával történik. Az eritrocitákat ezután lízissel eltávolítják, és a leukocitákat, amelyekre nincs hatással ez a művelet, analizálni lehet áramlási citometriával.

Az áramlási citométer a sejtek fényszórását és fluoreszcenciáját méri. Ez lehetővé teszi a vizsgált populáció elhatárolását egy olyan elektronikus ablakon belül, amelyet a derékszögben szórt fény (oldalszóródás vagy SS) és a hegyes szögben szórt fény (előreszóródás vagy FS) intenzitását összehasonlító hisztogramon határoztak meg. Más, a citométer által mértek közül két paramétert kombináló hisztogramok használhatók kiegészítésként a kapuzási fázisban, a felhasználó által választott alkalmazástól függően.

Az elkülönített sejtek fluoreszcenciáját a rendszer elemzi a pozitívan festődött események megkülönböztetésére a nem festődöttektől. Az eredmények kifejezése a pozitív események százalékos arányaként történik a kapuzás által regisztrált összes eseményhez képest.

CÉLFELHASZNÁLÓ

Ez a termék laboratóriumi szakemberek általi használatra készült.

KLINIKAI JELENTŐSÉG

A CD13-PE egy CD13 antitest, amely a(z) CD13 antigént expresszáló sejtek áramlási citometriás azonosítására és jellemzésére szolgál. Ez a termék önmagában nem képes arra, és nem is arra a célra lett kialakítva, hogy bármilyen diagnosztikai következtetést generáljon.

Más markerekkel kombinált használata esetén ez a termék az alábbiak közül egy vagy több célra használható:

- Segít azon rendellenes vérképű betegek differenciáldiagnózisában, akiknél hemopoetikus neoplasia gyanítható, valamint segít az ismerten hemopoetikus neoplasiaval rendelkező betegek monitorozásában.
- Segít a hemopoetikus neoplasiaban szenvedő betegek prognózisának felállításában.

Lásd a következő hivatkozásokat:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MINTÁK

A vénás vért steril, alvadásgátlóként EDTA sóját tartalmazó csövekbe kell gyűjteni.

A mintákat szobahőmérsékleten (18–25 °C között) kell tárolni, és nem szabad felrázni. A tesztminta vétele előtt a mintákat homogenizálni kell óvatos rázással.

A minták elemzését a vénaszúráshoz képest 24 órán belül el kell végezni.

KONCENTRÁCIÓ

Lásd: www.beckman.com, tételspecifikus analitikai bizonylat.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

1. Ne használja a reagenst a lejárati időn túl.
2. Fagyasztani tilos.
3. Használat előtt hagyja felmelegedni szobahőmérsékletre (18–25 °C).
4. Minimalizálja a fényexpozíciót.
5. Kerülje el a reagensek mikrobiális kontaminációját, ebben az esetben hamis eredményeket kaphat.
6. A nátrium-azidot (NaN_3) tartalmazó antitestoldatokat körültekintően kell kezelni. A terméket nem szabad lenyelni, és nem érintkezhet bőrrel, nyálkahártyával vagy a szemmel.

Sőt, savas közegben a nátrium-azid potenciálisan robbanékony nitrogén-hidrogénsavat képez. Ha ártalmatlanítani kell, javasolt a reagenst nagy mennyiségű vízzel hígítani a szennyvízcsatornába öntés előtt, hogy ne halmozódhasson fel nátrium-azid a fémcsövekben, és ne keletkezzen robbanásveszély.

7. Minden vérmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és óvatosan kell kezelni (azaz védőkesztyűt, köpenyt és szemüveget viselve).
8. Soha ne pipettázzon szájjal, és a minták soha ne érintkezzenek szemmel, bőrrel vagy nyálkahártyával!
9. A vércsöveket és a kezeléshez használt, egyszer használatos anyagokat olyan ad hoc tartóedényben kell kidobni, amely égetésre szolgál.
10. A reagenseket és a hulladékot a helyi követelmények szerint kell ártalmatlanítani.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Nincs veszélyes anyagként besorolva

SDS A biztonsági adatlap elérhető a következő weboldalon: beckman.com/techdocs

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A reagenst a fiola kibontása előtt és után is 2 és 8 °C között, fénytől védve kell tárolni.

A lezárt fiola eltarthatósági ideje a stabilitási vizsgálat alapján: 1095 nap.

A felbontott fiola stabilitása: a reagens 180 napig stabil.

A MINŐSÉGROMLÁS JELEI

A reagensek fizikai megjelenésének bármilyen megváltozása megromlásra utalhat, és a reagenst nem szabad felhasználni.

További információkért, illetve sérült termék kézhezvétele esetén hívja a Beckman Coulter ügyfélszolgálatát a 800-742-2345-es számon (az Amerikai Egyesült Államokban és Kanadában), vagy lépjen kapcsolatba a Beckman Coulter területileg illetékes képviselőjével.

A CSOMAG TARTALMA

A nátrium-azid tartósítószer robbanékony vegyületeket képezhet a fém lefolyócsövekben. Lásd az alábbi NIOSH-közleményt: Explosive Azide Hazard (Robbanékony azidokkal kapcsolatos veszélyek) (76. 8. 16.).
Az azidvegyületek esetleges felhalmozódásának elkerülése érdekében a hígítatlan reagens szennyvízlefolyóba történő kiöntése után a szennyvízvezetéket vízzel át kell öblíteni. A nátrium-azid ártalmatlanítását a vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell végezni.

SZÜKSÉGES, DE A KÉSZLETTEL NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK:

- Mintacsövek és a mintavételhez használt anyagok.
- Automata pipetták eldobható hegyekkel 20, 100 és 500 µL-hez.
- Műanyag hemolíziscsövek.
- Vörösvértesteket lizáló reagens, a lízis után mosási fázissal. Például: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leukocitafixáló reagens. Például: IOTest 3 fixálóoldat (Ref. A07800).
- Izotípus-kontroll PE: IOTest reagens (Ref. A07796).
- Puffer (PBS: 0,01 M nátrium-foszfát; 0,145 M nátrium-klorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automata keverő (vortex típusú).
- Áramlási citométer.

ELJÁRÁS VERSALYSE REAGENS ESETÉN

Mindegyik analizált minta esetében a vizsgált mintacsövön kívül a vizsgálatot ki lehet egészíteni egy kontrollmintacsővel is, amelyben a sejtek az izotípus-kontroll jelenlétében vannak összekeverve (Ref. A07796).

1. Adjon mindegyik mintacsőhöz 20 µL specifikus IOTest konjugált antitestet, és szükség esetén mindegyik kontrollmintacsőhöz 20 µL izotípuskontrollt.
2. Adjon 100 µL tesztmintát mindegyik mintacsőhöz. Óvatosan vortexelje a mintacsöveket.
3. Inkubálja 15–20 percig szobahőmérsékleten (18–25 °C), fénytől védett helyen.
4. Ezután végezze el a vörösvértestek lízisét. Kövesse a VersaLyse (Ref. A09777) füzet utasításait és lehetőség szerint a „konkomittáns fixációval” nevű eljárást alkalmazza, amelynek során 1 mL, akkor és ott elkészített „Fix-and-Lyse” keveréket kell hozzáadni a mintához. Azonnal vortexelje egy másodpercig, majd inkubálja 10 percig szobahőmérsékleten, fénytől védve.
5. Centrifugálja 5 percig szobahőmérsékleten, 150 x g-vel.
6. Felszívás segítségével távolítsa el a felülúszót.
7. Reszuszpendálja a sejtpelletet 3 mL PBS-ben.
8. Ismételje meg az 5. lépést.
9. Felszívással távolítsa el a felülúszót, és reszuszpendálja a sejtpelletet az alábbi reagenssel:

- 0,1% formaldehidet tartalmazó 0,5 mL vagy 1 mL PBS, ha a készítményt kevesebb mint 24 óráig fogják tárolni. (0,1% formaldehidet tartalmazó PBS készítéséhez hígítson 12,5 µL IOTest 3 fixálóoldatot (Ref. A07800) a 10X koncentrációra 1 mL PBS-ben.)
- 0,5 mL vagy 1 mL PBS formaldehid nélkül, ha a preparátum elemzése 2 órán belül fog történni.

Megjegyzés: A készítményeket fénytől védve, 2 és 8 °C között kell tárolni.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

A laboratóriumainkban látszólag egészséges 25 donorok teljesvér-mintáit kezeltük a fent ismertetett reagenssel. Az ezzel a reagenssel kapott vizsgált pozitív események számolási eredményeit az alábbi táblázat tartalmazza:

Pozitív cél	Szám	Átlag (%)	SD	CV (%)
Monociták	25	98,28	0,88	0,90
Granulociták	25	99,69	0,42	0,42

Ezek az értékek csak tájékoztatásul szolgálnak. Az egyes laboratóriumoknak meg kell határozniuk a saját várt értékeiket a helyi egészséges donorok populációjából.

TELJESÍTMÉNY

A teljesítményadatokat a fent leírt eljárás segítségével lehet megkapni az alvadásgátlóként EDTA-sót tartalmazó steril csövekbe levett vérmintákból a vérvételt követő kevesebb mint 24 órán belül. Az analízist az immunfestést követő 2 órán belül kell elvégezni.

SPECIFICITÁS

A CD13 molekula (más néven N-aminopeptidáz vagy APN) egy II-es típusú, 150–170 kDa molekulatömegű transzmembrán fémproteáz. A molekula kiterjedt extracelluláris szekvenciával, valamint rövid intracitoplazmatikus régióval rendelkezik. A CD13 molekula homodimerként nem kovalens módon kötődik a sejtek felszínéhez (11). A CD13 antigén korán kifejeződik a granulo-monocita sejtvonalban (monociták, neutrofilek, eozinofilek és bazofilek), valamint ezek elkötelezett progenitor sejtjeiben (CFU-GM, kevert granulo-monocita kolóniákat képező átmeneti progenitorok) (11,12,13,14).

A CD13 molekula emellett olyan, nem hemopoetikus szöveteken is kifejeződik, mint például a proximális vese tubulusok epitheliális sejtjei, a vékonybél kefeszegélyét alkotó sejtek, endotheliális sejtek, fibroblasztok, a csontvelő sztrómasejtjei, oszteoklasztok és az epevezeték bazális sejtjei (15).

Az SJ1D1 monoklonális antitest reagál a perifériás vérben található monocitákkal, neutrofilekkel, eozinofilekkel és bazofilekkel. A 3. HLDA Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens (humán leukocita differenciációs antigén kutatási műhely) alkalmával (1986, Oxford, Nagy-Britannia) (WS-kód: 285, M szekció) rendelték hozzá a CD13-hoz (12).

PRECIZITÁS

A százalékos pozitív értékeket teljes vér felhasználásával határozták meg. Mindegyik mintát 4-szer futtatták, naponta kétszer 1 napig, 2 berendezésen, a CD13-PE monoklonális antitest reagensek 2 gyártási tételének felhasználásával. A méréseket (pozitív %) Navios áramlási citométerrel végezték. Az analízist a CLSI által közzétett EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (A kvantitatív mérési módszerek precizitási teljesítményének értékelése) módszer alapján végezték.

Az elfogadhatósági kritériumaink az egyes populációknál mért pozitív események számától függ:

- Ha a pozitív esemény < 1500, CV < 15%
- Ha a pozitív esemény > 1500, CV < 10%

Monociták							
Pozitív események száma (átlag) = 1119							
	Felhasználók közötti	Citométerek közötti	Egy gyártási tételen belüli	Eltérő gyártási tételek közötti	Futtatások közötti	Egy futtatáson belüli	Összes
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
EREDMÉNYEK	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulociták							
Pozitív események száma (átlag) = 23248							
	Felhasználók közötti	Citométerek közötti	Egy gyártási tételen belüli	Eltérő gyártási tételek közötti	Futtatások közötti	Egy futtatáson belüli	Összes
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
EREDMÉNYEK	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PONTOSSÁG

A CD13-PE pontosságának értékeléséhez összevetették egy referencia reagens és a Navios áramlási citométeren futtatott teljesvér-minták eredményeit. A teszt- és a referenciareagens közötti torzítást a teszteredmények közötti különbségek alapján határozták meg. Ha a torzítás a megengedhető hibatartományon belül maradt, vagy ha a p-érték nem jelzett szignifikáns különbséget (> 0,05), akkor a két reagenssel kapott teszteredményeket egyenértékűnek tekintették.

Az eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Donorok száma = 25				
Pozitív cél	Átlag Δ	Δ % sejt kritériumok	p-érték	EREDMÉNYEK
Monociták	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulociták	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

VAK HATÁRÉRTÉK ÉS KIMUTATHATÓSÁGI HATÁRÉRTÉK

Vizsgálatot végeztek a CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (A klinikai laboratóriumi mérési eljárások kimutatási képességének értékelése) útmutatónak megfelelően. Kimutathatósági határérték (LOD) – a vizsgált anyag következetesen kimutatható legalacsonyabb koncentrációja. A kapott eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Positive Target	Vak határérték (sejt/µL)	Kimutathatósági határérték (sejt/µL)
Monociták	0	4
Granulociták	2	4

KORLÁTOZÁSOK

1. Az áramlási citometria hamis eredményeket adhat, ha a citométert nem igazítják tökéletesen, ha nem kompenzálják megfelelően a fluoreszcenciaszivárgást és ha a régiókat nem pozicionálják elég gondosan.
2. Érdemes egy mosási lépést is tartalmazó vörösvértest lizáló módszert alkalmazni, mivel ezt a reagenst nem optimalizálták „mosás nélküli” lizáló módszerekhez.
3. Pontos és megismételhető eredmények születnek, amennyiben az eljárásokat a műszaki tájékoztató szerint és a helyes laboratóriumi gyakorlattal összhangban végzik el.
4. A reagens konjugált antitestjét úgy kalibrálták, hogy a legjobb specifikus jel/nem specifikus jel arányt produkálja. Ezért fontos, hogy minden tesztnél betartsa a reagenstérfogat/mintatérfogat arányt.
5. Emelkedett leukocitaszám esetén hígítsa a vért annyi PBS hozzáadásával, hogy a fehérvérsejtek koncentrációja körülbelül 5 x 10^9 leukocita/L legyen (16).
6. Bizonyos betegségek, például súlyos veseelégtelenség vagy hemoglobinopátiák esetében előfordulhat, hogy a vörösvértestek lízise lassú, részleges, vagy akár lehetetlen. Ilyenkor javasolt a festés előtt a mononukleáris sejtek elkülönítése egy sűrűséggradiens alapján működő eljárással (ilyen például a Ficoll) (17).
7. A humán antigén elleni monoklonális antitest terápiában részesülő betegek esetében a specifikus célantigén kimutatásának mértéke csökkenhet vagy sikertelen lehet az alkalmazott terápiás antitest által okozott részleges vagy teljes gátlás miatt.
8. Az CD13-PE eredményeket a beteg teljes klinikai képének fényében kell értelmezni, figyelembe véve a tüneteket, a kórtörténetet, más tesztek eredményeit és egyéb releváns adatokat.

A példákért és az irodalomjegyzékért lásd a Függeléket.

VÉDJEGYEK

A Beckman Coulter, a stilizált logó, valamint az itt említett Beckman Coulter termék- és szolgáltatásjegyek a Beckman Coulter, Inc. védjegyei vagy bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és más országokban.

TOVÁBBI INFORMÁCIÓK

Az Európai Unióban, illetve az EU-val azonos szabályozási rendszerrel (lásd: az EU 2017/746 rendelete az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökről) rendelkező országokban élő beteg/felhasználó/harmadik fél esetében: ha a jelen eszköz használata során vagy használata eredményeként súlyos váratlan esemény történik, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy hivatalos területi képviselőjének, valamint az illetékes nemzeti hatóságnak.

A Summary of Safety and Performance (A biztonság és a teljesítmény összefoglalása) című dokumentum elérhető az EUDAMED adatbázisban: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ÁTDOLGOZÁSOK

AD ÁTDOLGOZÁS:	Kiadás dátuma: 2019. október

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AW	2022. február
A Beckman Coulter globális címkézési szabályzatának megfelelő, valamint az IVD-R (EU) 2017/746 követelmények szerinti frissítések:	
Hozzáadott szakaszok	BSI 2797 szám, Célfelhasználó, Klinikai jelentőség, Koncentráció, Precizitás, Pontosság, Vak határérték és kimutathatósági határérték, További információk, Átdolgozások.
Új információk	Lásd a Korlátozások című részeket
Megfogalmazási vagy tipográfiai frissítések	Lásd az Eljárás, Teljesítmény, Korlátozások, Figyelmeztetések és óvintézkedések, Tárolás és stabilitás című részeket.
Eltávolított szakaszok	Példa klinikai alkalmazásra, Reagensek, Laboratóriumon belüli reprodukálhatóság, Linearitás
Frissített szakaszok	Rendeltetésszerű használat, GHS szerinti veszélyességi besorolás, A minőségromlás jelei, Eljárás, Függelék.

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AX	
Frissített szakaszok	Kazak nyelv hozzáadása
Frissített szakaszok	Tárolás és stabilitás

Átdolgozott verzió	AY
Átdolgozás dátuma	Május 2024
Frissített fordítások	**Klinikai jelentőség:**
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Szimbólumok listája

A szimbólumok jegyzéke elérhető a következő weboldalon: beckman.com/techdocs (dokumentumszám: B60062)

	Specyfikacje
Swoistość	CD13
Klon	SJ1D1
Hybrydoma	SP2/0 x balb/c
Immunogen	KG1a cell line
Immunoglobulina	IgG1
Gatunek	Mysz
Oczyszczanie	Chromatografia powinowactwa
Fluorochrom	R Phycoerythrin (PE)
Stosunek molowy	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Wzbudzenie λ	488 nm
Pik emisji	575 nm
Bufor	PBS o pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Przeciwciało skoniugowane CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

PRZEZNACZENIE

To przeciwciało skoniugowane z fluorochromem umożliwia jakościową i niezautomatyzowaną identyfikację populacji komórek wykazujących ekspresję antygenu CD13 obecnego w ludzkich próbkach biologicznych metodą cytometrii przepływowej (zobacz część „Próbki" poniżej).

ZASADA DZIAŁANIA

Ten test jest oparty na zdolności swoistych przeciwciał monoklonalnych do wiązania się z determinantami antygenowymi ekspresjonowanymi przez lekukocyty.

Barwienie swoiste leukocytów jest wykonywane poprzez inkubację próbki z odczynnikiem IOTest. Krwinki czerwone są następnie usuwane poprzez lizę, a leukocyty, na które ta liza nie wpływa, są analizowane metodą cytometrii przepływowej.

Cytometr przepływowy mierzy rozpraszanie światła i fluorescencję komórek. Umożliwia to odgraniczenie populacji zainteresowania w elektronicznym oknie zdefiniowanym na histogramie, który koreluje ortogonalne rozpraszanie światła (rozpraszanie boczne — Side Scatter, w skrócie SS) i rozpraszanie światła pod wąskim kątem (rozpraszanie do przodu, Forward Scatter, w skrócie FS). Na etapie bramkowania, w zależności od zastosowania wybranego przez użytkownika, można używać innych histogramów łączących dwa z różnych parametrów dostępnych w cytometrze.

Fluorescencja odgraniczonych komórek jest analizowana w celu odróżnienia zdarzeń barwionych dodatnio od zdarzeń nieulegających barwieniu. Wyniki są wyrażane jako odsetek zdarzeń dodatnich względem wszystkich zdarzeń zarejestrowanych poprzez bramkowanie.

UŻYTKOWNIK DOCELOWY

Produkt jest przeznaczony do profesjonalnego użytku w laboratoriach.

ZNACZENIE KLINICZNE

CD13-PE to przeciwciało CD13 służące do identyfikowania i charakteryzowania komórek wykazujących ekspresję antygenu CD13 za pomocą cytometrii przepływowej. Ten produkt nie może samodzielnie generować i nie jest przeznaczony do generowania jakichkolwiek wniosków diagnostycznych.

W połączeniu z innymi markerami produkt ten może służyć do jednego lub kilku z następujących zastosowań:

- Do wspomagania diagnostyki różnicowej pacjentów z nieprawidłowym obrazem hematologicznym i podejrzeniem nowotworu układu krwiotwórczego oraz do monitorowania pacjentów ze stwierdzonym nowotworem układu krwiotwórczego.
- Jako pomoc w ustaleniu rokowania u pacjentów z nowotworem układu krwiotwórczego.

Zobacz poniższe piśmiennictwo:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PRÓBKI

Krew żylną należy pobierać do sterylnych probówek zawierających antykoagulant w postaci soli EDTA.

Próbki należy przechowywać w temperaturze pokojowej (18–25°C), bez wytrząsania. Przed pobraniem próbki do testu należy uzyskać jednorodną mieszaninę poprzez delikatne mieszanie.

Próbki muszą zostać zbadane w ciągu 24 godzin od pobrania krwi żylnej przez nakłucie.

STĘŻENIE

Zobacz świadectwo analizy właściwe dla serii pod adresem www.beckman.com.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Nie używać odczynników po upływie daty ważności.
2. Nie zamrażać.
3. Przed użyciem odczekać, aż osiągnie temperaturę pokojową (18–25°C).
4. Maksymalnie ograniczyć narażenie na działanie światła.
5. Nie dopuścić do skażenia mikrobiologicznego odczynników, gdyż może to spowodować uzyskanie fałszywych wyników.
6. Z roztworami przeciwciał zawierającymi azydek sodu (NaN_3) należy postępować ostrożnie. Nie spożywać i nie dopuszczać do kontaktu ze skórą, błoną śluzową oraz oczami.

Ponadto w środowisku kwaśnym azydek sodu może tworzyć potencjalnie niebezpieczny kwas azotowodorowy. W przypadku konieczności usunięcia zalecane jest rozcieńczenie odczynnika w dużej objętości wody przed wlaniem go do kanalizacji, aby uniknąć gromadzenia się azydku sodu w metalowych rurach i uniknąć ryzyka wybuchu.

7. Wszystkie próbki krwi należy uważać za potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi ostrożnie (w szczególności nosić ochronne rękawice, fartuchy i okulary).
8. Nigdy nie wolno pipetować ustami. Nie dopuszczać do kontaktu próbek ze skórą, błonami śluzowymi i oczami.
9. Probówki przeznaczone na krew i materiały jednorazowego użytku używane podczas procedury należy usuwać do pojemników ad hoc przeznaczonych do spalenia.
10. Odczynniki i odpady należy usuwać zgodnie z wymogami lokalnymi.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Produkt nie został sklasyfikowany jako niebezpieczny

SDS Karta charakterystyki jest dostępna pod adresem beckman.com/techdocs

MAGAZYNOWANIE I STABILNOŚĆ

Ten odczynnik musi być przechowywany w temperaturze 2–8°C z zapewnieniem ochrony przed światłem, zarówno przed otwarciem fiolki jak i po jej otwarciu.

W oparciu o wyniki badania stabilności dopuszczalny okres przechowywania w zamkniętej fiolce ustalono na: 1095 dni.

Stabilność otwartej fiolki: odczynnik zachowuje stabilność przez 180 dni.

OZNAKA POGORSZENIA WŁAŚCIWOŚCI

Wszelkie zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników mogą wskazywać na pogorszenie właściwości — odczynników takich nie należy używać.

W celu otrzymania dodatkowych informacji lub w przypadku otrzymania uszkodzonego produktu należy skontaktować się z działem obsługi klienta firmy Beckman Coulter pod numerem telefonu 800-742-2345 (USA lub Kanada) lub z miejscowym przedstawicielem firmy Beckman Coulter.

ZAWARTOŚĆ

Środek konserwujący, azydek sodu, może tworzyć związki wybuchowe w metalowych rurach kanalizacyjnych. Patrz NIOSH Bulletin (Biuletyn instytutu NIOSH): Explosive Azide Hazard (Niebezpieczeństwo wybuchu azydku) (16.8.76).
Po usunięciu nierozcieńczonego odczynnika należy przepłukać rury ściekowe wodą, aby uniknąć gromadzenia się azydków. Azydek sodu musi być usuwany zgodnie z odpowiednimi przepisami lokalnymi.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE Z ZESTAWEM:

- Probówki do pobierania próbek i materiały wymagane do pobierania próbek.
- Pipety automatyczne z jednorazowymi końcówkami na 20, 100 i 500 µL.
- Probówki z tworzywa sztucznego przeznaczone do hemolizy.
- Odczynnik do lizy erytrocytów, z etapem przemywania po etapie lizy. Przykład: VersaLyse (nr ref. A09777).
- Odczynnik do utrwalania limfocytów. Przykład: Roztwór utrwalający IOTest 3 (nr ref. A07800).
- Kontrola izotypowa PE: Odczynnik IOTest (nr ref. A07796).
- Bufor (PBS: 0,01 M fosforan sodu; 0,145 M chlorek sodu; pH 7,2).
- Wirówka.
- Mieszadło automatyczne (typu worteks).
- Cytometr przepływowy.

PROCEDURA Z ODCZYNNIKIEM VERSALYSE

Do każdej badanej próbki, dodatkowo oprócz probówki testowej, można dodać jedną probówkę kontrolną, w której komórki są mieszane w obecności kontroli izotypowej (nr ref. A07796).

1. Dodać po 20 µL swoistego przeciwciała skoniugowanego IOTest do każdej probówki testowej i, w razie potrzeby, po 20 µL kontroli izotypowej do każdej probówki kontrolnej.
2. Do każdej probówki dodać 100 µL próbki testowej. Łagodnie worteksować probówki.
3. Inkubować przez 15–20 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C), chroniąc przed światłem.
4. Następnie przeprowadzić lizę krwinek czerwonych. Zapoznać się z ulotką VersaLyse (nr ref. A09777). Preferowane jest postępowanie zgodnie z procedurą „z towarzyszącym utrwalaniem”, która polega na dodaniu 1 mL przygotowanej wcześniej mieszaniny do utrwalania i lizy (Fix-and-Lyse). Bezzwłocznie worteksować przez jedną sekundę i inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej, chroniąc przed światłem.
5. Wirować przez 5 minut przy 150 x g w temperaturze pokojowej.
6. Usunąć supernatant poprzez zasysanie.
7. Zawiesić osad komórkowy w 3 mL PBS.
8. Powtórzyć etap 5.
9. Usunąć supernatant poprzez zasysanie i ponownie zawiesić osad komórkowy w:

- 0,5 mL lub 1 mL PBS oraz 0,1% formaldehydu, jeśli preparaty mają być przechowywane przez mniej niż 24 godz. (0,1% roztwór formaldehydu w PBS można uzyskać, rozcieńczając 12,5 µL roztworu utrwalającego IOTest 3 (nr ref. A07800) stężonego 10X w 1 mL PBS).
- 0,5 mL lub 1 mL PBS bez formaldehydu, jeśli preparaty zostaną poddane analizie w ciągu 2 godz.

Uwaga: Niezależnie od sytuacji preparaty należy przechowywać w temperaturze 2–8°C, chroniąc je przed światłem.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

W naszych laboratoriach próbki krwi pełnej od 25 dawców niewykazujących objawów chorobowych poddano obróbce z użyciem opisanego powyżej odczynnika. Uzyskane wyniki w zakresie liczby dodatnich zdarzeń zainteresowania w przypadku tego odczynnika podano w tabeli poniżej:

Dodatnie docelowe komórki	Liczba	Średnia (%)	SD	WZ (%)
Monocyty	25	98,28	0,88	0,90
Granulocyty	25	99,69	0,42	0,42

Wartości te są przeznaczone wyłącznie do celów poglądowych. Każde laboratorium powinno ustalić własne wartości oczekiwane z użyciem próbek reprezentatywnych dla lokalnej populacji zdrowych dawców.

WYDAJNOŚĆ

Dane dotyczące wydajności uzyskano z wykorzystaniem procedury opisanej powyżej na próbkach krwi mających mniej niż 24 godziny, uprzednio pobranych do sterylnych probówek z solą EDTA jako antykoagulantem. Badanie przeprowadzono w ciągu 2 godzin po barwieniu immunologicznym.

SWOISTOŚĆ

Cząsteczka CD13, znana też jako N-aminopeptydaza (APN), jest metaloproteazą przezbłonową typu II o masie cząsteczkowej 150–170 kDa. Ta cząsteczka ma rozbudowaną sekwencję zewnątrzkomórkową i krótki region wewnątrzcytoplazmatyczny. Cząsteczka CD13 wydaje się wiązać jako homodimer w niekowalencyjny sposób na powierzchni komórek (11). Antygen CD13 ulega ekspresji na wczesnym etapie linii granulo-monocytowej (monocyty, neutrofile, eozynofile, bazofile) oraz w ukierunkowanych na tę linię komórkach progenitorowych (pośrednie progenitory tworzące mieszane kolonie granulo-monocytowe, czyli CFU-GM) (11,12,13,14).

Cząsteczka CD13 ulega też ekspresji na komórkach tkanek niehematopoetycznych, takich jak komórki nabłonkowe bliższych kanalików nerkowych, komórki rąbka szczoteczkowego jelit, komórki śródbłonka, fibroblasty, komórki zrębowe szpiku kostnego, osteoklasty i komórki podstawne przewodów żółciowych (15).

Przeciwciało monoklonalne SJ1D1 reaguje we krwi obwodowej z monocytami, neutrofilami, eozynofilami i bazofilami. Zostało ono przypisane do CD13 podczas konferencji 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3. warsztaty dotyczące antygenów różnicowania leukocytów ludzkich), która odbyła się w Oksfordzie w Wielkiej Brytanii w 1986 roku (kod WS: 285, sekcja M) (12).

PRECYZJA

Odsetek wartości dodatnich określono przy użyciu krwi pełnej. Każdą próbkę oznaczano 4 razy, dwa razy na dobę przez 1 dzień na 2 analizatorach przy użyciu 2 serii odczynnika przeciwciała monoklonalnego CD13-PE. Pomiary (% dodatnich) przeprowadzono na cytometrze przepływowym Navios. Badanie przeprowadzono na podstawie metody opisanej w wytycznych CLSI w dokumencie EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Ocena wydajności precyzji metody pomiarów ilościowych).

Nasze kryteria akceptacji są uzależnione od liczby zdarzeń dodatnich zmierzonych w każdej populacji:

- Jeśli zdarzenie dodatnie < 1500, WZ < 15%
- Jeśli zdarzenie dodatnie > 1500, WZ < 10%

Monocyty							
Liczba zdarzeń dodatnich (średnia) = 1119							
	Między operatorami	Między cytometrami	W ramach serii	Między seriami	Między oznaczeniami	W ramach analizy	Łącznie
WZ (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
WYNIKI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocyty							
Liczba zdarzeń dodatnich (średnia) = 23248							
	Między operatorami	Między cytometrami	W ramach serii	Między seriami	Między oznaczeniami	W ramach analizy	Łącznie
WZ (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
WYNIKI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOKŁADNOŚĆ

Dokładność odczynnika CD13-PE oceniano poprzez porównanie wyników uzyskanych za pomocą tego odczynnika z wynikami uzyskanymi za pomocą odczynnika referencyjnego, wykorzystywanego jako odniesienie, na zestawie próbek krwi pełnej oznaczanych na cytometrze przepływowym Navios. Odchylenie między odczynnikiem testowym i referencyjnym określono na podstawie różnicy między wynikami testu. Jeśli odchylenie mieści się w dopuszczalnym zakresie błędu lub wartość p wskazuje na brak istotnej różnicy (> 0,05), wyniki testu dla dwóch odczynników są uznawane za równoważne.

W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Liczba dawców = 25				
Dodatnie docelowe komórki	Średnia Δ	Kryteria Δ % komórki	Wartość p	WYNIKI
Monocyty	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulocyty	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

GRANICA PRÓBY ŚLEPEJ I GRANICA WYKRYWALNOŚCI

Przeprowadzono badanie zgodnie z dokumentem CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zdolności wykrywania dla procedur pomiarowych w laboratoriach medycznych). Granica wykrywalności (LOD) to najniższe stężenie analitu, które może być powtarzalnie wykrywane. W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Positive Target	Granica próby ślepej (l. komórek/µL)	Granica wykrywalności (l. komórek/µL)
Monocyty	0	4
Granulocyty	2	4

ORGANICZENIA

1. Wyniki cytometrii przepływowej mogą być zafałszowane, jeśli osiowanie cytometru nie było dokładne, przepuszczona fluorescencja nie została prawidłowo skompensowana, a regiony nie zostały starannie upozycjonowane.
2. Preferowane jest stosowanie techniki lizy RBC z etapem przemywania, ponieważ odczynnik ten nie został zoptymalizowany dla technik lizy „bez przemywania".
3. Uzyskane wyniki będą dokładne i odtwarzalne pod warunkiem, że stosowane będą procedury zgodne z informacjami zawartymi w ulotce z danymi technicznymi oraz z dobrymi praktykami laboratoryjnymi.
4. Skoniugowane przeciwciało zawarte w tym odczynniku zostało skalibrowane tak, aby zapewniać najlepszy stosunek sygnału swoistego do nieswoistego. Dlatego ważne jest przestrzeganie stosunku objętości odczynnika do objętości próbki w każdym teście.
5. W przypadku hiperleukocytozy należy rozcieńczyć krew w PBS, aby uzyskać wartość w przybliżeniu 5 x 10^9 leukocytów/L (16).
6. W niektórych stanach chorobowych, takich jak ciężka niewydolność nerek lub hemoglobinopatie, liza krwinek czerwonych może być powolna, niepełna lub nawet niemożliwa. W takich przypadkach przed barwieniem zalecane jest wyizolowanie komórek jednojądrzastych na gradiencie gęstości (na przykład Ficoll) (17).
7. U pacjentów poddawanych terapii anty-ludzkimi przeciwciałami monoklonalnymi, wykrywanie swoistych antygenów docelowych może być osłabione lub niemożliwe z powodu częściowego lub całkowitego zablokowania przez przeciwciało terapeutyczne.
8. Wyniki oznaczenia CD13-PE należy interpretować w świetle ogólnego obrazu klinicznego pacjenta, w tym objawów, historii klinicznej, danych z dodatkowych testów oraz innych właściwych informacji.

Przykłady i piśmiennictwo można znaleźć w załączniku.

ZNAKI TOWAROWE

Beckman Coulter, stylizowane logo oraz wymienione w tym dokumencie znaki produktów i usług firmy Beckman Coulter są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Beckman Coulter, Inc. w Stanach Zjednoczonych i innych krajach.

DODATKOWE INFORMACJE

Dotyczy pacjentów/użytkowników/stron trzecich w Unii Europejskiej i w krajach o identycznym systemie regulacyjnym (rozporządzenie 2017/746/UE w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro) — jeśli podczas lub w wyniku korzystania z tego wyrobu wystąpi poważny incydent, należy zgłosić go producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz odpowiedniemu organowi krajowemu.

Dokument The Summary of Safety and Performance (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania) jest dostępne w bazie danych EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIA ZMIAN

WERSJA AD:	Data wydania: październik 2019 r.

WERSJA	**Data wydania**
AW	Luty 2022 r.
Aktualizacje w celu zapewnienia zgodności z globalnymi zasadami oznakowania firmy Beckman Coulter i według wymogów rozporządzenia IVD-R (UE)2017/746:	
Dodano części	Numer BSI 2797, Użytkownik docelowy, Znaczenie kliniczne, Stężenie, Precyzja, Dokładność, Granica próby ślepej i granica wykrywalności, Informacje dodatkowe, Historia zmian.
Dodano informacje	Zobacz części Ograniczenia
Aktualizacje wyrażeń lub typograficzne	Zobacz części Procedura, Wydajność, Ograniczenia, Ostrzeżenia i środki ostrożności, Magazynowanie i stabilność.
Usunięte części	Przykłady zastosowań klinicznych, Odczynniki, Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna, Liniowość
Zaktualizowane części	Przeznaczenie, Klasyfikacja zagrożeń wg GHS, Dowód pogorszenia jakości, Procedura, Załącznik.

WERSJA	**Data wydania**
AX	
Zaktualizowane części	Dodano język kazachski
Zaktualizowane części	Przechowywanie i stabilność

Wersja zmieniona	AY
Data zmiany	Maj 2024
Zaktualizowano tłumaczenia	**Znaczenie kliniczne:**
Zaktualizowane części	Historia zmian

Legenda symboli

Słowniczek symboli jest dostępny pod adresem beckman.com/techdocs (numer dokumentu B60062)

	Specifikace
Specificita	CD13
Klon	SJ1D1
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	KG1a cell line
Imunoglobulin	IgG1
Druhy	Myš
Purifikace	Afinitní chromatografie
Fluorochrom	R Phycoerythrin (PE)
Molární poměr	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Excitace λ	488 nm
Emisní vrchol	575 nm
Pufr	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugovaná protilátka CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 ml, 20 µl/test

Pouze pro diagnostiku *in vitro*

URČENÉ POUŽITÍ

Tato protilátka konjugovaná s fluorochromem umožňuje kvalitativní a neautomatizovanou identifikaci buněčných populací exprimujících antigen CD13 v lidských biologických vzorcích (viz část „Vzorky“ níže) pomocí průtokové cytometrie.

PRINCIP

Tento test je založen na schopnosti monoklonálních protilátek specificky se vázat na antigenní determinanty exprimované na leukocytech.

Specifické značení leukocytů se provádí inkubováním vzorku s reagencií IOTest. Červené krvinky jsou poté odstraněny provedením lýzy a bílé krvinky, jež tímto procesem nejsou ovlivněny, jsou analyzovány na průtokovém cytometru.

Průtokový cytometr měří difúzi světla a fluorescenci buněk. Umožňuje oddělit zkoumanou populaci v rámci elektronického okna definovaného na histogramu, který je v korelaci s ortogonální difúzí světla (kolmý rozptyl) a s difúzí světla v úzkém úhlu (přímý rozptyl). Jako podporu ve fázi gatování lze, v závislosti na aplikaci zvolené uživatelem, použít další histogramy s kombinací dvou různých parametrů, které jsou v cytometru k dispozici.

Fluorescence oddělených buněk je analyzována s cílem odlišit pozitivně obarvené události od neobarvených. Výsledky jsou vyjádřeny jako procentní podíl pozitivních událostí ze všech událostí zjištěných gatováním.

ZAMÝŠLENÝ UŽIVATEL

Tento produkt je určen pro profesionální laboratorní použití.

KLINICKÁ VÝZNAMNOST

CD13-PE je protilátka CD13 používaná k identifikaci a charakterizaci buněk exprimujících antigen CD13 pomocí průtokové cytometrie. Tento produkt sám o sobě nevytváří a nemá vytvářet žádný diagnostický závěr.

Při použití v kombinaci s dalšími markery lze tento produkt použít k jedné nebo více z následujících funkcí:

- Jako pomůcka pro diferenciální diagnostiku pacientů s hematologickými abnormalitami, u kterých je podezření na hematopoetickou neoplazii, a k monitorování pacientů se známou hematopoetickou neoplazií.
- Jako pomůcka pro stanovení prognózy u pacientů s hematopoetickou neoplazií.

Viz následující odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

VZORKY

Vzorky žilní krve musejí být odebrány do sterilních zkumavek obsahujících sůl EDTA jako antikoagulační činidlo.

Vzorky by měly být uchovávány při laboratorní teplotě (18–25 °C) a neměly by se protřepávat. Vzorek by měl být před odebráním vzorku k testování homogenizován mírným promícháním.

Vzorky je nutné analyzovat do 24 hodin od venepunkce.

KONCENTRACE

Viz certifikát o analýze specifický pro šarži na www.beckman.com.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagencii nepoužívejte po datu exspirace.
2. Nezmrazujte.
3. Před použitím nechte vytemperovat na laboratorní teplotu (18–25 °C).
4. Minimalizujte expozici světlu.
5. Zabraňte mikrobiologické kontaminaci reagencií, jinak mohou být výsledky chybné.
6. S roztoky protilátek obsahujícími azid sodný (NaN_3) je třeba manipulovat opatrně. Neužívejte vnitřně a zabraňte veškerému kontaktu s pokožkou, sliznicemi a očima.

V kyselém prostředí může azid sodný navíc vytvářet potenciálně nebezpečnou kyselinu azidovodíkovou. Při likvidaci se doporučuje před vylitím do odpadu reagencii zředit velkým objemem vody, aby nedocházelo k hromadění nebezpečného azidu sodného v kovovém potrubí a předešlo se tak riziku exploze.

7. Všechny vzorky krve je nutno považovat za potenciálně infekční a je nutné manipulovat s nimi opatrně (zvláště: používat ochranné rukavice, pláště a brýle).
8. Nikdy nepipetujte ústy a zabraňte tomu, aby se vzorky dostaly do kontaktu s kůží, sliznicí ani očima.
9. Zkumavky s krví a jednorázový materiál určený pro manipulaci je třeba likvidovat v kontejnerech ad hoc určených ke spálení.
10. Reagencie a odpad by měly být odstraňovány v souladu s místními požadavky.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Není klasifikované jako nebezpečné

SDS Bezpečnostní list je k dispozici na adrese beckman.com/techdocs

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Před otevřením lahvičky a po jejím otevření musí být tato reagencie uchovávána při teplotě mezi 2 a 8 °C a chráněna před světlem.

Doba použitelnosti uzavřené lahvičky podle studie stability: 1095 dnů/dní.

Stabilita již jednou otevřené lahvičky: reagencie je stabilní po dobu 180 dní.

ZNÁMKY ZHORŠENÍ KVALITY

Jakákoli změna fyzického vzhledu reagencií může znamenat jejich znehodnocení a taková reagencie by se neměla používat.

Pokud potřebujete další informace nebo jste obdrželi poškozený produkt, zavolejte na telefonní číslo zákaznické služby společnosti Beckman Coulter 800-742-2345 (USA nebo Kanada) nebo se obraťte na místního zástupce společnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervační látka azid sodný může v kovovém odpadním potrubí vytvářet výbušné sloučeniny. Viz buletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečí výbušných azidů) (16.8.76).
Po vypuštění neředěné reagencie propláchněte odpadní potrubí vodou, aby se v něm nehromadily azidové sloučeniny. Likvidace azidu sodného musí být prováděna podle příslušných místních předpisů.

MATERIÁLY POTŘEBNÉ, ALE NEDODANÉ SE SOUPRAVOU:

- Zkumavky na odběr vzorků a materiál potřebný k odběru vzorků.
- Automatické pipety s jednorázovými špičkami pro 20, 100 a 500 µl.
- Plastové zkumavky na hemolýzu.
- Reagencie pro lýzu červených krvinek s fází promývání po lýze. Například: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagencie pro fixaci leukocytů. Například: Fixační roztok IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotypová kontrola PE: Reagencie IOTest (ref. A07796).
- Pufr (PBS: 0,01 M fosforečnan sodný; 0,145 M chlorid sodný; pH 7,2).
- Odstředivka.
- Automatické míchadlo (typu vortex).
- Průtokový cytometr.

POSTUP S REAGENCIÍ VERSALYSE

Pro každý analyzovaný vzorek lze kromě testovací zkumavky přidat jednu kontrolní zkumavku, v níž jsou buňky promíchány v přítomnosti izotypové kontroly (ref. A07796).

1. Do každé z testovacích zkumavek přidejte 20 µl konjugované protilátky specifické pro IOTest a podle potřeby do každé ze zkumavek kontroly přidejte 20 µl kontroly izotypu.
2. Do každé zkumavky přidejte 100 µl testovaného vzorku. Zkumavky jemně promíchejte na vortexové míchačce.
3. Provádějte inkubaci po dobu 15 až 20 minut při laboratorní teplotě (18–25 °C), chraňte před světlem.
4. Poté lyzujte červené krvinky. Postupujte dle brožury VersaLyse (ref. A09777) a řiďte se, pokud možno, postupem nazvaným „s průvodní fixací“, který spočívá v přidání 1 ml fixační a lyzační směsi připravené bezprostředně před použitím. Ihned vortexujte po dobu jedné sekundy a inkubujte po dobu 10 minut při laboratorní teplotě, přičemž chraňte před světlem.
5. Odstřeďujte 5 minut při 150 x g při laboratorní teplotě.
6. Supernatant odsajte.
7. Resuspendujte buněčnou peletu pomocí 3 ml PBS.
8. Opakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte buněčnou peletu pomocí:

- 0,5 ml nebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, pokud mají být preparáty uchovány po dobu kratší než 24 hodin. (PBS s 0,1 % formaldehydu lze získat zředěním 12,5 µl fixačního roztoku IOTest 3 (ref. A07800) o koncentraci 10x v 1 ml PBS.)
- 0,5 ml nebo 1 ml PBS bez formaldehydu, pokud mají být preparáty analyzovány do 2 hodin.

Poznámka: Ve všech případech uchovávejte preparáty při teplotě mezi 2 a 8 °C a chraňte je před světlem.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratořích bylo 25 vzorků plné krve zjevně zdravých dárců zpracováno za použití výše popsané reagencie. Získané výsledné počty cílových pozitivních událostí s touto reagencií jsou uvedeny v následující tabulce:

Pozitivní nosič	Počet	Průměr (%)	SD (směrodatná odchylka)	VK (%)
Monocyty	25	98,28	0,88	0,90
Granulocyty	25	99,69	0,42	0,42

Tyto hodnoty by měly být pouze reprezentativní. Každá laboratoř si musí stanovit vlastní očekávané hodnoty na základě místní populace normálních dárců.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Data o výkonu se získávají výše popsaným postupem na vzorcích krve starých méně než 24 hodin, které byly odebrány do sterilních zkumavek se solí EDTA jakožto antikoagulačním činidlem. Analýza se provádí do 2 hodin od imunobarvení.

SPECIFICITA

Molekula CD13, známá také jako N-aminopeptidáza (APN), je transmembránová metaloproteáza typu II s molekulární hmotností 150–170 kDa. Tato molekula vykazuje rozsáhlou mimobuněčnou sekvenci a krátkou vnitrocytoplazmatickou oblast. Jeví se, že molekula CD13 vytváří vazby jako homodimer nekovalentním způsobem na povrchu buněk (11). Antigen CD13 je exprimován v rané fázi v granulo-monocytární linii (monocyty, neutrofily, eozinofily a bazofily) a na příslušných potvrzených progenitorech (střední progenitory tvořící smíšené granulo-monocytární kolonie nebo CFU-GM) (11, 12, 13, 14).

Molekula CD13 je rovněž exprimována na buňkách non-hematopoietických tkání, jako jsou buňky epitelu z proximálních renálních tubulů, buňky tvořící kartáčový lem ve střevech, buňky endotelu, fibroblasty, stromální buňky z kostní dřeně, osteoklasty a bazální buňky ze žlučovodů(15).

Monoklonální protilátka SJ1D1 reaguje v periferní krvi s monocyty, neutrofily, eozinofily a bazofily. Látka byla na 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3. konferenci o lidských leukocytárních diferenciačních antigenech) konané v roce 1986 v Oxfordu ve Velké Británii zařazena do skupiny CD13 (kód WS: 285, sekce M) (12).

PRECIZNOST

Procentuální pozitivní hodnoty byly stanoveny použitím plné krve. Každý vzorek byl analyzován 4krát, dvakrát denně v průběhu 1 dne na 2 přístrojích pomocí 2 šarží reagencií s monoklonální protilátkou CD13-PE. Měření (% pozitivních) byla provedena na průtokovém cytometru Navios. Analýza byla provedena na základě metody CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vyhodnocení výkonu preciznosti kvantitativních měřicích metod).

Naše kritéria přijatelnosti závisí na počtu pozitivních událostí změřených pro každou populaci:

- Pokud pozitivní událost < 1 500, VK < 15 %
- Pokud pozitivní událost > 1 500, VK < 10 %

Monocyty							
Počet pozitivních událostí (průměr) = 1119							
	Mezi obslužnými pracovníky	Mezi cytometry	V rámci šarže	Mezi šaržemi	Mezi cykly	V rámci cyklu	Celkem
VK (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocyty							
Počet pozitivních událostí (průměr) = 23248							
	Mezi obslužnými pracovníky	Mezi cytometry	V rámci šarže	Mezi šaržemi	Mezi cykly	V rámci cyklu	Celkem
VK (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PŘESNOST

Přesnost CD13-PE byla vyhodnocena porovnáním výsledků s referenční reagencií sloužící jako srovnávací látka na sadě vzorků plné krve analyzované na průtokovém cytometru Navios. Na základě rozdílu mezi výsledky testů byla stanovena odchylka mezi testem a referenční reagencií. Pokud je odchylka v rámci rozsahu přípustné chyby nebo hodnota p naznačuje, že nedošlo k žádnému významnému rozdílu (> 0,05), výsledky testů daných dvou reagencií se považují za shodné.

Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Počet dárců = 25				
Pozitivní nosič	Průměr Δ	Kritéria Δ % buněk	Hodnota p	VÝSLEDKY
Monocyty	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulocyty	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

MEZ PRÁZDNÉHO VZORKU A MEZ MĚŘITELNOSTI

Byla provedena studie v souladu se směrnicí CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnocení schopnosti detekce pro klinické laboratorní postupy měření). Mez měřitelnosti (LOD) je nejnižší koncentrace analytu, kterou lze spolehlivě detekovat. Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Positive Target	Mez prázdného vzorku (buňky/µl)	Mez měřitelnosti (buňky/µl)
Monocyty	0	4
Granulocyty	2	4

OMEZENÍ

1. Průtoková cytometrie může přinést falešné výsledky, pokud cytometr nebyl dokonale seřízen, pokud nebyly správně kompenzovány úniky fluorescence a pokud oblasti nebyly pečlivě umístěny.
2. Je vhodné používat techniku lýzy RBC s promývacím krokem, protože tato reagencie není optimalizována pro techniku lýzy bez promývání.
3. Přesných a reprodukovatelných výsledků bude dosaženo, pokud jsou použité postupy v souladu s technickým příbalovým letákem a se správnou laboratorní praxí.
4. Konjugovaná protilátka této reagencie je kalibrována tak, aby poskytovala nejlepší možný poměr specifického signálu k nespecifickému signálu. Proto je důležité při každém testu dodržovat poměr objemu reagencie a objemu vzorku.
5. V případě hyperleukocytózy nařeďte krev v přípravku PBS tak, aby byla dosažena hodnota přibližně 5 x 10^9 leukocytů/l (16).
6. U určitých chorob, například závažného selhání ledvin či hemoglobinopatií, se může stát, že lýza červených krvinek bude probíhat pomalu, nedokončí se, nebo dokonce nebude možná. V tomto případě se před značením doporučuje izolovat mononukleární buňky s použitím hustotního gradientu (např. Ficoll) (17).
7. U pacientů léčených pomocí monoklonálních protilátek proti lidským antigenům může být detekce specificky cílených antigenů snížena nebo může chybět kvůli částečné nebo celkové blokaci terapeutickými protilátkami.
8. Výsledky analýzy CD13-PE je nutné interpretovat s přihlédnutím k celkovému klinickému obrazu pacienta, včetně symptomů, klinické anamnézy, údajů z dalších testů a dalších vhodných informací.

Příklady a reference jsou uvedeny v příloze.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, stylizované logo a známky produktů a služeb společnosti Beckman Coulter uvedené v tomto dokumentu jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Beckman Coulter, Inc. ve Spojených státech amerických a dalších zemích.

DALŠÍ INFORMACE

Pro pacienty, uživatele nebo třetí osoby v Evropské unii a v zemích se stejným regulačním režimem (nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro); pokud při používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání dojde k závažné nehodě, prosím ohlaste tuto nehodu výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a kompetentnímu vnitrostátnímu orgánu.

Summary of Safety and Performance (Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti) je k dispozici v databázi EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIE REVIZÍ

REVIZE AD:	Datum vydání: Říjen 2019

REVIZE	**Datum vydání**
AW	Únor 2022
Aktualizace kvůli shodě s globálními zásadami označování společnosti Beckman Coulter a dle požadavků IVD-R (EU) 2017/746:	
Přidání částí	Číslo BSI 2797, Určený uživatel, Klinická významnost, Koncentrace, Preciznost, Přesnost, Mez prázdného vzorku a mez měřitelnosti, Další informace, Historie změn.
Přidány informace	Viz část Omezení
Aktualizace formulací a typografické aktualizace	Viz části Postup, Výkon, Omezení, Varování a bezpečnostní opatření, Skladování a stabilita.
Odstranění částí	Příklad klinických použití, Reagencie, Reprodukovatelnost v rámci laboratoře, Linearita
Aktualizované části	Určené použití, Klasifikace nebezpečí podle GHS, Známky znehodnocení, Postup, Příloha.

REVIZE	**Datum vydání**
AX	
Aktualizované části	Přidání kazašského jazyka
Aktualizované části	Skladování a stabilita

Revidovaná verze	AY
Datum revize	Květen 2024
Aktualizované překlady	**Klinická významnost:**
Aktualizované části	Historie revizí

Klíč k symbolům

Slovníček symbolů je k dispozici na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	Špecifikácie
Špecificita	CD13
Klon	SJ1D1
Hybridóm	SP2/0 x balb/c
Imunogén	KG1a cell line
Imunoglobulín	IgG1
Druhy	Myš
Purifikácia	Afinitná chromatografia
Fluorochróm	R Phycoerythrin (PE)
Molárny pomer	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Excitácia λ	488 nm
Vrchol emisií	575 nm
Tlmivý roztok	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugovaná protilátka CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 ml, 20 µl/test

Na diagnostické použitie *in vitro*

URČENÉ POUŽITIE

Táto protilátka konjugovaná s fluorochrómom umožňuje pomocou prietokovej cytometrie vykonávať kvalitatívnu, neautomatizovanú identifikáciu populácie buniek exprimujúcich antigén CD13 v ľudských biologických vzorkách (pozri časť „vzorky“ nižšie).

PRINCÍP

Tento test je založený na schopnosti špecifických monoklonálnych protilátok viazať sa na antigénne determinanty exprimované na leukocytoch.

Špecifické farbenie leukocytov sa vykoná inkubáciou vzorky s činidlom IOTest. Červené krvinky sa následne odstránia lýzou a leukocyty, na ktoré tento postup nemá vplyv, sa analyzujú prietokovou cytometriou.

Prietokový cytometer meria rozptyl svetla a fluorescenciu buniek. Umožňuje vymedzenie požadovanej populácie v rámci elektronického okna zadefinovaného v histograme znázorňujúcom koreláciu ortogonálneho rozptylu svetla (bočný rozptyl, SS) a rozptylu svetla v úzkom uhle (predný rozptyl, FS). Ostatné histogramy obsahujúce kombináciu dvoch rozličných parametrov dostupných na cytometri možno použiť na podporu vo fáze gatingu v závislosti od aplikácie zvolenej používateľom.

Fluorescencia vymedzených buniek sa analyzuje s cieľom odlíšiť pozitívne sfarbené udalosti od nesfarbených. Výsledky sú vyjadrené ako percento pozitívnych udalostí vzhľadom na všetky udalosti zaznamenané gatingom.

URČENÝ POUŽÍVATEĽ

Tento produkt je určený na profesionálne laboratórne použitie.

KLINICKÝ VÝZNAM

CD13-PE je protilátka proti CD13 používaná na identifikáciu a charakterizáciu buniek exprimujúcich antigén CD13 pomocou prietokovej cytometrie. Tento výrobok sám osebe nemôže a ani nemá slúžiť na vyvodzovanie akýchkoľvek diagnostických záverov.

Pri použití v kombinácii s inými markermi možno tento produkt použiť na jeden alebo viac z týchto účelov:

- Ako pomôcka pri diferenciálnej diagnostike hematologicky abnormálnych pacientov s podozrením na hematopoetickú neoplazmu a na monitorovanie pacientov so známou hematopoetickou neoplazmou.
- ako pomôcka pri stanovovaní prognózy u pacientov s hematopoetickou neoplazmou,

Pozrite si nasledujúce odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

VZORKY

Vzorky žilovej krvi musia byť odobraté do sterilných skúmaviek, ktoré obsahujú soľ EDTA ako antikoagulačné činidlo.

Vzorky by sa mali uchovávať pri izbovej teplote (18 – 25 °C) a nemalo by sa nimi triasť. Vzorky by sa mali pred odobratím testovacej vzorky homogenizovať jemným pretrepaním.

Vzorky sa musia analyzovať do 24 hodín od odberu.

KONCENTRÁCIA

Pozrite si certifikát analýzy pre konkrétnu šaržu na adrese www.beckman.com.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

1. Činidlo nepoužívajte po dátume exspirácie.
2. Nezamrazujte.
3. Pred použitím nechajte zahriať na izbovú teplotu (18 – 25 °C).
4. Minimalizujte vystavenie svetlu.
5. Zabráňte mikrobiálnej kontaminácii činidiel, inak môže dôjsť k falošným výsledkom.

6. S roztokmi protilátok obsahujúcimi azid sodný (NaN_3) by sa malo zaobchádzať opatrne. Nepožívajte ich a vyhýbajte sa akémukoľvek kontaktu s kožou, sliznicami a očami.

   V médiu s obsahom kyseliny môže navyše azid sodný vytvárať potenciálne nebezpečnú kyselinu azidovodíkovú. Ak je činidlo potrebné zlikvidovať, odporúča sa ho pred vyliatím do kanalizácie zriediť vo veľkom objeme vody, aby sa predišlo riziku explózie v dôsledku hromadenia azidu sodného v kovovom potrubí.
7. Všetky vzorky krvi sa musia považovať za potenciálne infekčné, a preto sa s nimi musí narábať opatrne (predovšetkým: používajte ochranné rukavice, plášte a okuliare).
8. Nikdy nepipetujte ústami a zabráňte akémukoľvek kontaktu vzoriek s pokožkou, sliznicami a očami.
9. Skúmavky na krv a jednorazový materiál používané pri manipulácii sa musia zlikvidovať do schválených nádob určených na spálenie.
10. Činidlá a odpad by sa mali eliminovať v súlade s miestnymi požiadavkami.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Nie je klasifikované ako nebezpečné

SDS Bezpečnostný list je dostupný na adrese beckman.com/techdocs

SKLADOVANIE A STABILITA

Toto činidlo sa musí skladovať pri teplote od 2 do 8 °C a chrániť pred svetlom pred aj po otvorení fľaštičky.

Doba použiteľnosti uzavretej fľaštičky podľa štúdie stability: 1095 dní.

Stabilita otvorenej fľaštičky: činidlo je stabilné 180 dní.

ZNÁMKY ZNEHODNOTENIA

Akákoľvek zmena fyzického vzhľadu činidla môže svedčiť o zhoršení kvality a takéto činidlo by sa nemalo používať.

Ak potrebujete ďalšie informácie alebo ak je výrobok poškodený, kontaktujte stredisko zákazníckych služieb spoločnosti Beckman Coulter na telefónnom čísle 800-742-2345 (ak sa nachádzate v USA alebo Kanade) alebo kontaktujte miestneho zástupcu spoločnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervačné činidlo azid sodný môže v kovovej kanalizačnej sieti vytvárať výbušné zlúčeniny. Pozrite si informačný bulletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečenstvo výbušného azidu) (16. 8. 76).
Aby nedošlo k možnému nahromadeniu azidových zlúčenín, po likvidácii neriedeného činidla vypláchnite potrubie vodou. Likvidácia azidu sodného musí prebiehať v súlade s príslušnými miestnymi predpismi.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ NIE JE SÚČASŤOU SÚPRAVY:

- Vzorkovacie skúmavky a materiál potrebný na vzorkovanie.
- Automatické pipety s jednorazovými špičkami na dávkovanie objemov 20, 100 a 500 µl.
- Plastové hemolytické skúmavky.
- Činidlo na lýzu červených krviniek s umývacou fázou po lýze. Napríklad: VersaLyse (Ref. A09777).
- Činidlo na fixáciu leukocytov. Napríklad: fixačný roztok IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotypová kontrolaPE: činidlo IOTest (Ref. A07796).
- Tlmiaci roztok (PBS: fosforečnan sodný 0,01 M; chlorid sodný 0,145 M; pH 7,2).
- Centrifúga.
- Automatické miešadlo (typ Vortex).
- Prietokový cytometer.

POSTUP S ČINIDLOM VERSALYSE

Na každú analyzovanú vzorku je možné okrem testovacej skúmavky pridať aj jednu kontrolnú skúmavku, v ktorej sa zmiešajú bunky v prítomnosti izotypovej kontroly (Ref. A07796).

1. Pridajte 20 µl špecifickej konjugovanej protilátky IOTest do každej testovacej skúmavky a v prípade potreby 20 µl izotopovej kontroly do každej kontrolnej skúmavky.
2. Do každej skúmavky pridajte 100 µl testovanej vzorky. Skúmavky jemne vortexujte.
3. Inkubujte 15 až 20 minút pri izbovej teplote (18 – 25 °C) bez prístupu svetla.
4. Potom vykonajte lýzu červených krviniek. Postupujte podľa písomnej informácie VersaLyse (Ref. A09777) a ideálne použite postup označený ako „so sprievodnou fixáciou“, ktorý zahŕňa pridanie 1 ml bezprostredne pripravenej zmesi „na fixáciu a lýzu“. Ihneď premiešajte jednu sekundu a inkubujte 10 minút pri izbovej teplote a chráňte pred svetlom.
5. Odstreďujte 5 minút pri 150 x g pri izbovej teplote.
6. Nasatím odoberte supernatant.
7. Resuspendujte bunkový pelet použitím 3 ml PBS.
8. Zopakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte bunkový pelet použitím:

- 0,5 ml alebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, ak sa preparáty budú skladovať kratšie ako 24 hodín. (Roztok PBS s 0,1 % formaldehydu možno pripraviť zriedením 12,5 µl fixačného roztoku IOTest 3 (Ref. A07800) v 10X koncentrácii v 1 ml roztoku PBS).
- 0,5 ml alebo 1 ml PBS bez formaldehydu, ak sa preparáty budú analyzovať do 2 hodín.

Poznámka: Preparáty vždy uchovávajte pri teplote 2 až 8 °C a mimo dosahu svetla.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratóriách sa vzorky plnej krvi od 25 zjavne zdravých darcov spracovali pomocou vyššie popísaného činidla. Získané výsledky pre príslušné počty skúmaných pozitívnych udalostí s týmto činidlom sú uvedené v tabuľke nižšie:

Pozitívny cieľ	Počet	Priemer (%)	SD	CV (%)
Monocyty	25	98,28	0,88	0,90
Granulocyty	25	99,69	0,42	0,42

Tieto hodnoty slúžia len ako reprezentatívne údaje. Každé laboratórium by si malo určiť vlastné očakávané hodnoty na základe miestnej populácie normálnych darcov.

VÝKONNOSŤ

Údaje o výkonnosti boli získané pomocou vyššie opísaného postupu z menej ako 24 hodín starých vzoriek krvi odobraných do sterilných skúmaviek so soľou EDTA ako antikoagulačným činidlom. Analýza prebehla do 2 hodín od imunologického farbenia.

ŠPECIFICITA

Molekula CD13, známa aj ako N-aminopeptidáza (APN), je transmembránová metaloproteináza typu II s molekulovou hmotnosťou 150 – 170 kDa. Táto molekula má rozsiahlu extracelulárnu sekvenciu a krátku intracytoplazmatickú oblasť. Molekula CD13 sa na povrchu buniek pravdepodobne viaže ako homodimér nekovalentným spôsobom (11). Antigén CD13 sa v ranej fáze exprimuje v granulo-monocytovej línii, (monocyty, neutrofily, eozinofily a bazofily) a v príslušných progenitoroch (prechodné progenitory tvoriace zmiešané granulo-monocytové kolónie alebo CFU-GM) (11,12,13,14).

Molekula CD13 sa exprimuje aj na bunkách nehematopoetických tkanív, ako sú napríklad epitelové bunky z proximálnych renálnych tubulov, bunky tvoriace klkový reliéf čreva, endotelové bunky, fibroblasty, stromálne bunky z kostnej drene, osteoklasty a bazálne bunky zo žlčových kanálikov (15).

Monoklonálna protilátka SJ1D1 reaguje v periférnej krvi s monocytmi, neutrofilmi, eozinofilmi a bazofilmi. Špecificita rozpoznania klastra diferenciácie CD13 bola uznaná na konferencii 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3. konferencia o diferenciačných antigénoch ľudských leukocytov), ktorá sa konala v roku 1986 v Oxforde vo Veľkej Británii (WS kód: 285, sekcia M) (12).

PRESNOSŤ

Percentuálne pozitívne hodnoty boli stanovené s použitím plnej krvi. Každá vzorka bola analyzovaná 4-krát, dva razy denne počas 1 dňa na 2 prístrojoch pri použití 2 šarží činidiel s monoklonálnymi protilátkami proti CD13-PE. Merania (% pozitívnych) sa vykonávali na prietokovom cytometri Navios. Analýza sa vykonávala podľa metódy CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Hodnotenie zhodnosti pri metódach kvantitatívneho merania).

Naše kritériá prijateľnosti závisia od počtu pozitívnych udalostí nameraného v jednotlivých populáciách:

- Ak je pozitívnych udalostí < 1500, CV < 15 %
- Ak je pozitívnych udalostí > 1500, CV < 10 %

Monocyty							
Počet pozitívnych udalostí (priemer) = 1119							
	Medzi operátormi	Medzi cytometrami	V rámci jednej šarže	Medzi šaržami	Medzi analýzami	V rámci jednej analýzy	Celkovo
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocyty							
Počet pozitívnych udalostí (priemer) = 23248							
	Medzi operátormi	Medzi cytometrami	V rámci jednej šarže	Medzi šaržami	Medzi analýzami	V rámci jednej analýzy	Celkovo
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRESNOSŤ

Presnosť CD13-PE bola vyhodnotená porovnaním výsledkov s porovnávacím referenčným činidlom na súbore vzoriek plnej krvi analyzovaných v prietokovom cytometri Navios. Odchýlka medzi testovaným a referenčným činidlom bola stanovená na základe rozdielu medzi výsledkami testov. Ak je odchýlka v medziach prípustného chybového rozsahu, alebo ak p-hodnota svedčí o nevýznamnom rozdiele (> 0,05), výsledky testovania daných dvoch činidiel sa považujú za rovnocenné.

Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Počet darcov = 25				
Pozitívny cieľ	Priemer Δ	Kritériá Δ % buniek	p-hodnota	VÝSLEDKY
Monocyty	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulocyty	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

MEDZA PRÁZDNEJ VZORKY A MEDZA MERATEĽNOSTI

Bola vykonaná štúdia v súlade s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnotenie detekčnej schopnosti pre postupy klinických laboratórnych meraní). Medza merateľnosti (LoD) je najnižšia koncentrácia analytu, ktorú možno konzistentne detegovať. Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Positive Target	Medza prázdnej vzorky (buniek/µl)	Medza merateľnosti (buniek/µl)
Monocyty	0	4
Granulocyty	2	4

OBMEDZENIA

1. Prietoková cytometria môže vytvárať falošné výsledky, ak cytometer nie je správne zarovnaný, ak úniky fluorescencie nie sú správne kompenzované, alebo ak nie sú oblasti správne umiestnené.
2. Vhodnejšie je používať metódu lýzy RBC s krokom premývania, keďže toto činidlo nie je optimalizované na metódy lýzy „bez premývania“.
3. Presné a reprodukovateľné výsledky sa získajú len vtedy, ak sa použijú postupy v súlade s technickými údajmi v príbalovom letáku a v súlade s osvedčenou laboratórnou praxou.
4. Konjugovaná protilátka tohto činidla sa kalibruje tak, aby ponúkala najlepší pomer špecifického signálu/nešpecifického signálu. Preto je dôležité pri každom teste dodržať pomer objem činidla/objem vzorky.
5. V prípade hyperleukocytózy zrieďte krv v PBS na koncentráciu približne 5 x 10^9 leukocytov/l (16).
6. Pri niektorých chorobných stavoch, akými sú napríklad závažné zlyhanie obličiek alebo hemoglobinopatie, môže byť lýza červených krviniek pomalá, neúplná alebo dokonca nemožná. V takom prípade sa odporúča pred farbením izolovať mononukleárne bunky pomocou hustotného gradientu (napríklad Ficoll) (17).
7. U pacientov liečených monoklonálnymi protilátkami proti ľudským protilátkam môže byť detekcia špecifických cieleným antigénom znížená alebo môže úplne chýbať v dôsledku čiastočného alebo úplného blokovania terapeutickej protilátky.
8. Pri interpretácii výsledkov CD13-PE treba brať do úvahy celkový klinický obraz pacienta vrátane symptómov, klinickej anamnézy, výsledkov ďalších testov a iných súvisiacich informácií.

Príklady a referencie nájdete v Dodatku.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, štylizované logo a známky produktov a služieb spoločnosti Beckman Coulter spomenuté v tomto dokumente sú ochranné známky alebo registrované ochranné známky spoločnosti Beckman Coulter, Inc. v USA a ďalších krajinách.

DOPLŇUJÚCE INFORMÁCIE

Pre pacienta/používateľa/tretiu stranu v Európskej únii a v krajinách s identickým regulačným režimom (Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/746 o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro): ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne vážna nehoda, nahláste ju výrobcovi a/alebo jeho autorizovanému zástupcovi a vášmu národnému orgánu.

Summary of Safety and Performance (Súhrn informácií o bezpečnosti a výkonnosti) je k dispozícii v databáze EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRIA REVÍZIÍ

REVÍZIA AD:	Dátum vydania: Október 2019

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AW	Február 2022
Aktualizácie kvôli súladu s dokumentom Beckman Coulter Global Labelling Policy (Globálne pravidlá označovania spoločnosti Beckman Coulter) a podľa požiadaviek nariadenia IVDR (EÚ) 2017/746:	
Pridané časti	Číslo BSI 2797, Určený používateľ, Klinický význam, Koncentrácia, Zhodnosť, Presnosť, Medza prázdnej vzorky a medza merateľnosti, Doplňujúce informácie, História revízií.
Pridané informácie	Pozri časti Obmedzenia
Aktualizácie formulácií alebo typografické aktualizácie	Pozri časti Postup, Výkonnosť, Obmedzenia, Výstraha a opatrenia, Skladovanie a stabilita.
Odstránené časti	Príklad klinických aplikácií, Činidlá, Intralaboratórna reprodukovateľnosť, Linearita
Aktualizované časti	Určené použitie, Klasifikácia nebezpečenstiev podľa GHS, Známky zhoršenia kvality, Postup, Dodatok.

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AX	
Aktualizované časti	Pridať kazaštinu
Aktualizované časti	Skladovanie a stabilita

Revidovaná verzia	AY
Dátum revízie	Máj 2024
Aktualizované preklady	**Klinický význam:**
Aktualizované časti	História revízií

Popis symbolov

Slovník symbolov je dostupný na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	규격
특이도	CD13
클론	SJ1D1
하이브리도마	SP2/0 x balb/c
면역원	KG1a cell line
면역글로불린	IgG1
종	생쥐
정제	친화성 크로마토그래피
형광색소	R Phycoerythrin (PE)
분자비	PE/Ig: 0.5 - 1.5
λ 자극	488 nm
방출 피크	575 nm
완충액	PBS pH 7.2 + 2mg/mL BSA 및 0.1 % NaN_3

IOTest

복합 항체
CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20µL/검사

체외 **진단용**

사용목적

본 형광색소 결합 항체를 사용 시 유세포 분석법으로 인간의 생물학적 검체에 있는 CD13 항원을 나타내는 세포군의 정성적 동정 및 비자동 동정을 수행할 수 있습니다(아래 "검체" 섹션 참조).

원리

이 검사는 백혈구로 발현되는 항원 결정기에 특이적 단일클론 항체가 결합할 수 있는 능력에 기초합니다.

백혈구의 특이적 염색은 검체를 IOTest 시약과 함께 배양하여 수행합니다. 그런 다음 적혈구를 용해하여 제거하고 이 과정에서 영향을 받지 않은 백혈구를 유세포 분석법을 통해 분석하십시오.

유세포 분석기는 세포의 빛 확산과 형광 영역을 측정합니다. 유세포 분석기를 사용하면 빛의 직교 확산(측면 산란, SS)과 좁은 각의 광확산(전방 산란, FS)의 상호 관계를 지정하는 막대그래프상에 정의된 전자 창 내에서 관심 개체의 한계를 결정할 수 있습니다. 유세포 분석기에서 사용할 수 있는 두 가지 파라메타를 결합하는 기타 막대그래프를 사용자가 선택한 애플리케이션에 따라 게이팅 단계에서 지원 자료로 사용 가능합니다.

범위가 결정된 세포의 형광 영역을 분석하여 명확하게 염색된 이벤트와 염색되지 않은 이벤트를 구분합니다. 분석 결과는 게이팅으로 획득한 전체 이벤트와 비교한 양성 이벤트의 비율로 표현합니다.

의도된 사용자

본 제품은 실험실 전문가용입니다.

임상 관련성

CD13-PE은(는) 유세포 분석법으로 CD13 항원을 나타내는 세포를 식별하고 특성화하는 데 사용하는 CD13 항체입니다. 본 제품만 사용하여 진단과 관련된 결론을 내릴 수 없으며, 해당 용도로 사용해서도 안 됩니다.

다른 표지자와 함께 사용하는 경우 이 제품은 다음 중 하나 이상의 기능에 사용할 수 있습니다.

- 조혈세포성 종양이 의심되고 혈액학적 이상을 동반하는 환자의 감별 진단을 위한 보조 수단으로 활용하거나 알려진 조혈세포성 종양을 가진 환자를 모니터링하는 데 사용합니다.
- 혈액암 환자 예후의 보조 수단으로 활용.

다음 참조를 살펴보십시오.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

검체

정맥혈은 EDTA 염을 항응고제로 포함한 무균 튜브를 사용하여 채취해야 합니다.

검체는 실온(18~25°C)에 보관해야 하며 흔들어서는 안 됩니다. 검사 검체를 채취하기 전에 부드럽게 교반하여 검체를 균질화해야 합니다.

검체는 정맥천자 후 24시간 이내에 분석해야 합니다.

농도

www.beckman.com에서 로트별 분석증명서를 확인할 수 있습니다.

경고 및 주의 사항

1. 유효 기간이 지난 시약은 사용하지 마십시오.
2. 냉동하지 마십시오.
3. 사용 전 실온(18~25°C)에 두십시오.
4. 빛 노출을 최소화하십시오.
5. 시약이 미생물에 오염되지 않도록 하십시오. 그러지 않으면 잘못된 결과를 얻을 수 있습니다.
6. 아지드화나트륨(NaN_3)을 함유한 항체 용액은 주의해서 다루어야 합니다. 흡입을 피하고 피부, 점막 및 눈에 절대 닿지 않도록 하십시오.

또한 산성 매질에 함유된 아지드화나트륨은 잠재적 위험 물질인 히드라조산을 만들어낼 수 있습니다. 시약을 폐기할 때는 금속 파이프 내 아지드화나트륨 축적과 폭발 위험을 방지하기 위해 다량의 물에 희석한 후 배수 시설로 흘려보내야 합니다.

7. 모든 혈액 검체는 잠재적으로 전염성이 있다고 간주하고 주의해서 다루어야 합니다(특히 보호용 장갑, 가운 및 보안경 착용).
8. 피펫을 절대 입으로 사용하지 않도록 하고 검체가 피부, 점막 및 눈에 닿지 않도록 하십시오.
9. 취급에 사용한 혈액 튜브 및 일회용 물질은 소각용 특수 용기에서 폐기해야 합니다.
10. 시약 및 폐기물은 현지 요구 사항에 따라 제거해야 합니다.

GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음

SDS 안전보건자료는 beckman.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다

보관 및 안정성

이 시약은 바이알 개봉 전후에 2~8°C로 유지하면서 빛으로부터 보호해야 합니다.

안정성 시험에 따른 밀봉 바이알 유효 기간: 1095일.

개봉한 바이알의 안정성: 시약은 180일 동안 안정적입니다.

성능 저하 증거

시약 외관에 물리적 변화가 있는 경우 성능 저하를 나타내는 것일 수 있으므로 시약을 사용해서는 안 됩니다.

자세한 정보가 필요하거나 손상된 제품을 받은 경우에는 Beckman Coulter 고객 서비스에 800-742-2345(미국 또는 캐나다)로 또는 현지 Beckman Coulter 담당자에게 문의하십시오.

목차

소디움 아자이드 보존제는 금속 배수관에서 폭발성 화합물을 형성할 수 있습니다. NIOSH 게시판을 참조하십시오. Explosive Azide Hazard(폭발성 아지드 유해물질)(76/8/16)
아지드 화합물의 축적 가능성을 방지하려면 희석되지 않은 시약을 폐기한 다음 폐기 파이프를 물로 세척하십시오. 소디움 아자이드의 폐기는 해당 지역 규정을 따라야 합니다.

필요하지만 키트와 함께 제공되지 않는 품목:

- 검체 튜브와 검체 채취에 필요한 물질.
- 20, 100 및 500µL용 일회용 팁이 있는 자동 피펫.
- 플라스틱 용혈 튜브.
- 용해 후 세척 단계의 적혈구 용해 시약. 예: VersaLyse(참조 A09777).
- 백혈구 고정 시약. 예: IOTest 3 고정액(참조 A07800).
- 동형 정도관리물질PE: IOTest 시약(참조 A07796).
- 완충액(PBS: 0.01M 인산나트륨, 0.145M 염화나트륨, pH 7.2).
- 원심분리기.
- 자동 교반기(교반 유형).
- 유세포 분석기.

VERSALYSE 시약을 이용한 절차

분석할 각 검체마다 검사 튜브와 더불어 동형 대조물질이 있는 상태에서 세포를 혼합하는 하나의 정도관리물질 튜브를 추가할 수 있습니다(참조 A07796).

1. 20µL의 특정 IOTest 결합 항체를 각 검사 튜브에 첨가하고, 필요에 따라 20µL의 동형 정도관리물질을 각 정도관리물질 튜브에 첨가합니다.
2. 100µL의 검사 검체를 각 튜브에 첨가합니다. 튜브를 부드럽게 교반합니다.
3. 실온(18~25°C)에서 빛을 피해 15~20분 동안 배양하십시오.
4. 그런 다음 적혈구 용해를 수행합니다. VersaLyse(참조 A09777) 책자 내용을 참조하여 즉석에서 준비한 1mL의 "고정 및 세포 용해" 혼합물을 첨가하는 "수반 고정" 절차를 따릅니다. 즉시 1초 동안 교반한 후 직사광선을 피해 상온에서 10분 동안 배양합니다.
5. 상온에서 150 x g로 5분 동안 원심분리합니다.
6. 흡입 시 상청액을 제거하십시오.
7. 3mL의 PBS를 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.
8. 5단계를 반복합니다.
9. 그런 다음 흡입 방식으로 상등액을 제거하고 다음을 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.

- 조제 물질을 24시간 미만으로 보관하려는 경우 0.1 %의 포름알데히드가 함유된 0.5mL 또는 1mL의 PBS. (0.1 % 포름알데히드 PBS는 12.5µL의 IOTest 3 고정액(참조 A07800)을 1mL의 PBS에 10X 농도로 희석하여 얻을 수 있습니다).
- 조제 물질을 2시간 이내에 분석하려는 경우 포름알데히드가 없는 0.5mL 또는 1mL의 PBS.

참고: 조제물은 항상 빛을 피해 2~8°C로 유지하십시오.

예상 수치

실험실에서 25명의 건강한 공여자의 전혈 검체를 위에 설명된 시약을 사용하여 처리했습니다. 이 시약에서 관심 대상의 양성 이벤트 수 계산을 위해 얻은 결과는 아래 표와 같습니다.

양성 표적	번호	평균(%)	표준편차	CV(%)
단핵구	25	98.28	0.88	0.90
과립구	25	99.69	0.42	0.42

위 값은 전형적인 값으로만 참고해야 합니다. 각 실험실은 소재 지역의 정상 공여자 집단을 통해 고유한 예상값을 설정해야 합니다.

성능

성능 데이터는 위에 설명한 절차를 이용하여 이전에 EDTA 염을 항응고제로 하여 무균 튜브에서 수집한 지 24시간 미만인 혈액 검체로 획득합니다. 분석은 면역염색 후 2시간 이내에 수행됩니다.

특이도

또한 N 아미노펩티드분해효소(APN)로도 알려진 CD13 분자는 분자량이 150~170 kDa인 유형 II 막횡단 메탈로프로테아제입니다. 이 분자는 폭넓은 세포외 서열과 짧은 세포질내 영역을 가집니다. CD13 분자는 세포 표면에서 비공유 방식으로 동종이합체로 결합되는 것으로 보입니다(11). CD13 항원은 과립 단구계(단핵구, 호중구, 호산구 및 호염기구)과 수임 전구(혼합된 과립 단구 집락 또는 CFU-GM을 형성하는 중간 전구체)에서 조기 발현됩니다(11,12,13,14).

또한 CD13 분자는 근위 신세뇨관의 상피세포, 창자의 솔가장자리 구성 세포, 내피세포, 섬유모세포, 골수의 간질세포, 파골세포 및 담즙관의 기저세포 등 비조혈 조직의 세포에도 발현됩니다(15).

단일 클론 항체 SJ1D1은 말초 혈액에서 단핵구, 호중구, 호산구 그리고 호염기구와 반응합니다. 1986년 영국 옥스포드에서 열린 The 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens(인간 백혈구 감별 항원에 관한 제 3차 HLDA 워크숍)(WS 코드: 285, 섹션: M)에서 CD13에 할당되었습니다(12).

정밀도

양성 비율 값은 전혈을 사용하여 측정되었습니다. 각 검체는 2개의 CD13-PE 단일 클론 항체 시약 로트를 사용하여 2개의 장비에서 하루 동안 일일 2회씩 4번 실행되었습니다. 측정값(양성 비율)은 Navios 유세포 분석기로 도출했습니다. 분석은 CLSI 방법 EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods(EP5-A2: 정량적 측정 방법의 정밀도 성능 평가)를 기반으로 수행했습니다.

허용 기준은 각 집단에서 측정한 양성 이벤트 수에 따라 다릅니다.

- 양성 이벤트 수가 < 1,500인 경우 CV < 15 %
- 양성 이벤트 수가 > 1,500인 경우 CV < 10 %

단핵구							
양성 이벤트 수(평균) = 1119							
	작업자 간	유세포 분석기 간	로트 내	로트 간	실행 간	실행 내	총계
CV(%)	0.16	0.17	0.51	0.13	0.15	0.46	0.55
결과	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

과립구							
양성 이벤트 수(평균) = 23248							
	작업자 간	유세포 분석기 간	로트 내	로트 간	실행 간	실행 내	총계
CV(%)	0.01	0.04	0.05	0.01	0.02	0.05	0.07
결과	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

정확도

CD13-PE의 정확도는 그 결과를 Navios 유세포 분석기로 처리된 전혈 검체에 공인 참조 시약을 가한 값과 비교하여 평가했습니다. 검사 시약과 참조 시약 간 바이어스는 검사 결과 간 차이를 기반으로 지정되었습니다. 바이어스가 허용 가능한 오차 범위 내에 있거나 p-값이 유의한 차이를 나타내지 않는 경우 (> 0.05) 두 시약의 검사 결과는 동일한 것으로 간주됩니다.

얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

공여자 수 = 25				
양성 표적	평균 Δ	Δ % 세포 기준	p-값	결과
단핵구	-0.19	<5	0.120	PASS
과립구	-0.23	<5	4.003E-03	PASS

공시료 최저 검출한계 및 검출한계

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures(CLSI EP17-A2, 임상 실험실 측정 절차에 대한 검출 능력 평가)에 따라 연구를 실시했습니다. 검출한계(LoD)는 일관되게 검출 가능한 분석물질의 최저 농도입니다. 얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

Positive Target	공시료 최저 검출한계(세포/µL)	검출한계(세포/µL)
단핵구	0	4
과립구	2	4

한계

1. 유세포 분석기가 완벽하게 정렬되지 않은 경우, 형광 누출이 올바르게 보정되지 않은 경우 또는 영역 위치를 신중하게 지정하지 않은 경우 유세포 분석법에서 잘못된 결과가 나올 수 있습니다.
2. 이 시약은 "비세척" 용해 기법에 최적화되지 않았으므로 세척 단계를 포함한 적혈구 용해법을 사용하는 것이 바람직합니다.
3. 사용한 절차가 동봉된 기술 책자의 내용을 따르고 실험실 모범 사례와 호환되는 경우 정확하고 재현 가능한 결과를 얻을 수 있습니다.
4. 이 시약의 결합 항체는 최상의 특이/비특이 신호비를 제공하도록 보정됩니다. 그러므로 모든 검사에서 시약의 용적/검체 용적 비율을 준수하는 것이 중요합니다.
5. 과백혈구 증가증의 경우 혈액을 PBS에 희석하여 대략 백혈구 5 x 10^9개/L 값을 얻어야 합니다(16).

6. 심한 신부전 또는 혈색소병증 같은 특정 질병 상태에서 적혈구의 용해는 느리거나 불완전하거나 심지어는 불가능할 수도 있습니다. 이러한 경우 염색 전에 밀도 구배(예: Ficoll)를 사용하여 단핵구 세포를 분리하는 것이 좋습니다(17).
7. 항 인간 단일 클론 항체 요법으로 치료받은 환자에서, 특이 표적 항원의 검출이 치료 항체에 의한 일부 또는 전체 차단으로 인해 감소하거나 이루어지지 않을 수 있습니다.
8. CD13-PE 결과는 증상, 병력, 추가 검사 데이터, 기타 적절한 정보 등 환자의 모든 임상 증상을 고려하여 해석해야 합니다.

예시와 참고 자료는 부록을 참조하십시오.

상표

본 문서에 포함된 Beckman Coulter, 스타일 로고, Beckman Coulter 제품 및 서비스 마크는 미국 및 기타 국가에서 Beckman Coulter, Inc.의 상표이거나 등록 상표입니다.

추가 정보

유럽 연합 및 이와 동일한 규정 체제(EU 규정 2017/746, 체외 진단용 의료 기기 관련)를 사용하는 국가에 거주하는 환자/사용자/타사의 경우, 이 장치의 사용 중이나 사용으로 인해 심각한 상황이 발생했다면 제조업체 및/또는 공인 담당자와 해당 국가의 담당 기관에 신고하십시오.

Summary of Safety and Performance(안전성 및 성능에 관한 개요)는 ec.europa.eu/tools/eudamed 주소의 EUDAMED 데이터베이스에서 확인할 수 있습니다.

개정 이력

개정판 AD:	출시일: 2019년 10월

개정	**발행 날짜**
AW	2022년 2월
Beckman Coulter 글로벌 라벨 지정 정책 및 IVD-R (EU) 2017/746 요건에 따라 업데이트했습니다.	
추가된 섹션	BSI 2797 번호, 대상 사용자, 임상적 관련성, 농도, 정밀도, 정확도, 공시료 최저 검출한계 및 검출한계, 추가 정보, 개정 이력.
추가된 정보	한계 섹션 참조
언어적 표현이나 글자 배치를 업데이트했습니다.	절차, 성능, 한계, 경고 및 주의 사항, 보관 및 안정성 섹션을 참조하십시오.
삭제된 섹션	임상 용도의 예, 시약, 실험실 내 재현성, 직선성
업데이트된 섹션	사용목적, GHS 유해물질 등급, 성능 저하 증거, 절차, 부록.

개정	**발행 날짜**
AX	
업데이트된 섹션	카자흐어 추가
업데이트된 섹션	보관 및 안정성

개정된 버전	AY
개정 날짜	5월 2024
업데이트된 번역	**임상적 관련성:**
업데이트된 섹션	개정 이력

기호 목록

기호 용어집은 beckman.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다(문서 번호 B60062)

	Spesifikasyonlar
Özgüllük	CD13
Klon	SJ1D1
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
İmmünojen	KG1a cell line
Immunoglobulin	IgG1
Türler	Fare
Arıtma	Afinite Kromatografisi
Florokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molar oran	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ eksitasyonu	488 nm
Emisyon piki	575 nm
Tampon	PBS pH 7,2 artı 2 mg/mL BSA ve %0,1 NaN_3

IOTest
Konjuge Antikor CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

***İn Vitro* Diagnostik Kullanım içindir**

KULLANIM AMACI

Bu florokrom konjuge antikor, akış sitometrisi kullanılarak insan biyolojik örneklerinde var olan CD13 antijenini eksprese eden hücre popülasyonlarının otomatik olmayan ve kalitatif tanımlamasına olanak tanır (aşağıdaki "Örnekler" bölümüne bakın).

İLKE

Bu test, spesifik monoklonal antikorların lökositler tarafından eksprese edilen antijenik belirleyicilere bağlanabilmesine dayanmaktadır.

Lökositlerin spesifik boyaması, örnek, IOTest reaktifi ile inkübe edilerek gerçekleştirilir. Sonra kırmızı hücreler parçalanarak giderilir ve bu işlemden etkilenmeyen lökositler, akış sitometrisi ile analiz edilir.

Akış sitometrisi ışık difüzyonunu ve hücre floresanını ölçer. Bu durum, ilgili popülasyonun, ışığın ortogonal difüzyonu (Yana Yayılma veya SS) ve dar açılı ışığın difüzyonu (İleri Yayılma veya FS) ile ilişkilendirilen histogram üzerinde tanımlanmış elektronik pencerede sınırlanmasını sağlar. Sitometredeki farklı parametrelerden ikisini birleştiren diğer histogramlar, kullanıcının seçtiği uygulamaya bağlı olarak kapılama aşamasında destek olarak kullanılabilir.

Sınırlı hücrelerin floresanı analiz edilerek pozitif boyalı olaylar boyasızlardan ayrılır. Sonuçlar pozitif olayların geçiş ile edinilmiş tüm olaylara yüzdesi olarak ifade edilir.

HEDEF KULLANICI

Bu ürün, laboratuvarda profesyonel kullanım için tasarlanmıştır.

KLİNİK GEÇERLİLİK

CD13-PE, akış sitometrisiyle CD13 antijenini eksprese eden hücreleri tanımlamak ve karakterize etmek amacıyla kullanılan bir CD13 antikorudur. Bu ürün tek başına, herhangi bir tanı sonucu oluşturamaz ve tanı sonucu oluşturmak üzere tasarlanmamıştır.

Bu ürün, diğer belirteçlerle birlikte kullanıldığında aşağıdaki işlevlerden biri veya daha fazlası için kullanılabilir:

- Hematopoetik neoplazmı olduğundan şüphelenilen hematolojik olarak anormal hastalarda ayırıcı tanıya yardımcı olmak ve bilinen hematopoetik neoplazmı olan hastaları izlemek için.
- Hematopoetik neoplazmı olan hastalarda prognoza yardımcı olmak için.

Şu referanslara bakın:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ÖRNEKLER

Antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüpler kullanılarak venöz kan alınmalıdır.

Örnekler oda sıcaklığında (18-25°C) tutulmalı ve çalkalanmamalıdır. Örnekler test örneği alınmadan önce hafifçe çalkalanarak homojenize edilmelidir.

Örnekler venipunktür sonrası 24 saat içinde analiz edilmelidir.

KONSANTRASYON

Lota özel Analiz Sertifikası için www.beckman.com adresine bakın.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. Reaktifi son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
2. Dondurmayın.
3. Kullanmadan önce oda sıcaklığına (18-25°C) getirin.
4. Işığa maruz kalmasını en aza indirin.
5. Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonundan kaçının yoksa yanlış sonuçlar oluşabilir.
6. Sodyum azid (NaN_3) içeren antikor solüsyonları dikkatle işlenmelidir. Yutmayın ve cilt, mukoza ve gözlerle temasından kaçının.

   Ayrıca, asit ortamında, sodyum azid potansiyel olarak tehlikeli hidrazoik asit oluşturabilir. Atılması gerekiyorsa, metal borularda sodyum azid birikmesini ve patlama riskini önlemek için, reaktifin drenaj sistemine dökülmeden önce çok miktarda suyla seyreltilmesi önerilmektedir.

7. Tüm kan örnekleri potansiyel olarak bulaşıcı olarak kabul edilmeli ve dikkatle ele alınmalıdır (özellikle koruyucu eldiven, önlük ve gözlük takılmalıdır).
8. Asla ağızla pipetleme yapmayın ve örneklerin cilt, mukoza veya gözle herhangi bir şekilde temas etmesini önleyin.
9. Taşıma için kullanılan kan tüpleri ve tek kullanımlık malzeme, yakma amacıyla özel kaplara atılmalıdır.
10. Reaktifler ve atıklar yerel gereksinimlere göre elimine edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır

SDS Güvenlik Veri Sayfası beckman.com/techdocs adresinde bulunabilir

SAKLAMA VE STABİLİTE

Bu reaktifin, şişe açılmadan önce ve açıldıktan sonra 2 ile 8°C arasında tutulması ve ışıktan korunması gereklidir.

Stabilite çalışması için şişe raf ömrü: 1095 gün.

Açılan şişenin stabilitesi: reaktif 180 gün stabildir.

BOZULMA GÖSTERGESİ

Reaktiflerin fiziksel görünümündeki herhangi bir değişiklik bozulmayı gösterebilir ve reaktif kullanılmamalıdır.

Ek bilgi almak isterseniz veya aldığınız ürün hasarlı çıktıysa, 800-742-2345 numaralı telefondan (ABD veya Kanada) Beckman Coulter Müşteri Hizmetlerini arayın veya yerel Beckman Coulter Temsilcinizle temas kurun.

İÇİNDEKİLER

Sodyum azid koruyucu maddesi metal kanalizasyon hatlarında patlayıcı bileşimler oluşturabilir. NIOSH Bültenine bakın: Explosive Azide Hazard (Patlayıcı Azide Tehlikesi) (16.8.76).
Azid bileşenlerinin olası birikimini engellemek amacıyla, seyreltilmemiş reaktifi çöpe attıktan sonra atık borularını bol suyla yıkayın. Sodyum azid, uygun yerel düzenlemelere göre çöpe atılmalıdır.

GEREKLİ OLAN ANCAK KİT İLE BİRLİKTE VERİLMEYEN MALZEMELER:

- Numune alma tüpleri ve numune alma için gerekli malzemeler.
- 20, 100 ve 500 µL için tek kullanımlık uçlu otomatik pipetler.
- Plastik hemoliz tüpleri.
- Lizis sonrası yıkama aşamasıyla birlikte eritrosit lizis reaktifi. Örneğin: VersaLyse (Ref. A09777).
- Lökosit fiksasyon reaktifi. Örneğin: IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonu (Ref. A07800).
- İzotip kontrolüPE: IOTest reaktifi (Ref. A07796).
- Tampon (PBS: 0,01 M sodyum fosfat; 0,145 M sodyum klorür; pH 7,2).
- Santrifüjleyin.
- Otomatik karıştırıcı (Vorteks tipi).
- Akış sitometresi.

VERSALYSE REAKTİFİ İLE PROSEDÜR

Analiz edilen her örnek için test tüpüne ek olarak, hücrelerin izotip kontrolü varlığında karıştırıldığı bir kontrol tüpü eklenebilir (Ref. A07796).

1. Her test tüpüne 20 µL spesifik IOTest konjuge antikor ve gerekirse, her kontrol tüpüne, 20 µL izotip kontrolü ekleyin.
2. Her bir tüpe 100 µL test örneği ekleyin. Tüpleri yavaşça vorteksleyin.
3. Oda sıcaklığında (18-25°C) ışıktan koruyarak 15-20 dakika boyunca inkübe edin.
4. Ardından kırmızı hücrelerin lizisini gerçekleştirin. VersaLyse (Ref. A09777) broşürüne bakın ve tercihen “birlikte kullanılan fiksasyon ile” adlı, doğaçlama hazırlanan 1 mL “Fiksasyon ve Lizis” karışımını eklemeyi içeren prosedürü izleyin. Hemen bir saniye boyunca vorteksleyin ve ışıktan koruyarak, 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
5. Oda sıcaklığında 5 dakika 150 x g hızda santrifüjleyin.
6. Aspirasyon ile üst fazı alın.
7. 3 mL PBS kullanarak hücre peletini yeniden süspanse edin.
8. Adım 5'i tekrarlayın.
9. Yüzer maddeyi aspirasyonla alın ve hücre topağını şunu kullanarak yeniden süspanse edin:

- Preparatlar 24 saatten az tutulacaksa, 0,5 mL veya 1 mL PBS'nin yanı sıra %0,1 formaldehit. (%0,1 formaldehit PBS, 1 mL PBS içinde 10X konsantre IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonundan (Ref. A07800) 12,5 µL seyreltilerek elde edilebilir).
- 0,5 mL veya 1 mL PBS formaldehidsiz, preparatlar 2 saat içinde analiz edilmelidir.

Not: Tüm durumlarda, preperatlar 2 ile 8°C arasında tutulmalı ve ışıktan korunmalıdır.

BEKLENEN DEĞERLER

Laboratuvarlarımızda, yukarıda açıklanan reaktif kullanılarak sağlıklı görünen 25 donörün tam kan örnekleri işlenmiştir. Bu reaktif ile ilgi konusu pozitif olayların sayısı için elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir:

Pozitif Hedef	Sayı	Ortalama (%)	SS	VK (%)
Monositler	25	98,28	0,88	0,90
Granülositler	25	99,69	0,42	0,42

Bu değerlerin sadece temsili olması amaçlanmaktadır. Her laboratuvar normal donörlerden oluşan yerel popülasyonunda kendi beklenen değerlerini oluşturmalıdır.

PERFORMANS

Performans verileri, antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüplerde daha önce toplanan, 24 saatten eski olmayan kan örnekleri üzerinde yukarıdaki prosedür kullanılarak elde edilmiştir. İmmün boyamayı takiben 2 saat içinde analiz gerçekleştirilir.

ÖZGÜLLÜK

Aynı zamanda N Aminopeptidaz (APN) olarak bilinen CD13, 150-170 kDa moleküler ağırlığına sahip bir tip II transmembranöz metalloproteazdır. Bu molekülün geniş bir ekstraselüler dizisi ve kısa bir intrasitoplazmik bölgesi bulunmaktadır. CD13 molekülü hücrelerin yüzeyinde kovalan olmayan şekilde homodimer olarak bağlanıyor gibi görünmektedir (11). CD13 antijeni, granülomonositik dizide, (monositler, nötrofiller, eozinofiller ve bazofiller) ve yolu belirlenmiş progenitörlerinde (karışık granülomonositik koloniler veya CFU-GM oluşturan ara progenitörler) erken dönemde eksprese olur (11,12,13,14).

CD13 molekülü aynı zamanda bağırsaklar, endotel hücrelerin, fibroblastların, kemik iliği stroma hücrelerinin, osteoklastların ve safra kanalları bazal hücrelerinin fırça kenar yapısını oluşturan hücreler olan proksimal renal tübüllerin epitel hücreleri gibi nonhematopoetik doku hücrelerinde de eksprese olur (15).

Monoklonal antikor SJ1D1, periferik kanda monositler, nötrofiller, eozinofiller ve bazofillerle reaksiyona girer. 1986'da Oxford, Büyük Britanya'da gerçekleştirilen 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3. HLDA İnsan Lökositi Farklılaşma Antijenleri) Seminerinde CD13'e atanmıştır (WS Kodu: 285, Bölüm M) (12).

KESİNLİK

Yüzde pozitif değerler, Tam Kan kullanılarak belirlenmiştir. Her örnek, 2 lot CD13-PE Monoklonal Antikor Reaktifleri kullanılarak 2 cihazda 1 gün için günde iki kez olmak üzere 4 kez çalışılmıştır. Ölçümler (% pozitif) Navios akış sitometresi üzerinde yapılmıştır. Analiz, CLSI yöntemi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kantitatif Ölçüm Yöntemlerinin Kesinlik Performansına İlişkin Değerlendirme) temelinde yürütülmüştür.

Kabul kriterlerimiz, her popülasyon için ölçülen pozitif olay sayısına bağlıdır:

- Pozitif olay <1.500, VK <%15 ise
- Pozitif olay >1.500, VK <%10 ise

Monositler							
Pozitif olay sayısı (Ortalama)=1119							
	Kullanıcılar arası	Sitometreler arası	Lot içi	Lotlar arası	Çalışmalar arası	Çalışma içi	Total
VK (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
SONUÇLAR	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granülositler							
Pozitif olay sayısı (Ortalama)=23248							
	Kullanıcılar arası	Sitometreler arası	Lot içi	Lotlar arası	Çalışmalar arası	Çalışma içi	Total
VK (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
SONUÇLAR	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOĞRULUK

CD13-PE doğruluğu, bir Navios akış sitometresinde çalışılan tam kan örnekleri grubunda esas alınan referans reaktifle sonuçlar karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Test ve referans reaktif arasındaki sapma, test sonuçları arasındaki fark temelinde belirlenmiştir. Sapma, izin verilen hata aralığı dahilindeyse veya p değeri anlamlı fark göstermediğinde (>0,05), iki reaktif için test sonuçlarının eşdeğer olduğu kabul edilir.

Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Donör sayısı=25				
Pozitif Hedef	Ortalama Δ	Δ % Hücre kriteri	p değeri	SONUÇLAR
Monositler	-0,19	<5	0,120	PASS
Granülositler	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

KÖR LİMİTİ VE TESPİT LİMİTİ

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klinik Laboratuvar Ölçüm Prosedürleri için Tespit Kabiliyetinin Değerlendirilmesi) ile uyumlu bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Tespit Limiti (LOD), tutarlı olarak tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonudur. Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Positive Target	Kör Limiti (hücre/µL)	Tespit Limiti (hücre/µL)
Monositler	0	4
Granülositler	2	4

SINIRLAMALAR

1. Akış sitometrisi, sitometre mükemmel şekilde hizalanmadıysa, floresan sızıntıları doğru şekilde telafi edilmediyse ve bölgeler dikkatli bir şekilde konumlandırılmadıysa yanlış sonuçlar üretebilir.
2. Bu reaktif "yıkamasız" parçalama teknikleri için optimize edilmediğinden, yıkama adımı içeren bir RBC parçalama tekniği kullanılması tercih edilir.

3. Kullanılan prosedürler teknik bilgi broşürüne uygun olduğu ve iyi laboratuvar uygulamalarına uygun olduğu sürece doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilecektir.
4. Bu reaktifin konjugat antikoru, en iyi spesifik sinyal/spesifik olmayan sinyal oranını sunacak şekilde kalibre edilir. Bu nedenle her testte reaktif hacmi/örnek hacmi oranına bağlı kalmak önemlidir.
5. Hiperlökositoz durumunda yaklaşık 5 x 10^9 lökosit/L (16) değerini elde etmek için kanı PBS içinde seyreltin.
6. Şiddetli böbrek yetmezliği veya hemoglobinopatiler gibi bazı hastalık durumlarında, eritrosit lizisi yavaş, eksik ve hatta imkansız olabilir. Bu durumda mononükleotidli hücrelerin boyama öncesinde yoğunluk gradyanı (örneğin Ficoll) kullanılarak izole edilmesi önerilmektedir (17).
7. Anti-insan monoklonal antikor terapisi ile tedavi edilen hastalarda, terapötik antikorun kısmi veya tam engellemesi nedeniyle spesifik hedeflenen antijenlerin tespiti azalabilir veya yapılamayabilir.
8. CD13-PE sonuçları, semptomlar, klinik öykü, ilave testlerden elde edilen veriler ve diğer uygun bilgiler dahil olmak üzere hastanın genel klinik tablosu dikkate alınarak yorumlanmalıdır.

Örnekler ve referanslar için Ek'e bakın.

TİCARİ MARKALAR

Bu belgede belirtilen Beckman Coulter, stilize logo ve Beckman Coulter ürün ve hizmet markaları, Beckman Coulter, Inc. firmasının ABD'de ve diğer ülkelerdeki ticari veya tescilli ticari markalarıdır.

EK BİLGİLER

Avrupa Birliği'nde ve aynı düzenleme rejiminin olduğu ülkelerdeki (In Vitro Diagnostik Tıbbi Cihazlar hakkında 2017/746/EU sayılı Yönetmelik) hasta/kullanıcı/üçüncü taraflar için; bu cihazın kullanımı sırasında veya cihazın kullanımının bir sonucu olarak ciddi bir olay meydana gelirse lütfen olayı üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makamınıza bildirin.

Summary of Safety and Performance (Güvenlik ve Performans Özeti) EUDAMED veritabanında mevcuttur: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVİZYON GEÇMİŞİ

REVİZYON AD:	Yayınlanma tarihi: Ekim 2019

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AW	Şubat 2022
Beckman Coulter Global Etiketleme Politikasıyla uyumluluk sağlamak için ve IVD-R (AB)2017/746 gerekliliklerine göre güncellemeler yapıldı:	
Bölümler eklendi	BSI 2797 Numarası, Hedef Kullanıcı, Klinik Anlam, Konsantrasyon, Kesinlik, Doğruluk, Kör limiti ve tespit limiti, Ek Bilgiler, Revizyon Geçmişi.
Bilgi eklendi	Sınırlamalar bölümlerine bakın
İfade veya yazım güncellemeleri	Prosedür, Performans, Sınırlamalar, Uyarılar ve Önlemler, Saklama ve Stabilite bölümlerine bakın.
Bölümler kaldırıldı	Klinik uygulama örneği, Reaktifler, Laboratuvar içi yeniden üretilebilirlik, Linearite
Güncellenmiş bölümler	Kullanım Amacı, GHS Tehlike Sınıflandırması, Bozulma Göstergesi, Prosedür, Ek.

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AX	
Güncellenmiş bölümler	Kazakça ekle
Güncellenmiş bölümler	Saklama ve stabilite

Düzeltilmiş Sürüm	AY
Revizyon Tarihi	Mayıs 2024
Güncellenmiş Çeviriler	**Klinik önemi:**
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Sembol Anahtarı

Semboller Sözlüğü beckman.com/techdocs adresinde bulunabilir (belge numarası B60062)

	Спецификации
Специфичность	CD13
Клон	SJ1D1
Гибридома	SP2/0 x balb/c
Иммуноген	KG1a cell line
Иммуноглобулин	IgG1
Вид	Мышь
Очистка	Аффинная хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin (PE)
Молярное отношение	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Возбуждение λ	488 nm
Пик эмиссии	575 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 мг/мл БСА и 0,1% NaN_3

Конъюгированное антитело IOTest CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 мл, 20 мкл/тест

Применяется для *In Vitro* диагностики.

НАЗНАЧЕНИЕ

Это конъюгированное с флуорохромом антитело позволяет с использованием проточной цитометрии выполнить качественное и не автоматизированное определение клеточных популяций, экспрессирующих антиген CD13, который присутствует в биологических пробах человека (см. раздел «Пробы» ниже).

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Данный тест основан на способности специфических моноклональных антител связывать антигенные детерминанты, экспрессированные лейкоцитами.

Специфическое окрашивание лейкоцитов выполняется путем инкубирования пробы с реагентом IOTest. Затем методом лизиса удаляются эритроциты, и выполняется анализ лейкоцитов, не затронутых этим процессом, методом проточной цитометрии.

Проточный цитометр измеряет светорассеяние и флуоресценцию клеток. Это дает возможность разграничения интересующей популяции в электронном окне, определенном на гистограмме, что коррелирует с ортогональным светорассеянием (боковое рассеяние, или SS) и рассеянием света под острым углом (прямое рассеяние, или FS). Другие гистограммы, сочетающие два из других параметров, доступных на цитометре, могут использоваться как вспомогательные на стадии селекции, в зависимости от приложения, выбранного пользователем.

Флуоресценцию разграниченных клеток анализируют с целью различения положительно-окрашенных и неокрашенных событий. Результаты выражаются в виде процентного отношения положительных событий ко всем событиям, полученным в ходе селекции.

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ

Изделие предназначено для использования в лаборатории персоналом с профессиональной подготовкой.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

CD13-PE представляет собой антитело к CD13, используемое для идентификации и определения характеристик клеток, экспрессирующих антиген CD13, методом проточной цитометрии. Этот продукт отдельно от других исследований не может приводить к принятию каких-либо диагностических решений и не предназначен для этого.

При использовании в сочетании с другими маркерами этот продукт может использоваться в следующих целях.

- Для использования при дифференциальной диагностике пациентов с отклонениями гематологических результатов (при подозрении на наличие гематопоэтических новообразований), а также для мониторинга пациентов с известным гематопоэтическим новообразованием.
- Для определения прогноза у пациентов с гематопоэтическими новообразованиями.

См. следующие ссылки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ПРОБЫ

При взятии образца венозной крови необходимо использовать стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта.

Пробы следует хранить при комнатной температуре (18–25°C), не встряхивая. Пробы следует гомогенизировать, осторожно перемешав, до отбора тестовой пробы.

Пробы требуется проанализировать в течение 24 ч после венипункции.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

См. специфический для партии сертификат анализа на веб-сайте www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Не используйте реагенты после истечения срока годности.
2. Не замораживать.
3. Перед использованием довести до комнатной температуры (18–25°C).
4. Минимизируют воздействие света.
5. Во избежание получения ошибочных результатов не допускайте микробной контаминации реагентов.

6. Следует с осторожностью обращаться с растворами антител, содержащими натрия азид (NaN_3). Не принимайте внутрь и избегайте любого контакта с кожей, слизистыми оболочками и глазами.

   Кроме того, в кислой среде натрия азид может образовывать потенциально опасную азотистоводородную кислоту. Если требуется утилизация, рекомендуется разводить реагент в большом объеме воды, прежде чем выливать его в канализацию, чтобы избежать накопления натрия азида в металлических трубах и исключить возможность взрыва.

7. Все пробы крови должны считаться потенциально инфицированными, при обращении с ними необходимо соблюдать осторожность (в частности, использовать защитные перчатки, одежду и очки).
8. Никогда не пипетируйте ртом и избегайте любого контакта проб с кожей, слизистыми и глазами.
9. При утилизации пробирок и одноразовых материалов следует использовать специальные предназначенные для сжигания контейнеры.
10. При утилизации реагентов и отходов необходимо следовать требованиям местного законодательства.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Не классифицируется как опасное вещество

SDS Паспорт безопасности доступен на сайте beckman.com/techdocs

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Этот реагент требуется хранить при температуре от 2 до 8°C, защищая от света, до и после вскрытия флакона.

Срок хранения закрытого флакона согласно исследованию стабильности: 1095 день.

Стабильность в открытом флаконе: реагент сохраняет стабильность в течение 180 дн.

ПРИЗНАКИ ПОРЧИ

Любые изменения внешнего вида реагентов могут говорить о порче, использовать такой реагент не следует.

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь со своим местным представителем Beckman Coulter.

СОДЕРЖАНИЕ

Консервант с содержанием азида натрия может образовывать взрывоопасные соединения в металлической водопроводной арматуре. См. бюллетень Национального института по охране труда и промышленной гигиене (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Взрывоопасные азиды) (16.8.76). Чтобы избежать накопления азидных соединений, промывайте сливные трубы водой после сброса неразбавленного реагента. Утилизацию азида натрия следует проводить в соответствии с соответствующими местными нормами.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, КОТОРЫЕ НЕ ВХОДЯТ В НАБОР:

- Необходимые для взятия проб пробирки и материалы.
- Автоматические пипетки с одноразовыми наконечниками для 20, 100 и 500 мкл.
- Пластиковые пробирки для гемолиза.
- Реагент для лизиса эритроцитов с этапом промывки после лизиса. Например: VersaLyse (ссылочный номер A09777).
- Реагент для фиксации лейкоцитов. Например: IOTest 3 Fixative Solution (фиксирующий раствор) (ссылочный номер A07800).
- Изотипический контроль -PE: Реагент IOTest (ссылочный номер A07796).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрия фосфата; 0,145 M натрия хлорида; pH 7,2).
- Центрифугируйте.
- Автоматическая мешалка (вортексная)
- Проточный цитометр.

ПРОЦЕДУРА С РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для каждой анализируемой пробы в дополнение к тестовой пробирке можно добавить одну контрольную пробирку, в которой клетки смешаны в присутствии изотипического контроля (ссылочный номер A07796).

1. В каждую тестовую пробирку добавьте по 20 мкл специфического конъюгированного антитела IOTest, а в каждую контрольную пробирку — по 20 мкл изотипического контроля, если необходимо.
2. Добавьте 100 мкл тестовой пробы в каждую пробирку. Аккуратно перемешайте пробирки на вортексе.
3. Инкубируют при комнатной температуре (18–25°C) в течение 15-20 мин, в защищенном от света месте.
4. Затем выполняют лизис эритроцитов. См. вкладыш VersaLyse (ссылочный номер A09777) и, предпочтительно, следуйте процедуре с названием «с сопутствующей фиксацией», которая заключается в добавлении 1 мл смеси «Фиксирующей и лизирующей», приготовленной для немедленного применения. Немедленно перемешивают на вортексе в течение одной секунды и инкубируют в течение 10 минут при комнатной температуре, защищая от света.
5. Центрифугируют в течение 5 минут при 150 g при комнатной температуре.
6. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации.
7. Ресуспендируют осадок клеток, используя 3 мл PBS.
8. Повторите шаг 5.
9. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации и ресуспендируют осадок клеток, используя:

- 0,5 мл или 1 мл PBS плюс 0,1% формальдегида, если препараты следует хранить менее 24 ч. (PBS с 0,1% формальдегида можно получить путем разведения 12,5 мкл фиксирующего раствора IOTest 3 (ссылочный номер A07800) в 10-кратной концентрации в 1 мл PBS).

- 0,5 мл или 1 мл PBS без формальдегида, если препараты следует проанализировать в течение 2 ч.

Примечание. В обязательном порядке защищайте подготавливаемые материалы от солнечного света, храните их при температуре от 2 до 8°C.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В наших лабораториях пробы цельной крови от клинически здоровых доноров (количество доноров: 25) были обработаны с использованием описанного выше реагента. Результаты, полученные для количества положительных интересующих явлений с этим реагентом, приводятся в таблице ниже:

Положительная мишень	Число	Среднее (%)	SD	CV (%)
Моноциты	25	98,28	0,88	0,90
Гранулоциты	25	99,69	0,42	0,42

Эти значения используются только в качестве примера. В каждой лаборатории должны быть установлены собственные диапазоны ожидаемых значений с учетом проб нормальных доноров из числа местного населения.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Рабочие характеристики получены с использованием описанной выше процедуры на пробах, собранных не ранее чем за 24 часа до анализа в стерильные пробирки с солью ЭДТА как антикоагулянтом. Анализ проводится в течение 2 часов после иммуноокрашивания.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Молекула CD13, известная также как аминопептидаза N (APN), представляет собой трансмембранную металлопротеазу типа II с молекулярным весом 150–170 кДа. Данная молекула имеет экстенсивную внеклеточную последовательность и короткую внутрицитоплазматическую область. Молекула CD13 связывается как гомодимер нековалентным образом на поверхности клеток (11). Антиген CD13 экспрессирован в ранней грануло-моноцитарной линии (моноциты, нейтрофилы, эозинофилы и базофилы) и их коммитированных клетках-предшественниках (промежуточные клетки-предшественники, формирующие смешанные грануло-моноцитарные колонии, или CFU-GM) (11,12,13,14).

Молекула CD13 также экспрессирована на клетках не-кроветворных тканей, например, на эпителиальных клетках проксимальных почечных канальцев; клетках, формирующих кисточковую кайму кишечника; эндотелиальных клетках; фибробластах; стромальных клетках костного мозга; остеокластах и базальных клетках желчных протоков (15).

Моноклональное антитело SJ1D1 реагирует в периферической крови с моноцитами, нейтрофилами, эозинофилами и базофилами. Оно было отнесено к CD13 во время семинара 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3-й семинар по дифференцировочным антигенам лейкоцитов человека — HLDA), который проводился в Оксфорде, в Великобритании, в 1986 г. (код WS: 285, раздел M) (12).

ПРЕЦИЗИОННОСТЬ

Процент положительных результатов был установлен с использованием цельной крови. Каждую пробу измеряли 4 раза, два раза в день в течение 1 дня на 2 приборах, с использованием 2 партий реагентов моноклональных антител CD13-PE. Измерения (% положительных) выполняли на проточном цитометре Navios. Анализ проводился на основе метода CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оценка прецизионности количественных методик измерения).

Наши критерии принятия зависят от количества положительных событий, измеренных для каждой популяции:

- Если положительных событий <1 500, CV <15%
- Если положительных событий >1 500, CV <10%

Моноциты							
Количество положительных событий (среднее) = 1119							
	Между операторами	Между цитометрами	Внутри партии	Между партиями	Между анализами	Внутри анализа	Итого
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
РЕЗУЛЬТАТЫ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Гранулоциты							
Количество положительных событий (среднее) = 23248							
	Между операторами	Между цитометрами	Внутри партии	Между партиями	Между анализами	Внутри анализа	Итого
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
РЕЗУЛЬТАТЫ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТЬ

Точность CD13-PE оценивалась путем сравнения результатов с результатами по референсному реагенту как предикатом. Анализ выполняли на проточном цитометре Navios с использованием набора проб цельной крови. Систематическая ошибка оценки между тестовым и референсным реагентами была определена на основании различий между результатами теста. Если систематическая ошибка оценки находится в пределах допустимого диапазона ошибки или если p-значение указывает на отсутствие значительного различия (>0,05), тогда результаты теста для двух реагентов рассматриваются как эквивалентные.

Полученные результаты обобщены в таблице далее.

Количество доноров = 25				
Положительная мишень	Среднее значение Δ	Критерии Δ % клеток	p-значение	РЕЗУЛЬТАТЫ
Моноциты	-0,19	<5	0,120	PASS
Гранулоциты	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

ПРЕДЕЛ БЛАНКА И ПРЕДЕЛ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Исследование было проведено в соответствии с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Оценка способности обнаружения для методик измерения клинической лаборатории). Предел чувствительности (LOD) — наименьшая концентрация аналита, которая может последовательно обнаруживаться. Полученные результаты обобщены в таблице ниже.

Positive Target	Предел бланка (клеток/мкл)	Предел чувствительности (клеток/мкл)
Моноциты	0	4
Гранулоциты	2	4

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. При проведении проточной цитометрии возможно получение ложных результатов, если цитометр не был идеально позиционирован, не была проведена правильная компенсация утечек флуоресцентного агента или точное позиционирование областей.
2. Предпочтительно использовать технику лизиса RBC с шагом промывки, так как этот реагент не был оптимизирован для техник лизиса «без промывки».
3. Для получения точных и повторяемых результатов необходимо выполнять процедуры в соответствии с инструкцией-вкладышем и требованиями надлежащей лабораторной практики.
4. Выполняется калибровка конъюгированного антитела этого реагента с целью получения наилучшего для данной конкретной задачи соотношения специфичного и неспецифичного сигнала. Поэтому при каждом тесте важно придерживаться правильного соотношения объема реагента и пробы.
5. При гиперлейкоцитозе, разбавляют кровь PBS до приблизительно 5 x 10^9 лейкоцитов/л (16).
6. При определенных заболеваниях, таких как острая почечная недостаточность или гемоглобинопатии, лизис эритроцитов может протекать медленно, быть неполным или даже невозможным. В таком случае рекомендуется изолировать одноядерные клетки, используя градиент плотности (например, фиколл), перед окрашиванием (17).
7. У пациентов, получавших лечение античеловеческими моноклональными антителами, обнаружение специфических целевых антител может быть снижено или может отсутствовать вследствие частичной или полной блокировки терапевтическими антителами.
8. Результаты CD13-PE должны интерпретироваться с учетом общих клинических проявлений пациента, включая симптомы, историю болезни, данные дополнительных тестирований и прочую информацию.

Примеры и ссылки см. в Приложении.

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

Beckman Coulter, стилизованный логотип и упоминаемые здесь знаки продукции и услуг Beckman Coulter являются товарными знаками или зарегистрированными товарными знаками корпорации Beckman Coulter, Inc. в Соединенных Штатах и других странах.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для пациента / пользователя / третьей стороны в Европейском Союзе и в странах с идентичным регуляторным режимом (Регламент 2017/746/EC в отношении медицинских изделий для in vitro диагностики); если, во время использования этого изделия или в результате его использования произошел серьезный инцидент, сообщите о нем производителю и/или его уполномоченному представителю и своему национальному органу регулирования.

Summary of Safety and Performance (Сводные данные по безопасности и функциональным характеристикам) доступны в Европейской базе данных изделий медицинского назначения (EUDAMED): ec.europa.eu/tools/eudamed.

СВЕДЕНИЯ О ВЕРСИЯХ

ВЕРСИЯ AD:	Дата выпуска: Октябрь 2019 г.

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AW	Февраль 2022 г.
Обновления с целью приведения в соответствие политике международной маркировки Beckman Coulter и для выполнения требований IVD-R (EC)2017/746:	
Добавлены разделы	Номер BSI 2797, «Предполагаемый пользователь», «Клиническая значимость», «Концентрация», «Прецизионность», «Точность», «Предел бланка и предел чувствительности», «Дополнительная информация», «Сведения о версиях».
Добавлена информация	См. раздел «Ограничения»
Обновлены формулировки или исправлены опечатки	См. разделы «Процедура», «Эксплуатационные характеристики», «Ограничения», «Предупреждения и меры предосторожности», «Хранение и стабильность».
Удалены разделы	«Примеры клинических областей применения», «Реагенты», «Внутрилабораторная сходимость», «Линейность»
Обновленные разделы	«Назначение», «Классификация опасностей по системе СГС», «Признаки порчи», «Процедура», «Приложение».

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AX	
Обновленные разделы	Добавить казахский язык
Обновленные разделы	Хранение и стабильность

Пересмотренная версия	AY
Дата пересмотра	Май 2024
Обновленные переводы	**Клиническая значимость:**
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Определения символов

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (номер документа B60062)

	Spetsifikatsioonid
Spetsiifilisus	CD13
Kloon	SJ1D1
Hübridoom	SP2/0 x balb/c
Immunogeen	KG1a cell line
Immunoglobuliin	IgG1
Liigid	Hiir
Puhastamine	Afiinsuskromatograafia
Fluorokroom	R Phycoerythrin (PE)
Molaarsuhe	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ergastumine	488 nm
Emission Peak	575 nm
Puhver	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/ml BSA ja 0,1% NaN_3

IOTest
konjugeeritud antikeha CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 ml, 20 µl / analüüs

***In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks**

KASUTUSOTSTARVE

See fluorokroomiga konjugeeritud antikeha võimaldab voolutsütomeetriaga kvalitatiivselt ja mitteautomatiseeritult tuvastada rakupopulatsioone, mis esitavad inimese bioloogilistes proovides antigeeni CD13 (vt allpool osa „Proovid“).

PÕHIMÕTE

Analüüs põhineb spetsiifiliste monoklonaalsete antikehade võimel seonduda leukotsüütide sünteesitavate antigeensete determinantidega.

Leukotsüütide eriomaseks värvimiseks tuleb proovi koos tootesarja IOTest reagendiga inkubeerida. Seejärel eemaldatakse erütrotsüüdid lüüsimisega ja pärast seda analüüsitakse voolutsütomeetriaga leukotsüüte, mida see protsess ei mõjuta.

Läbivoolutsütomeeter mõõdab valguse hajumist ja rakkude fluorestsentsi. See muudab võimalikuks huvialuse populatsiooni piiristamise histogrammil määratud elektroonilisel alal. Histogramm korreleerib valguse ortogonaalset hajumist (külghajumine ehk KH) ja kitsasnurga valguse hajumist (edasihajumine ehk EH). Teisi histogramme, kus ühendatakse tsütomeetrias saadaolevat kahte parameetrit, võib kasutada lüüsimisetapis olenevalt kasutaja valitud rakendusest.

Piiritletud rakkude fluorestsentsi analüüsitakse, et eristada positiivselt värvitud sündmusi värvimata sündmustest. Tulemusi kajastatakse positiivsete sündmuste protsentuaalse osakaaluna kõigi väravdamisega hõivatud sündmuste suhtes.

SIHTKASUTAJA

See toode on ette nähtud laboratoorseks kasutamiseks.

KLIINILINE TÄHTSUS

CD13-PE on CD13 antikeha, mida kasutatakse CD13 antigeeni sünteesivate rakkude voolutsütomeetriaga tuvastamiseks ja kirjeldamiseks. See toode üksi ei saa ega ole mõeldud ühegi diagnostilise otsuse tegemiseks.

Koos teiste markeritega kasutades saab seda toodet kasutada ühes või mitmes järgmistest funktsioonidest:

- Lihtsustamaks diferentsiaaldiagnoosi panemist hematoloogiliste ebanormaalsustega patsientidele, kellel kahtlustatakse vereloome neoplasmi esinemist, ja teadaoleva vereloome neoplasmiga patsientide monitoorimiseks.
- Vereloome neoplasmiga patsientidele prognoosi andmise hõlbustamiseks.

Vt järgmisi viiteid.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROOVID

Veeniverd tuleb võtta steriilsete katsutitega, mis sisaldavad antikoagulandina etüleendiamiintetraatsetaadi (EDTA) soola.

Proove tuleb hoida toatemperatuuril (18–25 °C) ja neid ei tohi raputada. Proove tuleb ühtlustada seda enne näidisproovi võtmist ettevaatlikult loksutades.

Proove tuleb analüüsida 24 tunni jooksul alates veenipunktsioonist.

KONTSENTRATSIOON

Vt partiispetsiifilist analüüsi sertifikaati veebilehelt www.beckman.com.

HOIATUS JA ETTEVAATUSABINÕUD

1. Ärge kasutage reagenti pärast aegumiskuupäeva.
2. Ärge külmutage.
3. Enne kasutamist laske tasakaalustuda toatemperatuuriga (18–25 °C).
4. Minimeerige kokkupuudet valgusega.
5. Vältige reagentide mikroobidega saastumist, vastasel juhul võite saada valed tulemused.
6. Antikehade lahuseid, mis sisaldavad naatriumasiidi (NaN_3), tuleb käsitseda ettevaatlikult. See pole mõeldud seespidiseks kasutamiseks. Vältige kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.

Lisaks võib naatriumasiid moodustada happelises keskkonnas potentsiaalselt ohtliku hüdrasoonhappe. Kui see tuleb kõrvaldada, on soovitatav lahjendada reagenti suure hulga veega, enne kui see äravoolusüsteemi valada, et vältida plahvatusohtu ja naatriumasiidi kogunemist metalltorudesse.

7. Kõiki vereproove tuleb pidada potentsiaalselt nakkusohtlikuks ja käsitseda ettevaatusega (kasutage kaitsekindaid, kitlit ning kaitseprille).
8. Ärge kunagi pipettige suuga ja vältige proovide kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.
9. Verekatsutid ja käitlemiseks kasutatav ühekordselt kasutatav materjal tuleb hävitada põletamiseks ettenähtud spetsiaalsetes konteinerites.
10. Reagendid ja jäätmed tuleb kõrvaldada vastavalt kohalikele nõuetele.

GHS-I OHUKLASSIFIKATSIOON

Ei ole klassifitseeritud ohtlikuks

SDS Ohutuskaart on kättesaadav veebilehel beckman.com/techdocs

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Seda reagenti tuleb enne ja pärast viaali avamist hoida temperatuuril 2–8 °C ning valguse eest kaitstult.

Suletud viaali säilivusaeg stabiilsusuuringu põhjal: 1095 päeva.

Avatud viaali stabiilsus: reagent on stabiilne 180 päeva.

RIKNEMISE TUNNUSED

Igasugune muutus reagentide füüsilises välimuses võib viidata reagendi riknemisele ja seda ei tohi kasutada.

Lisateabe hankimiseks või kahjustatud toote saamisel helistage Beckman Coulteri klienditeenindusse numbril 800-742-2345 (USA või Kanada) või võtke ühendust kohaliku Beckman Coulteri esindajaga.

SISU

Naatriumasiidist konservant võib moodustada metallist kanalisatsioonitorudes plahvatusohtlikke ühendeid. Vt asutuse NIOSH teadaannet. Explosive Azide Hazard (Plahvatusohtliku asiidi oht) (16.8.76).
Vältimaks võimalikku asiidiühendite akumuleerimist, loputage äravoolutorusid pärast lahjendamata reagendi kõrvaldamist. Naatriumasiidi kõrvaldamine peab olema kooskõlas asjakohaste kohalike eeskirjadega.

VAJALIKUD, KUID KOMPLEKTI MITTEKUULUVAD MATERJALID

- Proovide kogumiseks vajalikud proovivõtukatsutid ja vahendid.
- Automaatpipetid ühekordselt kasutatavate otsakutega, mis võimaldavad teisaldada 20, 100 ja 500 µl.
- Plastist hemolüüsi katsutid.
- Erütrotsüütide lüüsireagent koos pesemisetapiga pärast lüüsi. Analüüsinäide VersaLyse (viitenr A09777).
- Leukotsüütide fikseerimisreagent. Näide Tootesarja IOTest 3 fikseerimisreagent (viitenr A07800).
- Isotüübi kontrollPE: Tootesarja IOTest reagent (viitenr A07796).
- Puhver (PBS: 0,01 M naatriumfosfaat; 0,145 M naatriumkloriid; pH 7,2).
- Tsentrifuugige.
- Automaatsegisti (vibratsioonsegamise tüüpi).
- Voolutsütomeeter.

PROTSEDUUR REAGENDIGA VERSALYSE

Iga analüüsitud proovi kohta võib lisaks analüüsikatsutile lisada ühe kontrollkatsuti, milles rakud segatakse isotüübi kontrolliga (viitenr A07796).

1. Lisage igasse analüüsikatsutisse 20 µl spetsiifilist tootesarja IOTest konjugeeritud antikeha ja vajaduse korral igasse kontrollkatsutisse 20 µl isotüüpset kontrolli.
2. Lisage igasse katsutisse 100 µl analüüsiproovi. Vibratsioonsegage ettevaatlikult katsuteid.
3. Inkubeerige valguse eest kaitstult 15–20 minutit toatemperatuuril (18–25 °C).
4. Seejärel lüüsige erütrotsüüdid. Lugege VersaLyse'i (viitenr A09777) teabelehte ja järgige eelistatavalt protseduuri nimega „samaaegse fikseerimisega", mis põhineb ekstemporaalselt ettevalmistatud 1 ml segu „Fix-and-Lyse" lisamisel. Vibratsioonsegage kohe üks sekund ja inkubeerige 10 minutit toatemperatuuril valguse eest kaitstult.
5. Tsentrifuugige 5 minutit toatemperatuuril kasutades sätet 150 x g.
6. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus.
7. Taassuspendeerige rakusade PBS-is, mille kogus on 3 ml.
8. Korrake etappi 5.
9. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus ja taassuspendeerige rakugraanuleid vahendiga:

- 0,5 ml või 1 ml PBS-i ja 0,1% formaldehüüdi, kui preparaate tuleb hoida vähem kui 24 tundi. (0,1% formaldehüüdi sisaldava PBS-i saamiseks võite lahjendada 12,5 µl tootesarja IOTest 3 10x kontsentratsioonil fikseerimislahust (viitenr A07800) PBS-is, mille kogus on) 1 ml.
- 0,5 ml või 1 ml formaldehüüdita PBS-iga, kui valmissegusid analüüsitakse 2 tunni jooksul.

Märkus Preparaate tuleb alati hoida temperatuuril 2–8 °C ja valguse eest kaitstult.

OODATUD VÄÄRTUSED

Ettevõttesisestes laborites töödeldi ülalkirjeldatud reagendiga täisvere proove, mis koguti 25 tõenäoliselt tervelt doonoritelt. Alljärgnev tabel annab ülevaate selle reagendiga saadud positiivsete huvipakkuvate sündmuste loendustulemustest:

Positiivne siht	Arv	Keskmine (%)	SH	CV (%)
Monotsüüdid	25	98,28	0,88	0,90
Granulotsüüdid	25	99,69	0,42	0,42

Need väärtused on mõeldud üksnes näitlikena. Iga laboratoorium peaks kindlaks määrama oma oodatavad vahemikud kohaliku tavapäraste doonorite populatsiooni alusel.

TOIMIMINE

Toimimisandmed saadakse kasutades ülalkirjeldatud protseduuri vähem kui 24 tundi vanadel antikoagulandi EDTA naatriumsoolaga steriilsetesse katsutitesse kogutud vereproovidel. Analüüs tehakse 2 tunni jooksul pärast immuunovärvimist.

SPETSIIFILISUS

Alaklassi CD13 molekul ehk aminopeptidaas N (APN) on II tüüpi transmembraanne metalloproteaas, mille molekulmass on 150–170 kDa. Sellel molekulil on ulatuslik rakuväline sekvents ja lühike intratsütoplasmaatiline piirkond. Arvatavalt seondub alaklassi CD13 molekul homodimeerina rakkude pinnal mittekovalentselt (11). Alaklassi CD13 antigeeni sünteesitakse varakult granulo-monotsüütilisel liinil (monotsüütides, neutrofiilides, eosinofiilides ja basofiilides) ning nende diferentseerunud eellasrakkudes (vahepealsetes eellasrakkudes, mis moodustavad segunenud granulo-monotsüütilisi kolooniaid (CFU-GM)) (11,12,13,14).

Alaklassi CD13 molekuli sünteesitakse ka mittehematopoeetiliste kudede rakkudes, näiteks proksimaalsete neerutorukeste epiteelirakkudes, rakkudes, mis moodustavad soolestiku harjasäärise, endoteelirakkudes, fibroblastides, luuüdi stromaalsetes rakkudes, osteoklastides ja sapiteede basaalrakkudes (15).

Monoklonaalne antikeha SJ1D1 reageerib perifeerses veres monotsüütide, neutrofiilide, eosinofiilide ja basofiilidega. See määrati alaklassi CD13 3. HLDA töötoas, mis toimus 1986. aastal Suurbritannias Oxfordis (WS-kood: 285, jaotis M) (12).

TÄPSUS

Positiivsete väärtuste protsent määrati täisverest. Igat proovi testiti 4 korda, kaks korda päevas, 1 päeva jooksul 2 instrumendil, kasutades 2 CD13-PE monoklonaalsete antikehade reagentide partiid. Mõõtmised (% positiivne) tehti Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsiti CLSI meetodi EP5-A2 põhjal. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivsete mõõtmismeetodite täpsuse näitajate hindamine).

Meie sobivuskriteeriumid sõltuvad iga populatsiooni kohta mõõdetud positiivsete sündmuste arvust:

- Positiivse sündmuse korral < 1500, CV < 15%
- Positiivse sündmuse korral > 1500, CV < 10%

Monotsüüdid							
Positiivsete sündmuste arv (keskmine) = 1119							
	Kasutajatevaheline	Tsütomeetritevaheline	Partiisisene	Partiidevaheline	Testidevaheline	Testisisene	Kokku
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
TULEMUSED	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulotsüüdid							
Positiivsete sündmuste arv (keskmine) = 23248							
	Kasutajatevaheline	Tsütomeetritevaheline	Partiisisene	Partiidevaheline	Testidevaheline	Testisisene	Kokku
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
TULEMUSED	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

MÕÕTETÄPSUS

CD13-PE mõõtetäpsust hinnati võrreldes tulemusi võrdlusreagendiga kui predikaadiga täisvereproovide komplektis, mida oli testitud Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsi- ja võrdlusreagendi erinevused määrati analüüsitulemuste erinevuse põhjal. Kui erisus jääb lubatud veavahemikku või kui p-väärtus ei näita statistiliselt olulist erinevust (> 0,05), loetakse kahe reagendi analüüsitulemused võrdväärseteks.

Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis.

Doonorite arv = 25				
Positiivne siht	Keskmine Δ	Δ% raku kriteeriumid	p-väärtus	TULEMUSED
Monotsüüdid	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulotsüüdid	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

NULLPIIR JA TUVASTUSPIIR

Uuriti vastavalt CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Kliinilise labori mõõtmisprotseduuride avastamisvõime hindamise) nõuetele. Tuvastuspiir (LOD) on väikseim analüüdi kontsentratsioon, mida saab järjekindlalt määrata. Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis:

Positive Target	Nullpiir (rakku/µl)	Tuvastuspiir (rakku/µl)
Monotsüüdid	0	4
Granulotsüüdid	2	4

PIIRANGUD

1. Voolutsütomeetria võib anda valed tulemused, kui tsütomeeter ei ole ideaalselt joondatud, kui fluorestsentsi lekkeid ei ole õigesti kompenseeritud ja kui piirkonnad ei ole hoolikalt paigutatud.
2. Eelistatav on kasutada pesemisetapiga RBC lüüsi tehnikat, kuna seda reagenti pole optimeeritud „pesemiseta“ lüüsi tehnikate jaoks.
3. Täpsed ja korratavad tulemused saadakse, kui kasutatavad protseduurid on kooskõlas tehnilise teabelehe ja heade laboritavadega.
4. Selle reagendi pööratud antikeha kalibreeritakse nii, et tagatud oleks parim spetsiifilise/mittespetsiifilise signaali suhe. Seetõttu on igas analüüsis oluline järgida reagendi- ja proovimahu suhet.

5. Hüperleukotsütoosi korral lahjendage verd PBS-is nii, et saadav väärtus oleks ligikaudu 5 x 10^9 leukotsüüti/l kohta (16).
6. Teatud haigusseisundite (näiteks raske neerupuudulikkuse või hemoglobinopaatia) korral võib erütrotsüütide lüüsimine olla aeglane, mittetäielik või isegi võimatu. Sellisel juhul on enne värvimist soovitatav mononukleaarsete rakkude isoleerimine tihedusgradiendi (näiteks Ficoll-gradiendi) abil (17).
7. Inimesevastaste monoklonaalsete antikehadega ravitud patsientidel võib spetsiifiliste antigeenide tuvastamise võime väheneda või puududa, sest need on terapeutiliste antikehade poolt osaliselt või täielikult blokeeritud.
8. CD13-PE tulemuste tõlgendamisel tuleb arvestada patsiendi terviklikku kliinilist pilti, sh sümptomeid, kliinilist anamneesi, lisaanalüüside andmeid ja muud asjakohast teavet.

Vt näiteid ja viiteid lisast.

KAUBAMÄRGID

Beckman Coulter, stiliseeritud logo ning selles juhendis nimetatud ettevõtte Beckman Coulter toote- ja teenusemärgid on ettevõtte Beckman Coulter, Inc. kaubamärgid või registreeritud kaubamärgid Ameerika Ühendriikides ja teistes riikides.

LISATEAVE

Patsiendile / kasutajale / muule osapoolele Euroopa Liidus ja identse regulatsioonirežiimiga riikides (määrus (EL) nr 2017/746 in vitro diagnostikameditsiiniseadmete kohta), kui selle seadme kasutamise ajal või selle kasutamise tagajärjel on toimunud tõsine vahejuhtum, teatage sellest tootjale ja/või tema volitatud esindajale ning teie riiklikult pädevale asutusele.

Summary of Safety and Performance (Ohutuse ja kliinilise toimivuse kokkuvõte) on EUDAMED-andmebaasis: ec.europa.eu/tools/eudamed.

VERSIOONI AJALUGU

REVISION AD:	Avaldamise kuupäev: oktoober 2019

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AW	Veebruar 2022
Värskendused, mis vastavad Beckman Coulteri ülemaailmse märgistamise poliitikale ja IVD-R (EL) 2017/746 nõuetele:	
Lisatud osad	BSI 2797 number, sihtkasutaja, kliiniline tähtsus, kontsentratsioon, täpsus, mõõtetäpsus, nullpiir ja tuvastuspiir, lisateave, versiooni ajalugu.
Lisatud informatsioon	Vaata osa „Piirangud“
Fraseerimine või tüpograafiline värskendamine	Vaata osasid Protseduur, Toimimine, Piirangud, Hoiatus ja ettevaatusabinõud, Säilitamine ja stabiilsus.
Eemaldatud osad	Kasutusotstarvete, reagentide, laborisisese korratavuse, lineaarsuse näited
Uuendatud jaotised	Kasutusotstarve, GHS-i ohuklassifikatsioon, Riknemise tunnused, Protseduur, Lisa.

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AX	
Uuendatud jaotised	Lisada kasahhi keel
Uuendatud jaotised	Säilitamine ja stabiilsus

Muudetud versioon	AY
Muutmise kuupäev	mai 2024
Värskendatud tõlked	**Kliiniline tähtsus:**
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Sümboli tähis

Sümbolite mõisted on kättesaadavad veebilehel beckman.com/techdocs (dokument nr B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD13
Klon	SJ1D1
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	KG1a cell line
Imunoglobulin	IgG1
Vrsta	Miš
Pročišćavanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molarni omjer	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna emisija	575 nm
Pufer	PBS pH 7,2 uz 2 mg/mL BSA i 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano antitijelo CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Za *in vitro* dijagnostičku uporabu

NAMJENA

To fluorokromom konjugirano antitijelo omogućuje kvalitativno i neautomatizirano prepoznavanje populacija stanica koje eksprimiraju antigen CD13 prisutan u humanim biološkim uzorcima uz pomoć protočne citometrije (pogledajte odjeljak „Uzorci" u nastavku).

NAČELO

Ovaj je test utemeljen na mogućnosti vezivanja specifičnih monoklonskih antitijela na antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično se bojenje leukocita izvodi inkubacijom uzorka s reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utječe, analiziraju se protočnom citometrijom.

Citometar toka mjeri difuziju svjetlosti i fluorescenciju stanica. Omogućuje razgraničavanje promatrane populacije unutar elektroničkog prozora definiranog na histogramu, koji stvara korelaciju između ortogonalne difuzije svjetlosti (bočnog raspršenja (BR)) i difuzije uskokutne svjetlosti (prednjeg raspršenja (PR)). Drugi histogrami koji kombiniraju dva od više različitih parametara dostupnih na citometru mogu se upotrebljavati kao pomoć u fazi ograđivanja ovisno o primjeni koju je odabrao korisnik.

Analizira se fluorescencija ograničenih stanica da bi se pozitivno obojeni događaji odvojili od neobojenih. Rezultati se izražavaju kao postotak pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobivene ograđivanjem.

PREDVIĐENI KORISNIK

Proizvod je namijenjen za profesionalnu laboratorijsku uporabu.

KLINIČKA RELEVANTNOST

CD13-PE antitijelo je na CD13 koje se koristi za prepoznavanje i karakteriziranje stanica koje eksprimiraju antigen CD13 protočnom citometrijom. Ovaj proizvod samostalno ne može generirati nikakav dijagnostički zaključak niti je tome namijenjen.

Kada se upotrebljava u kombinaciji s drugim markerima, ovaj se proizvod može upotrebljavati u jednoj ili više sljedećih funkcija:

- Kao pomoć prilikom postavljanja diferencijalne dijagnoze u hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu te za praćenje pacijenata s poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć prilikom donošenja prognoze za pacijente s hematopoetskom neoplazmom.

Pogledajte sljedeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

UZORCI

Venska krv mora se uzeti sterilnim epruvetama koje kao antikoagulans sadrže EDTA sol.

Uzorke držite na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C) i nemojte ih tresti. Prije uzimanja testnog uzorka potrebno je homogenizirati uzorke pažljivim mućkanjem.

Uzorci venske krvi moraju se analizirati u roku od 24 sata od njihova uzimanja.

KONCENTRACIJA

Na web-mjestu www.beckman.com pogledajte Certifikat o analizi specifičan za lot koji upotrebljavate.

UPOZORENJE I MJERE OPREZA

1. Reagens nemojte upotrebljavati nakon isteka roka trajanja.
2. Nemojte zamrzavati.
3. Prije upotrebe pustite da dosegne sobnu temperaturu (18 – 25 °C).
4. Smanjite izlaganje svjetlu.
5. Izbjegavajte mikrobnu kontaminaciju reagensa ili može doći do netočnih rezultata.
6. Otopinama antitijela koje sadrže natrijev azid (NaN_3) potrebno je rukovati oprezno. Ne gutajte i izbjegavajte dodir s kožom, sluznicom i očima.

Štoviše, natrijev azid u kiselom mediju može formirati potencijalno opasnu hidrazoičnu kiselinu. Ako je reagens potrebno odložiti u otpad, preporučuje se da ga razrijedite u velikoj količini vode prije nego što ga izlijete u odvodni sustav da biste izbjegli nakupljanje natrijeva azida u metalnim cijevima i spriječili opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno zaraznima te je njima potrebno rukovati oprezno (odnosno nositi zaštitne rukavice, odjeću i naočale).
8. Nikada ne pipetirajte ustima te izbjegavajte doticaj uzoraka s kožom, sluznicom i očima.
9. Epruvete s krvlju i otpadni materijal za rukovanje treba odložiti u jednokratne spremnike namijenjene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad potrebno je ukloniti u skladu s lokalnim zahtjevima.

KLASIFIKACIJA OPASNOSTI PREMA GHS-U

Nije klasificiran kao opasan

SDS Sigurnosno-tehnički list dostupan je na adresi beckman.com/techdocs

POHRANA I STABILNOST

Reagens se mora čuvati na temperaturi između 2 i 8 °C te zaštićen od svjetlosti, kako prije, tako i poslije otvaranja bočice.

Vijek trajanja zatvorene bočice prema ispitivanju stabilnosti: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dana.

DOKAZ PROPADANJA

Svaka promjena fizičkog izgleda reagensa može upućivati na propadanje te se reagens ne smije upotrebljavati.

Ako su vam potrebne dodatne informacije ili ste primili oštećen proizvod, nazovite korisnički servis tvrtke Beckman Coulter na 800-742-2345 (u SAD-u ili Kanadi) ili se obratite lokalnom predstavniku tvrtke Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans s natrijevim azidom može stvoriti eksplozivne spojeve u metalnim cjevovodima. Pogledajte bilten NIOSH: Explosive Azide Hazard (Opasnost od eksplozije azida) (16. 8. 76.).
Da biste spriječili moguće taloženje komponenata azida, prilikom odlaganja nerazrijeđenog reagensa u otpad odvodne cijevi isperite vodom. Odlaganje natrijeva azida u otpad mora biti u skladu s odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU DIO KOMPLETA:

- Epruvete za uzorke i materijal potreban za uzimanje uzoraka.
- Automatske pipete s jednokratnim nastavcima za 20, 100 i 500 µL.
- Plastične hemolitičke epruvete.
- Reagens za liziranje eritrocita s fazom pranja nakon liziranja. Na primjer: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primjer: Otopina za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotipska kontrola PE: reagens IOTest (ref. A07796).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijeva fosfata, 0,145 M natrijeva klorida, pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska miješalica (tip vorteks).
- Citometar toka.

POSTUPAK S REAGENSOM VERSALYSE

Za svaki uzorak koji se analizira može se uz testnu epruvetu dodati jedna kontrolna epruveta u kojoj su stanice pomiješane u prisutnosti izotipskih kontrola (ref. A07796).

1. Dodajte 20 µL konjugiranog antitijela specifičnog za IOTest u svaku testnu epruvetu i, ako je potrebno, 20 µL izotipske kontrole u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µL testnog uzorka u svaku epruvetu. Epruvete polako promiješajte u vorteks-miješalici.
3. Inkubirajte od 15 do 20 min na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C), zaštićeno od svjetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje eritrocita. Pogledajte brošuru VersaLyse (ref. A09777) i po mogućnosti slijedite postupak „uz istovremeno fiksiranje" koji se sastoji od dodavanja 1 mL svježe pripremljene mješavine za fiksiranje i liziranje. Odmah promiješajte u vorteks-miješalici jednu sekundu i inkubirajte 10 min pri sobnoj temperaturi, zaštićeno od svjetlosti.
5. Centrifugirajte 5 min pri 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću 3 mL PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Uklonite supernatant aspiracijom i stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću:

- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a plus 0,1 % formaldehida ako se pripravke planira čuvati manje od 24 sati. (PBS s 0,1 % formaldehida možete pripremiti razrjeđivanjem 12,5 µL otopine za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800) pri njezinoj 10X koncentraciji u 1 mL PBS-a).
- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a bez formaldehida, ako pripravak treba analizirati u roku od 2 sati.

Napomena: U svakom slučaju pripravke čuvajte zaštićene od svjetlosti na temperaturi između 2 i 8 °C.

OČEKIVANE VRIJEDNOSTI

U našim su laboratorijima obrađeni uzorci pune krvi naizgled zdravih donora (njih 25) pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati prikupljeni pomoću tog reagensa u svrhu brojanja pozitivnih relevantnih događaja navedeni su u tablici u nastavku:

Pozitivna ciljna vrijednost	Broj	Srednja vrijednost (%)	SD	CV (%)
Monociti	25	98,28	0,88	0,90
Granulociti	25	99,69	0,42	0,42

Te su vrijednosti samo okvirne. Svaki laboratorij mora utvrditi vlastite očekivane vrijednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o performansama dobivaju se prethodno opisanim postupkom na manje od 24 sata starim uzorcima krvi prethodno prikupljenima u sterilne epruvete uz EDTA sol kao antikoagulans. Analiza se provodi u roku od 2 sata nakon imunobojenja.

SPECIFIČNOST

Molekula CD13, koja se naziva i aminopeptidaza N (APN), transmembranska je metaloproteinaza tipa II molekulske mase 150 – 170 kDa. Molekula ima dugačak izvanstanični niz i kratku intracitoplazmatsku regiju. Čini se da se molekula CD13 nekovalentno veže kao homodimer za površinu stanica (11). Antigen CD13 eksprimira se rano u granulomonocitnoj liniji (monociti, neutrofili, eozinofili i bazofili) i na njihovim vezanim progenitornim stanicama (intermedijarnim progenitornim stanicama koje čine miješane kolonije granulomonocita ili CFU-GM) (11,12,13,14).

Molekula CD13 eksprimira se i na stanicama nehematopoetskih tkiva, kao što su epitelne stanice proksimalnih bubrežnih kanalića, stanice koje tvore četkastu prevlaku crijeva, endotelne stanice, fibroblasti, stromalne stanice koštane srži, osteoklasti i bazalne stanice žučnog sustava (15).

Monoklonsko antitijelo SJ1D1 reagira u perifernoj krvi s monocitima, neutrofilima, eozinofilima i bazofilima. Dodijeljeno je antigenu CD13 tijekom radionice 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Treća radionica o diferencijacijskim antigenima ljudskih leukocita), održane u Oxfordu 1986. godine (WS kod: 285, odjeljak M) (12).

PRECIZNOST

Postotne pozitivne vrijednosti utvrđene su pomoću pune krvi. Svaki je uzorak obrađen 4 puta, dvaput dnevno tijekom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagensa s monoklonskim antitijelima CD13-PE. Mjerenja (% pozitivnih vrijednosti) provedena su s pomoću citometra toka Navios. Analiza je provedena na temelju CLSI metode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procjena radnih značajki preciznosti metoda kvantitativnog mjerenja).

Naši kriteriji prihvatljivosti ovise o broju pozitivnih događaja izmjerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivni događaj < 1500, CV < 15 %
- Ako je pozitivni događaj > 1500, CV < 10 %

Monociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrijednost) = 1119							
	Među operatorima	Među citometrima	Unutar lota	Među lotovima	Među obradama	Unutar obrade	Ukupno
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrijednost) = 23248							
	Među operatorima	Među citometrima	Unutar lota	Među lotovima	Među obradama	Unutar obrade	Ukupno
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost mjerenja CD13-PE procijenjena je usporedbom rezultata s referentnim reagensom kao predikatom na skupu uzoraka pune krvi obrađenima na protočnom citometru Navios. Odstupanje između testa i referentnog reagensa utvrđeno je na temelju razlike između rezultata testa. Ako je odstupanje unutar dopuštenog raspona pogreške ili ako p-vrijednost upućuje na to da nema značajne razlike (> 0,05), rezultati testa za dva reagensa smatraju se istovjetnima.

Dobiveni rezultati sažeti su u tablici u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivna ciljna vrijednost	Srednja vrijednost Δ	Kriterij stanica Δ %	p-vrijednost	REZULTATI
Monociti	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulociti	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

GRANICA SLIJEPE PROBE I GRANICA DETEKCIJE

Ispitivanje je izvedeno u skladu s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Procjena sposobnosti otkrivanja za postupke mjerenja u kliničkim laboratorijima). Granica detekcije (LOD) – najniža koncentracija analita koja se može dosljedno otkriti. Dobiveni rezultati sažeti su u sljedećoj tablici:

Positive Target	Granica slijepe probe (stanica/µL)	Granica detekcije (stanica/µL)
Monociti	0	4
Granulociti	2	4

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti pogrešne rezultate ako citometar nije savršeno poravnat, ako fluorescentna curenja nisu pravilno kompenzirana i ako regije nisu pažljivo pozicionirane.
2. Poželjno je upotrebljavati tehniku liziranja pomoću RBC-a uz korak pranja jer ovaj reagens nije optimiziran za tehnike liziranja „bez pranja”.
3. Točni i ponovljivi rezultati dobivat će se sve dok se postupci izvode u skladu s tehničkom brošurom i u skladu s dobrim laboratorijskim praksama.
4. Konjugirano antitijelo tog reagensa kalibrirano je tako da pruža najbolji omjer specifičnog i nespecifičnog signala. Zato je važno pridržavati se omjera volumena reagensa i volumena uzorka prilikom svakog testiranja.
5. U slučaju hiperleukocitoze razrijedite uzorak u PBS-u da biste dobili vrijednost od približno 5 x 10^9 leukocita/L (16).
6. Pri određenim bolestima, kao što je ozbiljno zatajenje bubrega ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak i nemoguće. U tom se slučaju prije bojenja preporučuje izoliranje jednojezgrenih stanica s pomoću gradijenta gustoće (na primjer, Ficoll) (17).
7. U pacijenata koji primaju terapiju monoklonskim antihumanim antitijelima detekcija određenih ciljanih antigena može biti smanjena ili nepostojeća zbog djelomičnog ili potpunog blokiranja terapijskih antitijela.
8. Rezultate CD13-PE treba tumačiti u kontekstu ukupne kliničke slike pacijenta, uključujući simptome, anamnezu, podatke iz dodatnih testova i druge odgovarajuće informacije.

Za primjere i reference pogledajte Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizirani logotip te oznake proizvoda i usluga tvrtke Beckman Coulter žigovi su ili registrirani žigovi tvrtke Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim državama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta / korisnika / treću stranu u Europskoj uniji i u državama s identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskim proizvodima za in vitro dijagnostiku): ako tijekom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe dođe do ozbiljnog štetnog događaja, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovu ovlaštenom zastupniku te nadležnom nacionalnom tijelu.

Summary of Safety and Performance (Sažetak podataka o sigurnosti i performansama) potražite u bazi podataka EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

POVIJEST REVIZIJA

REVIZIJA AD:	Datum objave: listopad 2019.

REVIZIJA	**Datum objave**
AW	Veljača 2022.
Ažuriranja radi usklađivanja s pravilnikom o globalnom označavanju tvrtke Beckman Coulter i u skladu sa zahtjevima uredbe (EU)2017/746 o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima (IVD-R):	
Dodani odjeljci	Broj BSI 2797, Ciljni korisnik, Klinička relevantnost, Koncentracija, Preciznost, Točnost, Granica slijepe probe i granica detekcije, Dodatne informacije, Povijest revizija.
Dodane informacije	Pogledajte odjeljke Ograničenja
Preformuliranje ili tipografska ažuriranja	Pogledajte odjeljke Postupak, Performanse, Ograničenja, Upozorenje i mjere opreza, Pohrana i stabilnost.
Uklonjeni odjeljci	Primjer kliničkih primjena, Reagensi, Unutarlaboratorijska obnovljivost, Linearnost
Ažurirani odjeljci	Namjena, Klasifikacija opasnosti prema GHS-u, Dokaz pogoršanja stanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum objave**
AX	
Ažurirani odjeljci	Dodati kazaški
Ažurirani odjeljci	Čuvanje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Svibanj 2024
Ažurirani prijevodi	**Klinička relevantnost:**
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Pojmovnik simbola

Pojmovnik simbola dostupan je na web-mjestu beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Спецификации
Специфичност	CD13
Клонинг	SJ1D1
Хибридома	SP2/0 x balb/c
Имуноген	KG1a cell line
Имуноглобулин	IgG1
Вид	Мишка
Пречистване	Афинитетна хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin (PE)
Моларно съотношение	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ възбуждане	488 nm
Емисионен пик	575 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 mg/mL BSA и 0,1 % NaN_3

IOTest
Конюгирано антитяло
CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20 µL/тест

За *ин витро* диагностика

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Това флуорохром-конюгирано антитяло позволява качествена и неавтоматизирана идентификация с помощта на поточна цитометрия на клетъчни популации, експресиращи CD13 антиген, присъстващ в човешки биологични проби (вижте раздел „Проби“ по-долу).

ПРИНЦИП

Този тест се базира на способността на специфични моноклонални антитела да се свързват с антигенни детерминанти, експресирани от левкоцитите.

Специфично оцветяване на левкоцитите се извършва чрез инкубиране на пробата с реактива IOTest. След това червените кръвни телца се отстраняват чрез лизиране, а левкоцитите, които не се повлияват от този процес, се анализират чрез поточна цитометрия.

Поточният цитометър измерва разсейването на светлината и флуоресценцията на клетките. Това прави възможно разграничаването на популацията, която се изследва, в електронния прозорец, дефиниран на една хистограма, която корелира с ортогоналната дифузия на светлината (странично разсейване) и дифузията на тесноъгълна светлина (предно разсейване). Други хистограми, комбиниращи два от различните параметри на разположение на цитометъра, могат да бъдат използвани като основа в етапа на определяне на област за анализ в зависимост от приложението, избрано от потребителя.

Флуоресценцията на разграничените клетки се анализира, за да се разграничат позитивно оцветените събития от неоцветените такива. Резултатите се изразяват като процент на положителни събития във връзка с всички събития, получени от определянето на областта за анализ.

ПРЕДВИДЕН ПОТРЕБИТЕЛ

Този продукт е предназначен само за лабораторна професионална употреба.

КЛИНИЧНА ЗНАЧИМОСТ

CD13-PE е антитяло CD13, използвано за идентифициране и характеризиране чрез поточна цитометрия на клетки, експресиращи CD13 антиген. Този продукт не може и не е предназначен самостоятелно да генерира каквото и да е диагностично заключение.

Когато се използва в комбинация с други маркери, този продукт може да се използва в една или повече от следните функции:

- Като помощно средство при поставяне на диференциална диагноза на хематологично абнормни пациенти, суспектни за хематопоетично новообразуване, и за проследяване на пациенти с известно хематопоетично новообразуване.
- Като помощно средство при създаване на прогноза за пациенти с хематопоетична неоплазма.

Вижте следните справки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ПРОБИ

Венозна кръв трябва да се взема в стерилни епруветки, съдържащи сол EDTA като антикоагулант.

Пробите трябва да бъдат съхранявани при стайна температура (18–25°C) и не трябва да се разклащат. Пробите трябва да бъдат хомогенизирани чрез внимателно смесване, преди да се вземе пробата за теста.

Пробите трябва да бъдат анализирани в рамките на 24 часа от венопункturата.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Вижте Сертификата за анализ за конкретната партида на www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Не използвайте реактива след изтичане на срока на годност.
2. Не замразявайте.
3. Оставете на стайна температура (18–25°C) преди употреба.
4. Минимизирайте излагането на светлина.
5. Избягвайте микробно замърсяване на реактивите, в противен случай е възможно да се получат погрешни резултати.

6. С разтворите на антитела, съдържащи натриев азид (NaN_3), трябва да се работи внимателно. Не приемайте вътрешно и избягвайте всякакъв контакт с кожата, лигавицата и очите.

   В допълнение, в киселинна среда натриевият азид може да образува потенциално опасната хидразоена киселина. Ако тя трябва да се изхвърли, препоръчва се реактивът да се разреди в голям обем вода, преди да се излее в дренажната система, за да се избегне натрупването на натриев азид в металните тръби и да се предотврати риск от експлозия.

7. Всички кръвни проби трябва да се считат за потенциално заразни и с тях трябва да се борави внимателно (по-специално: носене на защитни ръкавици, облекло и очила).
8. Никога не пипетирайте с уста и избягвайте всякакви контакти между пробите и Вашата кожа, лигавица и очи.
9. Епруветките за кръв и материалите за еднократна употреба, използвани за боравене, трябва да се изхвърлят във временни контейнери, предназначени за изгаряне.
10. Реактивите и отпадъците трябва да бъдат елиминирани в съответствие с местните изисквания.

КЛАСИФИЦИЯ НА ОПАСНОСТИТЕ ПО GHS

Не е класифициран като опасен

SDS Информационният лист за безопасност е наличен на beckman.com/techdocs

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Този реактив трябва да се съхранява при температури между 2 и 8°C и да бъде защитен от светлина преди и след отваряне на флакона.

Изследване на срок на годност при затворена епруветка и стабилност: 1095 дни.

Стабилност на отворен флакон: реактивът е стабилен за 180 дни.

ДАННИ ЗА ВЛОШАВАНЕ

Всяка промяна във физическия изглед на реактивите може да е признак за влошаване и реактивът не трябва да бъде използван.

За допълнителна информация или при получаване на повреден продукт се свържете с отдела за обслужване на клиенти на Beckman Coulter на тел. 800-742-2345 (САЩ или Канада) или се свържете с местния представител на Beckman Coulter.

СЪДЪРЖАНИЕ

Консервантът натриев азид може да образува експлозивни съединения в метални отводнителни тръбопроводи. Вижте Бюлетина на NIOSH: Explosive Azide Hazard (Бюлетин на Националния институт по безопасност и хигиена на труда: Опасност от експлозия на азид) (16/8/76).
За да избегнете възможно натрупване на азидни съединения, промивайте канализационните тръби с вода след изхвърляне на неразтворен реактив. Изхвърлянето на натриев азид трябва да бъде в съответствие с местните разпоредби.

НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СА ДОСТАВЕНИ С КОМПЛЕКТА:

- Епруветки за проби и материали, необходими за вземане на проби.
- Автоматични пипети с накрайници за еднократна употреба за 20, 100 и 500 µL.
- Пластмасови хемолизни епруветки.
- Реактив за лизис на червени кръвни телца с етап на отмиване след лизис. Например: VersaLyse (Реф. A09777).
- Реактив за левкоцитна фиксация. Например: IOTest 3 фиксиращ разтвор (Реф. A07800).
- Изотипна контрола PE: Реактив IOTest (Реф. № A07796).
- Буфер (PBS: 0,01 M натриев фосфат; 0,145 M натриев хлорид; pH 7,2).
- Центрофугирайте.
- Автоматичен агитатор (тип вортекс).
- Поточен цитометър.

ПРОЦЕДУРА С РЕАКТИВ VERSALYSE

За всяка анализирана проба освен тестовата епруветка може да се добави и една контролна епруветка, в която клетките да са смесени в присъствието на изотипната контрола (Реф. A07796).

1. Добавете 20 µL специфично IOTest конюгирано антитяло във всяка тестова епруветка и, ако е необходимо, 20 µL изотипна контрола във всяка контролна епруветка.
2. Добавете 100 µL от тестовата проба във всяка епруветка. Внимателно разбъркайте във вортекс епруветките.
3. Инкубирайте за 15 до 20 минути при стайна температура (18–25°C), като предпазвате от светлина.
4. След това се изпълнява лизиране на червените кръвни телца. Вижте брошурата на VersaLyse (Реф. A09777) и изпълнете за предпочитане процедурата, наречена „със съпътстващо фиксиране“, която се състои от добавяне на 1 mL от сместа „Фиксиране и лизиране“, приготвена за незабавно приложение. Незабавно завъртете епруветките с вортекс за една секунда и инкубирайте за 10 минути при стайна температура на защитено от светлина място.
5. Центрофугирайте 5 минути при 150 x g при стайна температура.
6. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация.
7. Разтворете отново клетъчната утайка, като използвате 3 mL PBS.
8. Повторете стъпка 5.
9. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация и ресуспендирайте клетъчната утайка с:

- 0,5 mL или 1 mL PBS плюс 0,1 % формалдехид, ако препаратите трябва да бъдат съхранявани по-малко от 24 часа. (Може да се получи 0,1 % формалдехид PBS чрез разреждане на 12,5 µL разтвор за фиксиране IOTest 3 (Реф. A07800) при 10X концентрация в 1 mL PBS).

- 0,5 mL или 1 mL PBS без формалдехид, ако препаратите ще бъдат анализирани в рамките на 2 часа.

Забележка: Във всички случаи съхранявайте препаратите при температури между 2 и 8°C и защитени от светлина.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

В нашите лаборатории бяха третирани пробите цялостна кръв на 25 видимо здрави донори с описания по-горе реактив. Получените с този реактив резултати за броя на положителните събития, които са от значение, са дадени в таблицата по-долу:

Положителна цел	Брой	Средна (%)	SD	CV (%)
Моноцити	25	98,28	0,88	0,90
Гранулоцити	25	99,69	0,42	0,42

Тези стойности са само представителни. Всяка лаборатория трябва да установи свои очаквани стойности от местната популация нормални донори.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данните за ефективността се получават с помощта на описаната по-горе процедура за кръвни проби до 24 часа, предварително събрани в стерилни епруветки със сол EDTA като антикоагулант. Анализ се извършва в рамките на 2 часа след имуноцветяване.

СПЕЦИФИЧНОСТ

Молекулата CD13, позната също като N аминопептидаза (APN), е тип II трансмембранна металопротеаза с молекулярно тегло 150–170 kDa. Тази молекула има голяма извънклетъчна последователност и къса интрацитоплазмена област. Молекулата CD13 се свързва като хомодимер по нековалентен начин на повърхността на клетките (11). Антигенът CD13 се експресира в ранните стадии в гранулоцитно-моноцитния ред (моноцити, неутрофили, еозинофили и базофили) с техните комитирани прогенитори (междинни прогенитори, формиращи смесени гранулоцитно-моноцитни колонии или CFU-GM) (11,12,13,14).

Молекулата на CD13 се експресира също върху клетки на нехемопоетични тъкани, например епителни клетки от проксималните бъбречни каналчета, клетки, съставляващи лигавицата от власинки на червата, ендотелните клетки, фибробласти, стромални клетки от костен мозък, остеокласти и базални клетки от жлъчните канали (15).

Моноклоналното антитяло SJ1D1 реагира в периферната кръв с моноцитите, неутрофилите, еозинофилите и с базофилите. Той е отнесен към CD13 по време на 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3-ти HLDA семинар по диференциращи антигени на човешките левкоцити), проведен в Оксфорд, Великобритания, през 1986 г. (WS код: 285, раздел M) (12).

ТОЧНОСТ

Процентните положителни стойности са определени посредством цялостна кръв. Всяка проба е обработена 4 пъти, два пъти на ден за 1 ден на 2 инструмента, като са използвани 2 партиди реактиви с CD13-PE моноклонално антитяло. Измерванията (% положителни) са направени на поточен цитометър Navios. Анализът е проведен на основата на CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods. (Метод EP5-A2 на CLSI: Оценка на точността на методите за количествено измерване.)

Нашите критерии за приемливост зависят от броя положителни събития, измерени за всяка популация:

- Ако положителните събития са < 1500, CV < 15 %
- Ако положителните събития са > 1500, CV < 10 %

Моноцити							
Брой положителни събития (средно) = 1119							
	Между оператори	Между цитометри	Вътрепартидна	Между партиди	Между цикли	В рамките на цикъл	Общо
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
РЕЗУЛТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Гранулоцити							
Брой положителни събития (средно) = 23248							
	Между оператори	Между цитометри	Вътрепартидна	Между партиди	Между цикли	В рамките на цикъл	Общо
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
РЕЗУЛТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТ

Точността на CD13-PE е изследвана чрез сравняване на резултатите с референтен реактив като потвърждение върху група от проби от цялостна кръв, обработени на поточен цитометър Navios. Отклонението между тестовия и референтния реактив се определя въз основа на разликата между резултатите от теста. Ако отклонението е в рамките на допустимия обхват на грешка или p-стойността не показва значима разлика (> 0,05), резултатите от теста за двата реактива се считат за еквивалентни.

Получените резултати са обобщени в таблицата, дадена по-долу:

Брой донори = 25				
Положителна цел	Средна Δ	Критерии Δ % клетки	p-стойност	РЕЗУЛТАТИ
Моноцити	-0,19	<5	0,120	PASS
Гранулоцити	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

ГРАНИЦА НА СЛЯПА ПРОБА И ГРАНИЦА НА ОТКРИВАНЕ

Проведено е проучване в съответствие с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оценка на възможността за детекция за измервателни процедури в клинични лаборатории). Границата на откриване (LOD) е най-ниската концентрация на аналита, която може да бъде стабилно открита. Получените резултати са обобщени в следващата таблица:

Positive Target	Граница на сляпата проба (клетки/µL)	Граница на откриване (клетки/µL)
Моноцити	0	4
Гранулоцити	2	4

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Поточната цитометрия може да даде неточни резултати, ако цитометърът не е бил идеално приравнен, ако течове на флуоресценция не са били правилно компенсирани или ако регионите не са били внимателно позиционирани.
2. Предпочита се използването на техника за лизиране на червени кръвни клетки със стъпка за промиване, тъй като този реактив не е оптимизиран за техники за лизиране „без промиване“.
3. Ще бъдат получени точни и възпроизводими резултати, при условие, че използваните процедури са в съответствие с техническата листовка и са съвместими с добрите лабораторни практики.
4. Конюгираното антитяло на този реактив е калибрирано, за да се осигури най-доброто съотношение между специфичен сигнал/неспецифичен сигнал. Затова е важно да се придържате към съотношението обем на реактива/обем на пробата във всеки тест.
5. В случай на хиперлевкоцитоза кръвта се разрежда в PBS, така че да се получи стойност приблизително 5 x 10^9 левкоцити/L (16).
6. При определени болестни състояния, например тежка бъбречна недостатъчност или хемоглобинопатии, лизирането на червените кръвни телца може да бъде бавно, непълно или дори невъзможно. В този случай се препоръчва да се изолират мононуклеарни клетки, като се използва градиент на плътността (Ficoll например) преди оцветяване (17).
7. При пациенти, лекувани с терапии с античовешко моноклонално антитяло, отриването на специфични целеви антигени може да бъде занижено или да липсват поради частично или цялостно блокиране от терапевтичното антитяло.
8. Резултатите от CD13-PE трябва да се интерпретират спрямо общата клинична презентация на пациента, включваща: симптоми, клинична анамнеза, данни от допълнителни тестове и друга съответстваща информация.

Вижте Приложението за примери и справки.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ

Beckman Coulter, стилизираното лого и марките на продуктите и услугите на Beckman Coulter, присъстващи в този документ, са търговски марки или регистрирани търговски марки на Beckman Coulter, Inc. в САЩ и в други държави.

ДОПЪЛНИТЕЛНА ИНФОРМАЦИЯ

За пациенти/потребители/трети лица в Европейския съюз и в страни с идентичен регулаторен режим (Регламент 2017/746/EC относно ин витро диагностичните медицински изделия); ако по време на използването на това изделие или в резултат на използването му е настъпил сериозен инцидент, моля, съобщете за това на производителя и/или неговия упълномощен представител и на Вашия национален орган.

Summary of Safety and Performance (Обобщение на безопасността и работата) е налично в базата данни EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ХРОНОЛОГИЯ НА РЕДАКЦИИТЕ

РЕДАКЦИЯ AD:	Дата на издаване: октомври 2019 г.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AW	февруари 2022 г.
Актуализации с цел съответствие с Глобалната политика за етикетиране на Beckman Coulter и съгласно изискванията на Регламент (ЕС) 2017/746 за медицинските изделия за ин витро диагностика (IVD-R):	
Добавени раздели	Номер 2797 на BSI, Предвиден потребител, Клинична значимост, Концентрация, Прецизност, Точност, Граница на сляпата проба и граница на откриване, Допълнителна информация, Хронология на редакциите.
Добавена информация	Вижте разделите „Ограничения“
Актуализации във формулировките или типографията	Вижте раздели „Процедура“, „Работни характеристики“, „Ограничения“, „Предупреждения и предпазни мерки“, „Съхранение и стабилност“.
Премахнати раздели	Пример за клинични приложения, Реактиви, Вътрешнолабораторна възпроизводимост, Линейност
Актуализирани раздели	Предвидена употреба, Класификация на опасностите по GHS, Признаци за влошаване, Процедура, Приложение.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AX	
Актуализирани раздели	Добавен е казахски
Актуализирани раздели	Съхранение и стабилност

Редактирана версия	AY
Редактирана дата	Май 2024
Актуализирани преводи	**Клинична значимост:**
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Легенда на символите

Речник на символите е наличен на beckman.com/techdocs (номер на документа B60062)

	規格
專一性	CD13
轉殖	SJ1D1
融合瘤	SP2/0 x balb/c
免疫原	KG1a cell line
免疫球蛋白	IgG1
物種	小鼠
純化	親和力層析法
螢光染料	R Phycoerythrin (PE)
莫耳比率	PE/Ig： 0.5 - 1.5
λ 激發	488 nm
發射峰	575 nm
緩衝劑	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 及 0.1% NaN_3

IOTest
結合抗體
CD13-PE

REF A07762 100 次檢測；2 mL, 20 µL/測試

***體外*診斷使用**

預期用途

使用此螢光染料結合的抗體，能夠以流式細胞分析儀器對人體生物檢體中出現的表現 CD13 抗原之細胞群進行非自動化定性鑑別（請參閱下列「檢體」部分）。

原理

本測試的基礎在於特異性單株抗體結合由白血球表現之抗原決定簇的能力。

以 IOTest 試劑與檢體反應，對白血球進行特異性染色。然後以溶解作用去除紅血球，而白血球不受此程序影響，並可透過流式細胞分析儀器進行分析。

流式細胞分析儀器可測量細胞的光漫射和螢光。這樣可以界定直方圖上定義的電子窗口內的目標群體，直方圖可以關聯光的正交漫射（側向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。細胞分析儀器上可用之結合兩個不同參數的其他直方圖，可用於支持圈選階段，這取決於使用者所選的應用。

為了區分陽性染色事件和未染色事件，對劃定細胞的螢光進行了分析。結果表示為陽性事件相對於圈選所得全部事件的百分比。

預期使用者

本產品應當用於實驗室內的專業用途。

臨床相關性

CD13-PE 是一種 CD13 抗體，以流式細胞分析儀器使用此抗體庫可辨認表達 CD13 抗原的細胞並鑑別其特徵。單獨使用此程序並不足以診斷出任何結果。

本產品搭配其他標誌物使用時，可用於以下一或多個功能：

- 可輔助疑似罹患造血組織腫瘤之血液異常患者的鑑別診斷，並可監測已知罹患造血組織腫瘤的患者。
- 有助於罹患造血組織腫瘤之患者的預後情況。

請參閱下列參考資料：

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

檢體

靜脈血必須使用無菌試管抽取，此無菌試管中含有 EDTA 鹽作為抗凝劑。

檢體應存放在室溫 (18~25°C)，且不得搖晃。取用測試檢體前，應將檢體輕輕攪動，使之均勻化。

檢體必須在靜脈穿刺後 24 小時內進行分析。

濃度

請參閱 www.beckman.com 參閱各批次專屬的分析證書。

警告和預防措施

1. 請勿使用過期試劑。
2. 切勿冷凍。
3. 使用前，請將其恢復至室溫 (18~25°C)。
4. 儘量避免陽光直射。
5. 請避免試劑受到微生物污染，否則可能會出現錯誤結果。
6. 含有疊氮化鈉 (NaN_3) 的抗體溶液應謹慎處理。請勿內服，並避免接觸皮膚、黏膜和眼睛。

   此外，在酸性介質中，疊氮化鈉可形成具有潛在危害的疊氮酸。若需要對其進行處置，建議在試劑倒入排水系統前以大量清水稀釋，避免疊氮化鈉在金屬管道中累積並預防爆炸。
7. 所有血液檢體必須視為具有潛在傳染性，且必須小心處理（務必穿戴防護手套、防護衣和護目鏡）。
8. 切勿用嘴吸液，並避免檢體接觸皮膚、黏膜和眼睛。

9. 用於處理的血液試管和一次性材料應放入焚化專用的特殊容器中處置。
10. 應根據當地要求清除試劑和廢棄物。

GHS 危害分類

未歸類為危險物質

SDS 安全性資料表載於 beckman.com/techdocs

存儲和穩定性

在打開試劑瓶前後，試劑必須避光保存於 2~8°C。

穩定性研究的封閉式藥瓶有效期限：1095 天。

開瓶後穩定性：試劑穩定性可維持 180 天。

變質的證據

試劑外觀的任何變化表示可能發生變質，因此不應使用該試劑。

如需瞭解其他資訊，或如果收到已損壞的產品，請撥打 800-742-2345（美國或加拿大）聯絡貝克曼庫爾特客戶服務部，或聯絡您當地的貝克曼庫爾特代表。

內容物

疊氮化鈉防腐劑可能會在金屬排水管道中形成爆炸性化合物。請參閱 NIOSH Bulletin： Explosive Azide Hazard（爆炸性疊氮化物危害）(76/8/16)。為防止疊氮化合物可能累積，丟棄未稀釋的試劑後請用水沖洗污水管。必須依照相關當地法規丟棄疊氮化鈉。

試劑盒未提供但卻需要的材料：

- 採樣時需要採樣試管和材料。
- 帶有可吸取 20、100 和 500 µL 一次性吸頭的自動移液器。
- 塑膠溶血試管。
- 用於溶解後洗滌階段的紅血球溶解試劑。舉例：VersaLyse (參考 A09777)。
- 白血球固定試劑。舉例：IOTest 3 固定液 (參考 A07800)。
- 同型品管劑 PE：IOTest 試劑 (參考 A07796)。
- 緩衝劑 (PBS：0.01 M 磷酸鈉；0.145 M 氯化鈉；pH 7.2）。
- 離心機。
- 自動攪拌器（漩渦型）。
- 流式細胞分析儀器。

使用 VERSALYSE 試劑的程序

對於已分析的每項檢體，除使用測試試管外，可再增加一個品管劑試管，以在其中混合細胞與同型品管劑 (參考 A07796)。

1. 向每個測試試管添加 20 µL 特異性 IOTest 結合抗體，如果需要，向每個質控試管添加 20 µL 同型質控品。
2. 向每個試管中添加 100 µL 測試檢體。輕輕漩渦振盪試管。
3. 在室溫 (18~25°C) 下避光反應 15~20 分鐘。
4. 然後將紅血球溶解。請參閱 VersaLyse (參考 A09777) 的手冊，最好按照名為「共伴固定」的程序操作，其包含添加臨時製備的 1 mL「固定加溶解」混合物。立即震盪 1 秒後，在室溫下避光反應 10 分鐘。
5. 在室溫下以 150 x g 離心 5 分鐘。
6. 吸除上清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新懸浮細胞團塊。
8. 重複第 5 步。
9. 吸除上清液並按照以下方式重新懸浮細胞團塊：

- 若製劑存放時間不超過 24 小時，則以 0.5 mL 或 1 mL PBS 加 0.1% 甲醛。（可在 1 mL PBS 中稀釋 10X 濃度的 12.5 µL IOTest 3 固定液 (參考 A07800)，得到含有 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 若製劑將在 2 小時內分析，使用 0.5 mL 或 1 mL PBS（無甲醛）。

註：在所有情況下，將製劑在 2~8°C 避光保存。

預期值

在我們的實驗室中，採用上述試劑處理 25 名明顯健康的捐贈者的全血檢體。使用該試劑進行陽性目標事件計數得到的結果如下表所示：

陽性目標	數量	平均值 (%)	SD	CV (%)
單核球	25	98.28	0.88	0.90
顆粒性白血球	25	99.69	0.42	0.42

這些數值是具代表性的參考值。每個實驗室都應運用當地正常捐贈者族群的檢測結果，自行確立適用的預期值。

性能

對於之前採集在無菌試管（含有 EDTA 鹽作為抗凝劑）中短於 24 小時的血液檢體，使用上面描述的程序獲取了性能資料。在免疫染色後的 2 小時內進行分析。

專一性

CD13 分子（又稱為 N 氨肽酶 (APN)）是第 II 型的跨細胞膜金屬蛋白酶，分子量為 150~170 kDa。該分子擁有大量細胞外序列和較短的細胞漿內區域。CD13 分子在細胞表面處以非共價方式結合為同二聚體 (11)。CD13 抗原在早期即會於粒單核細胞株（單核細胞、嗜中性球、嗜酸性球和嗜鹼性球）及其定向祖細胞（形成混合顆粒單核細胞集落或 CFU-GM 的中間祖細胞）中有所表達 (11,12,13,14)。

CD13 分子也在非造血組織的細胞上表達，例如近端腎小管上的上皮細胞、腸內刷狀緣上的細胞、內皮細胞、纖維母細胞、骨髓基質細胞、膽管的破骨細胞和基底細胞 (15)。

單株抗體 SJ1D1 會在周邊血液中與單核細胞、嗜中性球、嗜酸性球和嗜鹼性球發生反應。在 1986 年於英國牛津舉行的 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens（第 3 屆 HLDA 人類白血球分化抗原研討會）（WS 代碼：285，M 部分）期間，其被指定到 CD13 (12)。

準確度

使用全血測定了百分比陽性值。每項檢體皆使用 2 個批次的 CD13-PE 單株抗體試劑，以 2 台儀器 1 天運行 2 次，共運行了 4 次。使用 Navios 流式細胞分析儀器檢測結果（陽性 %）。根據 CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：評估定量檢測方法的準確度性能）進行分析。

我們的接受標準視各族群所檢測的陽性事件數量而定：

- 若陽性事件數量 < 1,500，則 CV < 15%
- 若陽性事件數量 > 1,500，則 CV < 10%

單核球							
陽性事件數量（平均值）= 1119							
	各操作者間	各台細胞分析儀器間	批內	批間	各次執行間	各次執行內	總計
CV (%)	0.16	0.17	0.51	0.13	0.15	0.46	0.55
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

顆粒性白血球							
陽性事件數量（平均值）= 23248							
	各操作者間	各台細胞分析儀器間	批內	批間	各次執行間	各次執行內	總計
CV (%)	0.01	0.04	0.05	0.01	0.02	0.05	0.07
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

準確性

評估 CD13-PE 準確性的方式，是比較它與參考試劑用於添加了陽性細胞的一組全血檢體，在 Navios 流式細胞分析儀器上進行化驗時，其結果有何差異。根據測試結果間的差異，測定了測試與參考試劑之間的偏差。如果此偏倚在允許的誤差範圍內或 P 值並未顯示顯著差異 (> 0.05)，則兩種試劑的測試結果視為相當。

所得結果總結於下表：

捐贈者數量 = 25				
陽性目標	平均值差	細胞標準 Δ %	P 值	結果
單核球	-0.19	<5	0.120	PASS
顆粒性白血球	-0.23	<5	4.003E-03	PASS

空白檢體的偵測極限與偵測極限

按照 CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2，臨床實驗室測定程序的偵測能力評估）開展了一項試驗。偵測極限 (LOD) 是指可始終被偵測出的最低分析物濃度。所得結果總結於下表：

Positive Target	空白檢體的偵測極限（細胞數/µL）	偵測極限（細胞數/µL）
單核球	0	4
顆粒性白血球	2	4

限制條件

1. 流式細胞分析儀器在下列情況下可能產生錯誤結果：細胞分析儀器未正確校正、螢光洩漏未正確補償、相關區域並未仔細定位。
2. 最好採用帶洗滌步驟的 RBC 溶解方法，因該試劑不能在「無洗滌」溶解方法中取得最佳效果。
3. 按照技術手冊採用相關流程並遵循優良實驗室操作規範，便可得到準確且可重複的結果。
4. 此試劑的結合抗體已經過校正，以提供最佳的特異性訊號/非特異性訊號比率。因此，在每次測試中遵守試劑體積/檢體體積比率很重要。
5. 如果白血球過多，請在 PBS 中稀釋血液，使白血球濃度約為 5 x 10^9 顆/L (16)。
6. 在嚴重腎衰竭、血色素病變等特定疾病狀態中，紅血球溶解可能會變得緩慢、不完全，甚至無法溶解。在這種情況下，建議在染色前使用密度梯度（例如聚蔗糖）分離單核球 (17)。
7. 使用抗人單株抗體療法治療患者時，由於治療抗體的部分或完全阻斷，偵測到的特定目標抗原可能會減少或完全偵測不到。
8. CD13-PE 結果的判讀應結合患者的整體臨床表徵，包括：症狀、臨床病史、其他測試的資料以及其他相關資訊。

請參閱附錄以閱讀舉例和參考文獻。

商標

Beckman Coulter、徽標以及本文述及的貝克曼庫爾特公司產品和服務標記是美國貝克曼庫爾特有限公司在美國和其他國家的商標或註冊商標。

其他資訊

對於患者/使用者/第三方（在歐盟和有相同監管制度（體外診斷醫療裝置法規，2017/746/EU）的國家）；如果在使用中或由於使用而導致嚴重事件，請將情況回報製造商和/或授權代表，以及貴國主管機關。

Summary of Safety and Performance（安全與性能）的摘要請參見 EUDAMED 資料庫：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修訂歷程記錄

修訂版 AD：	發佈日期：2019 年 10 月

修訂	**發行日期**
AW	2022 年 2 月
更新以遵守貝克曼庫爾特公司全球標籤政策以及 IVD-R (EU)2017/746 規定：	
已新增部分	BSI 2797 編號、預期使用者、臨床相關性、濃度、精密度、準確性、空白檢體的偵測極限和偵測極限、其他資訊、修訂記錄。
已新增資訊	請參閱「限制」部分
修辭或印刷更新	請參閱「程序」、「性能」、「限制」、「警告和預防措施」、「存儲和穩定性」等部分。
已移除的部分	臨床應用範例、試劑、實驗室內再現性、線性
已更新部分	預期用途、GHS 危害分類、變質的證據、程序、附錄。

修訂	**發行日期**
AX	
已更新部分	新增哈薩克語
已更新部分	存儲和穩定性

修訂版本	AY
修訂日期	5 月 2024
已更新的譯文	**臨床關聯性：**
已更新部分	修訂歷史

符號釋義

符號術語表請參見網站：beckman.com/techdocs（文件編號 B60062）

	Specificații
Specificitate	CD13
Clonă	SJ1D1
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	KG1a cell line
Imunoglobulină	IgG1
Specie	Șoarece
Purificare	Cromatografia de afinitate
Fluorocrom	R Phycoerythrin (PE)
Raport molar	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Excitare λ	488 nm
Vârful de emisie	575 nm
Soluție tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA și 0,1% NaN_3

IOTest
Anticorp conjugat
CD13-PE

REF A07762 100 de teste; 2 ml, 20 µl/test

Pentru diagnosticare *in vitro*

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

Acest anticorp conjugat cu fluorocrom permite identificarea calitativă și non-automată a populațiilor celulare care exprimă antigenul CD13 prezent în probele biologice umane prin citometrie în flux (consultați secțiunea „probe" de mai jos).

PRINCIPIU

Acest test se bazează pe abilitatea anticorpilor monoclonali specifici de a se lega de determinanții antigenici exprimați de leucocite.

Colorarea specifică a leucocitelor este efectuată prin incubarea probei cu reactivul IOTest. Eritrocitele sunt ulterior îndepărtate prin liză, iar leucocitele, care nu sunt afectate de acest proces, sunt analizate prin citometrie în flux.

Citometrul în flux măsoară difuzia luminii și fluorescența celulelor. Acesta face posibilă delimitarea populațiilor de interes în fereastra electronică definită pe o histogramă, care corelează difuzia ortogonală a luminii (Dispersia perpendiculară sau SS – Side Scatter) și difuzia luminii sub un unghi ascuțit (Dispersia pe direcția înainte sau FS – Forward Scatter). Alte histograme care combină doi dintre parametrii diferiți disponibili pe citometru pot fi utilizate ca suporturi în faza de stabilire a porților (gating) în funcție de aplicația aleasă de către utilizator.

Fluorescența celulelor delimitate se analizează pentru distingerea evenimentelor colorate pozitiv de cele necolorate. Rezultatele sunt exprimate ca procentaj de evenimente pozitive în raport cu toate evenimentele obținute de gating.

UTILIZATOR PRECONIZAT

Acest produs este destinat utilizării profesionale în laborator.

RELEVANȚĂ CLINICĂ

CD13-PE este un anticorp CD13 utilizat pentru a identifica și caracteriza celulele care exprimă antigenul CD13 prin citometrie în flux. Acest produs în sine nu poate și nu este conceput pentru a genera concluzii cu rol de diagnostic.

Atunci când este utilizat în combinație cu alți markeri, acest produs poate fi utilizat pentru una sau mai multe dintre următoarele funcții:

- Pentru a ajuta la obținerea unui diagnostic diferențial pentru pacienții cu anormalități hematologice suspecți de neoplasm hematopoietic și la monitorizarea pacienților cu neoplasm hematopoietic diagnosticat.
- Pentru a ajuta la obținerea unui prognostic pentru pacienții cu neoplasm hematopoietic.

Consultați următoarele referințe:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROBE

Sângele venos trebuie recoltat utilizând eprubete sterile care conțin o sare de EDTA drept anticoagulant.

Se recomandă păstrarea probelor la temperatura camerei (18–25°C). Acestea nu se vor scutura. Se recomandă omogenizarea probelor prin agitare ușoară înainte de recoltarea probei de test.

Proba trebuie analizată în decurs de 24 de ore de la puncția venoasă.

CONCENTRAȚIE

Consultați certificatul de analiză specific lotului la adresa www.beckman.com.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Nu utilizați reactivul după data expirării.
2. Nu congelați.
3. Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei (18–25°C).
4. Reduceți la minimum expunerea la lumină.
5. Evitați contaminarea microbiană a reactivilor. În caz contrar, se pot obține rezultate false.
6. Soluțiile de anticorpi care conțin azidă de sodiu (NaN_3) trebuie manipulate cu atenție. A nu se ingera și a se evita contactul cu pielea, mucoasele și ochii.

În plus, într-un mediu acid, azida de sodiu poate forma acid hidrazoic, un compus potențial periculos. Dacă este necesară eliminarea reactivului, se recomandă ca acesta să fie diluat într-un volum mare de apă înainte de a fi vărsat în sistemul de canalizare pentru a evita acumularea de azidă de sodiu în conductele metalice și pentru a preveni riscul de explozie.

7. Toate probele de sânge trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie manipulate cu grijă (în special: purtarea de mănuși de protecție, halate și ochelari de protecție).
8. Nu pipetați niciodată cu gura și evitați contactul probelor cu pielea, mucoasele și ochii.
9. Eprubetele pentru sânge și materialele de unică folosință utilizate pentru manipulare trebuie eliminate în recipiente ad-hoc destinate incinerării.
10. Reactivii și deșeurile trebuie eliminați în conformitate cu cerințele locale.

CLASIFICAREA RISCURILOR ÎN SISTEMUL GHS

Nu este clasificat ca periculos

SDS Fișa tehnică de securitate este disponibilă la beckman.com/techdocs

DEPOZITAREA ȘI STABILITATEA

Înainte și după desigilarea fiolei, acest reactiv trebuie păstrat la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C într-un loc ferit de lumină.

Perioada de valabilitate în fiolă închisă în conformitate cu studiul de stabilitate: 1095 zile.

Stabilitatea fiolei desigilate: reactivul este stabil timp de 180 (de) zile.

DOVADĂ DE DETERIORARE

Orice modificare a aspectului fizic al reactivilor poate indica degradarea. În acest caz, nu se recomandă utilizarea reactivului.

Pentru informații suplimentare sau dacă s-a primit un produs deteriorat, sunați la Serviciul Clienți Beckman Coulter la 800-742-2345 (SUA sau Canada) sau contactați-vă reprezentantul Beckman Coulter local.

CONȚINUT

Azida de sodiu folosită drept conservant poate forma compuși cu risc de explozie în conductele de drenaj metalice. Consultați buletinul informativ al NIOSH: Explosive Azide Hazard (Azidă cu risc de explozie) (08/16/76).
Pentru a evita posibila acumulare de compuși de azidă, spălați cu apă conductele pentru evacuarea deșeurilor după eliminarea reactivului nediluat. Eliminarea azidei de sodiu trebuie realizată în conformitate cu reglementările locale aplicabile.

MATERIALE NECESARE, DAR NEFURNIZATE CU SETUL:

- Eprubete pentru probe și materiale necesare pentru prelevarea probelor.
- Pipete automate cu vârfuri de unică folosință pentru 20, 100 și 500 µl.
- Eprubete din plastic pentru hemoliză.
- Reactiv de liză a eritrocitelor cu faza de spălare după liză. De exemplu: VersaLyse (ref. A09777).
- Reactiv de fixare a leucocitelor. De exemplu: Soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800).
- Ser de control izotipic PE: Reactiv IOTest (ref. A07796).
- Soluție tampon (PBS: 0,01 mol de fosfat de sodiu; 0,145 mol de clorură de sodiu; pH 7,2).
- Centrifugați.
- Agitator automat (tip Vortex).
- Citometru de flux.

PROCEDURA CU REACTIVUL VERSALYSE

Pentru fiecare probă analizată, în afară de eprubeta de testare, poate fi adăugată o eprubetă de ser de control în care celulele sunt amestecate în prezența serurilor de control izotipic (ref. A07796).

1. Adăugați 20 µl de anticorp conjugat IOTest specific în fiecare eprubetă de test și, dacă este necesar, 20 µl de ser de control izotipic în fiecare eprubetă cu ser de control.
2. Adăugați 100 µl de probă de test în fiecare eprubetă. Amestecați cu grijă eprubetele în agitatorul vortex.
3. Incubați timp de 15–20 de minute la temperatura camerei (18–25°C) într-un loc ferit de lumină.
4. Apoi efectuați liza eritrocitelor. Consultați prospectul VersaLyse (ref. A09777) și urmați, de preferat, procedura denumită „cu fixare concomitentă”, care constă în adăugarea a 1 ml de amestec „Fixare și liză” preparat extemporaneu. Amestecați imediat în agitatorul vortex timp de o secundă și incubați timp de 10 minute la temperatura camerei, într-un loc ferit de lumină.
5. Centrifugați timp de 5 minute la 150 x g la temperatura camerei.
6. Îndepărtați supernatantul prin aspirare.
7. Resuspendați peleta de celule utilizând 3 ml de PBS.
8. Repetați pasul 5.
9. Îndepărtați supernatantul prin aspirare și resuspendați peleta de celule utilizând:

- 0,5 ml sau 1 ml de PBS plus 0,1% formaldehidă dacă preparatele trebuie păstrate mai puțin de 24 (de) ore. (O soluție PBS cu 0,1% formaldehidă poate fi obținută prin diluarea unei cantități de 12,5 µl de soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800) la concentrația sa de 10X în 1 ml de PBS).
- 0,5 ml sau 1 ml de PBS fără formaldehidă, dacă preparatele trebuie analizate în decurs de 2 (de) ore.

Observație: În toate cazurile, păstrați preparatele la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C, în locuri ferite de lumină.

VALORI PRECONIZATE

În laboratoarele noastre, probele de sânge integral de la 25 donatori aparent sănătoși au fost tratate utilizându-se reactivul descris mai sus. Rezultatele obținute pentru numărul de evenimente pozitive de interes cu acest reactiv sunt date în tabelul de mai jos:

Ținta pozitivă	Număr	Medie (%)	SD (deviație standard)	CV (%)
Monocite	25	98,28	0,88	0,90
Granulocite	25	99,69	0,42	0,42

Aceste valori au doar caracter exemplificativ. Fiecare laborator trebuie să stabilească propriile valori așteptate de la populația locală de donatori normali.

PERFORMANȚĂ

Datele de performanță se obțin folosindu-se procedeul descris mai sus pe probe de sânge cu o vechime mai mică de 24 de ore recoltate anterior în eprubete sterile cu sare EDTA ca anticoagulant. Analiza se efectuează în decurs de 2 ore de la imunocolorare.

SPECIFICITATE

Molecula CD13, cunoscută și sub numele de aminopeptidază N (APN), este o metaloprotează transmembranară de tipul II cu o masă moleculară de 150–170 kDa. Această moleculă are o secvență extracelulară extinsă și o regiune intracitoplasmică scurtă. Molecula CD13 pare a se lega ca homodimer într-o manieră non-covalentă la suprafața celulelor (11). Antigenul CD13 este exprimat devreme în linia granulo-monocitară (monocite, neutrofile, eozinofile și bazofile) și progenitoarele angajate (progenitoare intermediare care formează colonii granulo-monocitare mixte sau CFU-GM) (11,12,13,14).

Molecula CD13 este, de asemenea, exprimată pe celulele țesuturilor non-hematopoietice, cum ar fi celulele epiteliale din tubul renal proximal, celulele care formează marginea în perie a intestinului, celulele endoteliale, fibroblastele, celulele stromale din măduva osoasă, osteoclastele și celulele bazale din căile biliare (15).

Anticorpul monoclonal SJ1D1 reacționează în sângele periferic cu monocite, neutrofile, eozinofile și bazofile. Acesta a fost asociat cu CD13 în cadrul 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (al treilea simpozion internațional consacrat antigenilor umani de diferențiere a leucocitelor), desfășurat în Oxford, Regatul Unit, în 1986 (cod WS: 285, secțiunea M) (12).

PRECIZIE

Valorile procentuale pozitive au fost stabilite folosind sânge integral. Fiecare probă a fost analizată de 4 ori, de două ori pe zi timp de 1 zi, pe 2 instrumente, folosind 2 loturi de reactivi cu anticorp monoclonal CD13-PE. Măsurătorile (% pozitive) au fost efectuate pe un citometru în flux Navios. Analiza a fost efectuată în conformitate cu metoda CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluarea performanței de precizie a metodelor de măsurare cantitativă).

Criteriile noastre de acceptare depind de numărul de evenimente pozitive măsurate pentru fiecare populație:

- Dacă evenimentul pozitiv < 1500, CV < 15%
- Dacă evenimentul pozitiv > 1500, CV < 10%

Monocite							
Număr de evenimente pozitive (medie) = 1119							
	Inter-operator	Inter-citometru	Intra-lot	Inter-lot	Inter-ciclu	Intra-testare	Total
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
REZULTATE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocite							
Număr de evenimente pozitive (medie) = 23248							
	Inter-operator	Inter-citometru	Intra-lot	Inter-lot	Inter-ciclu	Intra-testare	Total
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
REZULTATE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACURATEȚE

Acuratețea CD13-PE a fost evaluată prin compararea rezultatelor cu un reactiv de referință ca predicat pe un set de probe de sânge integral analizate cu un citometru în flux Navios. Eroarea sistematică dintre test și reactivul de referință a fost determinată în funcție de diferența dintre rezultatele testului. Dacă eroarea sistematică se încadrează în intervalul de eroare permis sau dacă valoarea p nu indică o diferență semnificativă (> 0,05), rezultatele testului pentru cei doi reactivi sunt considerate ca fiind echivalente.

Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul de mai jos:

Număr de donatori = 25				
Ținta pozitivă	Medie Δ	Criterii celulă Δ%	Valoarea p	REZULTATE
Monocite	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulocite	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

LIMITA DE BLANC ȘI LIMITA DE DETECȚIE

A fost realizat un studiu în conformitate cu documentul CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluarea capacității de detecție în cazul procedurilor de măsurare din laborator). Limita de detecție (LOD) este cea mai redusă concentrație de analit care poate fi detectată în mod constant. Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul următor:

Positive Target	Limită de blanc (celulă/µl)	Limită de detecție (celulă/µl)
Monocite	0	4
Granulocite	2	4

LIMITĂRI

1. Citometria în flux poate furniza rezultate false dacă citometrul nu a fost aliniat perfect, dacă scurgerile de fluorescență nu au fost compensate corect și dacă regiunile nu au fost poziționate corect.
2. Este de preferat să se utilizeze o tehnică de liză a eritrocitelor (RBC) cu o etapă de spălare, deoarece acest reactiv nu a fost optimizat pentru tehnici de liză „fără spălare”.

3. Se vor obține rezultate corecte și reproductibile dacă procedurile utilizate respectă prospectul tehnic și bunele practici de laborator.
4. Anticorpul conjugat din acest reactiv este calibrat astfel încât să ofere cel mai bun raport semnal specific/semnal nespecific. Prin urmare, este important ca la fiecare test să se respecte raportul volum de reactiv/volum de probă.
5. În cazul unei hiperleucocitoze, diluați sângele în PBS astfel încât să obțineți o valoare de aproximativ 5 x 10^9 leucocite/l (16).
6. În anumite stări patologice, cum ar fi insuficiența renală severă sau hemoglobinopatiile, liza eritrocitelor poate fi lentă, incompletă sau chiar imposibilă. În acest caz, se recomandă izolarea celulelor mononucleare cu ajutorul unui gradient de densitate (de exemplu, Ficoll), înainte de colorare (17).
7. În cazul pacienților tratați cu terapii cu anticorp monoclonal anti-uman, detecția antigenilor specifici țintiți poate fi diminuată sau absentă din cauza blocării parțiale sau complete asigurată de anticorpul terapeutic.
8. Rezultatele CD13-PE trebuie interpretate în lumina prezentării clinice integrale a pacientului, inclusiv: simptome, istoric clinic, date din teste suplimentare și alte informații corespunzătoare.

Consultați Anexa pentru exemple și referințe.

MĂRCI COMERCIALE

Beckman Coulter, logoul stilizat și mărcile de produse și servicii Beckman Coulter menționate aici sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Beckman Coulter, Inc. în Statele Unite și în alte țări.

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

În cazul unui pacient/utilizator/terț aflat în Uniunea Europeană sau în țări cu un regim de reglementare identic (Regulamentul 2017/746/UE privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro); dacă, în timpul utilizării acestui dispozitiv sau în urma utilizării acestuia, are loc un incident grav, raportați acest incident către producător și/sau reprezentantul său autorizat și către autoritatea națională din țara dvs.

Rezumatul secțiunilor Siguranță și Performanță este disponibil din baza de date EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORICUL REVIZUIRILOR

REVIZIA AD:	Data publicării: Octombrie 2019

REVIZIE	**Data publicării**
AW	Februarie 2022
Se actualizează pentru a respecta politica globală de etichetare Beckman Coulter și cerințele regulamentului IVD-R (UE) 2017/746:	
Secțiuni adăugate	Număr BSI 2797, Utilizator propus, Relevanță clinică, Concentrație, Precizie, Acuratețe, Limita de blanc și limita de detecție, Informații suplimentare, Istoric revizuiri.
Informații adăugate	Consultați secțiunile Limitări
Actualizări referitoare la frazare și tipografice	Consultați secțiunile Procedură, Performanță, Limitări, Avertizări și măsuri de precauție, Depozitare și stabilitate.
Secțiuni eliminate	Exemplu de utilizări clinice, Reactivi, Reproductibilitate intralaborator, Liniaritate
Secțiuni actualizate	Utilizare propusă, Clasificarea riscurilor în sistemul GHS, Dovadă de deteriorare, Procedură, Anexă.

REVIZIE	**Data publicării**
AX	
Secțiuni actualizate	A fost adăugată limba kazahă
Secțiuni actualizate	Depozitare și stabilitate

Versiunea revizuită	AY
Data revizuirii	Mai 2024
Au fost actualizate traducerile	**Relevanță clinică:**
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Cheie simboluri

Glosarul de simboluri este disponibil la beckman.com/techdocs (număr document B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD13
Klon	SJ1D1
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	KG1a cell line
Imunoglobulin	IgG1
Vrsta	Miš
Prečiščevanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molarno razmerje	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisij	575 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA in 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano protitelo CD13-PE

REF A07762 100 testov; 2 ml, 20 µl/test

Za diagnostično uporabo *in vitro*

NAMEN UPORABE

To protitelo, konjugirano s fluorokromi, omogoča kvalitativno in neavtomatizirano identifikacijo celičnih populacij, ki izražajo antigen CD13, prisoten v človeških bioloških vzorcih, z uporabo pretočne citometrije (oglejte si poglavje »Vzorci« spodaj).

NAČELO

Ta test temelji na sposobnosti specifičnih monoklonskih protiteles, da se vežejo na antigenske determinante, ki jih izražajo levkociti.

Specifično barvanje levkocitov izvedemo z inkubacijo vzorca z reagentom IOTest. Rdeče krvničke nato odstranimo z lizo, levkocite, na katere ta proces ne vpliva, pa analiziramo s pretočno citometrijo.

Pretočni citometer meri difuzijo svetlobe in fluorescenco celic. Omogoča razmejitev opazovane populacije v elektronskem oknu, opredeljenem v histogramu, ki je povezan z ortogonalno difuzijo svetlobe (stransko sipanje ali SS) in difuzijo svetlobe pri majhnemu kotu (sipanje naprej ali FS). Glede na uporabo, ki jo izbere uporabnik, lahko druge histograme, ki uporabljajo kombinacijo dveh različnih parametrov, ki so na voljo na citometru, uporabimo kot nosilce v fazi uokvirjanja.

Fluorescenco razmejenih celic analiziramo z namenom razlikovanja med pozitivno obarvanimi dogodki in tistimi, ki niso obarvani. Rezultati so izraženi kot odstotek pozitivnih dogodkov glede na vse dogodke, pridobljene z uokviranjem.

PREDVIDENI UPORABNIK

Izdelek je namenjen profesionalni laboratorijski uporabi.

KLINIČNI POMEN

CD13-PE je protitelo CD13, ki se uporablja za identifikacijo in karakterizacijo celic, ki izražajo antigen CD13 s pomočjo pretočne citometrije. Ta izdelek sam ne more ustvariti in ni namenjen za ustvarjanje kakršnih koli diagnostičnih zaključkov.

Če se izdelek uporablja v kombinaciji z drugimi označevalci, se lahko uporablja pri eni ali več naslednjih funkcij:

- Uporablja se kot pripomoček pri diferencialnem diagnosticiranju hematološko neobičajnih bolnikov, pri katerih obstaja sum, da imajo hematopoetsko neoplazmo, in za spremljanje bolnikov z znano hematopoetsko neoplazmo.
- Za pomoč pri napovedi stanja bolnikov s hematopoetsko neoplazmo.

Oglejte si naslednje reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

VZORCI

Pri jemanju venske krvi je treba uporabiti sterilne epruvete, ki vsebujejo sol EDTA kot antikoagulant.

Vzorce je treba hraniti pri sobni temperaturi (18–25 °C) in jih ni dovoljeno pretresati. Vzorce je treba homogenizirati z rahlim stresanjem pred odvzemom testnega vzorca.

Vzorce je treba analizirati v 24 urah po venepunkciji.

KONCENTRACIJA

Oglejte si ustrezen certifikat o analizi za izbrano serijo na spletni strani www.beckman.com.

OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI

1. Ne uporabljajte reagenta po izteku roka uporabnosti.
2. Ne zamrzujte.
3. Pred uporabo počakajte, da se ogrejejo na sobno temperaturo (18–25 °C).
4. Čim manj izpostavljajte svetlobi.
5. Preprečite mikrobno kontaminacijo reagentov, sicer lahko pride do napačnih rezultatov.
6. Z raztopinami protiteles, ki vsebujejo natrijev azid (NaN_3), je treba ravnati previdno. Ne zaužijte in se izogibajte vsakršnemu stiku s kožo, sluznico in očmi.

Poleg tega lahko natrijev azid v kislem mediju tvori potencialno nevaren vodikov azid. Če ga je treba odstraniti, je reagent priporočljivo razredčiti z veliko količino vode pred izlivanjem v kanalizacijo, da bi se izognili kopičenju natrijevega azida v kovinskih ceveh in preprečili nevarnost eksplozije.

7. Vse vzorce krvi je treba obravnavati kot potencialno kužne in je treba z njimi ravnati previdno (predvsem je treba nositi zaščitne rokavice, halje in očala).
8. Nikoli ne pipetirajte z usti in se izogibajte vsakršnemu stiku vzorcev s kožo, sluznico in očmi.
9. Epruvete za kri in material za enkratno uporabo je treba odstraniti v zabojnike na licu mesta, namenjene sežigu.
10. Reagente in odpadke je treba odstraniti skladno z lokalnimi predpisi.

KLASIFIKACIJA NEVARNOSTI PO GHS

Ni razvrščeno kot nevarno

SDS Varnostni list je na voljo na spletnem mestu beckman.com/techdocs

SHRANJEVANJE IN OBSTOJNOST

Ta reagent je treba shranjevati pri temperaturi od 2 do 8 °C in zaščiteno pred svetlobo pred odprtjem vial in po njem.

Rok uporabnosti zaprte viale po študiji stabilnosti: 1095 dni.

Stabilnost odprte stekleničke: reagent je stabilen 180 dni.

DOKAZ O POSLABŠANJU STANJA

Vsaka sprememba fizičnega videza reagentov lahko kaže na poslabšanje stanja in reagenta ni dovoljeno uporabljati.

Za dodatne informacije ali ob prejemu poškodovanega izdelka pokličite službo za pomoč strankam družbe Beckman Coulter na številko 800-742-2345 (ZDA ali Kanada) ali se obrnite na lokalnega predstavnika podjetja Beckman Coulter.

VSEBINA

Konzervans iz natrijevega azida lahko tvori eksplozivne spojine v kovinskih odvodnih ceveh. Oglejte si NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16. 8. 76) (Nevarnost eksplozivnih azidov).
Da bi se izognili morebitnemu kopičenju azidnih spojin, po odstranjevanju nerazredčenega reagenta sperite odtočne cevi z vodo. Odstranjevanje natrijevega azida mora biti skladno z ustreznimi lokalnimi predpisi.

POTREBEN MATERIAL, KI NI PRILOŽEN V KOMPLETU:

- Epruvete za vzorčenje in material, potreben za vzorčenje.
- Samodejne pipete s konicami za enkratno uporabo za 20, 100 in 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizo.
- Reagent za lizo rdečih krvničk z izpiranjem po lizi. Na primer: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagent za fiksacijo levkocitov. Na primer: fiksirna raztopina IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotipska kontrola PE: Reagent IOTest (Ref. A07796).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijev fosfat; 0,145 M natrijev klorid; pH 7,2).
- Centrifugirajte.
- Samodejni stresalnik (za stresanje).
- Pretočni citometer.

POSTOPEK Z REAGENTOM VERSALYSE

Za vsak analizirani vzorec lahko poleg testne epruvete dodamo še kontrolno epruveto, v kateri so celice pomešane v prisotnosti izotipskih kontrol (Ref. A07796).

1. V vsako testno epruveto dodajte 20 µl konjugiranih protiteles IOTest, po potrebi pa 20 µl izotipske kontrole v vsako kontrolno epruveto.
2. V vsako epruveto dodajte 100 µl testnega vzorca. Epruvete nežno stresajte.
3. Inkubirajte ga 15 do 20 minut pri sobni temperaturi (18–25 °C), zaščitenega pred svetlobo.
4. Nato izvedite lizo rdečih celic. Oglejte si brošuro VersaLyse (Ref. A09777) in po možnosti upoštevajte postopek, imenovan »s hkratno fiksacijo«, po katerem je treba dodati 1 ml mešanice »Fix-and-Lyse«, pripravljene sprotno. Takoj stresajte eno sekundo in inkubirajte 10 minut pri sobni temperaturi, zaščiteno pred svetlobo.
5. Centrifugirajte 5 minut pri 150 x g na sobni temperaturi.
6. Supernatant odstranite z aspiracijo.
7. Celično usedlino znova suspendirajte z uporabo 3 ml PBS.
8. Ponovite 5. korak.
9. Supernatant odstranite z aspiracijo in znova suspendirajte celično usedlino z uporabo:

- 0,5 ml ali 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehida, če je pripravke treba hraniti manj kot 24 ur. (0,1-% formaldehid PBS lahko dobimo z redčenjem 12,5 µl fiksirne raztopine IOTest 3 (Ref. A07800) pri njeni 10X koncentraciji v 1 ml PBS).
- 0,5 ml ali 1 ml PBS brez formaldehida, če je pripravke treba analizirati v 2 urah.

Opomba: v vseh primerih pripravke hranite na temperaturi od 2 do 8 °C in zaščitite pred svetlobo.

PRIČAKOVANE VREDNOSTI

V naših laboratorijih smo z zgoraj opisanim reagentom obdelali vzorce polne krvi 25 na videz zdravih darovalcev. Rezultati, pridobljeni s štetjem pozitivnih dogodkov, ki nas zanimajo v zvezi s tem reagentom, so navedeni v spodnjih preglednicah:

Pozitivna tarča	Številka	Povprečje (%)	SD (SO)	CV (%)
Monociti	25	98,28	0,88	0,90
Granulociti	25	99,69	0,42	0,42

Te vrednosti so zgolj reprezentativne. Vsak laboratorij mora določiti lastne pričakovane vrednosti za lokalno populacijo običajnih darovalcev.

USPEŠNOST

Podatke o zmogljivosti pridobimo z zgoraj opisanim postopkom na vzorcih krvi, starih manj kot 24 ur, ki so bili predhodno zbrani v sterilnih epruvetah s soljo EDTA kot antikoagulantom. Analizo se izvede v 2 urah po imunohistokemičnem barvanju.

SPECIFIČNOST

Molekula CD13, znana tudi kot N aminopeptidaza (APN), je transmembranska metaloproteaza tipa II z molekulsko maso 150–170 kDa. Ta molekula ima obsežno zunajcelično zaporedje in kratko intracitoplazemsko regijo. Zdi se, da se molekula CD13 veže kot proteinski dimer na nekovalenten način na površino celic (11). Antigen CD13 se zgodaj izraža v granulo-monocitni liniji (monociti, nevtrofilci, eozinofilci in bazofilci) in njihovih predanih prednikih (vmesni predniki, ki tvorijo mešane granulo-monocitne kolonije ali CFU-GM) (11,12,13,14).

Molekula CD13 je izražena tudi na celicah ne-hematopoetskih tkiv, kot so epitelne celice iz proksimalnih ledvičnih tubulov, celice, ki sestavljajo mejo črevesja, endotelijske celice, fibroblasti, stromalne celice iz kostnega mozga, osteoklasti in bazalne celice iz žolčnih kanalov (15).

Monoklonsko protitelo SJ1D1 reagira v periferni krvi z monociti, nevtrofilci, eozinofilci in bazofilci. Dodeljeno je bilo CD13 med 3. delavnico HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (delavnico HLDA o antigenih za diferenciacijo človeških levkocitov), ki je potekala v Oxfordu v Veliki Britaniji leta 1986 (koda WS: 285, razdelek M) (12).

NATANČNOST

Odstotke pozitivnih vrednosti smo določili z uporabo polne krvi. Vsak vzorec je bil obravnavan 4-krat, dvakrat dnevno 1 dan na 2 napravah z uporabo 2 serij reagentov z monoklonskimi protitelesi CD13-PE. Meritve (% pozitivnih) so bile opravljene na pretočnem citometru Navios. Analiza je bila izvedena na podlagi metode CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vrednotenje natančnosti kvantitativnih merilnih metod).

Naša merila sprejemljivosti so odvisna od števila pozitivnih dogodkov, izmerjenih za vsako populacijo:

- Če je pozitiven dogodek < 1.500, je CV < 15 %
- Če je pozitiven dogodek > 1.500, je CV < 10 %

Monociti							
Število pozitivnih dogodkov (povprečje) = 1119							
	Med upravljavci	Med citometri	Znotraj serije	Med serijami	Med postopki	Znotraj postopka	Skupaj
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulociti							
Število pozitivnih dogodkov (povprečje) = 23248							
	Med upravljavci	Med citometri	Znotraj serije	Med serijami	Med postopki	Znotraj postopka	Skupaj
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost CD13-PE smo ocenili s primerjavo rezultatov z referenčnim reagentom kot reagentom s potrjeno skladnostjo na nizu vzorcev polne krvi, obdelane na pretočnem citometru Navios. Odstopanje med testnim in referenčnim reagentom je bilo določeno na podlagi razlike med rezultati testa. Če je odstopanje znotraj dovoljenega območja napake ali vrednost p ne kaže pomembne razlike (> 0,05), se rezultati testov za oba reagenta štejejo za enakovredne.

Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Število darovalcev = 25				
Pozitivna tarča	Povprečje Δ	Δ % celičnega kriterija	vrednost p	REZULTATI
Monociti	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulociti	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

MEJA SLEPEGA VZORCA IN MEJA ZAZNAVANJA

Študija je bila izvedena skladno z metodo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zmogljivosti zaznavanja za merilne postopke v kliničnih laboratorijih). Meja zaznavanja (LOD) je najnižja koncentracija analita, ki jo je mogoče dosledno zaznati. Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Positive Target	Meja slepega vzorca (celic/µl)	Meja zaznavanja (celic/µl)
Monociti	0	4
Granulociti	2	4

OMEJITVE

1. S pretočno citometrijo lahko pride do napačnih rezultatov, če citometer ni bil točno nameščen, če puščanje fluorescence ni bilo ustrezno izravnano in če območja niso bila natančno pozicionirana.

2. Priporočljivo je uporabiti tehniko liziranja RBC s korakom pranja, saj ta reagent ni optimiziran za tehnike liziranja »brez pranja«.
3. Točne in ponovljive rezultate se bo doseglo, če se bo uporabilo postopke, ki so skladni s priloženim tehničnim listom in z načeli dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugirano protitelo tega reagenta je umerjeno, tako da zagotavlja najboljše razmerje med specifičnim/nespecifičnim signalnim razmerjem. Zato je pomembno, da pri vsakem testu upoštevamo razmerje med količino reagenta/količino vzorca.
5. V primeru hiperlevkocitoze razredčite kri v PBS, da se tako dobi vrednost približno 5 x 10^9 levkocitov/l (16).
6. Pri nekaterih bolezenskih stanjih, kot je huda ledvična odpoved ali hemoglobinopatije, je lahko liza rdečih krvničk počasna, nepopolna ali celo nemogoča. V tem primeru je priporočljivo izolirati mononuklearne celice z uporabo gradienta gostote (na primer Ficoll) pred barvanjem (17).
7. Pri bolnikih, ki se zdravijo s terapijo z antihumanimi monoklonskimi protitelesi, je lahko odkrivanje specifičnih ciljnih antigenov zmanjšano ali pa ga sploh ni zaradi delnega ali popolnega blokiranja s strani terapevtskega protitelesa.
8. Rezultate CD13-PE je treba razlagati v luči celotne klinične slike bolnika, vključno s: simptomi, anamnezo, podatki dodatnih testov in drugimi ustreznimi podatki.

Primere in reference si oglejte v prilogi.

BLAGOVNE ZNAMKE

Beckman Coulter, stiliziran logotip ter znamke izdelkov in storitev podjetja Beckman Coulter, omenjene v tem dokumentu, so blagovne znamke ali registrirane blagovne znamke podjetja Beckman Coulter, Inc. v Združenih državah Amerike in drugih državah.

DRUGI PODATKI

Za bolnike/uporabnike/tretje osebe v Evropski uniji in v državah z enakim regulativnim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskih pripomočkih za in vitro diagnostiko): če med uporabo tega pripomočka ali kot rezultat njegove uporabe pride do resnega incidenta, o tem poročajte proizvajalcu in/ali njegovemu pooblaščenemu predstavniku in svojemu nacionalnemu organu.

Summary of Safety and Performance (Povzetek o varnosti in zmogljivosti) je na voljo v bazi podatkov EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ZGODOVINA REVIZIJ

REVIDIRANA IZDAJA AD:	Datum izdaje: Oktober 2019

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AW	Februar 2022
Posodobitve za skladnost z globalno politiko označevanja Beckman Coulter in v skladu z zahtevami IVD-R (EU) 2017/746:	
Dodana poglavja	Številka BSI 2797, predvideni uporabnik, klinični pomen, koncentracija, točnost, natančnost, meja slepega vzorca in meja zaznavanja, dodatne informacije, zgodovina revizij.
Dodatne informacije	Oglejte si poglavja Omejitve
Izrazne ali tipografske posodobitve	Oglejte si poglavja Postopek, Zmogljivost, Omejitve, Opozorila in previdnostni ukrepi, Shranjevanje in stabilnost.
Odstranjena poglavja	Primer klinične uporabe, reagenti, ponovljivost znotraj laboratorija, linearnost
Posodobljena poglavja	Predvidena uporaba, Klasifikacija nevarnosti po GHS, Dokaz o poslabšanju stanja, Postopek, Priloga.

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AX	
Posodobljena poglavja	Dodaj kazaščino
Posodobljena poglavja	Shranjevanje in stabilnost

Revidirana različica	AY
Revidiran datum	Maj 2024
Posodobljeni prevodi	**Klinični pomen:**
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Seznam simbolov

Glosar simbolov je na voljo na beckman.com/techdocs (številka dokumenta B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD13
Klon	SJ1D1
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	KG1a cell line
Imunoglobulin	IgG1
Vrste	Miš
Prečišćavanje	Afinitetna hromatografija
Fluorohrom	R Phycoerythrin (PE)
Molarni odnos	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisije	575 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Konjugovano antitelo CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 ml, 20 µl/testu

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu

NAMENA

Ovo fluorohromno-konjugovano antitelo omogućava kvalitativnu i neautomatizovanu identifikaciju ćelijskih populacija koje eksprimiraju CD13 antigen prisutnih u humanim biološkim uzorcima pomoću protočne citometrije (pogledati odeljak „Uzorci“ u nastavku).

PRINCIP

Ovaj test se zasniva na sposobnosti određenih monoklonskih antitela da se vežu za antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično bojenje leukocita se obavlja inkubiranjem uzorka sa reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utiče, analiziraju se protočnom citometrijom.

Protočni citometar meri difuziju svetlosti i fluorescenciju ćelija. On omogućava razgraničenje populacije od interesa u okviru elektronskog prozora definisanog na histogramu, što je u korelaciji sa ortogonalnom difuzijom svetlosti (bočno rasejanje ili SS) i difuzijom uskougaone svetlosti (prednje rasejanje ili FS). Drugi histogrami koji kombinuju dva različita parametra koja postoje na citometru mogu se koristiti kao podrška u fazi regulacije, u zavisnosti od primene koju je korisnik odabrao.

Fluorescencija ograničenih ćelija se analizira kako bi se razlikovali pozitivno obojeni događaji od neobojenih događaja. Rezultati su prikazani kao procenat pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobijene regulacijom.

PREDVIĐENI KORISNIK

Ovaj proizvod je namenjen za upotrebu od strane laboratorijskih stručnjaka.

KLINIČKI ZNAČAJ

CD13-PE predstavlja CD13 antitelo korišćeno za identifikovanje i karakterizaciju ćelija koje eksprimiraju CD13 antigen pomoću protočne citometrije. Ovaj proizvod sam po sebi ne može da se koristi i nije namenjen za donošenje bilo kog dijagnostičkog zaključka.

Kada se koristi u kombinaciji sa drugim markerima, ovaj proizvod može da se koristi kod jedne ili više od sledećih funkcija:

- Kao pomoć u diferencijalnoj dijagnozi kod hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu i za nadgledanje pacijenata sa poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć u prognozi za pacijente koji imaju hematopoetsku neoplazmu.

Pogledajte sledeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

UZORCI

Uzorci iz venske krvi moraju se uzimati sterilnim epruvetama koje sadrže EDTA so kao antikoagulans.

Uzorke treba čuvati na sobnoj temperaturi (18–25°C) i ne tresti. Uzorke treba pre uzimanja uzorka za testiranje homogenizovati blagim mešanjem.

Uzorci se moraju analizirati u roku od 24 sati od venepunkcije.

KONCENTRACIJA

Pogledajte dokument „Certificate of Analysis“ (Sertifikat analize) za određeni lot na veb-sajtu www.beckman.com.

UPOZORENJE I MERE OPREZA

1. Ne koristite reagense nakon isteka roka trajanja.
2. Ne zamrzavajte.
3. Pre upotrebe sačekajte da se približi sobnoj temperaturi (18–25°C).
4. Izbegavati izloženost svetlosti.
5. Sprečite mikrobsku kontaminaciju reagenasa ili se mogu javiti netačni rezultati.
6. Rastvorima antitela koji sadrže natrijum azid (NaN_3) treba pažljivo rukovati. Ne uzimajte interno i izbegavajte svaki dodir sa kožom, sluzokožom i očima.

Pored toga, u kiseloj sredini, natrijum azid može formirati potencijalno opasnu hidrazoinsku kiselinu. Ako je potrebno da se odloži u otpad, preporučuje se da se reagens razblaži u velikoj zapremini vode pre sipanja u sistem kanalizacije kako bi se izbeglo taloženje natrijum azida u metalnim cevima i sprečila opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno infektivnim i njima se mora pažljivo rukovati (posebno: nošenje zaštitnih rukavica, odeće i zaštitnih naočara).
8. Nikada ne pipetirajte ustima i izbegavajte svaki kontakt uzoraka sa kožom, sluzokožom i očima.
9. Epruvete za uzorak krvi i potrošni materijal koji je korišćen za rukovanje treba odložiti u ad hoc kontejnere predviđene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad treba ukloniti prema lokalnim zahtevima.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno

SDS Bezbednosni list je dostupan na adresi beckman.com/techdocs

SKLADIŠTENJE I STABILNOST

Ovaj reagens se mora čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C i zaštićen od svetlosti, pre i posle otvaranja bočice.

Ispitivanje roka trajanja zatvorene bočice u odnosu na stabilnost: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dan(a).

DOKAZI POGORŠANJA

Bilo koja promena u fizičkom izgledu reagensa može ukazivati na pogoršanje i reagens ne treba koristiti.

Za dodatne informacije ili ako dobijete oštećen proizvod, pozovite korisnički servis kompanije Beckman Coulter na broj 800-742-2345 (SAD ili Kanada) ili pozovite svog lokalnog predstavnika kompanije Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans sa natrijum azidom može formirati eksplozivna jedinjenja u metalnim odvodnim vodovima. Pogledajte „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (16.8.76.) (Bilten Nacionalnog instituta za bezbednost i zdravlje na radu: Opasnost od eksplozivnih azida).
Da biste sprečili moguće taloženje jedinjenja azida, isperite cevi za otpad vodom nakon odlaganja u otpad nerazblaženog reagensa. Odlaganje u otpad natrijum azida mora biti u skladu sa odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI SE NE ISPORUČUJU UZ KOMPLET:

- Epruvete za uzorkovanje i materijal potreban za uzorkovanje.
- Automatske pipete sa nastavcima za jednokratnu upotrebu za 20 100 µl i 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizu.
- Reagens za liziranje eritrocita sa fazom ispiranja nakon liziranja. Na primer: VersaLyse (referentni broj A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primer: IOTest 3 fiksativni rastvor (referentni broj A07800).
- Izotipska kontrola PE: IOTest reagens (referentni broj A07796).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijum-fosfat; 0,145 M natrijum-hlorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska mešalica (vrtložnog tipa).
- Protočni citometar.

POSTUPAK SA VERSALYSE REAGENSOM

Za svaki analiziran uzorak je pored epruvete za uzorak moguće dodati i jednu kontrolnu epruvetu u kojoj se ćelije mešaju u prisustvu izotipske kontrole (referentni broj A07796).

1. Dodajte 20 µl specifičnog IOTest konjugovanog antitela u svaku epruvetu za uzorak i, ako je to potrebno, 20 µl kontrole izotipa u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µl uzorka za testiranje u svaku epruvetu za uzorak. Pažljivo izmešajte epruvete u vrtložnoj mešalici.
3. Inkubirajte 15 do 20 minuta na sobnoj temperaturi (18–25°C), zaštićeno od svetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje crvenih ćelija. Pogledajte VersaLyse (referentni broj A09777) letak i poželjno pratite postupak pod nazivom „sa istovremenom fiksacijom“, koji se sastoji od dodavanja 1 ml nezavisno pripremljene smeše za fiksiranje i liziranje („Fix-and-Lyse“). Odmah izmešajte u vrtložnoj mešalici jednu sekundu i inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi, zaštićeno od svetlosti.
5. Centrifugirajte 5 minuta na 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Ponovo suspendujte talog ćelija u 3 ml PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Aspiracijom uklonite supernatant i ponovo suspendujte talog ćelija u:

- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a plus 0,1% formaldehida ako će se preparati čuvati kraće od ovog broja sati: 24. (PBS sa 0,1% formaldehida može se dobiti razblaživanjem 12,5 µl IOTest 3 rastvora za fiksiranje (referentni broj A07800) u 10X koncentraciji u 1 ml PBS-a).
- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a bez formaldehida ako će se preparati analizirati u roku od ovog broja sati – 2.

Napomena: U svim slučajevima preparate čuvajte na temperaturi između 2°C i 8°C i zaštićene od svetlosti.

OČEKIVANE VREDNOSTI

U našim laboratorijama, uzorci pune krvi 25 očigledno zdravih donora tretirani su pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati dobijeni za broj pozitivnih događaja od interesa sa ovim reagensom navedeni su u tabeli u nastavku:

Pozitivan cilj	Broj	Srednja vrednost (%)	SD	CV (%)
Monociti	25	98,28	0,88	0,90
Granulociti	25	99,69	0,42	0,42

Ove vrednosti treba da služe samo kao reprezentativne vrednosti. Svaka laboratorija treba da uspostavi sopstvene očekivane vrednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o delovanju dobijeni su pomoću prethodno opisanog postupka na manje od 24 sata starim uzorcima krvi koji su prethodno prikupljeni sterilnim epruvetama za uzorke sa EDTA solju kao antikoagulansom. Analiza se vrši u roku od 2 sata od imunobojenja.

SPECIFIČNOST

Molekul CD13, takođe poznat i kao aminopeptidaza N (APN), je transmembranska metaloproteaza tipa II molekulske težine 150–170 kDa. Ovaj molekul ima veliki ekstracelularni niz i kratak intracitoplazmatski region. CD13 molekul vezuje se kao homodimer na nekovalentan način na površini ćelija (11). CD13 antigen se eksprimira rano u granulo-monocitnoj lozi, (monociti, neutrofili,eozinofili i bazofili) i njihovim usmerenim progenitorskim ćelijama (posredne progenitorske ćelije koje formiraju mešovite granulo-monocitne kolonije ili CFU-GM) (11,12,13,14).

Molekuli CD13 su takođe eksprimirani na ćelijama nehematopoetskog tkiva, kao što su epitelne ćelije proksimalnih renalnih tubula, ćelije koje čine četkastu prevlaku creva, endotelne ćelije, fibroblasti, stromalne ćelije iz koštane srži, osteoklasti i bazalne ćelije iz žučnih kanala (15).

Monoklonalno antitelo SJ1D1 reaguje u perifernoj krvi sa monocitima, neutrofilima, eozinofilima i sa bazofilima. Dodeljen je CD13 tokom konferencije „3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens“ (Treća HLDA konferencija o ljudskim antigenima leukocitne diferencijacije), koja je održana u Oksfordu, Velika Britanija, 1986.godine (Kod WS: 285, Odeljak M) (12).

PRECIZNOST

Procenat pozitivnih vrednosti utvrđen je pomoću pune krvi. Svaki uzorak je analiziran 4 puta, dva puta dnevno tokom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagenasa monoklonskog antitela CD13-PE. Merenja (% pozitivnog) su izvršena na Navios protočnom citometru. Analiza je obavljena na osnovu CLSI metoda EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procena preciznosti učinka kvantitativnih metoda merenja).

Naši kriterijumi prihvatljivosti zavise od broja pozitivnih događaja izmerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivan događaj <1.500, CV <15%
- Ako je pozitivan događaj >1.500, CV <10%

Monociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrednost) = 1119							
	Između više operatera	Između više citometara	Unutar jednog lota	Između više lotova	Između više analiziranja	Unutar jednog analiziranja	Ukupno
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrednost) = 23248							
	Između više operatera	Između više citometara	Unutar jednog lota	Između više lotova	Između više analiziranja	Unutar jednog analiziranja	Ukupno
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TAČNOST

Tačnost testa CD13-PE procenjena je poređenjem rezultata sa referentnim reagensom kao osnovom na kompletu uzoraka pune krvi analiziranim na Navios protočnom citometru. Odstupanje između testa i referentnog reagensa određeno je na osnovu razlike između rezultata testova. Ako je odstupanje u okviru dozvoljenog opsega greške ili p-vrednost ne ukazuje na značajnu razliku (>0,05), rezultati testova za ova dva reagensa se smatraju ekvivalentnim.

Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivan cilj	Srednja vrednost Δ	Δ % ćelijskih kriterijuma	p-vrednost	REZULTATI
Monociti	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulociti	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

LIMIT SLEPE PROBE I LIMIT DETEKCIJE

Izvršeno je ispitivanje u skladu s protokolom CLSI EP17-A2, „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Procena sposobnosti detekcije za postupke merenja u kliničkoj laboratoriji). Limit detekcije (LoD) je najniža koncentracija analita koja se može dosledno detektovati. Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli:

Positive Target	Limit slepe probe (ćelija/µl)	Limit detekcije (ćelija/µl)
Monociti	0	4
Granulociti	2	4

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti netačne rezultate ako citometar nije pravilno postavljen, ako fluorescentna curenja nisu ispravno kompenzirana ili ako regioni nisu pažljivo postavljeni.
2. Poželjno je koristiti tehniku liziranja RBC sa korakom ispiranja jer ovaj reagens nije optimizovan za tehnike liziranja „bez pranja“.
3. Tačni i ponovljivi rezultati će se dobijati sve dok su korišćeni postupci u skladu sa listom sa tehničkim podacima i postupci kompatibilni sa smernicama dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugovano antitelo ovog reagensa je kalibrisano tako da ponudi najbolji odnos specifičnog i nespecifičnog signala. Prema tome, važno je u svakom testu koristiti utvrđeni odnos zapremine reagensa i zapremine uzorka.
5. U slučaju hiperleukocitoze, razredite krv u PBS-u kako biste dobili vrednost od približno 5 x 10^9 leukocita/l (16).
6. U određenim stanjima bolesti, kao što su teška bubrežna insuficijencija ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak nemoguće. U tom slučaju se pre bojenja preporučuje izoliranje mononuklearnih ćelija upotrebom gradijenta gustine (na primer, fikol) (17).
7. Kod pacijenata lečenih terapijama antihumanim monoklonskim antitelima, detekcija specifičnih ciljanih antigena može biti umanjena ili odsutna usled delimične ili potpune blokade od strane terapijskog antitela.
8. Rezultate CD13-PE testa treba tumačiti u svetlu celokupne kliničke slike pacijenta, uključujući: simptome, kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i druge prikladne informacije.

Za primere i referentne materijale pogledati Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizovani logotip i Beckman Coulter robni i servisni žigovi koji se navode u ovom dokumentu jesu žigovi ili registrovani žigovi kompanije Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim zemljama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta/korisnika/treću stranu u Evropskoj uniji i zemljama sa identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o in vitro dijagnostičkim medicinskim sredstvima); ako je tokom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe došlo do ozbiljnog incidenta, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlašćenom predstavniku i svom nacionalnom organu.

Dokument Summary of Safety and Performance (Sažetak informacija o bezbednosti i učinku) dostupan je u EUDAMED bazi podataka: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORIJA REVIZIJA

REVIZIJA AD:	Datum izdavanja: Oktobar, 2019.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AW	Februar 2022.
Ažurirano radi usklađenosti sa smernicama za globalno obeležavanje kompanije Beckman Coulter u skladu sa zahtevima IVD-R (EU)2017/746:	
Dodati odeljci	BSI 2797 broj, Predviđeni korisnik, Klinički značaj, Koncentracija, Preciznost, Tačnost, Limit slepe probe i limit detekcije, Dodatne informacije, Istorija revizija.
Dodate informacije	Pogledati odeljke Ograničenja
Ažuriranje formulacija ili tipografije	Pogledati odeljke Postupak, Učinak, Ograničenja, Upozorenja i mere opreza, Čuvanje i stabilnost.
Uklonjeni odeljci	Primeri kliničkih primena, Reagensi, Intralaboratorijska reproducibilnost, Linearnost
Dopunjeni odeljci	Namena, GHS klasifikacija opasnosti, Dokaz propadanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AX	
Dopunjeni odeljci	Dodajte kazaški
Dopunjeni odeljci	Skladištenje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Maj 2024
Ažurirani prevodi	**Klinički značaj:**
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Ključ za simbole

Rečnik simbola je dostupan na adresi beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Specifikācijas
Specifika	CD13
Klons	SJ1D1
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunogēns	KG1a cell line
Imūnglobulīns	IgG1
Suga	Pele
Attīrīšana	Afinitātes hromatogrāfija
Fluorohroms	R Phycoerythrin (PE)
Molārā attiecība	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ierosme	488 nm
Izstarojuma lielākā vērtība	575 nm
Buferšķīdums	PBS pH 7,2 ar 2 mg/ml BSA un 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugētā antiviela CD13-PE

REF A07762 100 testi; 2 ml, 20 µl uz testu

***In vitro* diagnostikas lietošanai**

PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

Ar fluorohromu konjugētā antiviela nodrošina tādu šūnu populāciju kvalitatīvo un neautomatizēto noteikšanu, kam ir CD13 antigēna ekspresija un kas ir cilvēka bioloģiskajos paraugos, izmantojot plūsmas citometriju (skatīt tālāk sadaļu „Paraugi").

PRINCIPS

Šī testa pamatā ir specifisku monoklonālu antivielu spēja saistīties ar leikocītu izdalītām antigēnu determinantēm.

Leikocītu specifiskā iekrāsošana tiek veikta, inkubējot paraugu ar IOTest reaģentu. Pēc tam eritrocīti tiek atdalīti lizēšanas procesā, un leikocīti, ko šis process neietekmē, tiek analizēti, izmantojot plūsmas citometriju.

Plūsmas citometrs mēra gaismas difūziju un šūnu fluorescenci. Tādēļ ir iespējama interesējošās populācijas ierobežošana elektroniskajā logā, kas definēts histogrammā, kas korelē ar gaismas ortogonālo difūziju (sānu izkliede jeb SS) un šaurleņķa gaismas difūziju (priekšējā izkliede jeb FS). Kā papildu metodes sinhronizācijas procesā iespējams izmantot citas histogrammas, kurās iespējams kombinēt divus dažādus citometrā pieejamos parametrus atkarībā no lietotāja izvēlētā izmantojuma.

Tiek analizēta atdalīto šūnu fluorescence, lai atšķirtu pozitīvi iekrāsotos notikumus no neiekrāsotajiem. Rezultāti tiek izteikti kā procentuālais lielums no pozitīviem notikumiem attiecībā pret visiem notikumiem, kas iegūti selekcijā.

PAREDZĒTAIS LIETOTĀJS

Šis produkts ir paredzēts profesionālai lietošanai laboratorijā.

KLĪNISKAIS NOZĪMĪGUMS

CD13-PE ir CD13 antiviela, ko izmanto, lai ar plūsmas citometriju noteiktu un raksturotu šūnas, kas ekspresē CD13 antigēnu. Ar vienu pašu šo izstrādājumu nevar iegūt nekādu diagnostisku secinājumu, un tas nav tam paredzēts.

Izmantojot kopā ar citiem marķieriem, šo izstrādājumu var lietot vienai vai vairākām tālāk norādītajām funkcijām.

- Lai palīdzētu veikt diferenciāldiagnostiku pacientiem ar hematoloģiskām patoloģijām, kuriem, iespējams, ir asinsrades neoplazma, un lai kontrolētu pacientus ar zināmu asinsrades neoplazmu.
- Lai palīdzētu noteikt prognozi pacientiem ar asinsrades neoplazmu.

Skatiet tālāk sniegtās atsauces.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PARAUGI

Venozās asinis jāņem, izmantojot sterilas mēģenes, kurās kā antikoagulants ir izmantots EDTA sāls.

Paraugi ir jāuzglabā istabas temperatūrā (18–25 °C), un tos nedrīkst sakratīt. Pirms testa parauga ņemšanas ir jāveic paraugu homogenizācija, viegli saskalojot paraugus.

Paraugu analīze ir jāveic 24 stundu laikā pēc vēnas punkcijas.

KONCENTRĀCIJA

Konkrētai partijai atbilstošo analīzes sertifikātu skatiet vietnē www.beckman.com.

BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

1. Neizmantojiet reaģentu pēc derīguma termiņa beigām.
2. Nedrīkst sasaldēt.
3. Pirms izmantošanas ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai (18–25 °C).
4. Minimizējiet ekspozīciju gaismas iedarbībai.
5. Izvairieties no reaģentu bakteriālas kontaminācijas, jo iespējami viltus rezultāti.
6. Strādājot ar antivielu šķīdumiem, kuru sastāvā ir nātrija azīds (NaN_3), jāievēro piesardzība. Neizmantojiet iekšķīgi un nepieļaujiet saskari ar ādu, gļotādu un acīm.

   Turklāt skābā vidē nātrija azīds var radīt potenciāli bīstamo hidrazoīdskābi. Ja to nepieciešams izmest, reaģentu ieteicams šķīdināt lielā daudzumā ūdens un izliet to kanalizācijas sistēmā, lai novērstu nātrija azīda uzkrāšanos metāla caurulēs un novērstu sprādziena risku.

7. Visi asins paraugi ir jāuzskata par potenciāli infekcioziem, un ar tiem jārīkojas, ievērojot piesardzību (respektīvi, jāvalkā aizsargcimdi, aizsargtērpi un brilles).
8. Nekādā gadījumā neizmantojiet muti, lai darbotos ar pipeti. Paraugi nekādā gadījumā nedrīkst saskarties ar ādu, gļotādu un acīm.
9. Darbā izmantotās asiņu mēģenes un vienreizlietojamie materiāli ir jāizmet ad hoc konteineros, kas paredzēti sadedzināšanai.
10. Ir jāveic reaģentu un atkritumu utilizācija atbilstoši vietējām prasībām.

ĶĪMISKO VIELU KLASIFICĒŠANAS UN MARĶĒŠANAS VISPĀRĒJI SASKAŅOTĀS SISTĒMAS BĪSTAMĪBAS KLASIFIKĀCIJA

Nav klasificēts kā bīstams

SDS Drošības datu lapa ir pieejama vietnē: beckman.com/techdocs

GLABĀŠANA UN STABILITĀTE

Reaģents ir jāuzglabā 2–8 °C temperatūrā un jāsargā no gaismas pirms un pēc flakona atvēršanas.

Aizvērta flakona glabāšanas laiks saskaņā ar stabilitātes pētījumu: 1095 dienas.

Atvērta flakona stabilitāte: reaģents ir stabils 180 dienas.

SADALĪŠANĀS PAZĪMES

Jebkuras reaģentu pazīmju izmaiņas var norādīt, ka reaģents sadalās un to nedrīkst izmantot.

Lai iegūtu papildu informāciju vai arī ja saņemtais izstrādājums ir bojāts, zvaniet Beckman Coulter klientu servisam pa tālruni 800-742-2345 (ASV vai Kanāda) vai sazinieties ar vietējo Beckman Coulter pārstāvi.

SATURS

Nātrija azīda konservants var izveidot sprādzienbīstamus savienojumus metāla notekcaurulēs. Skatīt NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (NIOSH biļetens: Azīdu sprādzienbīstamība) (16.8.76.).
Lai nepieļautu iespējamo azīda savienojumu uzkrāšanos, pēc neatšķaidītā reaģenta izmešanas izskalojiet kanalizācijas caurules ar ūdeni. Nātrija azīda izmešana ir jāveic saskaņā ar atbilstošajiem vietējiem noteikumiem.

NEPIECIEŠAMIE MATERIĀLI, KAS NEIETILPST KOMPLEKTĀ

- Paraugu ņemšanai nepieciešamās mēģenes un materiāli.
- Automātiskās pipetes ar vienreizlietojamiem uzgaļiem, kas paredzētas 20, 100 un 500 µl.
- Plastmasas hemolīzes mēģenes.
- Eritrocītu lizēšanas reaģents ar mazgāšanas fāzi pēc lizēšanas. Piemērs: VersaLyse (ats. A09777).
- Leikocītu fiksācijas reaģents. Piemērs: IOTest 3 fiksatīvais šķīdums (ats. A07800).
- Izotipa kontrole PE: IOTest reaģents (ats. A07796).
- Buferšķīdums (PBS: 0,01 M nātrija fosfāta; 0,145 M nātrija hlorīda; pH 7,2).
- Centrifugējiet.
- Automātisks maisītājs (samaisīšanas tipa).
- Plūsmas citometrs.

PROCEDŪRA AR REAĢENTU VERSALYSE

Katram analizētajam paraugam papildus testa mēģenei var izmantot vienu kontroles mēģeni, kurā šūnas tiek sajauktas izotipu kontroles klātbūtnē (ats. A07796).

1. Katrai testa mēģenei pievienojiet 20 µl specifiskas IOTest konjugētas antivielas un, ja nepieciešams, katrai kontroles mēģenei pievienojiet 20 µl izotipa kontroles.
2. Pievienojiet 100 µl testa parauga katrai mēģenei. Saudzīgi samaisiet mēģenes.
3. Inkubējiet 15–20 minūtes istabas temperatūrā (18–25 °C), sargājot no gaismas.
4. Pēc tam veiciet eritrocītu lizēšanu. Skatiet VersaLyse (ats. A09777) lietošanas instrukciju, un ir vēlams izmantot procedūru ar nosaukumu „ar vienlaicīgu fiksāciju", kas tiek veikta, pievienojot 1 ml ekstemporāli izgatavota „Fix-and-Lyse" maisījuma. Nekavējoties samaisiet uz vienu sekundi un inkubējiet mēģeni 10 minūtes istabas temperatūrā, sargājot to no gaismas iedarbības.
5. Centrifugējiet 5 minūtes istabas temperatūrā, izmantojot 150 x g.
6. Aspirējot noņemiet virsējo slāni.
7. Atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu ar 3 ml PBS.
8. Atkārtojiet 5. darbību.
9. Aspirējot noņemiet virsējo slāni un atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu, izmantojot:

- 0,5 ml vai 1 ml PBS ar 0,1 % formaldehīda, ja preparātus ir paredzēts uzglabāt mazāk nekā 24 stundas. (0,1 % formaldehīda PBS var iegūt, atšķaidot 12,5 µl IOTest 3 fiksācijas šķīduma (ats. A07800) 10X koncentrācijā ar 1 ml PBS).
- 0,5 ml vai 1 ml PBS bez formaldehīda, ja ir paredzēts analizēt sagataves 2 stundu laikā.

Piezīme. Sagatavotos maisījums vienmēr uzglabājiet 2–8 °C temperatūrā un sargājiet no gaismas.

PAREDZAMĀS VĒRTĪBAS

Mūsu laboratorijās tika apstrādāti 25 acīmredzami veselu donoru pilnasins paraugi, izmantojot iepriekš aprakstīto reaģentu. Ar šo reaģentu iegūtie interesējošo pozitīvo notikumu rezultāti skaitliskā veidā ir sniegti tālāk tabulā.

Pozitīvais mērķis	Numurs	Aritmētiskais vidējais (%)	SN	Variācijas koeficients (%)
Monocīti	25	98,28	0,88	0,90
Granulocīti	25	99,69	0,42	0,42

Šīm vērtībām ir tikai raksturojošs nolūks. Katrai laboratorijai jānosaka savas paredzamās vērtības, kas iegūtas no veseliem vietējās populācijas donoriem.

VEIKTSPĒJA

Veiktspējas dati tiek iegūti, izmantojot iepriekš aprakstīto procedūru mazāk nekā 24 stundu veciem asins paraugiem, kas iepriekš paņemti sterilās mēģenēs ar EDTA sāli kā antikoagulantu. Analīze tiek veikta 2 stundu laikā pēc imūnkrāsošanas metodes izmantošanas.

SPECIFIKA

CD13 molekula jeb N-aminopeptidāze (APN) ir II tipa transmembrānas metālproteāze ar molmasu 150–170 kDa. Šai molekulai ir izvērsta ārpussūnu ķēde un īss intracitoplazmas reģions. CD13 molekula piesaistās šūnu virsmai kā homodimērs ar nekovalentu saiti (11). CD13 antigēna ekspresija notiek agri granulveida monocītu līnijā (monocīti, neitrofili, eozinofili un bazofili) un tiem piesaistītajos progenitoros (starpposma progenitoros, kas veido jauktas granulveida monocītu kolonijas jeb CFU-GM) (11, 12, 13, 14).

CD13 molekulas ekspresija notiek arī nehematopoētisku audu šūnās, piemēram, epitēlija šūnās no proksimālajām nieru caurulītēm, šūnās, kas veido zarnu bārkstiņas, endotēlija šūnās, fibroblastos, stromas šūnās no kaulu smadzenēm, osteoklastos un bazālajās šūnās no žults dziedzeriem (15).

Monoklonālā antiviela SJ1D1 perifērajās asinīs reaģē ar monocītiem, neitrofiliem, eozinofiliem un bazofiliem. Tā tika piešķirta CD13 pasākumā 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3. darbnīca saistībā ar cilvēku leikocītu diferencēšanas antivielām — HLDA), kas notika Oksfordā, Lielbritānijā, 1986. gadā (WS kods 285, M sekcija) (12).

PRECIZITĀTE

Procentuāli pozitīvās vērtības tika noteiktas, izmantojot pilnasinis. Katru paraugu analizēja 4 reizes: divreiz dienā 1 dienu 2 instrumentos, izmantojot 2 partijas CD13-PE monoklonālu antivielu reaģentu. Mērījumus (% pozitīvs) veica Navios plūsmas citometrā. Analīzi veica, pamatojoties uz CLSI metodi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatīvo mērīšanas metožu precizitātes veiktspējas novērtēšana).

Mūsu pieņemšanas kritēriji ir atkarīgi no katrai populācijai noteikto pozitīvo notikumu skaita.

- Ja pozitīvs notikums < 1500, variācijas koeficients < 15 %
- Ja pozitīvs notikums > 1500, variācijas koeficients < 10 %

Monocīti							
Pozitīvo notikumu skaits (aritmētiskais vidējais) = 1119							
	Starp operatoriem	Starp citometriem	Partijā	Starp partijām	Starp analīzēm	Analīzē	Kopā
Variācijas koeficients (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
REZULTĀTI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocīti							
Pozitīvo notikumu skaits (aritmētiskais vidējais) = 23248							
	Starp operatoriem	Starp citometriem	Partijā	Starp partijām	Starp analīzēm	Analīzē	Kopā
Variācijas koeficients (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
REZULTĀTI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRECIZITĀTE

CD13-PE precizitāti novērtēja, pilnasins paraugu kopas, kas analizēti Navios plūsmas citometrā, rezultātus salīdzinot ar atsauces reaģentu kā predikātu. Novirzi starp testa un atsauces reaģentu noteica, pamatojoties uz testu rezultātu atšķirību. Ja novirze atbilst pieļaujamajam kļūdas diapazonam vai p vērtība neliecina par nozīmīgu atšķirību (> 0,05), tad abu reaģentu testu rezultāti uzskatāmi par līdzvērtīgiem.

Iegūtie rezultāti ir apkopoti nākamajā tabulā.

Donoru skaits = 25				
Pozitīvais mērķis	Aritmētiskais vidējais Δ	Δ % šūnu kritēriji	p vērtība	REZULTĀTI
Monocīti	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulocīti	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

TUKŠO PARAUGU ROBEŽVĒRTĪBA UN NOTEIKŠANAS ROBEŽVERTĪBA

Pētījums tika veikts saskaņā ar CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klīniskās laboratorijas mērījumu procedūru noteikšanas spēju izvērtējums). Noteikšanas robežvērtība (NR) ir zemākā analīta koncentrācija, ko iespējams konsekventi noteikt. Iegūtie rezultāti ir apkopoti tālāk tabulā.

Positive Target	Tukšo paraugu robežvērtība (šūnas/µl)	Noteikšanas robežvērtība (šūnas/µl)
Monocīti	0	4
Granulocīti	2	4

IEROBEŽOJUMI

1. Ja citometrs nav novietots precīzi līdzeni, ja nav pareizi kompensētas fluorescences noplūdes un ja reģioni nav uzmanīgi novietoti, plūsmas citometrija var radīt viltus rezultātus.
2. Ir ieteicams izmantot RBC lizēšanas paņēmienu ar mazgāšanas darbību, jo šis reaģents nav optimizēts izmantošanai lizēšanas paņēmienā „bez mazgāšanas".
3. Iegūtie rezultāti ir precīzi un reproducējami, ja visas izmantotās procedūras tiek izpildītas atbilstoši tehniskajai lietošanas instrukcijai un ir saskaņā ar labu laboratorijas praksi.
4. Šī reaģenta konjugētā antiviela ir kalibrēta tā, lai nodrošinātu labāko specifiska signāla/nespecifiska signāla attiecību. Tāpēc ir ļoti svarīgi ievērot reaģenta tilpuma/parauga tilpuma attiecību katrā testā.

5. Hiperleikocitozes gadījumā atšķaidiet asinis ar PBS, lai iegūtā vērtība būtu apmēram 5 x 10^9 leikocīti/l (16).
6. Dažos slimību stāvokļos, piemēram, izteiktas nieru mazspējas vai hemoglobinopātijas gadījumā, eritrocītu lizēšana var būt lēna, nepilnīga vai pat neiespējama. Šajā gadījumā pirms iekrāsošanas ir ieteicams izolēt mononukleārās šūnas, izmantojot blīvuma gradientu (piemēram, Ficoll) (17).
7. Pacientiem, ko ārstē ar anti-cilvēka monoklonālas antivielas līdzekļiem, specifisku mērķa antigēnu noteikšana var būt pasliktināta vai tās var nebūt, jo to daļēji vai pilnībā bloķē terapeitiskā antiviela.
8. CD13-PE rezultāti jāinterpretē, ņemot vērā pacienta kopējo klīnisko prezentāciju, tajā skaitā simptomus, slimības vēsturi, papildu testu rādītājus un citu atbilstošu informāciju.

Pielikumā skatiet piemērus un atsauces.

PREČU ZĪMES

Beckman Coulter, stilizētais logotips un Beckman Coulter preču un pakalpojumu zīmes, kas minētas šeit, ir Beckman Coulter, Inc. preču zīmes vai reģistrētas preču zīmes Amerikas Savienotajās Valstīs un citās valstīs.

PAPILDINFORMĀCIJA

Attiecībā uz pacientiem/lietotājiem/trešajām personām Eiropas Savienībā vai valstīs ar identisku regulatīvo režīmu (Regula (ES) 2017/746 par in vitro diagnostikas medicīniskām ierīcēm); ja ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā rodas nopietns negadījums, informējiet par to ražotāju un/vai tā pilnvaroto pārstāvi, kā arī valsts iestādi.

Summary of Safety and Performance (Drošuma un veiktspējas kopsavilkums) ir pieejams EUDAMED datubāzē: ec.europa.eu/tools/eudamed.

PĀRSKATĪŠANAS VĒSTURE

AD VERSIJA:	Laidiena datums: 2019. gada oktobris

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AW	2022. gada februāris
Atjauninājumi atbilst Beckman Coulter vispārējai marķēšanas politikai un IVD-R (ES)2017/746 prasībām:	
Pievienotas iedaļas	BSI 2797 numurs, Paredzētais lietotājs, Klīniskais nozīmīgums, Koncentrācija, Precizitāte, Precizitāte, Tukšo paraugu robežvērtība un noteikšanas robežvērtība, Papildinformācija, Pārskatīšanas vēsture.
Pievienota informācija	Skatīt iedaļas Ierobežojumi.
Formulējuma vai tipogrāfiski atjauninājumi	Skatīt iedaļas Procedūra, Veiktspēja, Ierobežojumi, Brīdinājumi un piesardzības pasākumi, Glabāšana un Stabilitāte.
Izņemtās iedaļas	Klīniskā lietojuma piemērs, reaģenti, reproducējamība laboratorijā, linearitāte.
Atjaunināt̄ās sadaļas	Paredzētā lietošana, Ķīmisko vielu klasificēšanas un marķēšanas vispārēji saskaņotās sistēmas bīstamības klasifikācija, Sadalīšanās pazīmes, Procedūra, Pielikums.

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AX	
Atjaunināt̄ās sadaļas	Pievienot kazahu valodu
Atjaunināt̄ās sadaļas	Glabāšana un stabilitāte

Pārskatītā versija	AY
Pārskatītā izdevuma datums	Maijs 2024
Atjauninātie tulkojumi	**Klīniskais nozīmīgums:**
Atjaunināt̄ās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Simbolu skaidrojumi

Simbolu glosārijs ir pieejams vietnē beckman.com/techdocs (dokumenta numurs B60062)

	Специфікації
Специфічність	CD13
Клон	SJ1D1
Гібридома	SP2/0 x balb/c
Імуноген	KG1a cell line
Імуноглобулін	IgG1
Вид	Миша
Очищення	Афінна хроматографія
Флуорохром	R Phycoerythrin (PE)
Молярне співвідношення	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-збудження	488 нм
Пік випромінювання	575 нм
Буфер	Розчин ФСБ pH 7,2 плюс бичачий сироватковий альбумін (БСА) 2 мг/мл та 0,1% NaN_3

Кон'юговане антитіло IOTest CD13-PE

REF A07762 100 тестів; 2 мл, 20 мкл/тест

Для діагностики *in vitro*.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Ці антитіла, кон'юговані з флуорохромом, забезпечують якісну та неавтоматизовану ідентифікацію популяцій клітин, що експресують антиген CD13, присутніх у біологічних пробах людини, за допомогою проточної цитометрії (див. розділ «Проби» нижче).

ПРИНЦИП

Цей тест базується на здатності специфічних моноклональних антитіл зв'язуватися з антигенними детермінантами, які експресуються лейкоцитами.

Специфічне забарвлення лейкоцитів здійснюється через інкубацію проби з реагентом IOTest. Еритроцити далі видаляють за допомогою лізису, а лейкоцити, на які не впливає цей процес, досліджують методом проточної цитометрії.

Проточний цитометр вимірює розсіювання світла та флуоресценцію клітин. Це робить можливим розмежування досліджуваної популяції всередині електронного вікна, що визначається на гістограмі, яка співвідносить ортогональне розсіювання світла (бічне розсіювання або Side Scatter — SS) і вузькокутове розсіювання світла (пряме розсіювання або Forward Scatter — FS). Інші гістограми, що поєднують два різні параметри, доступні на цитометрі, можна використовувати для допомоги на етапі гейтингу залежно від програми, вибраної користувачем.

Флуоресценція обмеженої популяції клітин аналізується, щоб розрізнити події з позитивно забарвленими клітинами й незабарвленими. Результати виражаються як відсоток позитивних подій відносно всіх подій, зареєстрованих за допомогою гейтингу.

ПЕРЕДБАЧУВАНИЙ КОРИСТУВАЧ

Цей продукт призначений для професійного використання в лабораторії.

КЛІНІЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ

CD13-PE — це антитіло CD13, яке використовується для ідентифікації та характеристики клітин, що експресують антиген CD13, методом проточної цитометрії. Цей виріб за ізольованого використання не може застосовуватись для генерації жодних діагностичних висновків, він не призначений для цього.

Під час використання разом з іншими маркерами цей продукт можна використовувати в одному або декількох з нижченаведених застосувань.

- Як допоміжний засіб під час проведення диференціальної діагностики в пацієнтів з відхиленнями в результатах гематологічних досліджень із підозрою на наявність гематопоетичного новоутворення, а також для моніторингу пацієнтів з відомим гематопоетичним новоутворенням.
- У якості допоміжного засобу при прогнозуванні подальшого перебігу хвороби у пацієнтів з гематопоетичним новоутворенням.

Див. такі посилання:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ПРОБИ

Венозну кров потрібно брати в стерильні пробірки, що містять ангикоагулянт — сіль ЕДТА.

Проби слід зберігати за кімнатної температури (18–25°C), і їх не слід струшувати. Перш ніж узяти пробу для тестування, проби потрібно гомогенізувати за допомогою обережного перемішування.

Проби потрібно проаналізувати не пізніше ніж через 24 години після венепункції.

КОНЦЕНТРАЦІЯ

Див. сертифікат аналізу для серії на вебсайті www.beckman.com.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.
2. Не заморожуйте.
3. Доведіть до кімнатної температури (18–25°C) перед використанням.
4. Зведіть до мінімуму вплив світла.
5. Уникайте мікробної контамінації реагентів, інакше можуть бути отримані помилкові результати.
6. Розчини антитіл, які містять азид натрію (NaN_3), треба обробляти обережно. Не приймайте внутрішньо й уникайте будь-якого контакту зі шкірою, слизовими оболонками та очима.

Крім того, у кислому середовищі азид натрію може утворити потенційно небезпечну азотистоводневу кислоту. Якщо його потрібно утилізувати, рекомендується розвести реагент у великій кількості води перед зливанням у водостічну систему, щоб уникнути накопичення азиду натрію на поверхні металевих труб і запобігти небезпеці вибуху.

7. Усі проби крові слід розглядати як потенційно інфекційні та поводитися з ними обережно (зокрема, використовуючи захисні рукавички, халати й окуляри).
8. У жодному разі не піпетуйте ротом та уникайте потрапляння проб на шкіру, слизові оболонки та в очі.
9. Пробірки для крові та одноразові матеріали, які використовуються для оброблення, слід викидати в спеціальні контейнери, вміст яких призначений для спалювання.
10. Реагенти та відходи потрібно утилізувати відповідно до місцевих вимог.

КЛАСИФІКАЦІЯ НЕБЕЗПЕКИ ЗА СИСТЕМОЮ GHS

Не класифікуються як небезпечні

SDS Паспорт безпеки доступний на сайті beckman.com/techdocs

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Цей реагент потрібно зберігати за температури від 2 до 8°C у захищеному від світла місці, як до, так і після відкриття флакона.

Термін придатності вмісту закритого флакону відповідно до дослідження стабільності: 1095 день.

Стабільність після відкриття флакона: реагент стабільний 180 діб.

ОЗНАКИ ПСУВАННЯ

Будь-яка зміна зовнішнього вигляду реагентів може вказувати на псування, і реагент не слід використовувати.

Щоб отримати додаткову інформацію або повідомити про отримання пошкодженого продукту, зателефонуйте до Служби обслуговування клієнтів Beckman Coulter за номером 800-742-2345 (США або Канада) чи зверніться до місцевого представника компанії Beckman Coulter.

ЗМІСТ

Консервант азид натрію може утворювати вибухонебезпечні сполуки в металевих зливних трубопроводах. Див. Бюлетень Національного інституту з охорони праці та промислової гігієни (NIOSH) Explosive Azide Hazard (Вибухонебезпечні азиди) (16.8.76).
Щоб уникнути можливого утворення сполук азиду, промийте зливні труби водою відразу після утилізації нерозведеного реагенту. Реагенти, що містять азид натрію, треба утилізувати з дотриманням відповідних місцевих норм.

ПОТРІБНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ У КОМПЛЕКТ

- Пробірки для проб і матеріали, потрібні для забору проб.
- Автоматичні піпетки з одноразовими наконечниками на 20, 100 і 500 мкл.
- Пластикові пробірки для гемолізу.
- Реагент для лізису еритроцитів з етапом промивання після лізису. Наприклад: VersaLyse (Ref. A09777).
- Реагент для фіксації лейкоцитів. Наприклад: розчин для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ізотипічний контроль PE: реагент IOTest (Ref. A07796).
- Буфер (ФСБ: 0,01 моль фосфату натрію; 0,145 моль хлориду натрію; pH 7,2).
- Центрифугування.
- Автоматичний змішувач (типу вортекс).
- Проточний цитометр.

ПРОЦЕДУРА З РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для кожної аналізованої проби на додачу до тест-пробірки може бути використана одна контрольна пробірка, у якій клітини змішано в присутності ізотипічного контролю (Ref. A07796).

1. Додайте до кожної тестової пробірки 20 мкл специфічних кон'югованих антитіл IOTest, і, якщо потрібно, 20 мкл ізотипічного контролю до кожної контрольної пробірки.
2. Додайте 100 мкл проби для тестування в кожну пробірку. Обережно змішайте вміст пробірок вихровим способом.
3. Витримайте протягом 15–20 хвилин за кімнатної температури (18–25°C) у захищеному від світла місці.
4. Потім виконують лізис еритроцитів. Перегляньте вкладний листок VersaLyse (Ref. A09777) і за можливості дотримуйтеся процедури з одночасною фіксацією, яка полягає в додаванні 1 мл суміші Fix-and-Lyse, приготованої безпосередньо перед використанням. Відразу змішайте вихровим способом упродовж однієї секунди й витримайте протягом 10 хвилин за кімнатної температури в захищеному від світла місці.
5. Центрифугуйте за кімнатної температури протягом 5 хвилин зі швидкістю 150 g.
6. Видаліть надосадову рідину аспіратором.
7. Ресуспендуйте осад клітин у 3 мл ФСБ.
8. Повторіть крок 5.
9. Видаліть надосадову рідину аспіратором і ресуспендуйте осад клітин, використовуючи наведене далі.

- 0,5 мл або 1 мл ФСБ плюс 0,1% формальдегіду, якщо препарати передбачається зберігати менше ніж 24 годин. (Розчин ФСБ, що містить 0,1% формальдегіду, можна отримати за допомогою розведення 12,5 мкл розчину для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800) за його 10-кратної концентрації в 1 мл ФСБ).
- 0,5 мл або 1 мл ФСБ без формальдегіду, якщо препарати будуть аналізувати впродовж наступних 2 годин.

Примітка. У всіх випадках препарати слід зберігати в захищеному від світла місці за температури 2–8°C.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

У наших лабораторіях проби цільної крові 25 практично здорових донорів обробляли з використанням реагенту, описаного вище. Отримані результати підрахунку позитивних подій, які досліджуються, з використанням цього реагенту наведено в таблиці нижче:

Цільова позитивна популяція	Число	Середнє значення (%)	СВ	КВ (%)
Моноцити	25	98,28	0,88	0,90
Гранулоцити	25	99,69	0,42	0,42

Ці значення призначені лише для репрезентативних цілей. Кожна лабораторія має встановити власний діапазон очікуваних значень серед місцевої популяції здорових донорів.

ЕФЕКТИВНІСТЬ

Робочі показники ефективності отримуються з використанням процедури, описаної вище, на пробах крові, які були відібрані в стерильні пробірки із сіллю ЕДТА як антикоагулянтом, а також зберігалися менше ніж 24 години. Аналіз проводиться впродовж 2 годин після імунного фарбування.

СПЕЦИФІЧНІСТЬ

Молекула CD13, також відома як N-амінопептидаза (APN), являє собою трансмембранну металопротеазу типу II з молекулярною масою 150–170 кДа. Ця молекула має велику позаклітинну послідовність і коротку внутрішньоцитоплазматичну область. Молекула CD13, згідно наявних даних, може нековалентно з'єднуватись як гомодимер на поверхні клітин (11). Антиген CD13 експресується на ранній стадії на клітинах гранулоцитарно-макрофагальної лінії (моноцити, нейтрофіли, еозинофіли та базофіли) та їх комітованих попередниках (проміжні попередники утворюють змішані гранулоцитарно-макрофагальні колонії або CFU-GM) (11,12,13,14).

Молекула CD13 також експресується на клітинах негемопоетичних тканин, таких як епітеліальні клітини проксимальних ниркових канальців, клітини, з яких складається щіткова облямівка кишечника, ендотеліальні клітини, фібробласти, стромальні клітини кісткового мозку, остеокласти та базальні клітини з жовчних проток (15).

Моноклональні антитіла SJ1D1 реагують в периферичній крові з моноцитами, нейтрофілами, еозинофілами та базофілами. Їх було віднесено до CD13 під час третього HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Семінару HLDA з питань антигенів для диференціації лейкоцитів людини), що проходив в Оксфорді, Великобританія, в 1986 році (WS Code: 285, Section: M) (12).

ПРЕЦИЗІЙНІСТЬ

Процент позитивних значень визначали за допомогою цільної крові. Кожну пробу обробляли 4 рази, двічі на добу впродовж 1 доби на 2 приладах, використовуючи 2 серії реагентів моноклональних антитіл CD13-PE. Вимірювання (% позитивних значень) виконували на проточному цитометрі Navios. Аналіз проводили на основі методу CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оцінювання прецизійності кількісних методів вимірювання).

Наші критерії прийнятності залежать від кількості позитивних подій, виміряних для кожної популяції.

- Якщо кількість позитивних подій < 1500, КВ < 15%
- Якщо кількість позитивних подій > 1500, КВ < 10%

Моноцити							
Кількість позитивних подій (середнє значення) = 1119							
	Між операторами	Між цитометрами	У межах однієї серії	Між серіями	Між серіями вимірювань	У межах однієї серії вимірювань	Усього
КВ (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
РЕЗУЛЬТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Гранулоцити							
Кількість позитивних подій (середнє значення) = 23248							
	Між операторами	Між цитометрами	У межах однієї серії	Між серіями	Між серіями вимірювань	У межах однієї серії вимірювань	Усього
КВ (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
РЕЗУЛЬТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНІСТЬ

Точність CD13-PE оцінювали через порівняння результатів з еталонним реагентом як контролем якості для набору проб цільної крові на проточному цитометрі Navios. Систематичну помилку між тестовим та еталонним реагентами визначали на основі різниці між результатами тесту. Якщо систематична помилка знаходиться в межах діапазону допустимої похибки або p-значення вказує на відсутність значущої різниці (> 0,05), тоді результати тесту для двох реагентів вважаються еквівалентними.

Отримані результати підсумовано в таблиці, наведеній нижче.

Кількість донорів = 25				
Цільова позитивна популяція	Середня Δ	Критерії Δ % клітин	p-значення	РЕЗУЛЬТАТИ
Моноцити	-0,19	<5	0,120	PASS
Гранулоцити	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

МЕЖА ХОЛОСТОЇ ПРОБИ Й МЕЖА ВИЯВЛЕННЯ

Дослідження проводилося відповідно до рекомендацій CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оцінювання можливості виявлення для методик клінічних лабораторних вимірювань). Межа виявлення (LOD) — це найнижча концентрація аналіту, яку стабільно можна виявити. Отримані результати підсумовано в наведеній нижче таблиці.

Positive Target	Межа холостої проби (клітин/мкл)	Межа виявлення (клітин/мкл)
Моноцити	0	4
Гранулоцити	2	4

ОБМЕЖЕННЯ

1. Результати проточної цитометрії можуть бути помилковими, якщо вказане нижче не було виконано належним чином: вирівняно цитометр, скомпенсовано витік флуоресценції, здійснено позиціонування ділянок.
2. Бажано використовувати метод лізису еритроцитів з етапом промивання, оскільки цей реагент не оптимізовано для методів лізису «без промивання».
3. Буде отримано точні й відтворювані результати, якщо процедури застосовуються відповідно до технічної інструкції, що додається, і стандартів належної лабораторної практики.
4. Кон'юговані антитіла цього реагенту відкалібровано таким чином, щоб забезпечити краще співвідношення специфічного сигналу та неспецифічного сигналу. Тому важливо дотримуватися співвідношення об'єму реагенту та об'єму проби в кожному тесті.
5. У разі гіперлейкоцитозу кров слід розводити у ФСБ так, щоб отримати концентрацію приблизно 5×10^9 лейкоцитів/л (16).
6. У разі деяких захворювань або станів, як-от тяжка ниркова недостатність або гемоглобінопатії, лізис еритроцитів може бути повільним, неповним або навіть неможливим. У цьому разі рекомендується виділяти мононуклеарні клітини за градієнтом щільності (наприклад, з використанням фіколу) перед фарбуванням (17).
7. У пацієнтів, які отримують лікування антилюдськими моноклональними антитілами, виявлення специфічних цільових антигенів може бути зниженим або відсутнім через часткове або повне блокування терапевтичним антитілом.
8. Результати CD13-PE слід інтерпретувати у світлі загальної клінічної картини пацієнта, включно із симптомами, клінічним анамнезом, даними додаткових тестів та іншою відповідною інформацією.

Див. приклади й посилання в додатку.

ТОРГОВЕЛЬНІ МАРКИ

Beckman Coulter, стилізований логотип, товарні знаки й сервісні марки Beckman Coulter, вказані тут, є торговельними марками або зареєстрованими торговельними марками компанії Beckman Coulter, Inc. у Сполучених Штатах Америки й інших країнах.

ДОДАТКОВА ІНФОРМАЦІЯ

Для пацієнта / користувача / третьої сторони в Європейському Союзі та в країнах з ідентичною системою нормативного регулювання (Регламент 2017/746/ЄС про медичні вироби для діагностики in vitro); якщо під час використання цього пристрою або в результаті його використання стався серйозний інцидент, повідомте про це виробнику й (або) його уповноваженому представнику та місцевому національному органу.

The Summary of Safety and Performance (Огляд безпеки та основних характеристик) доступний у базі даних EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ІСТОРІЯ ЗМІН

РЕДАКЦІЯ AD	Дата випуску: Жовтень 2019 р.

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AW	Лютий 2022 р.
Оновлення мають відповідати Глобальній політиці щодо маркування компанії Beckman Coulter і вимогам IVD-R (ЄС)2017/746:	
Додані розділи	«Номер BSI 2797», «Цільовий користувач», «Клінічна значущість», «Концентрація», «Прецизійність», «Точність», «Межа холостої проби й межа виявлення», «Додаткова інформація», «Історія змін».
Додана інформація	Див. розділ «Обмеження»
Оновлення формулювання або типографічні оновлення	Див. розділи «Процедура», «Робочі показники», «Обмеження», «Попередження та застереження», «Зберігання та стабільність».
Видалені розділи	«Приклад клінічного застосування», «Реагенти», «Міжлабораторна відтворюваність», «Лінійність»
Оновлені розділи	«Призначення», «Класифікація небезпек GHS», «Ознаки погіршення характеристик», «Процедура», «Додаток».

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AX	
Оновлені розділи	Додано казахську мову
Оновлені розділи	Зберігання й стабільність

Переглянута версія	AY
Дата перегляду	Травень 2024
Оновлені переклади	**Клінічна значущість:**
Оновлені розділи	Історія змін

Список символів

Глосарій символів доступний на сайті beckman.com/techdocs (документ № B60062)

	Especificações
Especificidade	CD13
Clone	SJ1D1
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunógeno	KG1a cell line
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Camundongo
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	R Phycoerythrin (PE)
Razão molar	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	575 nm
Tampão	PBS com pH de 7,2 mais 2 mg/mL de BSA e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado CD13-PE

REF A07762 100 testes; 2 mL, 20 µL/teste

Para uso em diagnóstico *in vitro*

USO PREVISTO

Esse anticorpo conjugado com fluorocromo permite a identificação qualitativa e não automatizada das populações de células que expressam o antígeno CD13 presente em amostras biológicas humanas utilizando a citometria de fluxo (consulte a seção “Amostras” a seguir).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade que os anticorpos monoclonais específicos têm de se ligarem aos determinantes antigênicos expressos por leucócitos.

A coloração específica de leucócitos é realizada incubando-se a amostra com o reagente IOTest. As hemácias são então removidas por lise e os leucócitos, que não são afetados por esse processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citômetro de fluxo mede a difusão da luz e a fluorescência das células. Ele possibilita a delimitação da população de interesse na janela eletrônica definida por um histograma, que correlaciona a difusão ortogonal da luz (dispersão lateral ou SS) e a difusão da luz em ângulo estreito (dispersão frontal ou FS). Outros histogramas que combinam dois dos diferentes parâmetros disponíveis no citômetro podem ser utilizados como auxílio no estágio de delimitação, dependendo da aplicação escolhida pelo usuário.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são expressos como uma porcentagem dos eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos pela delimitação.

USUÁRIO PREVISTO

Este produto destina-se ao uso laboratorial profissional.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD13-PE é um anticorpo para CD13 usado para identificar e caracterizar, por citometria de fluxo, as células que expressam o antígeno CD13. Este produto por si só não pode e não se destina a originar qualquer conclusão diagnóstica.

Quando usado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser usado com uma ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com anormalidades hematológicas com suspeita de terem neoplasia hematopoiética e para monitorar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.
- Para auxiliar no prognóstico de pacientes que possuem neoplasia hematopoiética.

Consulte as referências a seguir:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

AMOSTRAS

Sangue venoso deve ser coletado usando tubos estéreis contendo um sal de EDTA como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas em temperatura ambiente (18-25°C) e não devem ser agitadas. A amostra deve ser homogeneizada por agitação suave antes que a amostra para teste seja retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a coleta.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não use o reagente após o prazo de validade.
2. Não congele.
3. Deixe atingir a temperatura ambiente antes de usar (18-25°C).
4. Minimize a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, pois isso pode gerar falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos contendo azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não utilize internamente e evite o contato com a pele, mucosas e olhos.

Além disso, em um meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazoico potencialmente perigoso. Se precisar descartar essa substância, recomenda-se que o reagente seja diluído em um grande volume de água antes de despejá-lo no sistema de drenagem para evitar o acúmulo de azida sódica nos canos de metal e o risco de explosão.

7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas como potencialmente infecciosas e devem ser manipuladas com cuidado (em particular: uso de luvas, jalecos e óculos de proteção).
8. Nunca coloque a pipeta na boca e evite qualquer contato das amostras com a pele, mucosas e olhos.
9. Os tubos de sangue e o material descartável utilizado para manuseio deve ser descartado em recipientes ad hoc destinados à incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO DO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Folha de dados de segurança está disponível em beckman.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido entre 2 e 8°C e protegido da luz, antes e depois do frasco ter sido aberto.

Validade do frasco fechado de acordo com o estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente é estável por 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DETERIORAÇÃO

Qualquer alteração no aspecto físico dos reagentes poderá indicar deterioração e o reagente não deverá ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, entre em contato com o serviço de atendimento ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou entre em contato com o representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em canos de escoamento metálicos. Consulte o Boletim do NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health [Instituto de segurança e saúde ocupacional dos EUA]): Explosive Azide Hazard (Perigos de explosão de azida) (16/8/76).
Para evitar o possível acúmulo de compostos de azida, enxágue os canos de escoamento com água após o descarte do reagente não diluído. O descarte da azida sódica deve ser efetuado de acordo com as normas locais apropriadas.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostra e material necessário para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 20, 100 e 500 µL.
- Tubos plásticos de hemólise.
- Reagente de lise de hemácias com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: Reagente VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: Solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controle do isótipo PE: reagente IOTest (Ref. A07796).
- Tampão (PBS: fosfato de sódio a 0,01 M; cloreto de sódio a 0,145 M; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citômetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM O REAGENTE VERSALYSE

Para cada amostra analisada, além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controle no qual as células são misturadas na presença do controle de isótipo (Ref. A07796).

1. Adicione 20 µL de anticorpo conjugado IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 20 µL do controle do isótipo a cada tubo de controle.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos em temperatura ambiente (18-25°C), protegido da luz.
4. Em seguida, faça a lise das hemácias. Consulte o folheto da VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento chamado “with concomitant fixation (com fixação concomitante)”, que consiste em adicionar 1 mL da mistura de fixação e lise preparada extemporaneamente. Agite em vórtex imediatamente durante um segundo e incube durante 10 minutos em temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue por 5 minutos a 150 x g em temperatura ambiente.
6. Retire o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita a etapa 5.
9. Retire o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular usando:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído, se as preparações forem mantidas por um prazo inferior a 24 horas. (É possível obter uma solução PBS com 0,1% de formaldeído diluindo-se 12,5 µL de Solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na concentração de 10X em 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído, se as preparações forem analisadas dentro de 2 horas.

Nota: Em qualquer dos casos, mantenha as preparações entre 2 e 8°C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Em nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 doadores aparentemente saudáveis foram tratadas usando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos positivos de interesse com esse reagente são fornecidos na tabela a seguir:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP (Desvio padrão)	CV (%)
Monócitos	25	98,28	0,88	0,90
Granulócitos	25	99,69	0,42	0,42

Esses valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores esperados da população local de doadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos usando o procedimento descrito anteriormente em amostras de sangue com menos de 24 horas, coletadas previamente em tubos estéreis com sal de EDTA como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

A molécula CD13, também conhecida como aminopeptidase-N (APN) é uma metaloprotease transmembrana de tipo II com um peso molecular de 150–170 kDa. Esta molécula tem uma sequência extracelular extensa e uma região intracitoplasmática curta. A molécula CD13 parece se ligar como um homodímero de maneira não covalente na superfície das células (11). O antígeno CD13 é expresso cedo na linhagem grânulo-monocítica (monócitos, neutrófilos, eosinófilos e basófilos) e seus progenitores comprometidos (com os progenitores intermediários formando colônias grânulo-monocíticas mistas ou CFU-GM)(11,12,13,14).

A molécula CD13 também é expressa em células de tecidos não hematopoéticos, tais como células epiteliais dos túbulos renais proximais, células que compõe a borda em escova dos intestinos, fibroblastos, células estromais da medula óssea, osteoclastos e células basais dos ductos biliares (15).

O anticorpo monoclonal SJ1D1 reage no sangue periférico com monócitos, neutrófilos, eosinófilos e basófilos. Foi atribuído a CD13 durante o 3º HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Workshop sobre HLDA de diferenciação de antígenos de leucócitos humanos), realizado em Oxford, Grã-Bretanha, em 1986 (código WS: 285, seção M) (12).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados usando-se sangue total. Cada amostra foi processada 4 vezes, duas vezes por dia durante 1 dia em 2 instrumentos, usando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD13-PE. As medições (% de positivos) foram realizadas no citômetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação de desempenho de precisão de métodos de medição quantitativos).

Nossos critérios de aceitação dependem do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Se eventos positivos <1.500, CV <15%
- Se eventos positivos >1.500, CV <10%

Monócitos							
Número de eventos positivos (média) = 1119							
	Entre operadores	Entre citômetros	Dentro do lote	Entre lotes	Entre processamentos	Dentro do processamento	Total
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulócitos							
Número de eventos positivos (média) = 23248							
	Entre operadores	Entre citômetros	Dentro do lote	Entre lotes	Entre processamentos	Dentro do processamento	Total
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD13-PE foi avaliada comparando-se os resultados com um reagente de referência como o predicado em um conjunto de amostras de sangue total processadas em um citômetro de fluxo Navios. A tendência entre o reagente de teste e o de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados dos testes. Se a tendência estiver dentro da faixa de erro aceitável ou o valor p não indicar diferenças significativas (>0,05), então os resultados dos testes para os dois reagentes são considerados como equivalentes.

Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Número de doadores = 25				
Alvo positivo	Δ média	Critérios de Δ % de células	valor p	RESULTADOS
Monócitos	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulócitos	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

LIMITE DE BRANCO E LIMITE DE DETECÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com a diretriz EP17-A2 do CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de detecção para procedimentos de medição de laboratório clínico). O Limite de detecção (LOD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detectada consistentemente. Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite de branco (células/µL)	Limite de detecção (células/µL)
Monócitos	0	4
Granulócitos	2	4

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo pode produzir resultados falsos se o citômetro não for alinhado perfeitamente, se os vazamentos de fluorescência não forem corretamente compensados e se as regiões não forem cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível usar uma técnica de lise de RBC com uma etapa de lavagem, já que esse reagente não foi otimizado para técnicas de lise “sem lavagem”.
3. Serão obtidos resultados exatos e reproduzíveis desde que os procedimentos utilizados estejam em conformidade com o folheto técnico e sejam compatíveis com as boas práticas de laboratório.
4. O anticorpo conjugado desse reagente é calibrado para oferecer a melhor razão entre sinal específico e sinal não específico. Por isso, é importante manter a razão entre volume do reagente e volume da amostra em cada teste.
5. No caso de hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (16).
6. Em certos estados da doença, como insuficiência renal grave e hemoglobinopatias, a lise das hemácias pode ser lenta, incompleta ou até mesmo impossível. Nesse caso, recomenda-se isolar as células mononucleadas usando um gradiente de densidade (Ficoll, por exemplo) antes da coloração (17).
7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a detecção dos antígenos-alvo específicos pode ser diminuída ou não ocorrer devido ao bloqueio parcial ou total pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de CD13-PE devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, histórico clínico, dados de testes adicionais e outras informações apropriadas.

Consulte o anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logotipo estilizado e as marcas dos produtos e serviços da Beckman Coulter mencionados neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registradas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e em outros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/usuário/terceiro na União Europeia e em países com regime regulatório idêntico (Regulamentação 2017/746/UE sobre In vitro Diagnostic Medical Devices [Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro]), se, durante o uso deste dispositivo ou como resultado de seu uso, ocorrer um incidente grave, relate-o ao fabricante e/ou ao seu representante autorizado e à sua autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível no banco de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO AD:	Data de publicação: outubro de 2019

REVISÃO	**Data de publicação**
AW	Fevereiro de 2022
Atualizações para o cumprimento da Global labelling Policy (Política de rotulagem global) da Beckman Coulter e de acordo com os requisitos da IVD-R (UE)2017/746:	
Seções adicionadas	Número BSI 2797, Usuário previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite de branco e limite de detecção, Informações adicionais, Histórico de revisão.
Informações adicionadas	Consulte as seções: Limitações
Atualizações tipográficas ou de fraseado	Consulte as seções Procedimento, Desempenho, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Seções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Seções atualizadas	Uso previsto, Classificação de perigo do GHS, Evidência de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de publicação**
AX	
Seções atualizadas	Adicionar cazaque
Seções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revisada	AY
Data da revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (documento número B60062)

	Specificaties
Specificiteit	CD13
Kloon	SJ1D1
Hybridoom	SP2/0 x balb/c
Immunogeen	KG1a cell line
Immunoglobuline	IgG1
Soort	Muis
Purificatie	Affiniteit chromatografie
Fluorochroom	R Phycoerythrin (PE)
Molaire verhouding	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ excitatie	488 nm
Emissiepiek	575 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA en 0,1% NaN_3

IOTest

Geconjugeerd antilichaam CD13-PE

REF A07762 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik

BEOOGD GEBRUIK

Met dit fluorochroom-geconjugeerde antilichaam kunnen celpopulaties die het CD13-antigeen tot expressie brengen, kwalitatief en niet-geautomatiseerd worden geïdentificeerd in menselijke biologische monsters met behulp van flowcytometrie (zie het gedeelte 'Monsters' hieronder).

PRINCIPE

Deze test is gebaseerd op het vermogen van specifieke monoklonale antilichamen om zich te binden aan de antigene determinanten die tot expressie worden gebracht door leukocyten.

Specifieke kleuring van de leukocyten wordt uitgevoerd door het monster te incuberen met het IOTest -reagens. De rode cellen worden vervolgens via lysering verwijderd en de leukocyten (die ongevoelig zijn voor dit proces) worden geanalyseerd voor middel van flowcytometrie.

De flowcytometer meet de lichtdiffusie en de fluorescentie van cellen. Het maakt de afbakening van de betrokken populatie mogelijk binnen het elektronische venster gedefinieerd op een histogram, wat de orthogonale verspreiding van licht (zijwaartse verstrooiing of ZV) in verband brengt met de verspreiding van smalhoekig licht (voorwaartse verstrooiing of VV). Andere histogrammen die twee van de verschillende beschikbare parameters op de cytometer combineren, kunnen worden gebruikt als ondersteuning bij de gating-fase, afhankelijk van de door de gebruiker gekozen toepassing.

De fluorescentie van de afgeperkte cellen wordt geanalyseerd om de positief-gekleurde gebeurtenissen te onderscheiden van de niet-gekleurde. De resultaten worden uitgedrukt als een percentage van positieve gebeurtenissen ten opzichte van alle gebeurtenissen verzameld door de gating.

BEOOGDE GEBRUIKER

Dit product is bedoeld voor professioneel gebruik in het laboratorium.

KLINISCHE RELEVANTIE

Het CD13-PE is een CD13-antilichaam dat wordt gebruikt om door middel van flowcytometrie cellen te identificeren en te karakteriseren die het CD13-antigeen tot expressie brengen. Dit product alleen kan niet worden gebruikt voor en is niet bedoeld voor de totstandbrenging van diagnostische conclusies.

Bij gebruik in combinatie met andere markers kan dit product worden gebruikt voor een of meer van de volgende functies:

- Ter ondersteuning van de differentiaaldiagnostiek bij patiënten met een hematologische afwijking met verdenking op het hebben van een hematopoiëtisch neoplasma en ter controle van patiënten met een bekend hematopoiëtisch neoplasma.
- Ter ondersteuning van de prognose van patiënten met hematopoiëtisch neoplasma.

Zie de volgende referenties:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MONSTERS

Veneus bloed moet worden afgenomen met steriele buisjes die EDTA-zout bevatten als anticoagulans.

De monsters moeten op kamertemperatuur (18-25 °C) worden gehouden en mogen niet worden geschud. De monsters moeten gehomogeniseerd worden door licht te schudden voordat het testmonster wordt afgenomen.

De monsters moeten worden geanalyseerd binnen 24 uur van venapunctie.

CONCENTRATIE

Zie batch-specifiek analysecertificaat op www.beckman.com.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Gebruik het reagens niet na de uiterste houdbaarheidsdatum.
2. Niet invriezen.
3. Laat het op kamertemperatuur (18-25 °C) komen voor gebruik.
4. Beperk de blootstelling aan licht.
5. Vermijd microbiële verontreiniging van de reagentia, anders kunnen verkeerde resultaten optreden.

6. Antilichaamoplossingen die natriumazide (NaN_3) bevatten moeten voorzichtig gehanteerd worden. Niet innemen en elk contact met huid, slijmvliezen en ogen vermijden.

   In een zuur medium kan natriumazide bovendien de potentieel gevaarlijke waterstofazide vormen. Indien verwijdering nodig is, wordt het aanbevolen om het reagens te verdunnen in een groot volume water voordat het in het afvoersysteem wordt gegoten, om de accumulatie van natriumazide in metalen buizen en explosiegevaar te vermijden.
7. Alle bloedmonsters moeten worden beschouwd als mogelijk besmettelijk en moeten voorzichtig worden gehanteerd (met name: veiligheidshandschoenen, -jas en -bril dragen).
8. Pipetteer nooit met de mond en vermijd elk contact van de monster met huid, slijmvliezen en ogen.
9. Bloedbuisjes en wegwerpmateriaal die gebruikt zijn, moeten verwijderd worden in afvalcontainers bestemd voor verbranding.
10. Reagentia en afval moeten verwijderd worden volgens de plaatselijke voorschriften.

GHS GEVARENCLASSIFICATIE

Niet geclassificeerd als gevaarlijk

SDS Het veiligheidsinformatieblad is beschikbaar op beckman.com/techdocs

OPSLAG EN STABILITEIT

Dit reagens moet tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht worden bewaard, voor- en nadat het buisje wordt geopend.

Houdbaarheidsdatum van ongeopend buisje volgens stabiliteitsstudie: 1095 dagen.

Stabiliteit van geopend buisje: het reagens is stabiel gedurende 180 dagen.

BEWIJS VAN BEDERF

Elke wijziging in de fysieke verschijning van de reagentia kan wijzen op aantasting; het reagens mag dan niet langer gebruikt worden.

Bel voor meer informatie, of als het product beschadigd is, met de klantenservice van Beckman Coulter op 800-742-2345 (VS of Canada) of neem contact op met uw plaatselijke vertegenwoordiger van Beckman Coulter.

INHOUD

Een conserveringsmiddel van natriumazide kan explosieve verbindingen vormen in metalen afvoerleidingen. Zie NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (Explosiegevaar van azide, 16-08-1976).
Om de ophoping van azideverbindingen te vermijden, spoelt u de afvoerbuizen met water na verwijdering van onverdund reagens. Natriumazide moet worden verwijderd volgens de toepasselijke plaatselijke voorschriften.

BENODIGD MATERIAAL DAT NIET IS MEEGELEVERD IN DE KIT:

- Monsterbuisjes en materiaal vereist voor monsterneming.
- Automatische pipetten met wegwerppunten voor 20, 100 en 500 µL.
- Plastic hemolysebuisjes.
- Ontbindingsreagens voor rode cellen met spoelfase na de lysis. Bijvoorbeeld: VersaLyse (ref. A09777).
- Fixatiereagens voor leukocyten. Bijvoorbeeld: IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800).
- Isotypecontrole PE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfaat; 0,145 M natriumchloride; pH 7,2).
- Centrifugeer.
- Automatische schudder (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MET VERSALYSE-REAGENS

Voor elk geanalyseerd monster kan, naast het testbuisje, één controlebuisje worden toegevoegd waarin de cellen worden gemengd in aanwezigheid van de isotypecontrole (ref. A07796).

1. Voeg 20 µL specifiek IOTest-geconjugeerd antilichaam toe aan elk testbuisje en, indien nodig, 20 µL isotypecontrole aan elk controlebuisje.
2. Voeg 100 µL van het testmonster toe aan elk buisje. Wervel de buisjes voorzichtig.
3. Incubeer 15 tot 20 minuten op kamertemperatuur (18-25 °C), beschermd tegen licht.
4. Lyseer vervolgens de rode cellen. Raadpleeg de VersaLyse-bijsluiter (ref. A09777) en volg bij voorkeur de procedure genaamd 'met gelijktijdige fixatie', die bestaat uit het toevoegen van 1 mL 'fixeer-en-lyseer'-oplossing die ex tempore wordt bereid. Wervel onmiddellijk gedurende één seconde en incubeer 10 minuten op kamertemperatuur, beschermd tegen licht.
5. Centrifugeer gedurende 5 minuten bij 150 x g op kamertemperatuur.
6. Verwijder het supernatant door opzuiging.
7. Suspendeer de celpellet opnieuw met 3 mL van PBS.
8. Herhaal stap 5.
9. Verwijder het supernatant door opzuiging en suspendeer de celpellet opnieuw met:

- 0,5 mL of 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyde, indien de bereidingen minder dan 24 uur worden bewaard. (Een PBS met 0,1% formaldehyde kan worden verkregen door 12,5 µL IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800) bij de 10X-concentratie te verdunnen in 1 mL PBS).
- 0,5 mL of 1 mL PBS zonder formaldehyde, indien de bereidingen moeten worden geanalyseerd binnen 2 uur.

Opmerking: houd de bereidingen in alle gevallen tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht.

VERWACHTE WAARDEN

In onze laboratoria werden de volbloedmonsters van 25 ogenschijnlijk gezonde donoren behandeld met het hierboven beschreven reagens. De verkregen resultaten voor de telling van de relevante positieve gebeurtenissen voor dit reagens worden in de onderstaande tabel weergegeven:

Positieve target	Nummer	Gemiddeld (%)	SD	VC (%)
Monocyten	25	98,28	0,88	0,90
Granulocyten	25	99,69	0,42	0,42

Deze waarden zijn uitsluitend bedoeld als referentie. Elk laboratorium moet zijn eigen verwachte waarden bepalen op basis van de lokale populatie van normale donoren.

PRESTATIES

Prestatiegegevens worden verkregen met de hierboven beschreven procedure op minder dan 24 uur oude bloedmonsters die eerder zijn verzameld in steriele buisjes met EDTA-zout als anticoagulans. De analyse wordt uitgevoerd binnen 2 uur na immunokleuring.

SPECIFICITEIT

Het CD13-molecuul, ook bekend als N aminopeptidase (APN), is een type II transmembraan metalloprotease met een molecuulgewicht van 150-170 kDa. Dit molecuul heeft een uitgebreide extracellulaire sequentie en een kort intracytoplasmatisch gebied. Het CD13-molecuul lijkt als een homodimeer te binden op niet-covalente wijze op het oppervlak van cellen (11). Het CD13-antigeen wordt vroeg tot expressie gebracht in de granulo-monocytische lijn (monocyten, neutrofielen, eosinofielen en basofielen) en hun gecommitteerde voorlopers (intermediaire voorlopers die gemengde granulomonocyte kolonies of CFU-GM vormen) (11,12,13,14).

Het CD13-molecuul wordt ook tot expressie gebracht op cellen van niet-hematopoëtische weefsels, zoals epitheelcellen uit de proximale nierbuisjes, cellen die de borstelrand van de darmen vormen, endotheelcellen, fibroblasten, stromale cellen uit beenmerg, osteoclasten en basale cellen uit de biliaire wegen (15).

Het monoklonale antilichaam SJ1D1 reageert in het perifere bloed met monocyten, neutrofielen, eosinofielen en basofielen. Het werd toegeschreven aan CD13 tijdens de 3e HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3e HLDA workshop over differentiatie-antigenen van humane leukocyten), gehouden in Oxford in Groot-Brittannië in 1986 (WS-code: 285, sectie M) (12).

PRECISIE

De procentuele positieve waarden werden bepaald met behulp van volbloed. Elk monster werd 4 maal getest, tweemaal per dag gedurende 1 dag op 2 instrumenten, waarbij gebruik werd gemaakt van 2 batches CD13-PE monoklonale antilichaamreagentia. Metingen (% positief) werden uitgevoerd op de Navios-flowcytometer. Analyse werd uitgevoerd op basis van de CLSI-methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluatie van de precisie van kwantitatieve meetmethoden).

Onze acceptatiecriteria zijn afhankelijk van het aantal positieve gebeurtenissen dat voor elke populatie wordt gemeten:

- In het geval van een positieve gebeurtenis <1500, VC <15%
- In het geval van een positieve gebeurtenis >1500, VC <10%

Monocyten							
Aantal positieve gebeurtenissen (gemiddelde) = 1119							
	Tussen gebruikers	Tussen cytometers	Van dezelfde batch	Tussen batches	Tussen runs	Tijdens run	Totaal
VC (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
RESULTATEN	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocyten							
Aantal positieve gebeurtenissen (gemiddelde) = 23248							
	Tussen gebruikers	Tussen cytometers	Van dezelfde batch	Tussen batches	Tussen runs	Tijdens run	Totaal
VC (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
RESULTATEN	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NAUWKEURIGHEID

De nauwkeurigheid van CD13-PE werd beoordeeld door de resultaten te vergelijken met een referentiereagens als het vergelijkbare hulpmiddel op een reeks volbloedmonsters die op een Navios-flowcytometer werden uitgevoerd. De afwijking tussen test- en referentiereagens werd bepaald op basis van het verschil tussen de testresultaten. Als de afwijking binnen het toegestane foutbereik ligt of de p-waarde geen significant verschil (>0,05) aangeeft, worden de testresultaten voor de twee reagentia als gelijkwaardig beschouwd.

De resultaten worden samengevat in de onderstaande tabel:

Aantal donoren = 25				
Positieve target	Gemiddelde Δ	Δ % Celcriteria	p-waarde	RESULTATEN
Monocyten	-0,19	<5	0,120	PASS
Granulocyten	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

BLANCOLIMIET EN DETECTIELIMIET

Een studie is uitgevoerd in overeenstemming met CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluatie van detectiecapaciteit voor meetprocedures in klinische laboratoria). Het detectielimiet (LOD) is de laagste concentratie analiet die consistent kan worden gedetecteerd. De verkregen resultaten worden samengevat in de volgende tabel:

Positive Target	Blancolimiet (cel/µL)	Detectielimiet (cel/µL)
Monocyten	0	4
Granulocyten	2	4

BEPERKINGEN

1. Flowcytometrie kan leiden tot verkeerde resultaten indien de cytometer niet perfect is uitgelijnd, indien fluorescentielekken niet juist zijn gecompenseerd en indien de gebieden niet zorgvuldig zijn gepositioneerd.
2. Gebruik bij voorkeur een RBC-lyseertechniek met een wasstap, aangezien dit reagens niet is geoptimaliseerd voor lyseertechnieken zonder wassen.
3. Nauwkeurige en reproduceerbare resultaten worden verkregen zolang de gebruikte procedures in overeenstemming zijn met de technische brochure en compatibel met goede laboratoriumpraktijken.
4. Het geconjugeerde antilichaam van dit reagens wordt gekalibreerd om de beste verhouding van specifiek signaal/niet-specifiek signaal te bieden. Daarom is het belangrijk dat de verhouding van reagensvolume/monstervolume in acht wordt genomen bij elke test.
5. In het geval van een hyperleukocytose verdunt u het bloed in PBS om een waarde van ongeveer 5 x 10^9 leukocyten/L te verkrijgen (16).
6. In sommige stadia van een aandoening, zoals ernstig nierfalen of hemoglobinopathieën, kan de ontbinding van rode cellen traag verlopen, onvolledig of zelfs onmogelijk zijn. In dit geval wordt het aanbevolen om cellen met één kern te isoleren met een dichtheidsgradiënt (bijvoorbeeld Ficoll) voorafgaand aan de kleuring (17).
7. Bij patiënten die worden behandeld met anti-humane monoklonale antilichaamtherapieën kan de detectie van de specifieke doelantigenen verminderd of afwezig zijn als gevolg van een gedeeltelijke of volledige blokkering door het therapeutische antilichaam.
8. De CD13-PE-resultaten moeten worden geïnterpreteerd in het licht van het totale klinische beeld van de patiënt, met onder meer: symptomen, klinische anamnese, gegevens van aanvullende tests en andere relevante informatie.

Zie de bijlage voor voorbeelden en referenties.

Handelsmerken

Beckman Coulter, het gestileerde logo en de merken van Beckman Coulter-producten en -services in dit document zijn handelsmerken of gedeponeerde handelsmerken van Beckman Coulter, Inc. in de Verenigde Staten en andere landen.

AANVULLENDE INFORMATIE

Voor patiënten/gebruikers/derden in de EU en in landen met soortgelijke regelgeving (Verordening 2017/746/EU inzake in-vitro diagnostische medische apparaten); als er zich tijdens of als gevolg van het gebruik van dit apparaat een ernstig incident voordoet, dient u dit te melden bij de fabrikant en/of diens bevoegde vertegenwoordiger en bij uw nationale autoriteiten.

Het overzicht van de veiligheid en prestaties is beschikbaar in de database EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed

REVISIEGESCHIEDENIS

REVISIE AD:	Uitgiftedatum: Oktober 2019

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AW	Februari 2022
Bijgewerkt om te voldoen aan het wereldwijde etiketteringsbeleid van Beckman Coulter en volgens de vereisten van IVD-R (EU)2017/746:	
Toegevoegde paragrafen	BSI 2797-nummer, Beoogde gebruiker, Klinische relevantie, Concentratie, Precisie, Nauwkeurigheid, Blancolimiet en detectiegrens, Aanvullende informatie, Revisiegeschiedenis.
Toegevoegde informatie	Zie paragraaf Beperkingen
Bijgewerkte formulering of typografie	Zie paragrafen Procedure, Prestaties, Beperkingen, Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen, Opslag en Stabiliteit.
Verwijderde paragrafen	Voorbeeld van klinische toepassingen, Reagentia, Reproduceerbaarheid intra-laboratoria, Lineariteit
Bijgewerkte paragrafen	Beoogd gebruik, GHS-gevarenclassificatie, Bewijs van bederf, Procedure, Bijlage.

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AX	
Bijgewerkte paragrafen	Toevoegen Kazachs
Bijgewerkte paragrafen	Opslag en stabiliteit

Bijgewerkte versie	AY
Herzieningsdatum	Mei 2024
Bijgewerkte vertalingen	**Klinische relevantie:**
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Verklaring van symbolen

Overzicht met verklaring van symbolen is beschikbaar op beckman.com/techdocs (documentnummer B60062)

	Thông số kỹ thuật
Độ đặc hiệu	CD13
Dòng vô tính	SJ1D1
Tế bào lai	SP2/0 x balb/c
Chất sinh miễn dịch	KG1a cell line
Globulin miễn dịch	IgG1
Các loài	Chuột
Tinh chế	Sắc ký ái lực
Chất nhuộm huỳnh quang	R Phycoerythrin (PE)
Tỷ lệ mol	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Kích thích λ	488 nM
Đỉnh phát xạ	575 nM
Dung dịch đệm	PBS pH 7,2 cộng với 2 mg/mL BSA và 0,1% NaN_3

Kháng thể cộng hợp IOTest CD13-PE

REF A07762 100 xét nghiệm; 2 mL, 20 µL/xét nghiệm

Dùng để chẩn đoán *In Vitro*

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Kháng thể cộng hợp chất nhuộm huỳnh quang này cho phép xác định theo phương thức định tính và không tự động các quần thể tế bào biểu hiện kháng nguyên CD13 có trong mẫu sinh học của người bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy (xem phần "Mẫu" bên dưới).

NGUYÊN TẮC

Xét nghiệm này dựa trên khả năng liên kết của kháng thể đơn dòng đặc hiệu với yếu tố quyết định kháng nguyên biểu hiện bởi bạch cầu.

Nhuộm đặc hiệu bạch cầu bằng cách ủ mẫu với thuốc thử IOTest. Sau đó, loại bỏ tế bào hồng cầu bằng cách ly giải và tế bào bạch cầu không bị ảnh hưởng bởi quá trình này sẽ được phân tích bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy.

Máy đếm tế bào dòng chảy đo mức khuếch tán ánh sáng và phát huỳnh quang của các tế bào. Điều này giúp phân định được quần thể quan tâm trong cửa sổ điện tử được xác định trên biểu đồ, tương quan với sự khuếch tán trực giao ánh sáng (Tán xạ góc bên hay SS) và khuếch tán ánh sáng góc hẹp (Tán xạ góc thẳng hay FS). Có thể dùng các biểu đồ khác (kết hợp hai trong các thông số có sẵn trên máy đếm tế bào) để hỗ trợ trong giai đoạn khoanh vùng tùy thuộc vào ứng dụng mà người dùng chọn.

Huỳnh quang của các tế bào đã phân định được phân tích để phân biệt các sự kiện nhuộm dương tính với các sự kiện không nhuộm. Kết quả được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm số sự kiện dương tính so với tất cả sự kiện thu được từ việc khoanh vùng.

ĐỐI TƯỢNG SỬ DỤNG

Sản phẩm này chỉ dùng cho mục đích chuyên môn trong phòng xét nghiệm.

TÍNH THÍCH HỢP VỀ LÂM SÀNG

CD13-PE là một kháng thể CD13 dùng để nhận dạng và xác định đặc điểm của các tế bào biểu thị kháng nguyên CD13 bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy. Chỉ riêng sản phẩm này không thể và không nhằm tạo ra bất kỳ kết luận chẩn đoán nào.

Khi kết hợp với các chỉ dấu khác, có thể dùng sản phẩm này trong một hoặc nhiều chức năng sau:

- Để hỗ trợ chẩn đoán phân biệt những bệnh nhân bị bất thường về huyết học nghi ngờ mắc ung thư máu và để theo dõi những bệnh nhân đã được xác định là mắc ung thư máu.
- Để hỗ trợ tiên lượng những bệnh nhân bị ung thư máu.

Xem tài liệu tham khảo sau đây:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MẪU

Phải lấy mẫu máu tĩnh mạch vào ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA.

Phải bảo quản mẫu ở nhiệt độ phòng (18–25°C) và không lắc mẫu. Phải khuấy nhẹ mẫu trước khi lấy mẫu xét nghiệm để mẫu có trạng thái đồng nhất.

Phải phân tích các mẫu trong vòng 24 giờ sau khi lấy từ tĩnh mạch.

NỒNG ĐỘ

Xem Giấy chứng nhận phân tích theo lô cụ thể tại www.beckman.com.

CẢNH BÁO VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG NGỪA

1. Không dùng thuốc thử đã hết hạn sử dụng.
2. Không làm đông lạnh.
3. Để dung dịch trở về nhiệt độ phòng (18–25°C) trước khi sử dụng.
4. Giảm thiểu tiếp xúc với ánh sáng.
5. Tránh làm thuốc thử bị nhiễm khuẩn, nếu không, có thể dẫn đến kết quả sai.
6. Phải xử lý cẩn thận dung dịch kháng thể chứa natri azit (NaN_3). Không được uống và tránh mọi tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.

Ngoài ra, trong môi trường axit, natri azit có thể tạo thành axit hydrazoic nguy hiểm. Nếu cần phải thải bỏ, bạn nên pha loãng thuốc thử trong nhiều nước trước khi thải vào hệ thống thoát nước để tránh tích tụ natri azide trong ống kim loại và để tránh nguy cơ nổ.

7. Phải coi tất cả mẫu máu là có nguy cơ lây nhiễm và xử lý cẩn thận (cụ thể: đeo găng tay, mặc áo choàng và đeo kính bảo vệ).
8. Tuyệt đối không dùng pipet bằng miệng và tránh để mẫu tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.
9. Phải bỏ ống máu và vật liệu dùng một lần đã dùng để xử lý trong thùng chứa đặc biệt cho mục đích thiêu hủy.
10. Phải thải bỏ thuốc thử và chất thải theo yêu cầu của địa phương.

PHÂN LOẠI MỐI NGUY HIỂM THEO GHS

Không được phân loại là chất nguy hiểm

SDS Bảng dữ liệu an toàn có sẵn tại beckman.com/techdocs

BẢO QUẢN VÀ ĐỘ ỔN ĐỊNH

Phải bảo quản thuốc thử này ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng, trước và sau khi mở ống.

Hạn sử dụng của ống khi chưa mở nắp theo nghiên cứu về độ ổn định: 1095 ngày.

Độ ổn định của ống đã mở: thuốc thử ổn định trong 180 ngày.

BẰNG CHỨNG BIẾN CHẤT

Mọi sự biến đổi về vẻ ngoài của thuốc thử có thể là dấu hiệu suy giảm chất lượng và bạn không nên dùng thuốc thử đó.

Để biết thêm thông tin hoặc nếu bạn nhận được sản phẩm bị hỏng, hãy gọi điện cho Dịch vụ khách hàng của Beckman Coulter theo số 8007422345 (Hoa Kỳ hoặc Canada) hoặc liên hệ với Đại diện của Beckman Coulter tại địa phương bạn.

HÀM LƯỢNG

Chất bảo quản natri azit có thể hình thành hợp chất nổ trong ống dẫn bằng kim loại. Xem Thông Báo của Viện quốc gia về an toàn và sức khỏe nghề nghiệp (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Nguy cơ nổ azit) (16/8/76).
Để tránh khả năng tích tụ hợp chất azit, hãy xả sạch các ống thải bằng nước sau khi xử lý vứt bỏ thuốc thử chưa pha loãng. Phải xử lý vứt bỏ natri azit theo đúng quy định sở tại.

VẬT LIỆU CẦN DÙNG (KHÔNG KÈM THEO BỘ THUỐC THỬ):

- Ống lấy mẫu và vật liệu cần dùng để lấy mẫu.
- Pipet tự động có đầu hút dùng một lần để lấy mẫu có thể tích 20, 100 và 500 µL.
- Ống chứa mẫu tan huyết bằng nhựa.
- Thuốc thử ly giải hồng cầu với bước rửa sau khi ly giải. Ví dụ: VersaLyse (Số tham chiếu A09777).
- Thuốc thử cố định Leucocyte. Ví dụ: Dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800).
- Mẫu chứng âm PE: Thuốc thử IOTest (Số tham chiếu: A07796).
- Dung dịch đệm (PBS: 0,01 Mol natri photphat; 0,145 Mol natri clorua; pH 7,2).
- Máy ly tâm.
- Máy trộn tự động (loại khuấy).
- Máy đếm tế bào dòng chảy.

QUY TRÌNH VỚI THUỐC THỬ VERSALYSE

Đối với mỗi mẫu phân tích, ngoài ống xét nghiệm, có thể thêm một ống kiểm chuẩn, trong đó tế bào được trộn với mẫu chứng âm (Số tham chiếu A07796).

1. Thêm 20 µL kháng thể cộng hợp IOTest đặc hiệu vào mỗi ống xét nghiệm và nếu cần, 20 µL mẫu chứng âm vào từng ống kiểm chuẩn.
2. Thêm 100 µL mẫu xét nghiệm vào từng ống. Lắc nhẹ các ống.
3. Ủ trong 15 đến 20 phút ở nhiệt độ phòng (18–25°C), tránh ánh sáng.
4. Sau đó, ly giải hồng cầu. Tham khảo tờ hướng dẫn về VersaLyse (Số tham chiếu A09777) và tốt nhất là làm theo quy trình tên là “có cố định đồng thời”, bao gồm thêm 1 mL hỗn hợp “Cố định và ly giải” được chuẩn bị tùy ứng. Lắc ngay trong một giây và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.
5. Quay ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 150 x g tại nhiệt độ phòng.
6. Hút bỏ dịch nổi.
7. Tái huyền phù viên tế bào bằng 3 mL PBS.
8. Lặp lại bước 5.
9. Hút bỏ dịch nổi và tái huyền phù viên tế bào bằng:

- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS cộng với 0,1% formaldehyde nếu sử dụng chế phẩm trong vòng chưa đến 24 giờ. (Có thể thu được PBS chứa 0,1% formaldehyde bằng cách pha loãng 12,5 µL dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800) ở nồng độ 10X trong 1 mL PBS).
- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS không có formaldehyde, nếu phân tích các chế phẩm trong vòng 2 giờ.

Ghi chú: Trong mọi trường hợp, phải bảo quản chế phẩm ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng.

GIÁ TRỊ DỰ KIẾN

Trong phòng xét nghiệm của chúng tôi, mẫu máu toàn phần của 25 người hiến khỏe mạnh được điều trị bằng thuốc thử mô tả ở trên. Bảng dưới đây trình bày kết quả đếm số lượng sự kiện dương tính quan tâm với thuốc thử này:

Mục tiêu dương tính	Số	Giá trị trung bình (%)	SD	CV (%)
Bạch cầu đơn nhân	25	98,28	0,88	0,90
Bạch cầu hạt	25	99,69	0,42	0,42

Các giá trị sau chỉ có tính chất đại diện. Mỗi phòng xét nghiệm phải thiết lập giá trị dự kiến riêng từ quần thể người hiến bình thường của mình.

HIỆU SUẤT

Dữ liệu hiệu suất thu được bằng cách sử dụng quy trình mô tả ở trên với các mẫu máu được thu thập dưới 24 giờ trong các ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA. Phân tích trong vòng 2 giờ sau khi nhuộm hóa mô miễn dịch.

ĐỘ ĐẶC HIỆU

Phân tử CD13, còn được gọi là Aminopeptidase N (APN), là metalloprotease xuyên màng loại II có trọng lượng phân tử 150–170 kDa. Phân tử này có một chuỗi ngoại bào rộng và một vùng bào tương hẹp. Phân tử CD13 có khả năng liên kết như một homodimer theo liên kết cộng hóa trị không cực trên bề mặt tế bào (11). Kháng nguyên CD13 được biểu hiện sớm trong dòng bạch cầu hạt đơn nhân, (bạch cầu đơn nhân, bạch cầu trung tính, bạch cầu ái toan và bạch cầu ái kiềm) và các tế bào định hướng biệt hoá (tế bào định hướng trung gian hình thành các nhóm bạch cầu hạt đơn nhân hỗn hợp hoặc CFU-GM) (11,12,13,14).

Phân tử CD13 cũng được biểu hiện trên các tế bào của mô không tạo máu, chẳng hạn như tế bào biểu mô từ ống thận gần, tế bào tạo nên rìa bàn chải của ruột, tế bào nội mô, nguyên bào sợi, tế bào mô đệm từ tủy xương, tế bào hủy xương và tế bào đáy từ các ống dẫn mật (15).

Kháng thể đơn dòng SJ1D1 phản ứng trong máu ngoại vi với các bạch cầu đơn nhân, bạch cầu trung tính, bạch cầu ái toan và bạch cầu ái kiềm. Kháng thể này được chỉ định cho CD13 trong Hội Thảo HLDA về Kháng Nguyên Biệt Hóa Bạch Cầu Ở Người Lần Thứ 3, được tổ chức tại Oxford, Vương Quốc Anh, vào năm 1986 (Bộ Luật WS: 285, Phần M) (12).

ĐỘ CHỤM

Tỷ lệ phần trăm của các giá trị dương tính được xác định bằng cách sử dụng máu toàn phần. Mỗi mẫu được chạy 4 lần, hai lần một ngày trong 1 ngày trên 2 thiết bị sử dụng 2 lô thuốc thử kháng thể đơn dòng CD13-PE. Các phép đo (% dương tính) được thực hiện trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Phân tích được tiến hành theo phương pháp EP5-A2 của CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Đánh giá hiệu suất độ chụm của phương pháp đo định lượng).

Tiêu chí chấp nhận của chúng tôi phụ thuộc vào số lượng sự kiện dương tính đo được cho mỗi quần thể:

- Nếu sự kiện dương tính <1.500, CV <15%
- Nếu sự kiện dương tính >1.500, CV <10%

Bạch cầu đơn nhân							
Số sự kiện dương tính (Giá trị trung bình) = 1119							
	Giữa những người thao tác	Giữa các máy đếm tế bào	Trong lô	Giữa các lô	Giữa các lần chạy	Trong lần chạy	Toàn phần
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
KẾT QUẢ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Bạch cầu hạt							
Số sự kiện dương tính (Giá trị trung bình) = 23248							
	Giữa những người thao tác	Giữa các máy đếm tế bào	Trong lô	Giữa các lô	Giữa các lần chạy	Trong lần chạy	Toàn phần
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
KẾT QUẢ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ĐỘ CHÍNH XÁC

Độ chính xác của CD13-PE được đánh giá bằng cách so sánh kết quả với thuốc thử tham chiếu để khẳng định trên một tập hợp các mẫu máu toàn phần chạy trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Độ lệch giữa xét nghiệm và thuốc thử tham chiếu được xác định dựa trên sự chênh lệch giữa các kết quả xét nghiệm. Nếu độ lệch nằm trong phạm vi sai số cho phép hoặc giá trị p cho thấy không có sự khác biệt đáng kể (> 0,05), thì kết quả xét nghiệm cho hai thuốc thử được coi là tương đương.

Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Số người hiến = 25				
Mục tiêu dương tính	Giá trị trung bình Δ	Tiêu chí tế bào Δ %	giá trị p	KẾT QUẢ
Bạch cầu đơn nhân	-0,19	<5	0,120	PASS
Bạch cầu hạt	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

GIỚI HẠN TRỐNG VÀ GIỚI HẠN PHÁT HIỆN

Một nghiên cứu đã được thực hiện theo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Đánh giá khả năng phát hiện cho các quy trình đo lường trong phòng xét nghiệm lâm sàng). Giới hạn phát hiện (LOD) là nồng độ thấp nhất của chất phân tích có thể phát hiện một cách nhất quán. Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Positive Target	Giới hạn trống (tế bào/µL)	Giới hạn phát hiện (tế bào/µL)
Bạch cầu đơn nhân	0	4
Bạch cầu hạt	2	4

GIỚI HẠN

1. Phương pháp đếm tế bào dòng chảy có thể cho kết quả sai nếu điều chỉnh máy đếm tế bào không phù hợp, nếu mức bù huỳnh quang rò rỉ không phù hợp và nếu định vị các vùng không cẩn thận.
2. Tốt nhất là sử dụng kỹ thuật ly giải RBC có bước rửa vì thuốc thử này chưa được tối ưu hóa cho các kỹ thuật ly giải "không rửa".
3. Sẽ thu được kết quả chính xác và có thể tái lặp nếu sử dụng quy trình theo tờ hướng dẫn kỹ thuật và phù hợp với biện pháp xét nghiệm hợp lý.
4. Kháng thể cộng hợp của thuốc thử này được hiệu chuẩn để đưa ra tỷ lệ tín hiệu đặc hiệu/tín hiệu không đặc hiệu tốt nhất. Do đó, điều quan trọng là phải tuân thủ tỷ lệ thể tích thuốc thử/thể tích mẫu trong mỗi xét nghiệm.
5. Trong trường hợp tăng bạch cầu, hãy pha loãng máu trong PBS để thu được giá trị xấp xỉ 5 x 10^9 bạch cầu/L (16).
6. Trong một số tình trạng bệnh, chẳng hạn như suy thận nặng hoặc bệnh rối loạn máu, hồng cầu có thể ly giải chậm, ly giải không hoàn toàn, hoặc thậm chí là không thể ly giải. Trong trường hợp này, bạn nên phân lập tế bào đơn nhân bằng phương pháp ly tâm phân lớp theo tỷ trọng (ví dụ: Ficoll) trước khi nhuộm (17).
7. Ở những bệnh nhân được điều trị bằng các liệu pháp kháng thể đơn dòng kháng người, khả năng phát hiện các kháng nguyên mục tiêu đặc hiệu có thể giảm đi hoặc không xảy ra do bị kháng thể điều trị chặn một phần hoặc toàn bộ.
8. Phải diễn giải kết quả CD13-PE dựa trên toàn bộ các dấu hiệu lâm sàng của bệnh nhân, bao gồm: triệu chứng, tiền sử lâm sàng, dữ liệu từ các xét nghiệm khác và thông tin thích hợp khác.

Xem Phụ lục để biết ví dụ và tài liệu tham khảo.

NHÃN HIỆU

Beckman Coulter, logo cách điệu và các nhãn hiệu sản phẩm cũng như dịch vụ của Beckman Coulter nêu trong tài liệu này là nhãn hiệu hoặc nhãn hiệu đã đăng ký của Beckman Coulter, Inc. ở Hoa Kỳ và các quốc gia khác.

THÔNG TIN BỔ SUNG

Đối với bệnh nhân/người dùng/bên thứ ba tại Liên minh Châu Âu và ở các quốc gia có chế độ quản lý giống nhau (Quy định 2017/746/EU về Thiết bị y tế chẩn đoán In vitro); nếu xảy ra sự cố nghiêm trọng trong quá trình sử dụng thiết bị này hoặc do sử dụng thiết bị này, vui lòng báo cáo cho nhà sản xuất và/hoặc đại diện ủy quyền của nhà sản xuất cũng như cơ quan có thẩm quyền tại quốc gia của bạn.

Summary of Safety and Performance (Tóm tắt về an toàn và hiệu suất) có trong cơ sở dữ liệu EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

LỊCH SỬ SỬA ĐỔI

PHIÊN BẢN AD:	Ngày phát hành: Tháng 10 năm 2019

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AW	Tháng 02 năm 2022
Cập nhật để tuân thủ Chính sách ghi nhãn toàn cầu của Beckman Coulter và theo các yêu cầu IVD-R (EU) 2017/746:	
Bổ sung các phần	Số BSI 2797, Đối tượng sử dụng, Tính thích hợp về lâm sàng, Nồng độ, Độ chụm, Độ chính xác, Giới hạn trống và giới hạn phát hiện, Thông tin bổ sung, Lịch sử sửa đổi.
Bổ sung thông tin	Xem các phần Giới hạn
Cập nhật cách diễn đạt hoặc câu chữ	Xem các phần Quy trình, Hiệu suất, Giới hạn, Cảnh báo và Biện pháp phòng ngừa, Bảo quản và Độ ổn định.
Các phần bị xóa	Ví dụ về các ứng dụng lâm sàng, Thuốc thử, Khả năng tái lập trong phòng xét nghiệm, Độ tuyến tính
Các phần cập nhật	Mục đích sử dụng, Phân loại mối nguy hiểm theo GHS, Bằng chứng biến chất, Quy trình, Phụ lục.

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AX	
Các phần cập nhật	Thêm tiếng Kazakh
Các phần cập nhật	Bảo quản và độ ổn định

Phiên bản sửa đổi	AY
Ngày sửa đổi	Tháng 5 2024
Đã cập nhật bản dịch	**Tính thích hợp về lâm sàng:**
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Bảng chú giải các ký hiệu

Danh mục thuật ngữ ký hiệu có sẵn tại beckman.com/techdocs (số tài liệu B60062)

	Сипаттамалары
Ерекшелік	CD13
Клон	SJ1D1
Гибридома	SP2/0 x balb/c
Иммуноген	KG1a cell line
Иммунды глобулин	IgG1
Түрлері	Тышқан
Тазарту	Үйірлік хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin (PE)
Молярлық қатынасы	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ қозу	488 нм
Эмиссияның жоғарғы шегі	575 нм
Буфер	PBS pH 7,2 + 2 мг / мл BSA және 0,1% NaN_3

Конъюгацияланған
IOTest антиденесі
CD13-PE

REF A07762 100 сынақ; 2 мл, 20 мкл / сынақ

***In Vitro* диагностикасында пайдалануға арналған**

ПАЙДАЛАНУ МАҚСАТЫ

Бұл флуорохроммен конъюгацияланған антидене адамның биологиялық үлгілерінде CD13 антигеннің болуын көрсететін жасуша популяциясын ағын цитометриясы көмегімен сапалы және автоматтандырылмаған анықтауға мүмкіндік береді (төмендегі «Үлгілер» бөлімін қараңыз).

ҚАҒИДА

Бұл сынақ нақты моноклоналды антиденелердің лейкоциттер айқындайтын антигендік детерминанттармен байланысу қабілетіне негізделген.

Лейкоциттердің арнайы бояуы үлгіні IOTest реагентімен инкубациялау арқылы жүзеге асады. Сол кезде эритроциттер лизис арқылы шығарылады, ал осы процесс әсер етпейтін лейкоциттерге ағын цитометриясы арқылы талдау жасалады.

Ағын цитометрі жарық диффузиясы мен жасушалардың флуоресценттенуін өлшейді. Бұл гистограммада анықталған электронды терезеде қызығушылық популяциясын ажыратуға мүмкіндік береді, ол жарықтың ортогональды диффузиясын (бүйірлік шашырау немесе SS) және тар бұрышты жарықтың диффузиясын (тікелей шашырау немесе FS) байланыстырады. Цитометрде қолжетімді екі түрлі параметрді біріктіретін басқа гистограммаларды пайдаланушы таңдаған қолданбаға байланысты гейтинг кезеңінде тірек ретінде пайдалануға болады.

Оң боялған оқиғаларды боялмаған оқиғалардан ажырату үшін шектеулі жасушалардың флуоресценттенуіне талдау жүргізілді. Оның нәтижесі оң оқиғалардың гейтинг арқылы алынған барлық оқиғаларға қатынасының пайыздық көрсеткіші ретінде көрсетіледі.

МАҚСАТТЫ ПАЙДАЛАНУШЫ

Бұл өнім зертханалық жағдайда кәсіби пайдалануға арналған.

КЛИНИКАЛЫҚ МАҢЫЗЫ

CD13-PE – ағын цитометриясы арқылы CD13 антигенін экспрессиялайтын жасушаларды сәйкестендіру және сипаттау үшін пайдаланылатын CD13 антиденесі. Бұл өнімді жалғыз өзін пайдаланып қандай да бір диагностикалық қорытынды жасау мүмкін емес және жасауға арналмаған.

Басқа маркерлермен бірлесіп пайдаланылғанда, бұл өнімді келесі функциялардың біреуінде немесе бірнешеуінде пайдалануға болады:

- Гемопоэтикалық неоплазмаға күдікті гематологиялық аномальды пациенттерді дифференциалды диагностикалауға көмектесу және белгілі гемопоэтикалық неоплазмасы бар пациенттерді бақылау үшін.
- Гемопоэтикалық жаңа ісігі бар пациенттерге болжау жасауға көмектесу.

Келесі анықтамаларды қараңыз:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ҮЛГІЛЕР

Көктамыр қанын антикоагулянт ретінде EDTA тұзы бар стерильді түтіктердің көмегімен алу керек.

Үлгілерді бөлме температурасында (18–25°C) сақтау керек және оларды шайқауға болмайды. Үлгілерді сынақ үлгісін алмастан бұрын жеңіл араластыру жолымен гомогендеу керек.

Үлгілерді көк тамырды тескен соң 24 сағат ішінде талдау қажет.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Нақты топтама бойынша талдау сертификатын мына сайттан қараңыз www.beckman.com.

ЕСКЕРТУ ЖӘНЕ САҚТЫҚ ШАРАЛАРЫ

1. Жарамдылық мерзімі өткеннен кейін реагентті қолдануға болмайды.
2. Қатыруға болмайды.
3. Оны пайдаланбас бұрын, температурасының бөлме температурасына (18–25°C) жетуін күтіңіз.
4. Жарық әсерін азайтыңыз.
5. Реагенттердің микробтармен ластануына жол бермеңіз немесе жалған нәтижелер орын алуы мүмкін.

6. Құрамында натрий азиды бар антидене ерітінділермен (NaN_3) жұмыс істегенде абай болу керек. Ішке қабылдамаңыз. Теріге, шырышты қабыққа және көзге тиігізбеңіз.

   Оған қоса, қышқылды ортада натрий азиды ықтимал қауіпті азотты сутек қышқылын түзуі мүмкін. Оны жою қажет болған жағдайда реагентті алдымен судың көп мөлшерінде сұйылтып, артынан кәріз жүйесіне төгуге кеңес беріледі. Осылайша, натрий азидының металл құбырларда жиналуын болдырмай, жарылыс қаупінің алдын алуға болады.

7. Қанның барлық үлгілері ықтимал жұқпалы деп есептелуі және сақтықпен өңделуі (атап айтқанда: қорғаныс қолғабын, халат және көзілдірік кию) керек.
8. Ешқашан оны аузыңызға құймаңыз және үлгілерді теріге, шырышты қабыққа және көзге тигізбеңіз.
9. Өңдеу үшін пайдаланылатын қан түтіктері мен бір реттік материалдарды өртеуге арналған арнайы контейнерлерге тастау керек.
10. Реагенттер мен қалдықтар жергілікті талаптарға сәйкес жойылуы тиіс.

GHS ҚАУІПТЕР КЛАССИФИКАЦИЯСЫ

Қауіпті деп жіктелмейді

SDS Қауіпсіздік төлқұжаты beckman.com/techdocs мекенжайында қолжетімді

САҚТАУ ЖӘНЕ ТҰРАҚТЫЛЫҚ

Құтыны ашпай тұрып және оны ашқаннан кейін, бұл реагентті 2–8°C температурада жарықтан қорғалған жерде сақтау керек.

Тұрақтылық зерттеуіне сәйкес жабық күйіндегі сауыт сөресінің жарамдылық мерзімі: 1095 күндер.

Ашық құтының тұрақтылығы: реагент 180 күн бойы тұрақты болады.

ЗАҚЫМДАЛУ БЕЛГІЛЕРІ

Реагенттердің сыртқы түрінің кез келген өзгерісі олардың зақымдалғандығын көрсетуі мүмкін және реагентті пайдаланбаған жөн.

Қосымша ақпарат алу үшін немесе зақымдалған өнімді алған жағдайда 800-742-2345 (АҚШ немесе Канада) арқылы Beckman Coulter тұтынушыларға қызмет көрсету орталығына қоңырау шалыңыз немесе жергілікті Beckman Coulter компаниясының өкіліне хабарласыңыз.

МАЗМҰНЫ

Натрий азиді консерванты металдан жасалған құбыр желілерінде жарылғыш қосылыстар түзуі мүмкін. NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76) (NIOSH бюллетенін қараңыз: азидтердің жарылу қаупі (16.08.1976)).
Азид қосылыстарының ықтимал түзілуін болдырмау үшін сұйылтылмаған реагентті жойғаннан кейін су құбырларын шайыңыз. Натрий азидін жою тиісті жергілікті ережелерге сәйкес жүзеге асырылуы тиіс.

ҚАЖЕТТІ, БІРАҚ ЖИНАҚПЕН БІРГЕ ЖЕТКІЗІЛМЕГЕН МАТЕРИАЛДАР

- Үлгі алу түтіктері және үлгі алу үшін қажетті материал.
- 20, 100 және 500 мкл ерітінділерге арналған бір реттік ұшы бар автоматты тамызғыштар.
- Эритроциттер гемолизіне арналған пластикалық түтіктер.
- Лизистен кейін жуу әдісі пайдаланылатын эритроцит лизисінің реагенті. Мысалы: VersaLyse (Сілт A09777).
- Лейкоцит фиксация реагенті. Мысалы: IOTest 3 бекіту ерітіндісі (A07800 қараңыз).
- Изотиптік бақылау PE: IOTest реагенті (анық. A07796).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрий фосфаты; 0,145 M натрий хлориді; pH 7,2).
- Центрифугалау
- Автоматты араластырғыш (араластырғыш түрі).
- Ағын цитометрі.

VERSALYSE РЕАГЕНТІ КӨМЕГІМЕН ОРЫНДАЛАТЫН ПРОЦЕДУРА

Әрбір талданатын үлгі үшін сынақ түтігіне қосымша, жасушалар изотиптік бақылаудың қатысуымен араласатын бір бақылау түтігін пайдалану ұсынылады (анық. A07796).

1. Әрбір түтікке 20 мкл арнайы конъюгацияланған IOTest антиденесін және, қажет болса, әрбір сынақ түтігіне 20 мкл изотиптік бақылауды қосыңыз.
2. Әр түтікке сынақ үлгісінің 100 мкл қосыңыз. Түтіктерді абайлап араластырыңыз.
3. Жарықтан қорғалған бөлме температурасында (18–25°C) 15–20 минут инкубациялаңыз.
4. Содан соң қызыл жасушалардың лизисін орындаңыз. VersaLyse (анық. A09777) парақшасын қарап, жоспардан тыс дайындалған 1 мл «Бекіту және еріту» қоспасын қосудан тұратын «ілеспе бекітумен» деп аталатын процедураны орындаңыз. Бір секунд дереу араластырыңыз және жарықтан қорғалған бөлме температурасында 10 минут бойы инкубациялаңыз.
5. 150 x г шамасында 5 минут бойы бөлме температурасында центрифугалаңыз.
6. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастаңыз.
7. 3 мл PBS ерітіндісін пайдаланып, жасуша массасын қайта ерітіңіз.
8. 5-қадамды қайталаңыз.
9. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастап, жасуша массасын төмендегіні қолдану арқылы қайта ерітіңіз:

- Егер препараттар 24 сағаттан аз сақталатын болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне 0,1% формальдегид қосылады. (0,1% формальдегидті PBS ерітіндісі 12,5 мкл IOTest 3 бекіту ерітіндісін (анық. A07800) 10 еселік концентрациясында 1 мл PBS ерітіндісін сұйылту арқылы алуға болады).

- Егер 2 сағат ішінде талдануы керек болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне формальдегид қосылмайды.

Ескертпе: барлық жағдайда препараттарды 2–8°C температурада, күн көзінен алыс жерде сақтау керек.

КҮТІЛЕТІН МӘНДЕР

Біздің зертханаларда 25 тиісті дені сау донорлардан жаңа алынған қан үлгілері жоғарыда сипатталған реагентпен өңделді. Осы реагентпен қызығушылық тудыратын оң оқиғаларды санау үшін алынған нәтижелер төмендегі кестеде келтірілген:

Оңтайлы нысана	Сан	Орташа мән (%)	SD	CV (%)
Моноциттер	25	98,28	0,88	0,90
Гранулоциттер	25	99,69	0,42	0,42

Бұл мәндер тек ұсыну үшін арналған. Әр зертхана қалыпты донорлардың жергілікті популяциясынан күтілетін өзіндік мәндерді белгілеуі керек.

ӨНІМДІЛІК

Өнімділік жөніндегі деректер 24 сағаттық үлгілерді пайдаланып, жоғарыда сипатталған процедура арқылы алынады. Бұл үлгілер алдын ала антикоагулянт ретінде EDTA тұзы арқылы стерильді түтіктерге жиналады. Талдау иммундық бояудан соң 2 сағат ішінде жасалады.

ЕРЕКШЕЛІГІ

N-аминопептидаза (APN) деп те аталатын CD13 молекуласы – молекулалық салмағы 150–170 кДа болатын II типті трансмембраналық металлопротеаза. Бұл молекулада жасушадан тыс кең тізбек және қысқа интрацитоплазмалық аймағы бар. CD13 молекуласы гомодимер түрінде жасуша бетінде ковалентті емес түрде байланысады (11). CD13 антигені грануломоноциттік сызықта (моноциттер, нейтрофилдер, эозинофилдер және базофилдер) және олардың арнаулы ізашарларында (аралас грануломоноциттік колонияларды немесе CFU-GM түзетін аралық ізашарлар) (11,12,13,14) ерте көрсетіледі.

CD13 молекуласы сонымен қатар проксимальды бүйрек түтіктеріндегі эпителий жасушалары, ішектің қылшық жиегін құрайтын жасушалар, эндотелий жасушалары, фибробласттар, сүйек майындағы стромальды жасушалар, остеокласттар және өт жолдарындағы базальды жасушалар (15) сияқты гемопоэтикалық емес тіндердің жасушаларында көрінеді.

SJ1D1 моноклоналды антиденесі шеткі қанда моноциттермен, нейтрофилдермен, эозинофилдермен және базофилдермен әрекеттеседі. Ол 1986 жылы Ұлыбритания, Оксфорд қаласында өткен 3-ші HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens («Адам лейкоциттерінің дифференциация антигендері» атты HLDA семинар) кезінде CD13 антигеніне жатқызылды (WS коды: 285, M бөлімі) (12).

ДӘЛДІК

Оң мәндердің пайызы жаңа алынған қанды қолдану арқылы анықталды. Әрбір үлгі CD13-PE моноклоналды антидене реагентінің 2 топтамасын пайдаланып 2 аспапта 1 күн бойы күніне екі рет 4 рет талданды. Өлшемдер (% оң) Navios ағын цитометрінде жүргізілді. Талдау CLSI EP5-A2 әдісі негізінде жүргізілді: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Сандық өлшеу әдістерінің дәлдік өнімділігін бағалау).

Біздің қабылдау критерийлері әрбір популяция үшін өлшенген оң оқиғалардың санына байланысты:

- Оң оқиға болса <1500, CV <15%
- Оң оқиға болса >1500, CV <10%

Моноциттер							
Оң оқиғалар саны (Орташа мән) = 1119							
	Аралық оператор	Цитометрараралық	Топтама ішілік	Топтама аралық	Жүгіру арасында	Жүгіру ішінде	Жалпы
CV (%)	0,16	0,17	0,51	0,13	0,15	0,46	0,55
НӘТИЖЕЛЕР	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Гранулоциттер							
Оң оқиғалар саны (Орташа мән) = 23248							
	Аралық оператор	Цитометрараралық	Топтама ішілік	Топтама аралық	Жүгіру арасында	Жүгіру ішінде	Жалпы
CV (%)	0,01	0,04	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07
НӘТИЖЕЛЕР	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ДҰРЫСТЫҚ

CD13-PE дұрыстығы Navios ағын цитометрінде өңделген жаңа алынған қан үлгілерінің жинағындағы, предикат ретінде анықтамалық реагентпен нәтижелерді салыстыру арқылы бағаланған. Сынақ пен анықтамалық реагент арасындағы ауытқу, сынақ нәтижелері арасындағы айырмашылық негізінде анықталған. Егер қателік рұқсат етілген қателер ауқымында болса немесе p-мәні айтарлықтай айырмашылықты көрсетпесе (>0,05), онда екі реагенттің сынау нәтижелері баламалы болып саналады.

Алынған нәтижелер келесі кестеде толық көрсетілген:

Донорлар саны = 25				
Оңтайлы нысана	Орташа мән Δ	Δ % Жасуша критерийлері	p-мәні	НӘТИЖЕЛЕР
Моноциттер	-0,19	<5	0,120	PASS
Гранулоциттер	-0,23	<5	4,003E-03	PASS

БОС СЫНАМА ШЕГІ ЖӘНЕ АНЫҚТАУ ШЕГІ

Зерттеу CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, клиникалық зертханалық өлшеу процедураларын анықтау мүмкіндігін бағалау) нұсқауына сәйкес жүргізілді. Анықтау шегі (LOD) – бұл рет-ретімен анықтауға болатын аналиттің ең төмен концентрациясы. Алынған нәтижелер келесі кестеде жинақталған:

Positive Target	Бос сынама шегі (жасуша/мкл)	Анықтау шегі (жасуша/мкл)
Моноциттер	0	4
Гранулоциттер	2	4

ШЕКТЕУЛЕР

1. Цитометр дұрыс бапталмаған, флуоресценттенудің ағып кетуі дұрыс өтелмеген және аймақтар мұқият орналастырмаған жағдайда, ағын цитометриясы қате нәтижелер беруі мүмкін.
2. RBC лизис әдісін жуу қадамымен пайдаланған жөн, себебі бұл реагент «жуусыз» лизис әдістері үшін оңтайландырылмаған.
3. Жүргізілген процедуралар техникалық нұсқау брошюрасына сәйкес және тиісті зертханалық тәжірибемен үйлесімді болған жағдайда ғана дұрыс, әрі жаңғыртылуы мүмкін нәтижелерді алуға болады.
4. Осы реагенттің конъюгацияланған антиденесі арнайы сигнал мен арнайы емес сигналдың ең жақсы қатынасын қамтамасыз ететіндей калибрленген. Сондықтан әрбір сынақты жүргізгенде реагент көлемінің үлгі көлеміне қатынасын сақтау маңызды.
5. гиперлейкоцитоз жағдайында шамамен 5 x 10^9 лейкоцит/л (16) мәнін алу үшін PBS ерітіндісінде қанды сұйылтыңыз.
6. Кейбір жіті бүйрек жеткіліксіздігі немесе гемоглобинопатия сияқты аурулар жағдайында, эритроциттер лизисі баяу, толық емес немесе тіпті мүмкін емес болуы мүмкін. Бұл жағдайда бояудан бұрын тығыздық градиентін (мысалы, Ficoll) пайдаланып мононуклеарлы жасушаларды оқшаулап алу ұсынылады (17).
7. Адамға қарсы моноклоналды антиденелер терапиясымен емделген пациенттерде арнайы мақсатты антигендерді анықтау емдік антиденеңің ішінара немесе толық бұғатталуына байланысты төмендеуі немесе болмауы мүмкін.
8. Нәтижелер CD13-PE пациенттің жалпы клиникалық деректері тұрғысынан түсіндірілуге тиіс, соның ішінде: симптомдар, клиникалық анамнез, қосымша сынақтардың деректері және басқа тиісті ақпарат.

Мысалдар мен анықтамалар алу үшін қосымшаны қараңыз.

САУДА БЕЛГІЛЕРІ

Beckman Coulter, стильденген логотип, сонымен қатар Beckman Coulter өнім мен қызмет көрсету белгілері –— бұл АҚШ және басқа елдердегі Beckman Coulter, Inc. сауда белгілері немесе тіркелген сауда белгілері.

ҚОСЫМША АҚПАРАТ

Еуропалық Одақтағы және бірдей реттеу режимі (зертханалық жағдайдағы медициналық диагностикалық құрылғылар туралы 2017/746/ЕО қаулысы) бар елдердегі пациент/пайдаланушы/үшінші тарап үшін; егер осы құрылғыны пайдалану кезінде немесе оны пайдалану нәтижесінде елеулі оқиға орын алса, өндірушіге және/немесе оның уәкілетті өкіліне және ұлттық органыңызға хабарлаңыз.

Қауіпсіздік пен өнімділік бойынша қорытынды мәліметтер EUDAMED дерекқорында қолжетімді: ec.europa.eu/tools/eudamed.

Өзгерту тарихы

AD ҚАЙТА ҚАРАУ:	Шығарылған күні: Қазан 2019

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AW	Ақпан 2022 ж.
Beckman Coulter ғаламдық таңбалау саясатына және IVD-R (ЕО) 2017/746 талаптарына сәйкес жасалған жаңартулар:	
Қосылған бөлімдер	«BSI 2797 нөмірі», «Мақсатты пайдаланушы», «Клиникалық маңызы», «Концентрациясы», «Анықтық», «Дұрыстық», «Бос сынама шегі және анықтау шегі», «Қосымша ақпарат», «Өзгерту тарихы».
Қосылған ақпарат	«Шектеулер» бөлімінен қараңыз
Фразалар және типографиялық жаңартулар	«Процедура», «Өнімділік», «Шектеулер», «Ескерту және сақтық шаралары» «Сақтау және тұрақтылық» бөлімдерін қараңыз.
Жойылған бөлімдер	«Клиникалық қолдану мысалы», «Реагенттер», «Зертханаішілік жаңғыртылу», «Сызықтық»
Жаңартылған бөлімдер	«Пайдалану мақсаты», «GHS қауіптер классификациясы», «Зақымдалу белгілері», «Процедура», «Қосымша».

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AX	
Жаңартылған бөлімдер	Қазақ тілін қосу
Жаңартылған бөлімдер	Сақтау және тұрақтылық

Қайта қаралған нұсқасы	AY
Қайта қаралған күні	Мамыр 2024
Жаңартылған аудармалар	**Клиникалық маңызы:**
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Таңбалар пернесі

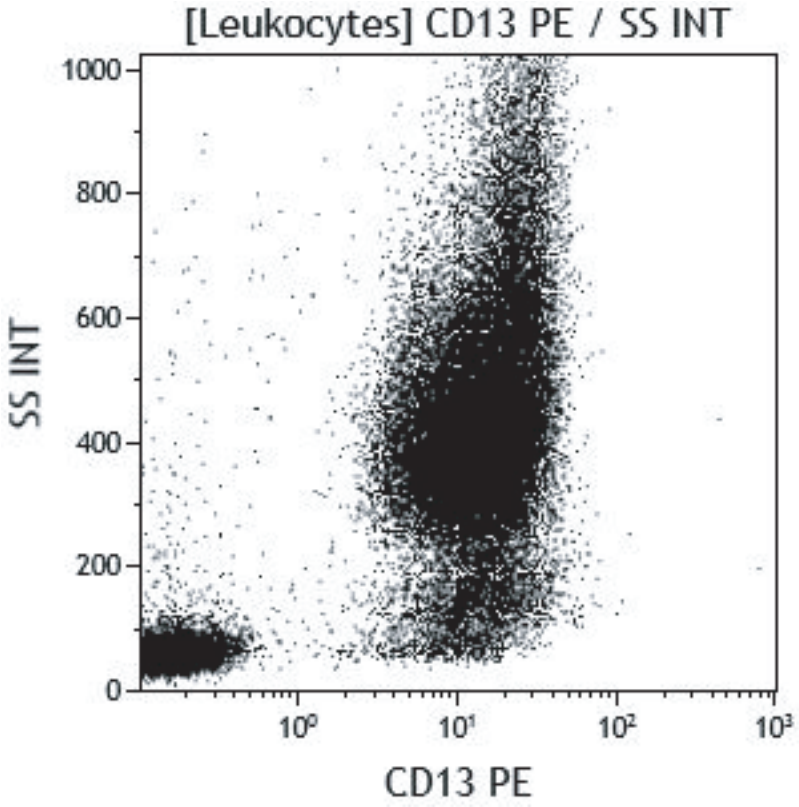
Таңбалар глоссарийі beckman.com/techdocs сайтында (құжат нөмірі: B60062) қолжетімді

APPENDIX

- EXAMPLES

Whole blood samples stained with IOTest CD13-PE Conjugated Antibody.

Acquisition is performed with a Beckman Coulter Navios flow cytometer equipped with the Navios analysis software.



REFERENCES

1. W. Cui, D. Zhang, M. T. Cunningham, L. Tilzer, "Leukemia-associated aberrant immunophenotype in patients with acute myeloid leukemia: changes at refractory disease or first relapse and clinicopathological findings.", Int J Lab Hematol. 36, 636–649 (2014).
2. Liu Yan-Rong, Hong-Hu Zhu, Guo-Rui Ruan, Ya-Zhen Qin, Hong-Xia Shi, Yue-Yun Lai, Yan Chang, et al., "NPM1-Mutated Acute Myeloid Leukemia of Monocytic or Myeloid Origin Exhibit Distinct Immunophenotypes.", Leukemia Research 37, no. 7 (July 2013): 737–41.
3. K. Kawamoto, H. Miyoshi, N. Yoshida, J. Takizawa, H. Sone, K. Ohshima, "Clinicopathological, Cytogenetic, and Prognostic Analysis of 131 Myeloid Sarcoma Patients.", The American Journal of Surgical Pathology. 40, 1473–1483 (2016).
4. Z. Chen, Y. Li, Y. Tong, Q. Gao, X. Mao, W. Zhang, Z. Xia, C. Fu, "Stepwise discriminant function analysis for rapid identification of acute promyelocytic leukemia from acute myeloid leukemia with multiparameter flow cytometry.", Int. J. Hematol. 103, 306–315 (2016).
5. H. Tong, Q. Wang, C. Lu, Z. Liu, Y. Hu, "Immunophenotypic, cytogenetic, and clinical features of 207 cases of childhood acute lymphoblastic leukemia in china.", J. Pediatr. Hematol. Oncol. 33, 437–441 (2011).
6. M. Sharma, M. S. Sachdeva, N. Varma, S. Varma, "Characterization of immunophenotypic aberrancies in adult and childhood acute lymphoblastic leukemia: A study from Northern India.", Journal of cancer research and therapeutics. 12, 620 (2016).
7. S. D. Jalal, N. a. S. Al-Allawi, A. a. S. Al Doski, "Immunophenotypic aberrancies in acute lymphoblastic leukemia from 282 Iraqi patients.", Int J Lab Hematol. 39, 625–632 (2017).
8. F. Corrente, S. Bellesi, E. Metafuni, P. L. Puggioni, S. Marietti, A. M. Ciminello, T. Za, F. Sorà, L. Fianchi, S. Sica, V. De Stefano, P. Chiusolo, "Role of flow-cytometric immunophenotyping in prediction of BCR/ABL1 gene rearrangement in adult B-cell acute lymphoblastic leukemia.", Cytometry. Part B, Clinical Cytometry. 94, 468–476 (2018).
9. V. Kaur, A. Swami, D. Alapat, A. O. Abdallah, P. Motwani, L. F. Hutchins, Y. Jethava, "Clinical characteristics, molecular profile and outcomes of myeloid sarcoma: a single institution experience over 13 years.", Hematology (Amsterdam, Netherlands). 23, 17–24 (2018).
10. B. H. Davis, J.T. Holden, M. C. Bene, et al. "2006 Bethesda International Consensus Recommendations on the Flow Cytometric Immunophenotypic Analysis of Hematolymphoid Neoplasia: Medical Indications." Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 72B:S5-S13 (2007).
11. Goyert, S.M., "CD 13 workshop panel report", 1997, Leucocyte Typing VI, White Cell Differentiation Antigens. Kishimoto, T., et al, Eds., Garland Publishing, Inc., 962-963.
12. Hogg, N., Horton, M.A., "Myeloid antigens, new and previously defined cluster", 1987, Leucocyte Typing III, White Cell Differentiation Antigens, McMichael A.J., et al., Eds., Oxford University Press, 576-602.
13. Pierelli, L., Teopili, L., Menichella, G., Rumi, C., Paolini, A., Iovino, S., Puggioni, P.L., Leone, G., Bizzi, B., "Further investigations on the expression of HLA-DR, CD33 and CD13 surface antigens in purified bone marrow and peripheral blood CD34+ haematopoietic progenitor cells", 1992, Br. J. Haematol., 83, 1-7.
14. Mirro, J., Melvin, S., Metzger, D., Look, A., Murphy, S., "Changes in cell surface antigen expression during myelocytic and monocytic cell differentiation", 1984, Leucocyte Typing I, Bernard, A. et al. Eds., Springer Verlag, 442-446.
15. Ashmun, R.A., Holmes, K.V., Shapiro, L.H., Favalaro, E.J., Razak, K., de Crom, R.P.G., Howard, C.J., Look, A.T., "CD13 (aminopeptidase N) cluster workshop report", 1995, Leucocyte Typing V, White Cell Differentiation Antigens. Schlossman, S.F., et al., Eds., Oxford University Press., 771-775.
16. H42-A2 Vol.27 No. 16. P30. Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry; Approved Guideline - Second Edition.
17. Ibrahim FF, Ghannam MM, Ali FM., "Effect of dialysis on erythrocyte membrane of chronically hemodialyzed patients"., 2002. Ren Fail., Nov;24(6):779-90.

IMMUNOTECH SAS 是贝克曼库尔特公司的旗下公司，地址：130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France，电话：+(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda
Alameda Rio Negro, 500, 15 andar, Torre B Alphaville Industrial
CEP 06.454-000 Barueri, São Paulo, Brasil
CNPJ: 42.160.812/0001-44 Telefone: 0800-771-8818

製造販売業者: ベックマン·コールター株式会社
〒135-0063
東京都江東区有明三丁目5 番7号
TOC有明ウエストタワー

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

 IMMUNOTECH SAS A Beckman Coulter Company, 130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France, +(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

BECKMAN COULTER
MADE IN France

CE 2797

IOTest
Conjugated Antibody
CD34-PC5

REF A07777 100 tests; 1 mL, 10 µL / test

TABLE OF CONTENTS

English . . . 2
Français (France) (fr-fr) . . . 6
Deutsche (de-de) . . . 10
Italiano (it-it) . . . 14
Español (es-es) . . . 18
Português (Portugal) (pt-pt) . . . 22
Dansk (da-dk) . . . 26
Svenska (sv-se) . . . 30
Norsk (nb-no) . . . 34
Suomi (fi-fi) . . . 38
Ελληνικά (el-gr) . . . 42
日本語 (ja-jp) . . . 46
中文（中国）(zh-cn) . . . 50
Lietuvių (lt-lt) . . . 54
Magyar (hu-hu) . . . 58
Polski (pl-pl) . . . 62
Čeština (cs-cz) . . . 66
Slovák (sk-sk) . . . 70
한국어 (ko-kr) . . . 74
Türkçe (tr-tr) . . . 78
Русский (ru-ru) . . . 82
Eestlane (et-ee) . . . 87
Hrvatski (hr-hr) . . . 91
Български (bg-bg) . . . 95
中文（台灣）(zh-tw) . . . 99
Română (ro-ro) . . . 103
Slovenščina (sl-si) . . . 107
Srpski (sr-rs) . . . 111
Latviešu (lv-lv) . . . 115
Українська (uk-ua) . . . 119
Português (Brasil) (pt-br) . . . 123
Nederlands (nl-nl) . . . 127
Tiếng Việt (vi-vn) . . . 131
Қазақша (kk-kz) . . . 135
APPENDIX . . . 139
REFERENCES . . . 140

© 2024 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

	Specifications
Specificity	CD34
Clone	581
Hybridoma	NS0 x balb/c
Immunogen	Human CD34+ leukaemic cells
Immunoglobulin	IgG1
Species	Mouse
Purification	Affinity Chromatography
Fluorochrome	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molar ratio	PC5 / Ig: 0.5-1.5
λ excitation	488 nm
Emission Peak	670 nm
Buffer	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA and 0.1% NaN_3

IOTest
Conjugated Antibody
CD34-PC5

REF A07777 100 tests; 1 mL, 10 µL / test

For *In Vitro* Diagnostic Use

INTENDED USE

This fluorochrome-conjugated antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the CD34 antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

PRINCIPLE

This test is based on the ability of specific monoclonal antibodies to bind to the antigenic determinants expressed by leucocytes.

Specific staining of the leucocytes is performed by incubating the sample with the IOTest reagent. The red cells are then removed by lysis and the leucocytes, which are unaffected by this process, are analyzed by flow cytometry.

The flow cytometer measures light diffusion and the fluorescence of cells. It makes possible the delimitation of the population of interest within the electronic window defined on a histogram, which correlates the orthogonal diffusion of light (Side Scatter or SS) and the diffusion of narrow-angle light (Forward Scatter or FS). Other histograms combining two of the different parameters available on the cytometer can be used as supports in the gating stage depending on the application chosen by the user.

The fluorescence of the delimited cells is analyzed in order to distinguish the positively-stained events from the unstained ones. The results are expressed as a percentage of positive events in relation to all the events acquired by the gating.

INTENDED USER

This product is intended for laboratory professional use.

CLINICAL RELEVANCE

The CD34-PC5 is a CD34 antibody used to identify and characterize cells expressing the CD34 antigen by flow cytometry. This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.

When used in combination with other markers, this product can be used in one or more of the following functions:

- To aid in the differential diagnosis of hematologically abnormal patients suspected of having hematological disorder and to monitor patients with known hematological disorder.
- To aid in the prognosis of patients having hematopoietic neoplasm.
- To monitor transplantation process or results.

See following references :

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

SAMPLES

Venous blood must be taken using sterile tubes containing an EDTA salt as the anticoagulant.

The samples should be kept at room temperature (18 – 25°C) and not shaken. The samples should be homogenized by gentle agitation prior to taking the test sample.

The samples must be analyzed within 24 hours of venipuncture.

CONCENTRATION

See lot specific Certificate of Analysis at www.beckman.com.

WARNING AND PRECAUTIONS

1. Do not use the reagent beyond the expiry date.
2. Do not freeze.
3. Let it come to room temperature (18 – 25°C) before use.
4. Minimize exposure to light.

5. Avoid microbial contamination of the reagents, or false results may occur.
6. Antibody solutions containing sodium azide (NaN_3) should be handled with care. Do not take internally and avoid all contact with the skin, mucosa and eyes.

   Moreover, in an acid medium, sodium azide can form the potentially dangerous hydrazoic acid. If it needs to be disposed of, it is recommended that the reagent be diluted in a large volume of water before pouring it into the drainage system so as to avoid the accumulation of sodium azide in metal pipes and to prevent the risk of explosion.
7. All blood samples must be considered as potentially infectious and must be handled with care (in particular: the wearing of protective gloves, gowns and goggles).
8. Never pipet by mouth, and avoid all contact of the samples with the skin, mucosa and eyes.
9. Blood tubes and disposable material used for handling should be disposed of in ad hoc containers intended for incineration.
10. Reagents and waste should be eliminated according to local requirements.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

SDS Safety Data Sheet is available at beckmancoulter.com/techdocs

STORAGE AND STABILITY

This reagent must be kept at between 2 and 8°C and protected from light, before and after the vial has been opened.

Closed vial shelf life per stability study: 1095 days.

Stability of opened vial: the reagent is stable for 180 days.

EVIDENCE OF DETERIORATION

Any change in the physical appearance of the reagents may indicate deterioration and the reagent should not be used.

For additional information, or if damaged product is received, call Beckman Coulter Customer Service at 800-742-2345 (USA or Canada) or contact your local Beckman Coulter Representative.

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).
To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

MATERIALS NEEDED BUT NOT SUPPLIED WITH KIT:

- Sampling tubes and material necessary for sampling.
- Automatic pipettes with disposable tips for 10, 100 and 500 µL.
- Plastic haemolysis tubes.
- Red cell lysis reagent with washing stage after lysis. For example: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leucocyte fixation reagent. For example : IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800).
- Isotype control PC5 : IOTest reagent (Ref. A07798).
- Buffer (PBS: 0.01 M sodium phosphate; 0.145 M sodium chloride; pH 7.2).
- Centrifuge.
- Automatic agitator (Vortex type).
- Flow cytometer.

PROCEDURE WITH VERSALYSE REAGENT

For each sample analyzed, in addition to the test tube, one control tube can be added in which the cells are mixed in the presence of the isotype control (Ref. A07798).

1. Add 10 µL of specific IOTest conjugated antibody to each test tube and if necessary, 10 µL of the isotype control to each control tube.
2. Add 100 µL of the test sample to each tube. Vortex the tubes gently.
3. Incubate for 15 to 20 minutes at room temperature (18 – 25°C), protected from light.
4. Then perform lysis of the red cells. Refer to VersaLyse (Ref. A09777) leaflet and follow preferably the procedure called “with concomitant fixation”, which consists of adding 1 mL of the “Fix-and-Lyse” mixture prepared extemporaneously. Vortex immediately for one second and incubate for 10 minutes at room temperature, protected from light.
5. Centrifuge for 5 minutes at 150 x g at room temperature.
6. Remove the supernatant by aspiration.
7. Resuspend the cell pellet using 3 mL of PBS.
8. Repeat step 5.
9. Remove the supernatant by aspiration and resuspend the cell pellet using:

- 0.5 mL or 1 mL of PBS plus 0.1% of formaldehyde if the preparations are to be kept less than 24 hours. (A 0.1% formaldehyde PBS can be obtained by diluting 12.5 µL of the IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800) at its 10X concentration in 1 mL of PBS).
- 0.5 mL or 1 mL of PBS without formaldehyde, if the preparations are to be analyzed within 2 hours.

Note: In all cases, keep the preparations between 2 and 8°C and protected from light.

EXPECTED VALUES

There is no expected value relevant for this product.

PERFORMANCE

Performance data are obtained using the procedure described above on less than 24 hour-old blood samples previously collected in sterile tubes with EDTA salt as anticoagulant. Analysis is performed within 2 hours following immunostaining.

SPECIFICITY

The CD34 is a monomeric heavily glycosylated type I transmembrane 116 KDa protein (13). There are two molecular forms of CD34; the full-length form of 385 amino sequences has an intracellular domain that contains consensus of protein kinase C, serine, and threonine phosphorylation. The truncated form lacks most of the intracellular domain. The extracellular form is present in both forms of CD34. For CD34, three types of epitopes have been recognized based on the differential sensitivity to neuramidase and glycolprotease Class I epitopes (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) are sensitive to all proteolytic enzymes. Class II epitopes are (QBEnd10) resistant to neuraminidase but sensitive to glycoprotease. Clone 581 recognizes a class type III epitope and is insensitive to all proteolytic enzymes and avidly bind to all glycoforms of CD34 (14).

The 5th HLDA workshop (Boston 1993) approved the three epitope types of CD34 on the basis of differential sensitivity.

PRECISION

The percent positive values were determined using Whole Blood spiked with positive cells. Each sample was run 4 times, twice a day for 1 day on 2 instruments using 2 lots of CD34-PC5 Monoclonal Antibody Reagents. Measurements (% positive) were made on Navios flow cytometer. Analysis was conducted based on the CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.

Our acceptance criteria is dependent on the number of positive events measured for each population:

- If positive event <1500, CV <15%
- If positive event >1500, CV <10%

Whole Blood spiked with KG1a Cell line							
Number of positive events (Mean) = 5355							
	Inter-Operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-run	Intra-run	Total
CV (%)	0.68	0.54	2.16	0.79	0.66	1.94	2.36
RESULTS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURACY

The accuracy of CD34-PC5 was assessed by comparing the results with a reference reagent as the predicate on a set of whole blood samples spiked with positive cells run on a Navios flow cytometer. The bias between test and reference reagent was determined based on the difference between test results. If the bias is within the allowable error range or the p-value indicates no significant difference (> 0.05), then test results for the two reagents are considered as equivalent.

The results obtained are summarized in the following table below:

Number of donors = 25				
Positive Target	Mean Δ	Δ % Cell criteria	p-value	RESULTS
Whole Blood spiked with KG1a Cell line	1.31	<3	5.01E-04	PASS

LIMIT OF BLANK AND LIMIT OF DETECTION

A study was conducted in accordance with CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures. The Limit of Detection (LOD) is the lowest concentration of analyte that can be consistently detected. Results obtained are summarized in the following table:

Positive Target	Limit of Blank (cell/µL)	Limit of Detection (cell/µL)
KG1a Cell line	1	2

LIMITATIONS

1. Flow cytometry may produce false results if the cytometer has not been aligned perfectly, if fluorescence leaks have not been correctly compensated for and if the regions have not been carefully positioned.
2. It is preferable to use a RBC lysis technique with a washing step, as this reagent has not been optimized for "no wash" lysis techniques.
3. Accurate and reproducible results will be obtained as long as the procedures used are in accordance with the technical insert leaflet and compatible with good laboratory practices.
4. The conjugated antibody of this reagent is calibrated so as to offer the best specific signal/non-specific signal ratio. Therefore, it is important to adhere to the reagent volume/sample volume ratio in every test.
5. In the case of a hyperleucocytosis, dilute the blood in PBS so as to obtain a value of approximately 5 x 10^9 leucocytes/L (15).
6. In certain disease states, such as severe renal failure or haemoglobinopathies, lysis of red cells may be slow, incomplete or even impossible. In this case, it is recommended to isolate mononucleated cells using a density gradient (Ficoll, for example) prior to staining (16).
7. Due to the tandem structure of the fluorochrome, PC5 also emits light at 575 nm. This secondary emission peak varies from lot-to-lot of PC5. Therefore, for multi-color analysis, the compensation matrix should be carefully checked when changing the lot of a -PC5 conjugate.
8. In patients treated with anti-human monoclonal antibody therapies, detection of the specific targeted antigens may be diminished or absent due to partial or complete blocking by the therapeutic antibody.
9. The CD34-PC5 results should be interpreted in light of the total clinical presentation of the patient, including: symptoms, clinical history, data from additional tests, and other appropriate information.

See the Appendix for examples and references.

TRADEMARKS

Beckman Coulter, the stylized logo, and the Beckman Coulter product and service marks mentioned herein are trademarks or registered trademarks of Beckman Coulter, Inc. in the United States and other countries.

ADDITIONAL INFORMATION

For a patient/user/third party in the European Union and in countries with identical regulatory regime (Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices); if, during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorized representative and to your national authority.

The Summary of Safety and Performance is available from the EUDAMED database: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISION HISTORY

REVISION AD:	Release date : October 2020

REVISION	**Release Date**
AW	May 2022
Updates to comply with the Beckman Coulter Global labelling Policy and according to IVD-R (EU)2017/746 requirements:	
Added sections	BSI 2797 Number, Intended User, Clinical Relevance, Concentration, Precision, Accuracy, Limit of blank and limit of detection, Additional Information, Revision History.
Added information	See sections Limitations
Phrasing or typographic updates	See sections Procedure, Performance, Limitations, Warning and Precautions, Storage and Stability.
Removed sections	Example of clinical applications, Reagents, Intra-laboratory reproducibilty, Linearity
Updated sections	Intended Use, GHS Hazard Classification, Evidence of deterioration, Procedure, Appendix.

REVISION	**Release Date**
AX	April 2023
Updated sections	Add Kazakh
Updated sections	Storage and stability

Revised Version	AY
Revised Date	May 2024
Updated Translations	**Clinical relevance :**
Updated sections	Revision History

Revised Version	AZ
Revised Date	July 2024
Updated sections	Revision History

Symbols Key

Glossary of Symbols is available at beckman.com/techdocs (document number B60062)

	Spécifications
Spécificité	CD34
Clone	581
Hybridome	NS0 x balb/c
Immunogène	Human CD34+ leukaemic cells
Immunoglobuline	IgG1
Espèce	Souris
Purification	Chromatographie d'affinité
Fluorochrome	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Rapport molaire	PC5/Ig : 0,5-1,5
Excitation λ	488 nm
Pic d'émission	670 nm
Solution tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA et 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticorps conjugué CD34-PC5

REF A07777 100 tests ; 1 mL, 10 µL / test

Pour une utilisation en Diagnostic *In Vitro*

UTILISATION

Cet anticorps conjugué-fluorochrome permet l'identification qualitative non automatisée des populations de cellules exprimant l'antigène CD34 présent dans les échantillons biologiques humains à l'aide d'une cytométrie en flux (voir la section « Échantillons » ci-dessous).

PRINCIPE

Ce test est fondé sur la capacité d'anticorps monoclonaux spécifiques de se lier à des déterminants antigéniques exprimés par les leucocytes.

Une coloration spécifique des leucocytes est effectuée en incubant l'échantillon avec le réactif IOTest. Les globules rouges sont ensuite supprimés par lyses et les leucocytes, qui ne sont pas affectés par cette procédure, sont analysés par cytométrie en flux.

Le cytomètre en flux mesure la diffusion de la lumière et la fluorescence des cellules. Il rend possible la délimitation de la population d'intérêt au sein de la fenêtre électronique définie sur un histogramme, qui met en corrélation la diffusion orthogonale de la lumière (diffusion latérale ou SS) et la diffusion de la lumière en angle étroit (dispersion avant ou FS). D'autres histogrammes combinant deux des différents paramètres disponibles sur le cytomètre peuvent être utilisés comme supports dans la phase de gating en fonction de l'application choisie par l'utilisateur.

La fluorescence des cellules délimitées est analysée de manière à distinguer les événements colorés positifs de ceux qui ne le sont pas. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'événements positifs par rapport à tous les événements acquis grâce à la méthode de gating.

UTILISATEUR PRÉVU

Ce produit est destiné à un usage professionnel en laboratoire.

PERTINENCE CLINIQUE

Le CD34-PC5 est un anticorps CD34 utilisé pour identifier et caractériser les cellules exprimant l'antigène CD34 par cytométrie en flux. Ce produit seul ne peut pas et n'est pas destiné à générer une quelconque conclusion diagnostique.

Lorsqu'il est utilisé conjointement avec d'autres marqueurs, ce produit peut être utilisé pour l'une ou plusieurs des fonctions suivantes :

- Aider dans le diagnostic différentiel des patients ayant une hématologie anormale et suspectés d'être atteints d'une maladie hématologique et surveiller les patients atteints d'une maladie hématologique connue.
- Faciliter le prognostic des patients ayant un néoplasme hématopoïétique.
- Surveiller la procédure de greffe ou les résultats.

Voir les références suivantes :

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

ÉCHANTILLONS

Le sang veineux doit être prélevé avec des tubes stériles contenant un sel EDTA comme anticoagulant.

Les échantillons doivent être conservés à température ambiante (18–25 °C) et ne doivent pas être agités. Les échantillons doivent être homogénéisés par agitation douce avant de prélever l'échantillon de test.

Les échantillons doivent être analysés dans les 24 heures qui suivent la ponction veineuse.

CONCENTRATION

Voir le certificat d'analyse du lot spécifique sur www.beckman.com.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Ne pas utiliser le réactif au-delà de la date de péremption.
2. Ne pas congeler.
3. Laisser le réactif passer à la température ambiante (18–25 °C) avant de l'utiliser.
4. Minimiser l'exposition à la lumière.
5. Éviter la contamination microbienne des réactifs, ou des résultats erronés peuvent se produire.

6. Les solutions d'anticorps contenant de l'azide de sodium (NaN_3) doivent être manipulées avec précautions. Ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau, les muqueuses et les yeux.

   En outre, dans un milieu acide, l'azide de sodium peut former le potentiellement dangereux acide hydrazoïque. S'il doit être éliminé, il est recommandé de diluer le réactif dans un grand volume d'eau avant de le verser dans le système de drainage afin d'éviter l'accumulation d'azide de sodium dans les tubes métalliques et de prévenir le risque d'explosion.
7. Tous les échantillons de sang doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés avec soin (en particulier : port de gants, de blouses et de lunettes de protection).
8. Ne jamais pipetter avec la bouche et éviter tout contact des échantillons avec la peau, les muqueuses et les yeux.
9. Les tubes de prélèvement sanguin et les matériaux jetables utilisés pour la manipulation doivent être éliminés dans des conteneurs appropriés prévus pour incinération.
10. Les réactifs et les déchets doivent être éliminés conformément aux exigences locales.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux

SDS La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVATION ET STABILITÉ

Ce réactif doit être conservé entre 2 et 8 °C, à l'abri de la lumière, avant et après l'ouverture du flacon.

Durée de conservation du flacon fermé selon l'étude de stabilité : 1095 jours.

Stabilité du flacon ouvert : le réactif est stable pendant 180 jours.

PREUVE DE DÉTÉRIORATION

Tout changement de l'apparence physique des réactifs peut indiquer une détérioration et le réactif ne doit pas être utilisé.

Pour plus de renseignements ou si un produit défectueux est livré, appeler le service client de Beckman Coulter au 800-742-2345 (USA ou Canada), ou votre représentant de Beckman Coulter local.

CONTENU

Les agents de conservation à base d'azide de sodium peuvent former des composés explosifs dans les conduites d'évacuation métalliques. Voir le bulletin NIOSH : Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Dangers d'explosion de l'azide).
Pour éviter l'accumulation potentielle des composés d'azide, rincer les tuyaux d'évacuation à l'eau après l'élimination de réactifs non dilués. L'élimination de l'azide de sodium doit se faire conformément aux réglementations locales en vigueur.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI AVEC CE COFFRET:

- Les tubes d'échantillonnage et le matériel nécessaires pour l'échantillonnage.
- Pipettes automatiques aux embouts jetables pour 10, 100 et 500 µL.
- Tubes d'hémolyse en plastique.
- Réactif de lyse des érythrocytes avec étape de lavage post-lyse. Par exemple : VersaLyse (Réf. A09777).
- Réactif de fixation de leucocyte. Par exemple : Solution fixative IOTest 3 (Réf. A07800).
- Contrôle d'isotype PC5 : Réactif IOTest (Réf. A07798).
- Tampon (PBS : 0,01 M phosphate de sodium ; 0,145 M chlorure de sodium ; pH 7,2).
- Centrifugeuse.
- Agitateur automatique (type vortex).
- Cytomètre en flux.

PROCÉDURE AVEC RÉACTIF VERSALYSE

Pour chaque échantillon analysé, en plus du tube de test, un tube de contrôle peut être ajouté dans lequel les cellules sont mélangées en présence du contrôle isotypique (Réf. A07798).

1. Ajouter 10 µL d'anticorps conjugué spécifique IOTest à chaque tube de test et si nécessaire,10 µL de contrôle isotypique dans chaque tube de contrôle.
2. Ajouter 100 µL de l'échantillon à tester dans chaque tube. Vortexer doucement les tubes.
3. Incuber pendant 15 à 20 minutes à température ambiante (18–25 °C), à l'abri de la lumière.
4. Puis effectuer la lyse des globules rouges. Consulter la notice VersaLyse (Réf. A09777) et suivre de préférence la procédure appelée « with concomitant fixation » (avec fixation concomitante), qui consiste à ajouter 1 mL du mélange « Fixer et Lyser » préparé à n'importe quel moment. Vortexer immédiatement pendant une seconde et incuber pendant 10 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière.
5. Centrifuger pendant 5 minutes à 150 x g à température ambiante.
6. Retirer le surnageant par aspiration.
7. Remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant 3 mL de PBS.
8. Répéter l'étape 5.
9. Éliminer le liquide surnageant par aspiration et remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant :

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS plus 0,1 % de formaldéhyde si les préparations doivent être conservées moins de 24 heures. (Un PBS à 0,1 % de formaldéhyde peut être obtenu en diluant 12,5 µL de solution de fixation IOTest 3 (Réf. A07800) à 10 fois sa concentration dans 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sans formaldéhyde, si les préparations doivent être analysées dans les 2 heures.

Remarque : dans tous les cas, conserver les préparations entre 2 et 8 °C et à l'abri de la lumière.

VALEURS ATTENDUES

Il n'y a pas de valeur attendue pertinente pour ce produit.

PERFORMANCE

Les données de performance sont obtenues à l'aide de la procédure décrite ci-dessus sur des échantillons de sang de moins de 24 heures préalablement collectés dans des tubes stériles contenant du sel EDTA comme anticoagulant. L'analyse est effectuée dans les 2 heures suivant l'immunocoloration.

SPÉCIFICITÉ

CD34 est une protéine transmembranaire de type I fortement glycosylée monomérique, d'une masse moléculaire de 116 KDa (13). CD34 est présent sous deux formes moléculaires ; la forme longue, composée de 385 séquences d'acides aminés, a un domaine intracellulaire qui contient un consensus de phosphorylation de la thréonine, de la sérine et de la protéine kinase C. Il manque à la forme tronquée la majeure partie du domaine intracellulaire. La forme extracellulaire est présente dans les deux formes de CD34. Pour CD34, trois types d'épitopes ont été reconnus en se fondant sur la différence de sensibilité à la neuraminidase et à la glycoprotéase. Les épitopes de Classe I (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) sont sensibles à toutes les enzymes protéolytiques. Les épitopes de Classe II sont (QBEnd10) résistants à la neuraminidase mais sensibles à la glycoprotéase. Le Clone 581 reconnaît un épitope de type III ; il est insensible à toutes les enzymes protéolytiques et se lie très fortement à toutes les glycoformes de CD34 (14).

Le 5ème « HLDA Workshop » (Séminaire HDLA) qui s'est tenu à Boston en 1993 a approuvé les trois types d'épitopes de CD34 sur la base de leur différence de sensibilité.

PRÉCISION

Les valeurs de percentile positives ont été déterminées à l'aide de sang total injecté de cellules positives. Chaque échantillon a été analysé 4 fois, deux fois par jour pendant 1 jour sur 2 instruments à l'aide de 2 lots de réactifs d'anticorps monoclonal CD34-PC5. Les mesures (% positif) ont été effectuées sur le cytomètre en flux Navios. L'analyse a été conduite conformément au document CLSI Méthode EP5-A2 : Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Évaluation de la performance de précision des méthodes de mesures quantitatives).

Notre critère d'acceptation est dépendant du nombre d'événements positifs mesurés pour chaque population :

- Si événement positif < 1 500, CV < 15 %
- Si événement positif > 1 500, CV < 10 %

Sang total injecté de ligne de cellules KG1a							
Nombre d'événements positifs (Moyenne) = 5355							
	Inter-opérateur	Inter-cytomètre	Intra-lot	Inter-lot	Inter-analyse	Intra-analyse	Total
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
RÉSULTATS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUDE

L'exactitude de CD34-PC5 a été évaluée en comparant les résultats avec un réactif de référence comme prédicat sur un ensemble d'échantillons de sang total injecté de cellules positives analysé sur un cytomètre en flux Navios. L'écart systématique entre le test et le réactif de référence a été déterminé en fonction de la différence entre les résultats du test. Si l'écart systématique se situe dans la plage d'erreurs autorisée ou que la valeur p n'indique aucune différence significative (> 0,05), alors les résultats du test pour les deux réactifs sont considérés comme équivalent.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Nombre de donneurs = 25				
Cible positive	Moyenne Δ	Critères de cellules Δ %	Valeur-p	RÉSULTATS
Sang total injecté de ligne de cellules KG1a	1,31	<3	5,01E-04	PASS

LIMITE DU BLANC ET LIMITE DE DÉTECTION

Une étude a été conduite conformément au document CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Évaluation des capacités de détection des procédures de mesures biologiques cliniques). La limite de détection (LOD) est la concentration la plus basse d'analyte qui peut être systématiquement détectée. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Positive Target	Limite du blanc (cellules/µL)	Limite de détection (cellules/µL)
KG1a Ligne de cellule	1	2

LIMITES

1. La cytométrie en flux peut produire des résultats erronés si le cytomètre n'a pas été parfaitement aligné, si les fuites de fluorescence n'ont pas été correctement compensées et si les régions n'ont pas été soigneusement positionnées.
2. Il est préférable d'utiliser une technique de lyse des GR comprenant une étape de lavage, comme ce réactif n'a pas été optimisé pour les techniques de lyse « sans lavage ».
3. Des résultats précis et reproductibles seront obtenus tant que les procédures utilisées sont en conformité avec la notice technique et compatibles avec les bonnes pratiques de laboratoire.
4. L'anticorps conjugué de ce réactif est étalonné de manière à offrir le meilleur ratio de signal spécifique/signal non spécifique. Par conséquent, il est important de respecter le ratio de volume de réactif/volume d'échantillon à chaque test.
5. En cas d'hyperleucocytose, diluer le sang dans du PBS de façon à obtenir une valeur d'approximativement 5 x 10^9 leucocytes/L (15).
6. Dans certains états pathologiques, tels qu'une grave insuffisance rénale ou une hémoglobinopathie, la lyse des globules rouges peut être lente, incomplète ou même impossible. Dans ce cas, il est recommandé d'isoler les cellules mononucléées à l'aide d'un gradient de densité (Ficoll, par exemple) avant la coloration (16).

7. En raison de la structure en tandem du fluorochrome, PC5 émet également de la lumière à 575 nm. Ce second pic d'émission varie entre les lots de PC5. Par conséquent, pour une analyse multi-colore, la matrice de compensation doit être soigneusement vérifiée lors du changement du lot d'un conjugué -PC5.
8. Chez les patients traités par thérapie d'anticorps monoclonal anti-humain, la détection d'antigènes ciblés spécifiques peut être diminuée ou absente en raison d'un blocage partiel ou total par l'anticorps thérapeutique.
9. Les résultats de CD34-PC5 doivent être interprétés à la lumière du tableau clinique complet du patient, y compris : les symptômes, l'anamnèse, les résultats de tests supplémentaires et toute autre information appropriée.

Voir l'annexe pour des exemples et des références.

MARQUES

Beckman Coulter, le logo stylisé et les marques des produits et des services Beckman Coulter mentionnées ici sont des marques ou des marques déposées de Beckman Coulter, Inc. aux États-Unis et dans d'autres pays.

INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES

Pour un patient/utilisateur/tiers de l'Union européenne et des pays ayant le même régime réglementaire (Règlement 2017/746/UE relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro) ; si, lors de l'utilisation de ce dispositif ou suite à son utilisation, un incident important se produit, veuillez le rapporter au fabricant et/ou à son représentant autorisé et à l'autorité nationale de votre pays.

Le Summary of Safety and Performance (Résumé de sécurité et de performance) est disponible sur la base de données EUDAMED : ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

RÉVISION AD :	Date de publication : octobre 2020

RÉVISION	**Date de publication**
AW	Mai 2022
Mises à jour pour se conformer aux exigences de la politique d'étiquetage générale de Beckman Coulter et aux exigences IVD-R (UE)2017/746 :	
Ajout de sections	Numéro BSI 2797, Utilisateur prévu, Pertinence clinique, Concentration, Exactitude, Précision, Limite du blanc et limite de détection, Informations supplémentaires, Historique de révisions.
Ajout d'informations	Voir les sections Limites
Mises à jour typographiques et de formulations	Voir les sections Procédure, Performance, Limites, Avertissement et précautions, Conservation et stabilité.
Suppression de sections	Exemple d'applications cliniques, réactifs, reproductibilité intra-laboratoire, linéarité
Sections mises à jour	Utilisation, Classification des risques SGH, Preuve de détérioration, Procédure, Annexe.

RÉVISION	**Date de publication**
AX	Avril 2023
Sections mises à jour	Ajouter le kazakh
Sections mises à jour	Conservation et stabilité

Version révisée	AY
Date de révision	Mai 2024
Traductions mises à jour	**Pertinence clinique :**
Sections mises à jour	Historique des révisions

Version révisée	AZ
Date de révision	Juillet 2024
Sections mises à jour	Historique des révisions

Légende des symboles

Un glossaire des symboles est disponible sur beckmancoulter.com/techdocs (document numéro B60062)

	Spezifikationen
Spezifität	CD34
Klon	581
Hybridom	NS0 x balb/c
Immunogen	Human CD34+ leukaemic cells
Immunglobulin	IgG1
Spezies	Maus
Aufreinigung	Affinitätschromatografie
Fluorochrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molverhältnis	PC5/Ig: 0,5-1,5
λ-Anregung	488 nm
Emissionspeak	670 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA und 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugierter Antikörper CD34-PC5

REF A07777 100 Tests ; 1 mL, 10 µL / test

Zur Verwendung als *In vitro*-Diagnostikum

VERWENDUNGSZWECK

Dieser mit einem Fluorochrom konjugierte Antikörper ermöglicht mithilfe der Durchflusszytometrie eine qualitative und nicht automatisierte Identifikation von Zellpopulationen, die das CD34-Antigen exprimieren, das in biologischen Proben menschlicher Herkunft vorhanden ist (siehe den Abschnitt „Proben“ unten).

PRINZIP

Dieser Test basiert auf der Fähigkeit bestimmter monoklonaler Antikörper, an die durch Leukozyten exprimierten antigenen Determinanten zu binden.

Die spezifische Färbung der Leukozyten erfolgt durch Inkubation der Probe mit dem IOTest-Reagenz. Die Erythrozyten können dann mittels Lyse entfernt werden. Die von diesem Vorgang unberührten Leukozyten werden mittels Durchflusszytometrie analysiert.

Das Durchflusszytometer misst die Lichtstreuung und die Fluoreszenz der Zellen. Es ermöglicht die Abgrenzung der gewünschten Population innerhalb des auf einem Histogramm definierten elektronischen Fensters, welches die orthogonale Lichtstreuung (Seitwärtsstreuung, SW) und die Streuung des Lichts im flachen Winkel (Vorwärtsstreuung, VW) in Beziehung zueinander setzt. Andere Histogramme, die zwei der auf dem Zytometer verfügbaren Parameter kombinieren, können zur Unterstützung beim Gating eingesetzt werden, je nachdem welche Anwendung der Benutzer ausgewählt hat.

Die Fluoreszenz der einzelnen Zellen wird analysiert, um die positiv angefärbten Ereignisse von den nicht angefärbten zu unterscheiden. Die Ergebnisse werden als Prozentsatz positiver Ereignisse relativ zu allen durch das Gating erfassten Ereignissen angegeben.

VORGESEHENER BENUTZER

Dieses Produkt ist für den Einsatz durch Laborfachkräfte vorgesehen.

KLINISCHE RELEVANZ

CD34-PC5 ist ein CD34-Antikörper zur durchflusszytometrischen Identifikation und Charakterisierung von Zellen, die das CD34-Antigen exprimieren. Es ist weder möglich noch vorgesehen, alleine anhand dieses Produkts zu einer diagnostischen Schlussfolgerung zu kommen.

Bei Verwendung in Verbindung mit anderen Markern kann dieses Produkt für einen oder mehrere der folgenden Zwecke eingesetzt werden:

- Als Hilfsmittel zur Differenzialdiagnose von hämatologisch anormalen Patienten mit Verdacht auf eine hämatologische Erkrankung und zur Überwachung von Patienten mit bestätigter hämatologischer Erkrankung.
- Als Hilfsmittel bei der Prognose für Patienten mit hämatopoetischem Neoplasma.
- Zur Überwachung von Transplantationsverfahren bzw. -ergebnissen.

Siehe die nachstehenden Literaturhinweise:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

PROBEN

Venöses Blut muss mit sterilen Röhrchen entnommen werden, die ein EDTA-Salz als Antikoagulanz enthalten.

Die Proben bei Raumtemperatur (18–25 °C) aufbewahren und nicht schütteln. Die Proben vor Entnahme der Testprobe durch vorsichtiges Schütteln homogenisieren.

Die Proben müssen innerhalb von 24 Stunden analysiert werden.

KONZENTRATION

Siehe das chargenspezifische Analysezertifikat unter www.beckman.com.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Das Reagenz nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden.
2. Nicht einfrieren.
3. Vor der Verwendung auf Raumtemperatur (18–25 °C) bringen.
4. Vor Licht schützen.
5. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien muss vermieden werden, damit kein falsches Ergebnis erzielt wird.

6. Antikörperlösungen, die Natriumazid (NaN_3) enthalten, vorsichtig handhaben. Nicht einnehmen und Berührungen mit Haut, Schleimhäuten und Augen vermeiden.

   Zudem kann Natriumazid in einem sauren Medium zur Bildung potenziell gefährlicher Stickstoffwasserstoffsäure führen. Zur Entsorgung des Reagenzes wird empfohlen, das Reagenz mit viel Wasser zu verdünnen, bevor es in das Abwassersystem gegossen wird, um einer Ansammlung von Natriumazid in den Metallrohren und dem Risiko einer Explosion vorzubeugen.
7. Blutproben sind als potenziell infektiös zu betrachten und müssen mit Vorsicht gehandhabt werden (insbesondere durch Tragen von Schutzhandschuhen, -kittel und -brille).
8. Niemals mit dem Mund pipettieren und jeglichen Kontakt der Proben mit Haut, Schleimhaut und Augen vermeiden.
9. Blutröhrchen und Einwegmaterial, das zur Handhabung verwendet wird, müssen in dafür vorgesehenen, für die Verbrennung bestimmten Behältern entsorgt werden.
10. Reagenzien und Abfälle sind entsprechend den örtlichen Anforderungen zu entsorgen.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft

SDS Das Sicherheitsdatenblatt ist auf beckmancoulter.com/techdocs verfügbar.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Dieses Reagenz muss vor und nach dem Öffnen des Fläschchens lichtgeschützt zwischen 2 und 8 °C gelagert werden.

Haltbarkeit der geschlossenen Durchstechflasche gemäß Stabilitätsstudie: 1095 Tage.

Stabilität geöffneter Fläschchen: Das Reagenz ist 180 Tage lang stabil.

VERFALLSANZEICHEN

Ein verändertes Aussehen der Reagenzien kann ein Verfallsanzeichen sein. Entsprechende Reagenzien dürfen nicht verwendet werden.

Wenn Sie weitere Informationen wünschen oder falls das Produkt beschädigt bei Ihnen eintrifft, setzen Sie sich (innerhalb der USA und Kanada) unter der Rufnummer 800-742-2345 mit dem Kundendienst von Beckman Coulter bzw. außerhalb dieser Länder mit dem für Sie zuständigen Beckman Coulter-Mitarbeiter in Verbindung.

INHALT

Natriumazid als Konservierungsmittel kann in metallischen Abflussleitungen explosive Verbindungen bilden. Siehe NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (NIOSH-Bulletin: Gefahr durch explosive Azide).
Um eine mögliche Akkumulation von Azidverbindungen zu vermeiden, die Abwasserrohre nach der Entsorgung von unverdünntem Reagenz mit Wasser spülen. Natriumazid muss entsprechend den örtlichen behördlichen Vorschriften entsorgt werden.

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT IM KIT ENTHALTENE ARTIKEL:

- Probenahmeröhrchen und für die Probenahme benötigte Materialien.
- Automatische Pipetten mit Einwegspritzen für 10, 100 und 500 µL.
- Hämolyseröhrchen aus Kunststoff.
- Reagenz zur Lyse der Erythrozyten mit Waschstufe nach der Lyse. Beispiel: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagenz zur Leukozytenfixierung. Beispiel: IOTest 3-Fixierungslösung (Ref. A07800).
- Isotypkontrolle PC5: IOTest-Reagenz (Ref. A07798).
- Puffer (PBS: 0,01 M Natriumphosphat; 0,145 M Natriumchlorid; pH 7,2).
- Zentrifuge.
- Automatisches Mischgerät (Typ Vortex-Mischer).
- Durchflusszytometer.

VERFAHREN MIT VERSALYSE-REAGENZ

Für jede analysierte Probe kann zusätzlich zum Teströhrchen noch ein Kontrollröhrchen verwendet werden, in dem die Zellen in Gegenwart der Isotypkontrolle (Ref. A07798) gemischt werden.

1. 10 µL des spezifischen konjugierten IOTest-Antikörpers in jedes Teströhrchen und bei Bedarf 10 µL der Isotypkontrolle in jedes Kontrollröhrchen geben.
2. 100 µL der Testprobe in jedes Röhrchen geben. Die Röhrchen sachte mittels Vortex-Mischer mischen.
3. Bei Raumtemperatur (18–25 °C) 15 bis 20 Minuten lang lichtgeschützt inkubieren.
4. Im Anschluss die Erythrozyten lysieren. Das Merkblatt für VersaLyse (Ref. A09777) beachten und vorzugsweise das Verfahren mit dem Titel „with concomitant fixation“ (mit gleichzeitiger Fixierung) befolgen, das eine Zugabe von 1 mL des spontan zubereiteten „Fix-and-Lyse“(Fixierung und Lyse)-Gemisches vorsieht. Sofort eine Sekunde lang auf dem Vortex-Mischer mischen und 10 Minuten lang lichtgeschützt bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Bei 150 x g 5 Minuten lang bei Raumtemperatur zentrifugieren.
6. Den Überstand absaugen.
7. Das Zellpellet in 3 mL PBS resuspendieren.
8. Schritt 5 wiederholen.
9. Den Überstand absaugen und das Zellpellet resuspendieren mit:

- 0,5 mL oder 1 mL PBS plus 0,1 % Formaldehyd, wenn die Präparate weniger als 24 Stunden aufbewahrt werden sollen. (Ein 0,1%iges Formaldehyd-PBS-Gemisch kann hergestellt werden, indem 12,5 µL der IOTest 3-Fixierlösung (Ref. A07800) bei 10-facher Konzentration in 1 mL PBS verdünnt werden.)
- 0,5 mL oder 1 mL PBS ohne Formaldehyd, wenn die Präparate innerhalb von weniger als 2 Stunden analysiert werden sollen.

Hinweis: Die Präparate in jedem Fall zwischen 2 und 8 °C und vor Licht geschützt aufbewahren.

ERWARTETE WERTE

Für dieses Produkt gibt es keinen relevanten erwarteten Wert.

LEISTUNG

Leistungsdaten werden unter Anwendung des oben beschriebenen Verfahrens mit weniger als 24 Stunden alten Blutproben ermittelt, die zuvor in sterile Röhrchen mit EDTA-Salz als Antikoagulanz entnommen wurden. Die Analyse erfolgt innerhalb von 2 Stunden nach der Immunfärbung.

SPEZIFITÄT

CD34 ist ein monomerisches, stark glykosyliertes Typ-I-Transmembran-116-KDa-Protein (13). Es gibt zwei molekulare Formen von CD34: die vollständige Form von 385 Aminosequenzen verfügt über eine intrazelluläre Domäne mit einer Mischung aus Protein-Kinase C, Serin und Threonin-Phosphorylierung. Der verkürzten Form mangelt es am Großteil der intrazellulären Domäne. Die extrazelluläre Form ist in beiden Formen von CD34 vorhanden. Bei CD34 wurden drei Arten an Epitopen basierend auf der Differentialsensibilität gegenüber Neuraminidase und Glykolprotease der Klasse-I-Epitope (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) erkannt, die sensibel gegenüber allen proteolytischen Enzymen sind. Klasse-II-Epitope sind (QBEnd10) resistent gegenüber Neuraminidase, jedoch sensibel gegenüber Glykoprotease. Klon 581 erkennt ein Klasse-III-Epitop und ist unsensibel gegenüber allen proteolytischen Enzymen und bindet sich stark an alle Glykoformen von CD34 (14).

Der 5th HLDA Workshop (5. HLDA-Workshop) (Boston 1993) bestätigte die drei Epitoptypen von CD34 auf Basis der Differentialsensibilität.

PRÄZISION

Die prozentualen positiven Werte wurden unter Verwendung von mit positiven Zellen angereichertem Vollblut bestimmt. Jede Probe wurde zweimal täglich 1 Tag lang unter Verwendung von 2 Chargen der Reagenzien mit dem monoklonalen Antikörper CD34-PC5 4 Mal auf 2 Instrumenten analysiert. Messungen (% positiv) wurden mit dem Navios-Durchflusszytometer vorgenommen. Die Analyse folgte den Vorgaben der CLSI-Methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Beurteilung der Präzisionsleistung von quantitativen Messmethoden).

Unsere Akzeptanzkriterien sind abhängig von der Anzahl an positiven Ereignissen, die für jede Population gemessen werden:

- Wenn positives Ereignis < 1 500, VK < 15 %
- Wenn positives Ereignis > 1 500, VK < 10 %

Mit KG1a-Zelllinie angereichertes Vollblut							
Anzahl der positiven Ereignisse (Mittelwert) = 5355							
	Zwischen Bedienern	Zwischen Durchflusszytometern	Innerhalb einer Charge	Zwischen Chargen	Zwischen Läufen	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
VK (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
ERGEBNISSE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit von CD34-PC5 wurde anhand eines Vergleichs der Ergebnisse mit einem Referenzreagenz als Prädikat für einen Satz aus mit positiven Zellen angereicherten Vollblutproben bewertet, die auf einem Navios-Durchflusszytometer analysiert wurden. Die Abweichung zwischen Test- und Referenzreagenz wurde auf der Grundlage der Differenz zwischen Testergebnissen bestimmt. Sollte die Abweichung innerhalb des zulässigen Fehlerbereichs liegen oder der p-Wert keine signifikante Differenz (> 0,05) nahelegen, gelten die Testergebnisse für die beiden Reagenzien als gleichwertig.

Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Anzahl der Spender = 25				
Positives Ziel	Mittelwert Δ	Δ % Zellkriterien	p-Wert	ERGEBNISSE
Mit KG1a-Zelllinie angereichertes Vollblut	1,31	<3	5,01E-04	PASS

GRENZWERT FÜR LEERWERT UND NACHWEISGRENZE

Es wurde eine Studie gemäß CLSI-Dokument EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluierung des Detektionsvermögens von klinischen Labormessverfahren), durchgeführt. Die Nachweisgrenze (LOD) ist die niedrigste Konzentration des Analyten, die durchweg nachgewiesen werden kann. Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Positive Target	Grenzwert für Leerwert (Zelle/µL)	Nachweisgrenze (Zelle/µL)
KG1a Zelllinie	1	2

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Die Durchflusszytometrie kann falsche Ergebnisse liefern, wenn das Zytometer nicht perfekt ausgerichtet wurde, wenn Fluoreszenzlecks nicht korrekt kompensiert wurden und wenn die Bereiche nicht sorgfältig positioniert wurden.
2. Vorzugsweise sollte eine ERY-Lysetechnik mit einem Waschschritt angewandt werden, da dieses Reagenz nicht für Lysetechniken ohne Waschen optimiert wurde.
3. Genaue und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, sofern die verwendeten Verfahren der technischen Packungsbeilage entsprechen und mit der guten Laborpraxis kompatibel sind.
4. Der konjugierte Antikörper dieses Reagenzes ist so kalibriert, dass er das beste Verhältnis von spezifischem zu unspezifischem Signal bietet. Daher ist es wichtig, das Verhältnis Reagenzvolumen/Probenvolumen bei jedem Test einzuhalten.

5. Im Falle einer Hyperleukozytose das Blut in PBS verdünnen, um einen Wert von ungefähr 5 x 10^9 Leukozyten/L zu erhalten(15).
6. Bei bestimmten Krankheitszuständen, beispielsweise einem schweren Nierenversagen oder Hämoglobinopathien, kann die Lyse der Erythrozyten möglicherweise nur langsam oder unvollständig erfolgen oder sogar unmöglich sein. In diesem Fall empfiehlt es sich, vor dem Färben einkernige Zellen mittels eines Dichtegradienten (beispielsweise Ficoll) zu isolieren (16).
7. Aufgrund der Tandemstruktur des Fluorochroms emittiert PC5 auch Licht bei 575 nm. Diese sekundäre Emissionsspitze variiert bei PC5 von Charge zu Charge. Daher sollte bei einer Mehrfarbanalyse die Kompensationsmatrix sorgfältig geprüft werden, wenn die Charge eines PC5-Konjugats gewechselt wird.
8. Bei Patienten, die sich Therapien mit anti-humanen monoklonalen Antikörpern unterziehen, kann das Nachweisvermögen für die spezifischen anvisierten Antigene aufgrund einer teilweisen oder vollständigen Blockierung durch die therapeutischen Antikörper vermindert sein oder gänzlich ausbleiben.
9. Die Ergebnisse für CD34-PC5 müssen unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde für den Patienten interpretiert werden, einschließlich Symptomen, klinischer Vorgeschichte, Daten zusätzlicher Tests sowie sonstiger relevanter Informationen.

Beispiele und Literaturhinweise siehe Anhang.

MARKEN

Beckman Coulter, das stilisierte Logo und die in diesem Dokument erwähnten Beckman Coulter-Produkt- und Dienstleistungsmarken sind in den USA und anderen Ländern Marken oder eingetragene Marken von Beckman Coulter, Inc.

WEITERE INFORMATIONEN

Für einen Patienten/Benutzer/Dritten in der Europäischen Union und in Ländern mit identischer Regulierungspraxis (Verordnung 2017/746/EU über In-vitro-Diagnostika) gilt Folgendes: Sollte es im Rahmen der Verwendung dieses Produktes oder infolge der Verwendung dieses Produktes zu einem schwerwiegenden Zwischenfall gekommen sein, ist dieser dem Hersteller und/oder dessen Bevollmächtigten sowie der nationalen Behörde zu melden.

Die „Summary of Safety and Performance“ (Bericht über Sicherheit und Leistung) kann aus der EUDAMED-Datenbank abgerufen werden: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSVERLAUF

REVISION AD:	Freigabedatum: Oktober 2020

REVISION	**Freigabedatum**
AW	Mai 2022
Aktualisierungen vorgenommen, um den Vorgaben der globalen Etikettierungsrichtlinie von Beckman Coulter und den Vorgaben nach IVD-R (EU) 2017/746 zu entsprechen:	
Abschnitte hinzugefügt	Nummer nach BSI 2797; Vorgesehener Benutzer; Klinische Anwendung; Konzentration; Präzision; Genauigkeit; Grenzwert für Leerwert und Nachweisgrenze; Weitere Informationen; Revisionsübersicht.
Informationen hinzugefügt	Siehe Abschnitt Einschränkungen
Formulierung oder Typografie aktualisiert	Siehe die Abschnitte Verfahren; Leistung; Einschränkungen; Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen; Lagerung und Stabilität.
Abschnitte gestrichen	Beispiel für klinische Anwendungen; Reagenzien; Reproduzierbarkeit innerhalb des Labors; Linearität
Aktualisierte Abschnitte	Verwendungszweck; GHS-Gefahrstoffklassifizierung; Verfallsanzeichen; Verfahren; Anhang.

REVISION	**Freigabedatum**
AX	April 2023
Aktualisierte Abschnitte	Kasachisch hinzufügen
Aktualisierte Abschnitte	Lagerung und Stabilität

Überarbeitete Version	AY
Überarbeitungsdatum	Mai 2024
Aktualisierte Übersetzungen	**Klinische Relevanz:**
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Überarbeitete Version	AZ
Überarbeitungsdatum	Juli 2024
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Liste der Symbole

Das Glossar der Symbole ist auf beckman.com/techdocs (Dokumentnummer B60062) verfügbar.

	Specifiche
Specificità	CD34
Clone	581
Ibridoma	NS0 x balb/c
Immunogeno	Human CD34+ leukaemic cells
Immunoglobulina	IgG1
Specie	Topo
Purificazione	Cromatografia di affinità
Fluorocromo	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Rapporto molare	PC5 / Ig: 0,5-1,5
Eccitazione λ	488 nm
Picco di emissione	670 nm
Tampone	PBS pH 7,2 più 2 mg/mL di BSA e NaN_3 0,1%

IOTest

Anticorpo coniugato CD34-PC5

REF A07777 100 test; 1 mL, 10 µL / test

Per uso diagnostico *in vitro*

USO PREVISTO

Questo anticorpo coniugato con fluorocromo consente l'identificazione qualitativa e non automatizzata di popolazioni cellulari che esprimono l'antigene CD34 presente nei campioni biologici umani mediante citometria a flusso (vedere la sezione "Campioni" di seguito).

PRINCIPIO

Questo test si basa sulla capacità di specifici anticorpi monoclonali di legarsi ai determinanti antigenici espressi dai leucociti.

La colorazione specifica dei leucociti viene eseguita incubando il campione con il reagente IOTest. Gli eritrociti vengono quindi rimossi tramite lisi e i leucociti, non interessati da questo processo, vengono analizzati tramite citometria a flusso.

Il citometro a flusso misura la diffusione di luce e la fluorescenza delle cellule. Ciò consente la delimitazione della popolazione di interesse con la finestra elettronica definita in un istogramma, che correla la diffusione ortogonale della luce (scattering laterale o SS) e la diffusione della luce ad angolo stretto (scattering frontale o FS). Altri istogrammi che combinano due dei diversi parametri disponibili sul citometro possono essere usati come supporti nella fase di determinazione del gate in base alle applicazioni scelte dall'utente.

La fluorescenza delle cellule delimitate viene analizzata per distinguere gli eventi colorati in modo positivo e quelli non colorati. I risultati sono espressi come percentuale di eventi positivi in relazione a tutti gli eventi acquisiti mediante determinazione del gate.

UTENTE PREVISTO

Questo prodotto è destinato all'uso professionale in laboratorio.

RILEVANZA CLINICA

CD34-PC5 è un anticorpo CD34 utilizzato per identificare e caratterizzare le cellule che esprimono l'antigene CD34 mediante citometria a flusso. Questo prodotto da solo non può e non intende generare alcuna conclusione diagnostica.

Se impiegato in combinazione con altri marcatori, questo prodotto può essere utilizzato con una o più delle seguenti funzioni:

- Come supporto nella diagnosi differenziale di pazienti con anomalie ematologiche e sospette patologie a carico del sangue e nel monitoraggio di pazienti con patologie ematologiche note.
- Come supporto nella prognosi di pazienti con neoplasia ematopoietica.
- Per monitorare una procedura o i risultati di un trapianto.

Vedere i riferimenti seguenti:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

CAMPIONI

I campioni di sangue venoso devono essere prelevati utilizzando provette sterili contenenti un sale EDTA come anticoagulante.

I campioni devono essere conservati a temperatura ambiente (18-25 °C) e non devono essere agitati. I campioni devono essere omogeneizzati agitandoli con delicatezza prima di prelevare il campione per il test.

I campioni devono essere analizzati entro 24 ore dalla venipuntura.

CONCENTRAZIONE

Vedere il Certificato di analisi specifico del lotto sul sito www.beckman.com.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza.
2. Non congelare.
3. Prima dell'uso, portare a temperatura ambiente (18-25 °C).
4. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce.
5. Evitare la contaminazione microbica dei reagenti, poiché potrebbe falsare i risultati.

6. Le soluzioni di anticorpi che contengono sodio azide (NaN_3) devono essere maneggiate con cura. Non ingerire ed evitare qualsiasi contatto con cute, mucose e occhi.

   Inoltre, in un mezzo acido, il sodio azide può formare acido idrazoico, che è potenzialmente pericoloso. Per lo smaltimento, si consiglia di diluire il reagente in un grande volume di acqua prima di versarlo nell'impianto di scarico, in modo da evitare l'accumulo di sodio azide nelle tubazioni metalliche ed evitare il rischio di esplosione.
7. Tutti i campioni di sangue devono essere considerati potenzialmente infetti e devono essere maneggiati con cura (in particolare, indossando guanti, camici e occhiali protettivi).
8. Non pipettare mai usando la bocca ed evitare il contatto dei campioni con la pelle, le mucose e gli occhi.
9. Le provette per il sangue e i materiali monouso usati per la manipolazione devono essere smaltiti in appositi contenitori destinati all'inceneritore.
10. I reagenti e i rifiuti devono essere smaltiti conformemente alla normative locali.

CLASSIFICAZIONE DEI PERICOLI GHS

Classificato come non pericoloso

SDS La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile all'indirizzo beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Questo reagente deve essere mantenuto a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce, prima e dopo l'apertura della fiala.

Durata di conservazione della fiala chiusa secondo studi di stabilità: 1095 giorni.

Stabilità di una fiala aperta: il reagente è stabile per 180 giorni.

INDICI DI DETERIORAMENTO

Qualsiasi cambiamento dell'aspetto fisico dei reagenti può indicare un deterioramento. In tale caso, non utilizzare il reagente.

Per ulteriori informazioni, o nel caso in cui il prodotto ricevuto risulti danneggiato, rivolgersi all'assistenza clienti Beckman Coulter al numero 800-742-2345 (USA o Canada) o mettersi in contatto con il rappresentante locale Beckman Coulter.

SOMMARIO

Il conservante sodio azide può formare composti esplosivi nelle tubazioni metalliche di scarico. Vedere il bollettino NIOSH: Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Bollettino dell'Istituto Nazionale per la Sicurezza e la Salute sul Lavoro: Rischio di esplosione del sodio azide).
Per evitare il possibile accumulo di azidi, lavare i tubi di scarico con acqua dopo lo smaltimento del reagente puro. Il sodio azide deve essere eliminato conformemente alle normative locali applicabili.

COMPONENTI NECESSARI MA NON FORNITI CON IL KIT:

- Provette per campioni e materiale necessario per il campionamento.
- Pipette automatiche con punte monouso per 10, 100 e 500 µL.
- Provette per emolisi in plastica.
- Reagente per lisi degli eritrociti con fase di lavaggio successiva alla lisi. Ad esempio: VersaLyse (Rif. A09777).
- Reagente di fissaggio dei leucociti. Ad esempio: Soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800).
- Controllo di isotipo PC5: reagente IOTest (Rif. A07798).
- Tampone (PBS: 0,01 M di fosfato di sodio, 0,145 M di cloruro di sodio, pH 7,2).
- Centrifugare.
- Agitatore automatico (tipo Vortex).
- Citometro a flusso.

PROCEDURA CON REAGENTE VERSALYSE

Per ogni campione analizzato, oltre alla provetta del test, si può aggiungere una provetta di controllo in cui miscelare le cellule in presenza di controllo di isotipo (Rif. A07798).

1. Aggiungere 10 µL di anticorpo coniugato IOTest specifico in ogni provetta del test e, se necessario, 10 µL di controllo di isotipo in ogni provetta di controllo.
2. Aggiungere 100 µL di campione del test in ogni provetta. Agitare delicatamente le provette con Vortex.
3. Incubare a temperatura ambiente (18-25 °C) per 15-20 minuti, al riparo dalla luce.
4. Quindi eseguire la lisi degli eritrociti. Consultare il foglietto illustrativo di VersaLyse (Rif. A09777) e seguire preferibilmente la procedura denominata "with concomitant fixation" (con fissazione concomitante), che consiste nell'aggiungere 1 mL della miscela fissante e lisante preparata estemporaneamente. Miscelare immediatamente con Vortex per un secondo e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente, al riparo dalla luce.
5. Centrifugare per 5 minuti a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Rimuovere il surnatante mediante aspirazione.
7. Risospendere il pellet cellulare utilizzando 3 mL di PBS.
8. Ripetere il passaggio 5.
9. Eliminare il surnatante tramite aspirazione e risospendere il pellet cellulare tramite:

- 0,5 mL o 1 mL di PBS più 0,1% di formaldeide, se i preparati devono essere conservati per meno di 24 ore. È possibile ottenere PBS con formaldeide allo 0,1% diluendo 12,5 µL di soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800) alla sua concentrazione di 10X in 1 mL di PBS.
- 0,5 mL o 1 mL di PBS senza formaldeide, se i preparati devono essere analizzati entro 2 ore.

Nota: in tutti i casi, mantenere i preparati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce.

VALORI ATTESI

Non esiste un valore atteso rilevante per questo prodotto.

PRESTAZIONI

I dati delle prestazioni si ottengono adottando la procedura descritta in precedenza su campioni di sangue raccolti da meno di 24 ore in provette sterili con anticoagulante EDTA. L'analisi viene eseguita entro 2 ore dall'immunocolorazione.

SPECIFICITÀ

CD34 è una proteina transmembranica monomerica pesantemente glicosilata di tipo I da 116 KDa (13). Esistono due forme molecolari di CD34; la forma a lunghezza completa della sequenza con 385 aminoacidi presenta un dominio intracellulare che contiene il consenso della fosforilazione di proteina chinasi C, serina e treonina. La forma troncata perde la maggior parte del dominio intracellulare. La forma extracellulare è presente in entrambe le forme di CD34. Per CD34, sono stati riconosciuti tre tipi di epitopi sulla base della sensibilità differenziale alla neuraminidasi; gli epitopi della glicolproteasi di classe I (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) sono sensibili a tutti gli enzimi proteolitici. Gli epitopi di classe II sono (QBEnd10) resistenti alla neuraminidasi ma sensibili alla glicoproteasi. Il clone 581 riconosce un epitopo di classe III ed è insensibile a tutti gli enzimi proteolitici e si lega avidamente a tutte le glicoforme di CD34 (14).

Nel corso di 5th HLDA workshop (V workshop sugli antigeni di differenziazione dei leucociti umani), Boston 1993, sono stati approvati tre tipi di epitopi di CD34 sulla base della sensibilità differenziale.

PRECISIONE

I valori percentuali positivi sono stati determinati utilizzando sangue intero corretto con cellule positive. Ogni campione è stato analizzato 4 volte, due volte al giorno per 1 giorno su 2 strumenti utilizzando 2 lotti di reagenti per anticorpi monoclonali CD34-PC5. Le misurazioni (% positive) sono state eseguite sul citometro a flusso Navios. L'analisi è stata condotta secondo il metodo EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Valutazione delle prestazioni di precisione dei metodi di misurazione quantitativa).

I nostri criteri di accettazione dipendono dal numero di eventi positivi misurati per ogni popolazione:

- Se evento positivo < 1.500, CV < 15%
- Se evento positivo > 1.500, CV < 10%

Sangue intero corretto con KG1a linea cellulare							
Numero di eventi positivi (media) = 5355							
	Inter-operatore	Inter-citometro	Intra-lotto	Inter-lotto	Inter-analisi	Intra-analisi	Totale
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
RISULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURATEZZA

L'accuratezza di CD34-PC5 è stata valutata confrontando i risultati con un reagente di riferimento come predicato su una serie di campioni di sangue intero corretto con cellule positive eseguiti su un citometro a flusso Navios. La distorsione tra il reagente in esame e quello di riferimento è stata determinata in base alla differenza tra i risultati del test. Se la distorsione rientra nell'intervallo di errore consentito o il valore p indica che non vi è una differenza significativa (> 0,05), allora i risultati dei test per i due reagenti sono considerati equivalenti.

I risultati ottenuti sono riepilogati nella tabella seguente:

Numero di donatori = 25				
Target positivo	Δ medio	Criteri cellulari Δ %	Valore p	RISULTATI
Sangue intero corretto con KG1a linea cellulare	1,31	<3	5,01E-04	PASS

LIMITE DEL BIANCO E LIMITE DI RILEVAZIONE

È stato effettuato uno studio in conformità al documento EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Valutazione delle capacità di rilevamento delle procedure di misurazione del laboratorio clinico). Il limite di rilevazione (LoD) è la più bassa concentrazione di analita che può essere costantemente rilevata. I risultati ottenuti sono riepilogati nella seguente tabella:

Positive Target	Limite del bianco (cellula/µL)	Limite di rilevazione (cellula/µL)
KG1a Linea cellulare	1	2

LIMITAZIONI

1. La citometria a flusso può produrre falsi risultati se il citometro non viene allineato perfettamente, le perdite di fluorescenza non vengono correttamente compensate e le regioni non vengono posizionate attentamente.
2. È preferibile utilizzare una tecnica di lisi RBC con una fase di lavaggio, in quanto il reagente non è stato ottimizzato per tecniche di lisi "senza lavaggio".
3. Seguendo le procedure descritte nel foglietto illustrativo con le informazioni tecniche, compatibili con le buone pratiche di laboratorio, è possibile ottenere risultati accurati e riproducibili.
4. L'anticorpo coniugato di questo reagente è calibrato in modo da offrire un rapporto segnale specifico/segnale non specifico ottimale. Di conseguenza, è importante rispettare il rapporto fra volume di reagente e volume di campione in tutti i test.
5. In caso di iperleucocitosi, diluire il sangue in PBS in modo da ottenere un valore di circa 5 x 10^9 leucociti/L (15).
6. In alcuni stati patologici, come insufficienza renale grave o emoglobinopatie, la lisi degli eritrociti può risultare lenta, incompleta o persino impossibile. In questo caso, è consigliabile isolare le cellule mononucleate usando un gradiente di densità (ad esempio, Ficoll) prima della colorazione (16).
7. A causa della struttura tandem del fluorocromo, PC5 emette anche luce a 575 nm. Questo picco di emissione secondaria varia in base al lotto di PC5. Pertanto, per l'analisi multicolore, la matrice di compensazione deve essere attentamente verificata quando si cambia il lotto di un coniugato a -PC5.

8. In pazienti trattati con terapie a base di anticorpi monoclonali anti-umani, il rilevamento di antigeni specifici può essere minore o assente a causa del blocco parziale o completo da parte dell'anticorpo terapeutico.
9. I risultati CD34-PC5 devono essere interpretati alla luce del quadro clinico completo del paziente che comprende: sintomatologia, anamnesi clinica, risultati di altri test e altre informazioni appropriate.

Per esempi e riferimenti, vedere l'appendice.

MARCHI COMMERCIALI

Beckman Coulter, il logo stilizzato ed i marchi commerciali dei prodotti e servizi di Beckman Coulter menzionati qui, sono marchi commerciali o marchi commerciali registrati di Beckman Coulter, Inc., negli Stati Uniti e in altri paesi.

INFORMAZIONI AGGIUNTIVE

Per un paziente/utente/terza parte nell'Unione Europea e in paesi con identico regime normativo (Regolamento 2017/746/UE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro): se, durante l'utilizzo di questo dispositivo o in seguito al suo utilizzo, si fosse verificato un incidente grave, si prega di segnalarlo al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e all'autorità nazionale competente.

Il Summary of Safety and Performance (Sintesi relativa alla sicurezza e alle prestazioni) è disponibile nel database EUDAMED all'indirizzo: ec.europa.eu/tools/eudamed.

CRONOLOGIA REVISIONI

REVISIONE AD:	Data di pubblicazione: Ottobre 2020

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AW	Maggio 2022
Aggiornamenti conformi alla politica sull'etichettatura globale di Beckman Coulter e ai requisiti IVD-R (UE)2017/746:	
Sezioni aggiunte	Numero BSI 2797, Utente previsto, Rilevanza clinica, Concentrazione, Precisione, Accuratezza, Limite del bianco e limite di rilevazione, Informazioni aggiuntive, Cronologia revisioni.
Aggiunta di informazioni	Vedere le sezioni Limitazioni
Aggiornamenti testuali o tipografici	Vedere le sezioni Procedura, Prestazioni, Limitazioni, Avvertenze e precauzioni, Conservazione e stabilità.
Sezioni rimosse	Esempio di applicazioni cliniche, Reagenti, Riproducibilità intra-laboratorio, Linearità
Sezioni aggiornate	Uso previsto, Classificazione pericoli GHS, Indici di deterioramento, Procedura, Appendice.

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AX	Aprile 2023
Sezioni aggiornate	Aggiungere la lingua kazaka
Sezioni aggiornate	Conservazione e stabilità

Versione revisionata	AY
Data di revisione	Maggio 2024
Traduzioni aggiornate	**Rilevanza clinica:**
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Versione revisionata	AZ
Data di revisione	Luglio 2024
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Legenda dei simboli

Il Glossario dei simboli è disponibile all'indirizzo beckman.com/techdocs (documento numero B60062)

	Especificaciones
Especificidad	CD34
Clon	581
Hibridoma	NS0 x balb/c
Inmunógeno	Human CD34+ leukaemic cells
Inmunoglobulina	IgG1
Especie	Ratón
Purificación	Cromatografía de afinidad
Fluorocromo	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Proporción molar	PC5 / Ig: 0,5-1,5
Excitación λ	488 nm
Pico de emisión	670 nm
Tampón	PBS pH 7,2 más 2 mg/mL BSA y 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticuerpo conjugado CD34-PC5

REF A07777 100 determinaciones; 1 mL, 10 µL / test

Para uso diagnóstico *in vitro*

USO PREVISTO

Este anticuerpo conjugado con un fluorocromo permite la identificación cualitativa y no automatizada de poblaciones de células que expresan el antígeno CD34 presente en muestras biológicas humanas mediante citometría de flujo (véase la sección «Muestras» más adelante).

PRINCIPIO

Esta prueba se basa en la capacidad de anticuerpos monoclonales específicos para unirse a los determinantes antigénicos expresados por leucocitos.

La tinción específica de los leucocitos se realiza incubando la muestra con el reactivo IOTest. A continuación, se eliminan los eritrocitos mediante lisis y los leucocitos, que no se ven afectados por este proceso, se analizan mediante citometría de flujo.

El citómetro de flujo mide la dispersión de la luz y la fluorescencia de las células. Permite acotar la población de interés dentro de una ventana electrónica, definida en un histograma que correlaciona la dispersión lateral de luz (Side Scatter o SS) con la dispersión frontal de la luz (Forward Scatter o FS). Se pueden utilizar otros histogramas que combinen dos de los distintos parámetros disponibles en el citómetro como apoyo para la fase de selección en función de la aplicación utilizada por el usuario.

La fluorescencia de las células acotadas se analiza para distinguir los eventos con tinción positiva de los eventos sin teñir. Los resultados se expresan como un porcentaje de eventos positivos en relación con todos los eventos adquiridos mediante la selección.

USUARIO PREVISTO

Este producto está diseñado para su uso en un laboratorio profesional.

IMPORTANCIA CLÍNICA

El reactivo CD34-PC5 es un anticuerpo frente a CD34 utilizado para identificar y caracterizar células que expresan el antígeno CD34 mediante citometría de flujo. Este producto por sí solo no puede y no está diseñado para generar una conclusión diagnóstica.

Cuando se usa en combinación con otros marcadores, este producto puede utilizarse en una o más de las siguientes funciones:

- Ayudar al diagnóstico diferencial de pacientes con anomalías hematológicas en los que se sospecha de la presencia de un trastorno hematológico y realizar el seguimiento de pacientes con un trastorno hematológico conocido.
- Ayudar en el pronóstico de pacientes que padecen una neoplasia hematopoyética.
- Realizar el seguimiento del proceso o los resultados de un trasplante.

Consulte las siguientes referencias:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

MUESTRAS

La sangre venosa debe recogerse en tubos de muestra estériles que contengan una sal de EDTA como anticoagulante.

Las muestras deben mantenerse a temperatura ambiente (18-25 °C) y no agitarse. Antes de tomar la muestra de prueba, es necesario homogeneizarla mediante una agitación suave.

Las muestras deben analizarse en el plazo de 24 horas tras la venopunción.

CONCENTRACIÓN

Consulte el certificado de análisis específico del lote en www.beckman.com.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. No use el reactivo después de la fecha de caducidad.
2. No lo congele.
3. Déjelo a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su utilización.
4. Minimice el tiempo de exposición a la luz.

5. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, ya que esto puede provocar resultados falsos.
6. Las soluciones de anticuerpo que contienen azida sódica (NaN_3) deben manipularse con precaución. No ingerir y evitar todo contacto con la piel, la mucosa y los ojos.

   Asimismo, en un medio ácido, la azida sódica puede formar ácido hidrazoico potencialmente peligroso. Cuando se vaya a desechar, se recomienda diluir el reactivo en abundante agua antes de verterlo en el sistema de drenaje para evitar la acumulación de azida sódica en tubos metálicos y el riesgo de explosión.
7. Todas las muestras sanguíneas deben considerarse posiblemente infecciosas y deben manipularse con cuidado (en especial, hay que llevar guantes, bata y gafas de protección).
8. No pipetee nunca con la boca y evite todo contacto de las muestras con la piel, las mucosas y los ojos.
9. Los tubos para sangre y el material desechable utilizados para la manipulación deben eliminarse en recipientes especiales previstos para la incineración.
10. Los reactivos y los desechos deben eliminarse de acuerdo con los requisitos locales.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico

SDS La ficha de datos de seguridad está disponible en beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Este reactivo debe conservarse entre 2 y 8 °C en un lugar protegido de la luz, antes y después de abrir el vial.

Vida útil del vial cerrado según estudio de estabilidad: 1095 días.

Estabilidad del vial abierto: el reactivo es estable durante 180 días.

SIGNOS DE DETERIORO

Cualquier cambio en el aspecto físico de los reactivos puede indicar un deterioro, por lo que no debe utilizarse el reactivo.

Para obtener información adicional o si el producto está dañado, llame al servicio de atención al cliente de Beckman Coulter en el 800-742-2345 (EE. UU. o Canadá) o póngase en contacto con su representante local de Beckman Coulter.

CONTENIDO

El conservante de azida sódica puede formar compuestos explosivos en las tuberías metálicas del desagüe. Véase el NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Boletín de NIOSH: Peligro de explosión con la azida) (16/8/76).
Para evitar la posible acumulación de compuestos de azida, limpie con agua los tubos de desagüe tras la eliminación del reactivo sin diluir. Para desechar la azida sódica deben seguirse las normativas locales adecuadas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS CON EL KIT:

- Tubos y material de muestras necesarios para el muestreo.
- Pipetas automáticas para puntas desechables de 10, 100 y 500 µL.
- Tubos de hemólisis de plástico.
- Reactivo de lisis de glóbulos rojos con estado de lavado después de la lisis. Por ejemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reactivo de fijación de leucocitos. Por ejemplo: Solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800).
- Control de isotipo PC5: Reactivo IOTest (Ref. A07798).
- Tampón (PBS: 0,01 M de fosfato de sodio; 0,145 M de cloruro sódico; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de flujo.

PROCEDIMIENTO CON EL REACTIVO VERSALYSE

Para cada muestra analizada, además del tubo de ensayo, se puede añadir un tubo de control en el que se mezclan las células en presencia de los controles de isotipo (Ref. A07798).

1. Añadir 10 µL de anticuerpos conjugados específicos IOTest a cada tubo de muestra problema y, si es necesario, 10 µL del control de isotipo a cada tubo de control.
2. Añadir 100 µL de la muestra problema a cada tubo. Mezclar suavemente los tubos en el Vórtex.
3. Incube entre 15 y 20 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C) y protegido de la luz.
4. A continuación, lleve a cabo la lisis de los eritrocitos. Consulte la ficha técnica VersaLyse (Ref. A09777) y siga preferiblemente el procedimiento denominado «with conconmitant fixation» (con fijación concomitante), que consiste en añadir 1 mL de la mezcla «Fijar y lisar» preparada extemporáneamente. Agite inmediatamente con vórtex durante un segundo e incube durante 10 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Elimine el sobrenadante mediante aspiración.
7. Vuelva a suspender el sedimento celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita el paso 5.
9. Retire el sobrenadante mediante aspiración y vuelva a suspender el sedimento celular con:

- 0,5 mL o 1 mL de PBS más el 0,1 % de formaldehído si las preparaciones deben conservarse menos de 24 horas. (Se puede obtener un 0,1 % de PBS de formaldehído mediante la dilución de 12,5 µL de la solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800) a su concentración de 10x en 1 mL de PBS).
- 0,5 mL o 1 mL de PBS sin formaldehído si las preparaciones deben analizarse en un plazo de 2 horas.

Nota: En todos los casos, mantenga las preparaciones protegidas de la luz entre 2 y 8 °C.

VALORES ESPERADOS

No existen valores esperados relevantes para este producto.

RENDIMIENTO

Los datos de rendimiento se obtuvieron utilizando el procedimiento descrito anteriormente en muestras de sangre con menos de 24 horas desde su extracción en tubos estériles con sal de EDTA como anticoagulante. El análisis se realizó en el plazo de 2 horas desde su inmunotinción.

ESPECIFICIDAD

El CD34 es una proteína transmembrana altamente glucosilada y monomérica tipo I de 116 kDa (13). Existen dos formas moleculares de CD34; la forma completa de secuencias de aminoácidos 385 tiene un dominio intracelular que contiene el consenso de la proteína quinasa C, serina y fosforilación de la treonina. La forma truncada carece de la mayor parte del dominio intracelular. La forma extracelular está presente en ambas formas de CD34. En el caso de CD34, se han reconocido tres tipos de epítopos según la sensibilidad diferencial a la neuroamidasa, y los epítopos de clase I de glicolproteasa (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) son sensibles a todas las enzimas proteolíticas. Los epítopos de clase II son (QBEnd10) resistentes a la neuroaminidasa pero sensibles a la glicoproteasa. El clon 581 reconoce un epítopo tipo III y es insensible a todas las enzimas proteolíticas y se une ávidamente a todas las glicoformas de CD34 (14).

El 5th HLDA Workshop (5º Taller de HLDA) (Boston 1993) aprobó los tres tipos de epítopos de CD34 sobre la base de sensibilidad diferencial.

PRECISIÓN

Los valores positivos porcentuales se determinaron usando sangre total enriquecida con células positivas. Cada muestra se procesó 4 veces, dos veces al día durante 1 día en 2 instrumentos utilizando 2 lotes de reactivos de anticuerpo monoclonal CD34-PC5. Las mediciones (% de positivos) se realizaron en un citómetro de flujo Navios. El análisis se realizó según el método EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluación del rendimiento de la precisión de los métodos de medición cuantitativos).

Nuestro criterio de aceptación depende del número de eventos positivos determinado en cada población:

- Si el número de eventos positivos es < 1500, CV < 15 %
- Si el número de eventos positivos es > 1500, CV < 10 %

Sangre total enriquecida con la línea celular KG1a							
Número de eventos positivos (media) = 5355							
	Entre operadores	Entre citómetros	Intralote	Entre lotes	Entre análisis	Intraanálisis	Total
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUD

La exactitud de CD34-PC5 se evaluó comparando los resultados con un reactivo de referencia como valor previsto en un conjunto de muestras de sangre total enriquecidas con células positivas procesadas en un citómetro de flujo Navios. El sesgo entre la muestra problema y el reactivo de referencia se determinó en función de la diferencia entre los resultados de la prueba. Si el sesgo está dentro del rango de error permitido o el valor p indica una diferencia no significativa (> 0,05), entonces los resultados de la prueba de los dos reactivos se consideran equivalentes.

Los resultados obtenidos se resumen en la tabla que se muestra a continuación:

Número de donantes = 25				
Objetivo positivo	Δ medio	Criterios de Δ % de células	Valor p	RESULTADOS
Sangre total enriquecida con la línea celular KG1a	1,31	<3	5,01E-04	PASS

LÍMITE DE BLANCO Y LÍMITE DE DETECCIÓN

Se realizó un estudio conforme a la norma EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluación de la capacidad de detección para procedimientos de medición en laboratorios clínicos). El límite de detección (LD) es la concentración de analito más baja que se puede detectar sistemáticamente. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla siguiente:

Positive Target	Límite de Blanco (células/µL)	Límite de Detección (células/µL)
KG1a Línea celular	1	2

LIMITACIONES

1. La citometría de flujo puede producir resultados falsos si el citómetro no se ha alineado a la perfección, si las fugas de fluorescencia no se han compensado correctamente y si las regiones no se han colocado con atención.
2. Es preferible utilizar una técnica de lisis de ERIT con un paso de lavado, ya que este reactivo no se ha optimizado para técnicas de lisis «sin lavado».
3. Se obtendrán resultados exactos y reproducibles siempre que los procedimientos utilizados sean conformes al folleto técnico y compatibles con las prácticas correctas de laboratorio.
4. El anticuerpo conjugado de este reactivo se calibra para ofrecer la mejor relación de señal específica/señal no específica. Por lo tanto, es importante cumplir la relación de volumen del reactivo/volumen de la muestra en cada prueba.
5. En caso de hiperleucocitosis, diluya la sangre en PBS para obtener un valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucocitos/L (15).

6. En algunos estados de la enfermedad, como el fallo renal grave o las hemoglobinopatías, la lisis de los eritrocitos puede ser lenta, incompleta o incluso imposible. En este caso, se recomienda aislar las células mononucleares por gradiente de densidad (por ejemplo, Ficoll) antes de la tinción (16).
7. Debido a la estructura en tándem del fluorocromo, PC5 también emite luz a 575 nm. Este pico secundario de emisión varía de un lote a otro de PC5. Por consiguiente, para el análisis multicolor, debe comprobarse cuidadosamente la matriz de compensación cuando se cambie el lote de un conjugado con PC5.
8. En pacientes tratados con terapias con anticuerpos monoclonales anti-humanos, la detección de los antígenos diana específicos puede estar disminuida o ausente debido al bloqueo parcial o completo por el anticuerpo terapéutico.
9. Los resultados de CD34-PC5 deben interpretarse a la luz del cuadro clínico total del paciente, incluidos: síntomas, historial clínico, datos de pruebas adicionales y demás información pertinente.

Consulte el anexo para ver ejemplos y referencias.

MARCAS COMERCIALES

Beckman Coulter, el logotipo estilizado y las marcas de productos y servicios de Beckman Coulter aquí mencionadas son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de Beckman Coulter, Inc. en Estados Unidos y otros países.

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para pacientes/usuarios/terceros de la Unión Europea y países con el mismo régimen normativo (Reglamento 2017/746/UE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro); si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produjese un incidente grave, informe al fabricante y/o a su representante autorizado y a la autoridad nacional.

El Summary of Safety and Performance (Resumen de seguridad y rendimiento) está disponible en la base de datos EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIAL DE REVISIONES

REVISIÓN AD:	Fecha de publicación: Octubre de 2020

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AW	Mayo de 2022
Actualizaciones para cumplir con la política de etiquetado global de Beckman Coulter y conforme a los requisitos del Reglamento (UE)2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro:	
Se han añadido secciones	Número BSI 2797, Usuario previsto, Rendimiento clínico, Concentración, Precisión, Exactitud, Límite de blanco y límite de detección, Información adicional, Historial de revisiones.
Información añadida	Véase la sección Limitaciones
Actualizaciones de redacción y tipográficas	Véanse las secciones Procedimiento, Rendimiento, Limitaciones, Advertencias y precauciones, Conservación y Estabilidad.
Se han eliminado secciones	Ejemplo de aplicaciones clínicas, Reactivos, Reproducibilidad intralaboratorio, Linealidad
Se han actualizado las secciones	Uso previsto, Clasificación de material peligroso según el SGA, Signos de deterioro, Procedimiento, Anexo.

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AX	Abril 2023
Se han actualizado las secciones	Añadir kazajo
Se han actualizado las secciones	Conservación y Estabilidad

Versión revisada	AY
Fecha de revisión	Mayo 2024
Traducciones actualizadas	**Relevancia clínica:**
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Versión revisada	AZ
Fecha de revisión	Julio 2024
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Lista de símbolos

El glosario de símbolos está disponible en beckman.com/techdocs (número de documento B60062)

	Especificações
Especificidade	CD34
Clone	581
Hibridoma	NS0 x balb/c
Imunogénio	Human CD34+ leukaemic cells
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Rato
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Razão molar	PC5/Ig: 0,5-1,5
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	670 nm
Tampão	PBS com pH 7,2 mais 2 mg/mL de ASB e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado CD34-PC5

REF A07777 100 testes; 1 mL, 10 µL / test

Para fins de diagnóstico *in vitro*

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Este anticorpo conjugado com fluorocromos permite a identificação qualitativa e não automatizada de populações de células que expressam o antigénio CD34 presente em amostras biológicas humanas utilizando citometria de fluxo (consulte a secção «Amostras» abaixo).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade de os anticorpos monoclonais específicos se ligarem aos determinantes antigénicos expressados por leucócitos.

A coloração específica dos leucócitos é realizada incubando a amostra com o reagente IOTest. Em seguida, os glóbulos vermelhos são removidos por lise e os leucócitos, que não são afetados por este processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citómetro de fluxo mede a difusão de luz e a fluorescência das células. Permite delimitar a população de interesse dentro da janela eletrónica definida num histograma que correlaciona a difusão ortogonal de luz (dispersão lateral ou DL) e a difusão de luz em ângulos estreitos (dispersão frontal ou DF). É possível utilizar outros histogramas que combinam dois dos vários parâmetros disponíveis no citómetro como suporte na fase de delimitação, consoante a aplicação escolhida pelo utilizador.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são apresentados como uma percentagem de eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos por meio da delimitação.

UTILIZADOR PREVISTO

Este produto destina-se a ser utilizado por profissionais de laboratório.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD34-PC5 é um anticorpo de CD34 utilizado para identificar e caracterizar células que expressam o antigénio CD34 por citometria de fluxo. Este produto, por si só, não pode e não se destina a gerar qualquer conclusão de diagnóstico.

Quando utilizado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser utilizado numa ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com alterações hematológicas, suspeitos de padecerem de doença hematológica, e para monitorizar pacientes com doença hematológica conhecida.
- Para auxiliar no prognóstico de pacientes com neoplasia hematopoiética.
- Para monitorizar os resultados ou o processo de transplante.

Consulte as seguintes referências:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

AMOSTRAS

O sangue venoso deve ser recolhido utilizando tubos estéreis que contenham um sal de AEDT como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas à temperatura ambiente (18–25 °C) e não devem ser agitadas. As amostras devem ser homogeneizadas, agitando-as levemente, antes de a amostra de teste ser retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a punção venosa.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o Certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não utilize o reagente depois da data de validade.
2. Não congele.
3. Aguarde que fique à temperatura ambiente (18–25 °C) antes da utilização.
4. Evite a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, caso contrário, poderão ocorrer falsos resultados.

6. As soluções de anticorpos que contêm azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não ingira e evite qualquer contacto com a pele, as mucosas e os olhos.

   Adicionalmente, num meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazóico potencialmente perigoso. Se a sua eliminação for necessária, é recomendável que o reagente seja diluído num grande volume de água antes de ser vertido no sistema de drenagem, para evitar a acumulação de azida sódica em tubos metálicos e prevenir o risco de explosão.
7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas potencialmente infeciosas e manuseadas com cuidado (em especial, devem ser usados óculos, batas e luvas de proteção).
8. Nunca pipete com a boca e evite qualquer contacto das amostras com a pele, as mucosas e os olhos.
9. Os tubos de sangue e os materiais descartáveis utilizados para manuseamento devem ser eliminados em recipientes específicos destinados a incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Ficha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido a uma temperatura entre 2 e 8 °C e protegido da luz, antes e após a abertura do frasco.

Vida útil em frasco fechado para estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente permanece estável durante 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DEGRADAÇÃO

Uma alteração no aspeto físico dos reagentes poderá indicar deterioração, pelo que o reagente não deve ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, contacte a assistência ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou contacte o seu representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em sistemas de canalizações metálicas. Consulte o boletim do NIOSH: Explosive Azide Hazards (Perigos de explosão da azida) (16-8-76).
Para evitar a possível acumulação de compostos de azida, enxague as condutas de resíduos com água após a eliminação do reagente não diluído. A eliminação de azida sódica deve ser efetuada de acordo com os regulamentos locais adequados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostras e materiais necessários para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 10, 100 e 500 µL.
- Tubos de plástico para hemólise.
- Reagente de lise de glóbulos vermelhos com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controlo de isotipo PC5 de : reagente IOTest (Ref. A07798).
- Tampão (PBS: 0,01 M de fosfato de sódio; 0,145 M de cloreto de sódio; pH 7,2).
- Centrifugue.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM REAGENTE VERSALYSE

Além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controlo a cada amostra analisada, no qual as células são misturadas na presença do controlo de isotipo (Ref. A07798).

1. Adicione 10 µL de anticorpo conjugado com IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 10 µL dos controlos de isotipo a cada tubo de controlo.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos à temperatura ambiente (18–25 °C), protegido da luz.
4. Em seguida, realize a lise dos glóbulos vermelhos. Consulte o folheto VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento denominado «with concomitant fixation» (com fixação concomitante) que consiste em adicionar 1 mL da mistura de «Fixação e lise» preparada extemporaneamente. Agite imediatamente em vórtex durante um segundo e incube durante 10 minutos à temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g à temperatura ambiente.
6. Remova o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular com 3 mL de PBS.
8. Repita o passo 5.
9. Remova o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular com o seguinte:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído se as preparações se destinarem a ser mantidas por menos de 24 horas. (É possível obter PBS com 0,1% de formaldeído diluindo 12,5 µL de solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na respetiva concentração de 10X em 1 mL de SSTF).

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído se as preparações se destinarem a ser analisadas no prazo de 2 horas.

Nota: Mantenha sempre as preparações entre 2 e 8 °C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Não existe um valor esperado relevante para este produto.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos utilizando o procedimento descrito acima em amostras de sangue colhidas há menos de 24 horas em tubos de amostra estéreis com sal de AEDT como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

O CD34 é uma proteína de 116 KDa transmembranar de tipo I monomérica significativamente glicosilada (13). Existem duas formas moleculares de CD34. A forma completa de 385 sequências de aminas tem um domínio intracelular que contém um consenso de proteína quinase C, serina e fosforilação de treonina. A forma truncada não possui a maior parte do domínio intracelular. A forma extracelular está presente nas duas formas de CD34. Para o CD34, foram reconhecidos três tipos de epítopos com base na sensibilidade diferencial à neuramidase e protease de glicol. Os epítopos de Classe I (BEC Immu133, My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) são sensíveis a todas as enzimas proteolíticas. Os epítopos de Classe II (QBEnd10) são resistentes à neuraminidase mas sensíveis à protease de glicol. O clone 581 reconhece um epítopo da classe tipo III e é insensível a todas as enzimas proteolíticas, ligando-se avidamente a todas as formas de glicol de CD34 (14).

O 5th HLDA Workshop (5.º workshop HLDA) em Boston, 1993, aprovou os três tipos de epítopos de CD34 com base na sensibilidade diferencial.

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados utilizando sangue total misturado com células positivas. Cada amostra foi executada 4 vezes, duas vezes por dia para 1 dia em 2 instrumentos, utilizando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD34-PC5. As medições (% de positivos) foram realizadas no citómetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação do desempenho de precisão dos métodos de medição quantitativos).

Os nossos critérios de aceitação estão dependentes do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Em caso de eventos positivos <1500, CV <15%
- Em caso de eventos positivos >1500, CV <10%

Sangue total misturado com KG1a linha celular							
Número de eventos positivos (média) = 5355							
	Interoperador	Intercitómetro	Intralote	Interlote	Interprocessamento	Intraprocessamento	Total
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD34-PC5 foi avaliada através da comparação dos resultados com um reagente de referência como equivalente, num conjunto de amostras de sangue total misturadas com células positivas e executadas num citómetro de fluxo Navios. A tendência entre o teste e o reagente de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados do teste. Se a tendência se encontrar dentro do intervalo de erro permitido ou o valor p não indicar uma diferença significativa (>0,05), os resultados do teste de ambos os reagentes são considerados equivalentes.

Os resultados obtidos encontram-se resumidos na tabela abaixo:

Número de dadores = 25				
Alvo positivo	Δ médio	Critérios celulares de % Δ	Valor p	RESULTADOS
Sangue total misturado com KG1a linha celular	1,31	<3	5,01E-04	PASS

LIMITE DO BRANCO E LIMITE DE DETEÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com o CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de deteção para procedimentos de medição em laboratórios clínicos). O Limite de deteção (LD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detetada consistentemente. Os resultados obtidos são resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite do branco (célula/µL)	Limite de deteção (célula/µL)
KG1a Linha celular	1	2

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo poderá produzir falsos resultados se o citómetro não tiver sido perfeitamente alinhado, se as fugas de fluorescência não tiverem sido compensadas corretamente e se as regiões não tiverem sido cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível utilizar uma técnica de lise de RBC com um passo de lavagem, uma vez que este reagente não foi otimizado para técnicas de lise «sem lavagem».
3. Serão obtidos resultados exatos e reprodutíveis desde que os procedimentos utilizados estejam de acordo com o folheto técnico e cumpram as boas práticas laboratoriais.
4. O anticorpo conjugado deste reagente é calibrado para proporcionar a melhor relação entre sinal específico/sinal não específico. Por conseguinte, é importante respeitar a relação entre volume do reagente/volume da amostra em todos os testes.
5. No caso de uma hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (15).
6. Em determinados estados de doença, como insuficiência renal grave ou hemoglobinopatias, a lise de glóbulos vermelhos poderá ser lenta, incompleta ou até impossível. Neste caso, recomenda-se isolar células mononucleadas utilizando um gradiente de densidade (por exemplo, Ficoll) antes da coloração (16).

7. Devido à estrutura em tandem do fluorocromo, o PC5 também emite luz a 575 nm. Este pico de emissão secundário varia conforme o lote de PC5. Portanto, para análise multicolor, a matriz de compensação deve ser cuidadosamente verificada ao alterar o lote de um conjugado de PC5.
8. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a deteção dos antigénios específicos visados pode ser reduzida ou inexistente devido ao bloqueio parcial ou total causado pelo anticorpo terapêutico.
9. Os resultados de CD34-PC5 devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, historial clínico, dados de testes adicionais e outras informações relevantes.

Consulte o Anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logótipo estilizado e as marcas de produtos e serviços da Beckman Coulter mencionadas neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e noutros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/utilizador/terceiro na União Europeia e em países com um regime regulamentar idêntico (Regulamento 2017/746/UE relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico in vitro): se, durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, ocorrer um incidente grave, comunique-o ao fabricante e/ou ao respetivo representante autorizado e à autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível a partir da base de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÕES

REVISÃO AD:	Data de lançamento: Outubro de 2020

REVISÃO	**Data de lançamento**
AW	Maio de 2022
Atualizações no sentido de cumprir a política de rotulagem da Beckman Coulter Global e os requisitos do regulamento IVD-R (UE)2017/746:	
Secções adicionadas	Número BSI 2797, Utilizador previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite do branco e limite de deteção, Informações adicionais, Histórico de revisões.
Informações adicionadas	Consulte as secções Limitações
Atualizações à fraseologia ou tipografia	Consulte as secções Procedimento, Realização, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Secções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Secções atualizadas	Utilização prevista, Classificação de perigo GHS, Indícios de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de lançamento**
AX	Abril 2023
Secções atualizadas	Adicionar cazaque
Secções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revista	AY
Data de revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Versão revista	AZ
Data de revisão	Julho 2024
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (número do documento B60062)

	Specifikationer
Specificitet	CD34
Klon	581
Hybridom	NS0 x balb/c
Immunogen	Human CD34+ leukaemic cells
Immunoglobulin	IgG1
Arter	Mus
Oprensning	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molarforhold	PC5/Ig: 0,5-1,5
λ-magnetisering	488 nm
Emissionsspids	670 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA og 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugeret antistof CD34-PC5

REF A07777 100 tests; 1 mL, 10 µL / test

Til *in vitro*-diagnostisk brug

TILSIGTET BRUG

Dette fluorokromkonjugerede antistof muliggør, ved hjælp af flowcytometri, kvalitativ og ikke-automatiseret identifikation af cellepopulationer, der udtrykker CD34-antigenet, som findes i humane biologiske prøver (se afsnittet ”Prøver” forneden).

PRINCIP

Denne test er baseret på specifikke monoklonale antistoffers evne til at binde sig til de antigene determinanter, der udtrykkes af leukocytter.

Den specifikke farvning af leukocytterne udføres ved inkubation af prøven med IOTest-reagenset. Erytrocytterne fjernes derefter med lysering, og leukocytterne, som ikke påvirkes af denne proces, analyseres ved flowcytometri.

Flowcytometeret måler lysets diffusion og cellernes fluorescens. Dette gør det muligt at afgrænse interessepopulationen inden for det elektroniske vindue, der defineres på et histogram, som korrelerer den ortogonale diffusion af lys (Side Scatter (sidespredning) eller SS) og diffusionen af lys med en snæver vinkel (Forward Scatter (forlæns spredning) eller FS). Andre histogrammer, der kombinerer to af de forskellige parametre, der er til rådighed på cytometret, kan benyttes som støtte under gating-trinnet, afhængig af den af brugeren valgte applikation.

De afgrænsede cellers fluorescens analyseres med henblik på at kunne skelne de positive farvningshændelser fra de ufarvede. Resultaterne udtrykkes som en procentdel af positive hændelser i relation til alle de hændelser, som erhverves ved gatingen.

TILSIGTET BRUGER

Dette produkt er beregnet til professionel brug i laboratoriet.

KLINISK RELEVANS

CD34-PC5 er et CD34-antistof, der anvendes til at identificere og karakterisere celler, der udtrykker CD34-antigenet ved flowcytometri. Dette produkt, anvendt alene, kan ikke og er ikke beregnet til at generere nogen diagnostisk konklusion.

Anvendt i kombination med andre markører kan dette produkt benyttes i en eller flere af følgende funktioner:

- Til hjælp ved differentialdiagnosticering af hæmatologisk unormale patienter ved formodning om en hæmatologisk lidelse, samt til monitorering af patienter med kendt hæmatologisk sygdom.
- Til hjælp ved prognosticering af patienter med hæmatologisk neoplasi.
- Til overvågning af transplantationsprocessen eller -resultater.

Se følgende referencer:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

PRØVER

Prøver af venøst blod skal udtages i sterile prøverør, der indeholder et EDTA-salt som antikoagulant.

Prøverne skal opbevares ved stuetemperatur (18-25 °C) og må ikke rystes. Prøverne skal homogeniseres ved forsigtig omrysten før udtagning af analyseprøven.

Prøverne skal behandles inden for 24 timer efter venepunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analysecertifikat på www.beckman.com.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Brug ikke reagenset efter udløbsdatoen.
2. Må ikke nedfryses.
3. Bring det til stuetemperatur (18-25 °C) før brug.
4. Minimér eksponering for lys.
5. Undgå mikrobiel kontaminering reagenserne, idet det kan føre til fejlagtige resultater.

6. Antistofopløsninger, der indeholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsigtighed. Må ikke indtages, og undgå enhver kontakt med hud, slimhinder og øjne.

   I syremedier kan natriumazid desuden danne den potentielt farlige hydrogenazid. Hvis det skal bortskaffes, anbefales det, at reagenset fortyndes i en stor mængde vand, inden det hældes i kloakken, for at undgå ophobning af natriumazid i metalrør og dermed forebygge risikoen for eksplosioner.
7. Alle blodprøver skal anses som potentielt smittefarlige og skal behandles forsigtigt (husk især at bruge beskyttelseshandsker, forklæde og beskyttelsesbriller).
8. Sug aldrig med munden, og undgå at prøverne kommer i kontakt med hud, slimhinde og øjne.
9. Blodprøvetagningsrør og engangsmateriale, der bruges i forbindelse med håndteringen, skal bortskaffes i ad hoc-beholdere, der er beregnet til bortskaffelse.
10. Reagenser og affald skal bortskaffes i henhold til gældende lokale krav.

GHS FAREKLASSIFIKATION

Ikke klassificeret som farlig

SDS Sikkerhedsdatablad er tilgængelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Dette reagens skal opbevares ved mellem 2 og 8 °C og beskyttes mod lys før og efter, at hætteglasset er åbnet.

Stabilitet i lukket hætteglas: 1095 dage.

Stabilitet i åbent hætteglas: Reagenset er stabilt i 180 dage.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Ændringer i den måde, reagenset ser ud på, kan være tegn på forringelse, og reagenset må ikke anvendes.

Ring til Beckman Coulters kundeservice på 800-742-2345 (USA eller Canada), eller kontakt den lokale Beckman Coulter-repræsentant for at få flere oplysninger, eller hvis du modtager et beskadiget produkt.

INDHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive forbindelser i drænledninger af metal. Se NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (Fare for eksplosiv azid). For at undgå en eventuel akkumulering af azidforbindelser, skylles afløbsrør med vand efter bortskaffelse af ufortyndet reagens. Natriumazid skal bortskaffes i overensstemmelse med relevante lokale forskrifter.

PÅKRÆVEDE MATERIALER, SOM IKKE LEVERES MED SÆT:

- Prøvetagningsrør og materiale, der er påkrævet til prøvetagning.
- Automatiske pipetter med engangsspidser til 10, 100 og 500 µL.
- Plasthæmolyserør.
- Reagens til lysering af erytrocytter med vaskefase efter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens til leukocytfiksering. For eksempel: IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800).
- IsotypekontrolPC5: IOTest-reagens (ref. A07798).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumphosphat; 0,145 M natriumchlorid; pH 7,2).
- Centrifuge
- Automatisk omrører (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MED VERSALYSE-REAGENS

Der kan tilføjes et kontrolrør for hvert prøverør, der analyseres, hvormed cellerne blandes under isotype-kontrollerne (ref. A07798).

1. Tilføj 10 µL specifikt IOTest-konjugeret antistof til hvert prøverør og, om nødvendigt, 10 µL negativ kontrol til hvert kontrolprøverør.
2. Tilføj 100 µL af prøven til hvert prøverør. Vortex rørene forsigtigt.
3. Inkubér i 15 til 20 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C), beskyttet mod lys.
4. Udfør derefter analyse af de røde celler. Se brochure fra VersaLyse (ref. A09777) og følg den foretrukne procedure kaldet “med sideløbende fiksering”, som består i at tilsætte 1 mL af blandingen “Fix-and-Lyse”, der fremstilles samtidig. Vortex øjeblikkeligt i et sekund, og inkubér i 10 minutter ved stuetemperatur, beskyttet imod lys.
5. Centrifugér i 5 minutter ved 150 x g ved stuetemperatur.
6. Fjern supernatanten via aspiration.
7. Resuspender cellepelleten med 3 mL PBS.
8. Gentag trin 5.
9. Fjern supernatanten vha. aspiration, og resuspender cellepelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyd, hvis præparaterne skal opbevares mindre end 24 timer. (En formaldehyd-PBS på 0,1% kan opnås ved fortynding af 12,5 µL af IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800) ved dets 10X koncentration i 1 mL af PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uden formaldehyd, hvis præparaterne skal analyseres inden for 2 timer.

Bemærk: Præparaterne skal under alle omstændigheder beskyttes mod lys og opbevares ved 2-8 °C.

FORVENTEDE VÆRDIER

Der er ingen forventet relevant værdi forbundet med dette produkt.

YDEEVNE

Præstationsdata opnås, når proceduren beskrevet foroven, anvendes på mindre end 24 timer gamle blodprøver, tidligere indsamlet i sterile prøverør med EDTA-salt som antikoagulant. Analyse skal foretages senest 2 timer efter immunfarvning.

SPECIFICITET

CD34 er et monomerisk meget glykosyleret type I transmembrant 116 KDa-protein (13). CD34 har to molekylærer former, formen med fuld længde på 385 aminosekvenser har et intracellulært domæne, der indeholder konsensus af proteinkinase C, serin og threonin fosforylering. Den trunkerede form mangler det meste af det intracellulære domæne. Den ekstracellulære form er tilstede i begge typer af CD34. For CD34 har man genkendt tre typer epitoper baseret på den differentiale følsomhed over for neuramidase og glycolprotease. Klasse I-epitoper (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) er følsomme over for alle proteolytiske enzymer. Klasse II-epitoper er (QBEnd10) resistente over for neuraminidase men følsomme over for glycoprotease. Klon 581 genkender et klasse III-epitop og er ufølsomt over for alle proteolytiske enzymer og stærkt bundet til alle glycoformer af CD34 (14).

The 5th HLDA workshop (det femte HLDA-seminar) (Boston 1993) godkendte de tre epitope typer af CD34 på baggrund af differentiel følsomhed.

PRÆCISION

De procentvise positive værdier blev bestemt ved anvendelse af fuldblod tilsat positive celler. Hver prøve blev kørt 4 gange, to gange dagligt i 1 dag, på 2 instrumenter med CD34-PC5 monoklonale antistofreagenser fra 2 lots. Målingerne (% positiv) blev foretaget på Navios-flowcytometer. Analysen blev udført i henhold til CLSI-protokollen EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering af kvantitative målemetoders præcisionsevne).

Vores acceptkriterier afhænger af antallet af positive hændelser målt for hver population:

- Hvis positiv hændelse < 1500, CV < 15%
- Hvis positiv hændelse > 1500, CV < 10%

Fuldblod tilsat KG1a-cellelinje							
Antal positive hændelser (middelværdi) = 5355							
	Inter-operatør	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-kørsel	Intra-kørsel	I alt
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØJAGTIGHED

Nøjagtigheden af CD34-PC5 blev vurderet ved sammenligning af resultaterne med et referencereagens som prædikat på et sæt fuldblodsprøver tilsat positive celler kørt på et Navios-flowcytometer. Bias mellem test- og referencereagens blev bestemt på basis af forskellen mellem testresultaterne. Hvis bias er inden for det tilladte fejlområde, eller hvis p-værdien ikke indikerer nogen signifikant forskel (> 0,05), anses testresultaterne for de to reagenser for at være ækvivalente.

De opnåede resultater opsummeres i nedenstående tabel:

Antal donorer = 25				
Positivt mål	Middelværdi Δ	Δ % cellekriterie	p-værdi	RESULTATER
Fuldblod tilsat KG1a-cellelinje	1,31	<3	5,01E-04	PASS

GRÆNSE FOR BLANK OG DETEKTIONSGRÆNSE

En undersøgelse blev gennemført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering af detektionsevne for kliniske laboratoriemåleprocedurer). Detektionsgrænsen (LOD) er den laveste koncentration af analyt, der kan detekteres konsekvent. De opnåede resultater er opsummeret i nedenstående tabel:

Positive Target	Grænse for blank (celle/µL)	Detektionsgrænse (celle/µL)
KG1a Cellelinje	1	2

BEGRÆNSNINGER

1. Flowcytometri kan give forkerte resultater, hvis cytometeret ikke er perfekt justeret, hvis der ikke er blevet kompenseret korrekt for fluorescenslækager, eller hvis områderne ikke er blevet placeret omhyggeligt.
2. Det anbefales at anvende en RBC-lyseringsteknik med et vasketrin, da dette reagens ikke er blevet optimeret til ”no wash”-lyseringsteknikker.
3. Der genereres nøjagtige og reproducerbare resultater, så længe de anvendte procedurer er i overensstemmelse med de tekniske anvisninger på indlæsgssedlen og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerede antistof for dette reagens kalibreres for at kunne tilbyde det bedste specifikke forhold mellem signal/ikke-specifikt signal. Det er derfor vigtigt at overholde forholdet mellem reagensvolumen og prøvevolumen i hver enkelt test.
5. I tilfælde af en hyperleukocytose skal blodet fortyndes i PBS for at opnå en værdi på ca. 5×10^9 leukocytter/L (15).
6. I visse sygdomstilstande, f.eks. alvorligt nyresvigt eller hæmoglobinopatier, kan lysering af røde celler være langsom, ufuldstændig eller endog umulig. I dette tilfælde anbefales det at isolere enkernede celler ved hjælp af en densitetsgradient (f.eks. Ficoll) forud for farvningen (16).
7. På grund af fluorokromets tandemstruktur udsender PC5 også lys ved 575 nm. Dette sekundære peak i emissionen varierer mellem PC5-lots. Kompensationsmatrixen for flerfarvet analyse bør derfor kontrolleres grundigt, når der ændres lot for et -PC5-konjugat.
8. Hos patienter behandlet med anti-humane monoklonale antistofterapier, kan påvisning af de respektive specifikke antigener være formindsket eller fraværende, på grund af delvis eller fuldstændig blokering af det terapeutiske antistof.
9. CD34-PC5-resultaterne bør fortolkes i lyset af patientens samlede kliniske præsentation, herunder symptomer, sygehistorie, data fra andre tests samt anden relevant information.

Se Tillæg for eksempler og referencer.

VAREMÆRKER

Beckman Coulter, det stiliserede logo og de Beckman Coulter produkt- og servicemærker, der er omtalt heri, er varemærker eller registrerede varemærker tilhørende Beckman Coulter, Inc. i USA og andre lande.

YDERLIGERE OPLYSNINGER

For en patient/bruger/tredjepart i Den Europæiske Union og i lande med identisk lovgivningsmæssig reguleringsordning (forordning 2017/746/EU om medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik); hvis der er sket en alvorlig hændelse under brugen af dette apparat eller som et resultat af dens anvendelse, skal du rapportere den til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og til din nationale myndighed.

Summary of Safety and Performance (Sammenfatning af Sikkerhed og Ydeevne) er tilgængeligt fra EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVISION AD:	Frigivelsesdato: Oktober 2020

REVISION	**Udgivelsesdato**
AW	Maj 2022
Opdateringer for at sikre overholdelse af Beckman Coulters globale mærkningspolitik og overensstemmelse med IVD-R (EU)2017/746:	
Tilføjede afsnit	BSI 2797-nummer, Tilsigtet bruger, Klinisk relevans, Koncentration, Præcision, Nøjagtighed, Grænse for blank og detektionsgrænse, Yderligere oplysninger, Revisionshistorik.
Tilføjet information	Se afsnittet Begrænsninger
Opdatering af formulering eller typografi	Se afsnittene Procedure, Præstation, Begrænsninger, Advarsel og forholdsregler, Opbevaring og Holdbarhed.
Fjernede afsnit	Eksempel på klinisk anvendelse, Reagenser, Intra-laboratorie reproducerbarhed, Linearitet
Opdaterede afsnit	Tilsigtet brug, GHS-fareklassifikation, Tegn på forringelse, Procedure, Tillæg.

REVISION	**Udgivelsesdato**
AX	April 2023
Opdaterede afsnit	Kasakhisk er blevet tilføjet
Opdaterede afsnit	Opbevaring og holdbarhed

Revideret version	AY
Revisionsdato	Maj 2024
Opdaterede oversættelser	**Klinisk relevans:**
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Revideret version	AZ
Revisionsdato	Juli 2024
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Symbolnøgle

En ordliste over symboler findes på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Specifikationer
Specificitet	CD34
Klon	581
Hybridom	NS0 x balb/c
Immunogen	Human CD34+ leukaemic cells
Immunglobulin	IgG1
Arter	Mus
Rening	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molförhållande	PC5/Ig: 0,5-1,5
λ excitering	488 nm
Emissionstopp	670 nm
Buffert	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA och 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugerad antikropp CD34-PC5

REF A07777 100 tester; 1 mL, 10 µL / test

För *in vitro*-diagnostik

AVSEDD ANVÄNDNING

Denna fluorokromkonjugerade antikropp möjliggör kvalitativ och ej automatiserad identifiering av cellpopulationer som uttrycker CD34-antigenet som förekommer i humana biologiska prover med användning av flödescytometri (se avsnittet ”Prov” nedan).

PRINCIP

Detta test är baserat på förmågan hos specifika monoklonala antikroppar att bindas till de antigena determinanter som uttrycks av leukocyter.

Specifik färgning av leukocyterna utförs genom att inkubera provet med IOTest-reagenset. De röda cellerna avlägsnas sedan via lysering och leukocyterna, som inte påverkas av denna process, analyseras med flödescytometri.

Flödescytometern mäter ljusdiffusion och fluorescens av celler. Det möjliggör avgränsningen av populationen av intresse i det elektroniska fönstret definierat i ett histogram, som korrelerar den rätvinkliga ljusspridningen (sidospridning eller SS) och spridningen av snävt ljus (framåtspridning eller FS). Andra histogram som kombinerar två av de tillgängliga parametrarna på cytometern, kan användas som stöd i gating-skedet beroende på tillämpningen som användaren har valt.

Fluorescensen av de begränsade cellerna analyseras för att skilja ut positivt färgade händelser från ofärgade händelser. Resultaten uttrycks som en procentandel av positiva händelser i relation till alla händelser som samlats in med hjälp av gating.

AVSEDD ANVÄNDARE

Denna produkt är avsedd för yrkesmässig laboratorieanvändning.

KLINISK RELEVANS

CD34-PC5 är en CD34-antikropp som används för att identifiera och egenskapsbestämma celler som uttrycker CD34-antigenen med hjälp av flödescytometri. Denna produkt kan inte och är inte avsedd för att ta fram en diagnostisk slutsats.

Vid användning i kombination med andra markörer kan denna produkt användas i en eller flera av följande funktioner:

- Som hjälp vid differentialanalys av hematologiskt onormala patienter som misstänks ha hematologisk sjukdom eller för övervakning av patienter med kända hematologiska sjukdomar.
- Som hjälp vid prognostisering av patienter med blodsjukdomar.
- För att övervaka transplantationsprocess eller -resultat.

Se följande referenser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

PROV

Venblod måste tas i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant.

Proverna bör förvaras i rumstemperatur (18–25 °C) och inte skakas. Prover bör vara homogeniserade genom försiktig omrörning innan provet tas.

Proverna måste analyseras inom 24 timmar efter venpunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analyscertifikat på www.beckman.com.

VARNING OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Använd inte reagenset efter utgångsdatumet.
2. Får ej frysas.
3. Låt den komma till rumstemperatur (18–25 °C) före användning.
4. Minimera exponering för ljus.
5. Undvik mikrobiell kontaminering av reagens. Det kan leda till felaktiga resultat.

6. Antikroppslösningar som innehåller natriumazid (NaN_3) bör hanteras med försiktighet. Inta inte internt och undvik all kontakt med hud, slemhinnor och ögon.

   I syramedium kan natriumazid dessutom bilda potentiellt farlig hydrazinsyra. Om reagensen måste kasseras rekommenderar vi att den späds ut med en stor volym vatten innan den hälls ut i avloppssystemet för att undvika explosionsrisk och att natriumazid ackumuleras i metallrören.
7. Alla blodprover måste betraktas som potentiellt smittsamma och ska hanteras med försiktighet (i synnerhet vad gäller användande av skyddshandskar, rockar och skyddsglasögon).
8. Pipettera aldrig med munnen och se till att proverna inte kommer i kontakt med hud, slemhinnor och ögon.
9. Blodprovsrör och engångsmaterial som används för hantering ska kasseras i särskilda behållare avsedda för förbränning.
10. Reagens och avfall ska kasseras i enlighet med lokala krav.

RISKKLASSIFICERING ENLIGT GHS

Ej klassat som farligt

SDS Säkerhetsdatablad finns tillgängligt på beckmancoulter.com/techdocs

FÖRVARING OCH STABILITET

Detta reagens måste hållas mellan 2 och 8 °C och skyddas mot ljus, före och efter att ampullen öppnats.

Hållbarhet för sluten ampull per stabilitetsstudie: 1095 dagar.

Stabilitet i öppen ampull: reagenset är stabilt i 180 dagar.

TECKEN PÅ FÖRSÄMRING

Alla förändringar i reagensens fysiska utseende kan indikera försämring och att reagenset inte ska användas.

För mer information eller om en skadad produkt tas emot, ring Beckman Coulter kundtjänst på 800-742-2345 (USA eller Kanada) eller kontakta din lokala Beckman Coulter-representant.

INNEHÅLL

Konserveringsmedlet natriumazid kan bilda explosiva föreningar i avloppsledningar av metall. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (76-8-16) (Bulletin från den amerikanska motsvarigheten till arbetsmiljöverket: Fara för azidexplosion).
För att undvika risken för ansamling av azidföreningar ska avloppsrören spolas igenom med vatten efter att outspädda reagenser har kasserats. Kassering av natriumazid måste ske i enlighet med tillämpliga lokala regler.

MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE FÖLJER MED KITET:

- Provrör och nödvändigt material för provtagning.
- Automatiska pipetter med engångsspetsar för 10, 100 och 500 µL.
- Hemolysrör av plast.
- Lyseringsreagens för röda blodceller med tvätt efter lyseringen. Till exempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens för leukocytfixering. Till exempel: IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800).
- Isotyp-kontroll PC5: IOTest-reagens (ref. A07798).
- Buffert (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Centrifugera.
- Automatisk omrörare (Vortex-typ).
- Flödescytometer.

PROCEDUR MED VERSALYSE-REAGENS

För varje analyserat prov kan förutom provröret ett kontrollprovrör läggas till i vilket cellerna blandas i närvaro av isotypkontrollerna (ref. A07798).

1. Tillsätt 10 µL av specifik IOTest-konjugerad antikropp till varje provrör och vid behov 10 µL av isotypkontroll till varje kontrollprovrör.
2. Tillsätt 100 µL av testprovet i varje provrör. Vortexblanda provrören försiktigt.
3. Inkubera i 15 till 20 minuter vid rumstemperatur (18–25 °C) och skyddat mot ljus.
4. Utför sedan lysering av de röda blodkropparna. Se bladet VersaLyse (ref. A09777) och följ företrädesvis proceduren som benämns ”med samtidig fixering”, som består av att tillsätta 1 mL av ”Fixera-och-lysera”-blandningen som beretts strax innan. Vortexblanda omedelbart i en sekund och inkubera i 10 minuter vid rumstemperatur och skyddat mot ljus.
5. Centrifugera i 5 minuter vid 150 x g vid rumstemperatur.
6. Avlägsna ytskiktet genom aspiration.
7. Återsuspendera cellpelleten med 3 mL PBS.
8. Upprepa steg 5.
9. Avlägsna ytskiktet genom aspiration och återsuspendera cellpelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL av PBS plus 0,1 % formaldehyd om preparaten är avsedda att förvaras mindre än 24 timmar. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan erhållas genom spädning av 12,5 µL av IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800) i dess 10X-koncentration i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS utan formaldehyd, om preparaten är avsedda att analyseras inom 2 timmar.

Anmärkning: Behåll i samtliga fall beredningarna vid 2 till 8 °C och skyddade från ljus.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

Denna produkt har inget relevant förväntat värde.

PRESTANDA

Prestandadata erhålls med proceduren som beskrivs ovan på blodprov som är färskare än 24 timmar som tagits i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant. Analys utförs inom 2 timmar efter immunfärgning.

SPECIFICITET

CD34 är ett monomeriskt, starkt glykosylerat typ I-transmembranprotein med molekylvikten 116 kDa (13). Det finns två molekylära former av CD34. Fullängdsformen som består av 385 aminosekvenser har en intracellulär domän innehållande konsensus av proteinkinas C-, serin- och treoninfosforylering. Den trunkerade formen saknar det mesta av den intracellulära domänen. Den extracellulära formen förekommer i båda formerna av CD34. För CD34 har tre typer av epitoper igenkänts baserat på den differentiella känsligheten för neuramidas och glykoproteas. Klass I-epitoper (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) är känsliga för alla proteolytiska enzymer. Klass II-epitoper är (QBEnd10) neuraminidasresistenta men känsliga för glykoproteas. Klon 581 igenkänner en klass III typ-epitop, är okänslig för alla proteolytiska enzymer och binder starkt till alla glykoformer av CD34 (14).

Vid 5th HLDA workshop (den 5:e HLDA-workshopen) (Boston 1993) godkändes de tre epitoptyperna av CD34 på grundval av differentiell känslighet.

PRECISION

Procentvärdet för positiva värden bestämdes med helblod med tillsatta positiva celler. Varje prov kördes 4 gånger, två gånger om dagen under 1 dag på 2 instrument med 2 loter CD34-PC5 monoklonala antikroppsreagens. Mätningar (% positiva) utfördes på Navios flödescytometer. Analys utfördes baserat på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Utvärdering av precisionsprestanda för kvantitativa mätmetoder).

Våra acceptanskriterier beror på antalet positiva händelser som uppmäts för varje population:

- Om positiv händelse < 1 500, CV < 15 %
- Om positiv händelse > 1 500, CV < 10 %

Helblod som tillsatts KG1a cell-linje							
Antal positiva händelse (medelvärde) = 5355							
	Mellan operatörer	Mellan cytometrar	Inom lot	Mellan loter	Mellan körningar	Inom körning	Totalt
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
RESULTAT	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NOGGRANNHET

Noggrannheten hos CD34-PC5 bedömdes genom att jämföra resultaten med en referensreagens som predikat för en uppsättning helblodprov som tillförts positiva celler och körts på en Navios flödescytometer. Bias mellan test- och referensreagens bestämdes baserat på skillnaden mellan testresultat. Om bias ligger inom tillåtet felintervall eller p-värdet anger att det inte finns någon signifikant skillnad (> 0,05), så anses testresultaten för de två reagenserna vara likvärdiga.

Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell nedan:

Antal donatorer = 25				
Positivt mål	Medelvärde Δ	Δ % cellkriterier	p-värde	RESULTAT
Helblod som tillsatts KG1a cell-linje	1,31	<3	5,01E-04	PASS

BLANKGRÄNS OCH DETEKTIONSGRÄNS

En studie genomfördes i enlighet med CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Utvärdering av detekteringsförmåga för kliniska laboratoriemätningsprocedurer). Detektionsgräns (LoD) är den lägsta analytkoncentrationen som konsekvent kan detekteras. Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell:

Positive Target	Blankgräns (cell/µL)	Detektionsgräns (cell/µL)
KG1a Cellinje	1	2

BEGRÄNSNINGAR

1. Flödescytometri kan ge falska resultat om cytometern inte har justerats perfekt, om fluorescensläckor inte har kompenserats korrekt och om regionerna inte har placerats noggrant.
2. Det är bäst att använda en RBC-lyseringsteknik med ett tvättsteg, eftersom denna reagens inte optimerats för lyseringstekniker ”utan tvätt”.
3. Noggranna och reproducerbara resultat kommer att erhållas så länge de förfaranden som används är i enlighet med den tekniska bipacksedeln och förenliga med god laboratoriepraxis.
4. Den konjugerade antikroppen för detta reagens är kalibrerad för att erbjuda det bästa specifik signal/icke-specifik signal-förhållandet. Därför är det viktigt att följa reagensvolym/provvolym-förhållandet i varje test.
5. Vid hyperleukocytos, späd blodet i PBS för att erhålla ett värde på cirka 5 x 10^9 leukocyter/L (15).
6. Vid vissa sjukdomstillstånd, såsom vid mycket svår njursvikt eller hemoglobinopatier, kan lysering av röda celler vara långsam, ofullständig eller till och med omöjlig. I detta fall är det rekommenderat att isolera mononukleära celler med användning av en densitetsgradient (till exempel Ficoll) innan färgningen (16).
7. På grund av fluorokromets tandemstruktur avger PC5 även ljus med 575 nm. Denna sekundära emissionstopp varierar från lot till lot av PC5. För flerfärgsanalys ska kompenseringsmatrisen därför noggrant kontrolleras vid byte av lot för ett PC5-konjugat.
8. Hos patienter som behandlas med anti-human monoklonala antikroppar kan detektering av de specifika eftersökta antigenerna minska eller utebli på grund av delvis eller fullständig blockering från behandlingens antikropp.

9. Resultat för CD34-PC5 bör tolkas med tanke på patientens totala kliniska bild, inklusive: symptom, anamnes, information från övriga test och annan lämplig information.

Se bilagan för exempel och referenser.

VARUMÄRKEN

Beckman Coulter, den stiliserade logotypen och Beckman Coulters produkt- och tjänstmärken som nämns häri är varumärken eller registrerade varumärken som tillhör Beckman Coulter, Inc. i USA eller andra länder.

YTTERLIGARE INFORMATION

För en patient/användare/tredje part inom EU och i länder med identiskt regelsystem (förordning 2017/746/EU om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik); om, vid användning av denna enhet eller som ett resultat av dess användning, en allvarlig incident inträffat ska den rapporteras till tillverkaren och/eller till dess auktoriserade representant och till den nationella myndigheten.

Summary of Safety and Performance (Sammanfattning av säkerhet och prestanda) finns tillgänglig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVIDERING AD:	Publiceringsdatum: Oktober 2020

REVISION	**Publiceringsdatum**
AW	Maj 2022
Uppdateringar för att uppfylla Beckman Coulter globala etiketteringspolicy och kraven i IVD-R (EU)2017/746:	
Tillagda avsnitt	BSI 2797 Nummer, Avsedd användare, Klinisk relevans, Koncentration, Precision, Noggrannhet, Blankgräns och detektionsgräns, Ytterligare information, Revisionshistorik.
Tillagd information	Se avsnittet Begränsningar
Ordval eller typografiska uppdateringar	Se avsnitten Procedur, Prestanda, Begränsningar, Varningar och försiktighetsåtgärder, Förvaring och stabilitet.
Borttagna avsnitt	Exempel på kliniska tillämpningar, Reagens, Reproducerbarhet inom laboratorium, Linearitet
Uppdaterade avsnitt	Avsedd användning, Faroklassificering enligt GHS, Tecken på försämring, Procedur, Bilaga.

REVISION	**Publiceringsdatum**
AX	April 2023
Uppdaterade avsnitt	Lägg till kazakiska
Uppdaterade avsnitt	Förvaring och hållbarhet

Reviderad version	AY
Datum för revidering	Maj 2024
Uppdaterade översättningar	**Klinisk relevans:**
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Reviderad version	AZ
Datum för revidering	Juli 2024
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Teckenförklaring för symboler

Ordlista för symboler finns på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Spesifikasjoner
Spesifisitet	CD34
Klon	581
Hybridom	NS0 x balb/c
Immunogen	Human CD34+ leukaemic cells
Immunoglobulin	IgG1
Art	Mus
Rensing	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molart forhold	PC5/Ig: 0,5-1,5
λ-eksitasjon	488 nm
Strålingstopp	670 nm
Buffer	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/mL BSA og 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugert antistoff CD34-PC5

REF A07777 100 tester; 1 mL, 10 µL / test

For *in vitro*-diagnostisk bruk

TILTENKT BRUK

Dette fluorokromkonjugerte antistoffet muliggjør kvalitativ og ikke-automatisert identifisering av cellepopulasjoner som uttrykker CD34-antigenet som finnes i humane biologiske prøver, ved hjelp av flowcytometri (se avsnittet «Prøver» nedenfor).

PRINSIPP

Denne testen er basert på evnen spesifikke monoklonale antistoffer har til å binde seg til antigendeterminantene uttrykt av leukocytter.

Spesifikk farging av leukocyttene utføres ved inkubering av prøven med IOTest-reagenset. De røde cellene fjernes deretter ved lysering, og leukocyttene, som er uberørt av denne prosessen, analyseres ved flowcytometri.

Flytcytometeret måler lysdiffusjon og cellenes fluorescens. Det gjør det mulig å avgrense populasjonen som skal undersøkes innenfor det elektroniske vinduet som er definert på et histogram, og som korrelerer den ortogonale lysspredningen (sidespredning eller SS) og spredningen av trangvinklet lys (foroverpredning eller FS). Andre histogrammer som kombinerer to av de ulike parametrene på cytometeret kan brukes som støtte ved gatingstadiet, avhengig av programmet som velges av brukeren.

Fluorescensen i de avgrensede cellene analyseres for å skille de positivt fargede hendelsene fra de ufargede. Resultatene er uttrykt som en prosentandel positive hendelser i forhold til alle hendelser innhentet ved gatingen.

TILTENKT BRUKER

Dette produktet skal brukes av profesjonelle brukere på laboratorier.

KLINISK RELEVANS

CD34-PC5 er et CD34-antistoff som brukes til å identifisere og karakterisere celler som uttrykker CD34-antigenet, ved hjelp av flowcytometri. Dette produktet alene kan ikke og er ikke ment å generere en diagnostisk konklusjon.

Når dette produktet brukes i kombinasjon med andre markører, kan det brukes i én eller flere av følgende funksjoner:

- Bistå ved differensialdiagnostisering av hematologisk unormale pasienter med mistenkt hematologisk lidelse og følge opp pasienter med kjent hematologisk lidelse.
- For å bidra ved prognostisering av pasienter med hematopoietisk neoplasi.
- Overvåke transplantasjonsprosess eller resultater.

Se følgende referanser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

PRØVER

Veneblod må tas ved bruk av sterile rør som inneholder EDTA-salt som antikoagulant.

Prøvene skal oppbevares i romtemperatur (18–25 °C) og ikke ristes. Prøvene skal homogeniseres ved forsiktig risting før du tar testprøven.

Prøvene må analyseres innen 24 timer etter venepunksjon.

KONSENTRASJON

Se lot-spesifikt analysesertifikat på www.beckman.com.

ADVARSEL OG FORHOLDSREGLER

1. Reagenset må ikke brukes etter utløpsdatoen.
2. Må ikke fryses.
3. La det nå romtemperatur (18–25 °C) før bruk.
4. Bør ikke utsettes for lys.
5. Unngå mikrobiell kontaminering av reagensene, ellers kan det gi feil resultater.

6. Antistoffløsninger som inneholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsiktighet. Ikke til innvortes bruk. Unngå all kontakt med hud, slimhinner og øyne.

   Videre kan natriumazid i et syremedium danne potensielt farlig hydrogenazid. Hvis reagenset må kasseres, anbefales det at det fortynnes i store mengder vann før det tømmes i avløpssystemet, slik at man unngår opphopning av natriumazid i metallrør, og for å hindre eksplosjonsfare.
7. Alle blodprøver må betraktes som potensielt smittefarlige og må håndteres med forsiktighet (gjelder spesielt: bruk av vernehansker, laboratoriefrakk og vernebriller).
8. Pipetter aldri med munnen, og unngå at prøvene kommer i kontakt med huden, slimhinnene og øynene.
9. Blodprøverør og engangsmateriale som brukes til håndtering, skal kastes i beholdere beregnet for forbrenning.
10. Reagenser og avfall skal kastes i henhold til lokale krav.

GHS-FAREKLASSIFISERING

Ikke klassifisert som farlig

SDS Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPPBEVARING OG STABILITET

Dette reagenset må oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttes mot lys før og etter at flasken er åpnet.

Holdbarhet i lukket flaske ifølge stabilitetsstudie: 1095 dager.

Stabilitet for åpnet flaske: reagenset er stabilt i 180 dager.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Endringer i reagensenes fysiske utseende kan være tegn på redusert kvalitet, og slike reagenser skal ikke brukes.

For ytterligere informasjon eller hvis produktet mottas skadet, kan Beckman Coulter kundeservice 800-742-2345 (USA og Canada) eller den lokale Beckman Coulter-representanten kontaktes.

INNHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive blandinger i metalliske avløpsrør. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Fare for eksplosive azider) (16.8.76). For å unngå mulig opphopning av azidforbindelser må avløpsrør skylles med vann etter avhending av ufortynnet reagens. Avfallshåndtering av natriumazid må skje i samsvar med relevante lokale forskrifter.

NØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE FØLGER MED SETTET:

- Prøvetakingsrør og materiale nødvendig for prøvetaking.
- Automatiske pipetter med engangsspisser til 10, 100 og 500 µL.
- Hemolyserør av plast.
- Rød cellelyseringsreagens med vasketrinn etter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Leukocytt-fikseringsreagens. For eksempel: IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800).
- -isotypekontroll PC5: IOTest-reagens (ref. A07798).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Sentrifuger.
- Automatisk omrører (vortekstype).
- Flytcytometer.

PROSEDYRE MED VERSALYSE-REAGENS

For hver prøve som analyseres, kan det i tillegg til testrøret legges til ett kontrollrør hvor cellene er blandet med tilstedeværelse av isotypekontrollen (ref. A07798).

1. Tilsett 10 µL spesifikt IOTest-konjugert antistoff i hvert testrør og ved behov 10 µL av isotypekontrollen i hvert kontrollrør.
2. Tilsett 100 µL av testprøven i hvert rør. Vorteks rørene forsiktig.
3. Inkuber i 15 til 20 minutter ved romtemperatur (18–25 °C), beskyttet mot lys.
4. Utfør deretter lysering av de røde blodcellene. Les brosjyren VersaLyse (ref. A09777), og prøv å følge prosedyren kalt «with concomitant fixation» (med samtidig fiksering) som består av å tilsette 1 mL av «fikserings- og lyseringsblandingen» som klargjøres prompte. Bland på vorteksmikser umiddelbart i ett sekund, og inkuber i 10 minutter ved romtemperatur, beskyttet mot lys.
5. Sentrifugeres i 5 minutter ved 150 x g ved romtemperatur.
6. Fjern supernatanten ved aspirasjon.
7. Resuspender cellepelleten i 3 mL PBS.
8. Gjenta trinn 5.
9. Fjern supernatanten ved aspirasjon, og resuspender cellepelleten ved hjelp av:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS pluss 0,1 % formaldehyd hvis preparatene skal oppbevares i mindre enn 24 timer. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan oppnås ved å fortynne 12,5 µL IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800) ved 10X konsentrasjon i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uten formaldehyd hvis preparatene skal analyseres innen 2 timer.

Merk: I alle tilfeller skal preparatene oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttet mot lys.

FORVENTEDE VERDIER

Det er ingen forventet verdi som er relevant for dette produktet.

YTELSE

Ytelsesdata er fremskaffet ved bruk av prosedyren som er beskrevet ovenfor på mindre enn 24 timer gamle blodprøver som tidligere er samlet i sterile rør med EDTA-salt som antikoagulant. Analysen utføres innen 2 timer etter immunfarging.

SPESIFISITET

CD34 er et monomert tungt glykosylert type I-transmembran 116 kd-protein (13). Det er to molekylære former av CD34; fullengdeformen av 385 aminosyresekvenser har et intracellulært domene som inneholder konsensus av proteinkinase C, serin, treonin og fosforylering. Den avkortede formen mangler det meste av det intracellulære domenet. Den ekstracellulære formen er til stede i begge former av CD34. For CD34 er tre epitoptyper registrert, basert på den differensielle sensitiviteten for neuramidase- og glykolproteaseepitoper av klasse I (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) er sensitive for alle proteolytiske enzymer. Klasse II epitoper-er (QBEnd10)-motstandsdyktig mot neuraminidase. men sensitive for glykoprotease. Klon 581 gjenkjenner en epitop av klasse type III og er ikke sensitiv for alle proteolytiske enzymer og binde seg villig til alle glykoformer av CD34 (14).

Den 5. HLDA workshop (Boston 1993) godkjente de tre epitoptypene i CD34 på grunnlag av forskjellig sensitivitet.

PRESISJON

Prosentandelen positive verdier ble bestemt med fullblod tilsatt positive celler. Hver prøve ble kjørt 4 ganger, to ganger om dagen i 1 dag på 2 instrumenter med 2 partier CD34-PC5 monoklonale antistoffreagenser. Målinger (% positiv) ble foretatt på et Navios-flytcytometer. Analysen ble utført basert på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering av presisjonsytelse ved kvantitative målemetoder).

Våre godkjenningskriterier er avhengige av antall positive hendelser som måles for hver populasjon:

- Hvis positiv hendelse < 1 500, VK < 15 %
- Hvis positiv hendelse > 1 500, VK < 10 %

Fullblod tilsatt KG1a-cellelinje							
Antall positive hendelser (gjennomsnitt) = 5355							
	Mellom operatører	Mellom cytometere	Innenfor samme lot	Mellom loter	Mellom kjøringer	Innenfor samme kjøring	Total
VK (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØYAKTIGHET

Nøyaktigheten til CD34-PC5 ble vurdert ved å sammenligne resultatene med et referansereagens som predikatet på et sett med fullblodsprøver tilsatt positive celler kjørt på et Navios-flytcytometer. Skjevheten mellom test- og referansereagens ble bestemt basert på forskjellen mellom testresultater. Hvis skjevheten er innenfor det tillatte feilområdet eller p-verdien angir ingen vesentlig forskjell (> 0,05), anses testresultatene for de to reagensene som tilsvarende.

De oppnådde resultatene er oppsummert i den følgende tabellen:

Antall donorer = 25				
Positivt mål	Gjennomsnittlig Δ	Δ % cellekriterier	p-verdi	RESULTATER
Fullblod tilsatt KG1a-cellelinje	1,31	<3	5,01E-04	PASS

GRENSE FOR BLANKPRØVE OG DETEKSJONSGRENSE

En studie ble gjennomført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering av deteksjonsevne for måleprosedyrer på kliniske laboratorier). Deteksjonsgrensen (LOD) er den laveste analyttkonsentrasjonen som kan detekteres konsekvent. Resultatene som ble oppnådd, er oppsummert i tabellen nedenfor:

Positive Target	Grense for blankprøve (celle/µL)	Deteksjonsgrense (celle/µL)
KG1a Cell line	1	2

BEGRENSNINGER

1. Flowcytometri kan gi falske resultater hvis cytometeret ikke har blitt justert nøyaktig, hvis fluorescenslekkasjer ikke er kompensert riktig, og hvis regionene ikke er nøye plassert.
2. Det er best å bruke en RBC-lyseringsteknikk med et vasketrinn, ettersom dette reagenset ikke er optimert for lyseringsteknikker uten vask.
3. Nøyaktige og reproduserbare resultater vil oppnås så lenge de anvendte prosedyrene er i samsvar med det tekniske pakningsvedlegget og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerte antistoffet til dette reagenset er kalibrert for å oppnå best mulig forhold mellom spesifikt signal og ikke-spesifikt signal. Derfor er det viktig å overholde forholdet mellom reagensvolum og prøvevolum i hver test.
5. Ved hyperleukocytose fortynnes blodet i PBS for å oppnå en verdi på omtrent 5 x 10^9 leukocytter/L (15).
6. Ved visse sykdomstilstander, for eksempel alvorlig nyresvikt eller hemoglobinopatier, kan lyseringen av røde celler være langsom, ufullstendig eller til og med umulig. I dette tilfellet anbefales det å isolere mononukleærerte celler ved hjelp av en densitetsgradient (for eksempel Ficoll) før farging (16).
7. På grunn av fluorokromets tandemstruktur utstråler PC5 også lys ved 575 nm. Denne andre strålingstoppen varierer fra lot til lot for PC5. Derfor bør kompensasjonsmatrisen for flerfargeanalyse kontrolleres nøye ved bytte av loten med et -PC5-konjugat.
8. Hos pasienter som behandles med antihumane, monoklonale antistoffbehandlinger, kan deteksjon av bestemte målantigener reduseres eller være fraværende på grunn av delvis eller fullstendig blokkering av det terapeutiske antistoffet.
9. CD34-PC5-resultatene skal tolkes i lys av den totale kliniske vurderingen av pasienten, inkludert: symptomer, klinisk historie, data fra flere tester og annen aktuell informasjon.

Se vedlegget for eksempler og referanser.

VAREMERKER

Beckman Coulter, den stiliserte logoen og vare- og servicemerkene til Beckman Coulter som er omtalt her, er varemerker eller registrerte varemerker som tilhører Beckman Coulter, Inc. i USA og andre land.

TILLEGGSINFORMASJON

For pasient/bruker/tredjepart i EU og land med identisk regelverk (EUs forordning nr. 2017/746 om in vitro-diagnostisk medisinsk utstyr); hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av dette utstyret, eller som et resultat av bruken, skal dette rapporteres til produsenten og/eller den autoriserte representanten samt til nasjonal myndighet.

Summary of Safety and Performance (Sammendrag av sikkerhet og ytelse) er tilgjengelig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISJONSHISTORIE

REVISJON AD:	Utgivelsesdato: Oktober 2020

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AW	Mai 2022
Oppdateringer skal overholde de globale merkingsreglene til Beckman Coulter og være i samsvar med krav iht. IVD-R (EU)2017/746:	
Innsatte avsnitt	BSI 2797-nummer, Tiltenkt bruker, Klinisk relevans, Konsentrasjon, Presisjon, Nøyaktighet, Grense for blankprøve og deteksjonsgrense, Tilleggsinformasjon, Revisjonshistorie.
Innsatt informasjon	Se avsnittet Begrensninger
Oppdatering av formulering eller typografi	Se avsnittene Prosedyre, Ytelse, Begrensninger, Advarsler og forholdsregler, Oppbevaring og stabilitet.
Fjernede avsnitt	Eksempel på kliniske bruksområder, Reagenser, Reproduserbarhet innenfor samme laboratorium, Linearitet
Oppdaterte avsnitt	Tiltenkt bruk, GHS-fareklassifisering, Tegn på nedbryting, Prosedyre, Vedlegg.

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AX	april 2023
Oppdaterte avsnitt	Lagt til kasakhisk
Oppdaterte avsnitt	Oppbevaring og stabilitet

Revidert versjon	AY
Revisjonsdato	mai 2024
Oppdatert oversettelser	**Klinisk relevans:**
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Revidert versjon	AZ
Revisjonsdato	juli 2024
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Symbolforklaring

Symbolordliste er tilgjengelig på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Tekniset tiedot
Spesifisyys	CD34
Klooni	581
Hybridooma	NS0 x balb/c
Immunogeeni	Human CD34+ leukaemic cells
Immunoglobuliini	IgG1
Lajit	Hiiri
Puhdistus	Affiniteettikromatografia
Fluorokromi	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Moolisuhde	PC5/Ig: 0,5-1,5
λ-viritys	488 nm
Säteilyhuippu	670 nm
Puskuri	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA:ta ja 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugoitunut vasta-aine CD34-PC5

REF A07777 100 testiä; 1 ml, 10 µl / test

Diagnostiseen *In Vitro* -käyttöön

KÄYTTÖTARKOITUS

Tämän fluorokromikonjugoidun vasta-aineen avulla voidaan kvalitatiivisesti ja muilla kuin automaattisilla tavoilla tunnistaa solupopulaatioita, jotka ilmentävät ihmisen biologisissa näytteissä esiintyvää CD34-antigeeniä virtaussytometriaa käyttämällä (katso jäljempää kohta Näytteet).

PERIAATE

Testi perustuu tiettyjen monoklonaalisten vasta-aineiden kykyyn sitoutua leukosyyttien ilmentämiin antigeenideterminantteihin.

Leukosyyttien spesifinen värjäys tehdään inkuboimalla näyte IOTest-reagenssilla. Punasolut poistetaan sen jälkeen lyysaamalla, ja leukosyytit, joihin tämä prosessi ei vaikuta, analysoidaan virtaussytometrialla.

Virtaussytometri mittaa valonhajontaa ja solujen fluoresenssia. Sen avulla on mahdollista rajata kiinnostuksen kohteena olevan populaatio pylväskaavioon määritetyssä elektronisessa ikkunassa, jossa ortogonaalinen valonhajonta (sivusironta eli SS) vastaa kapean kulman valonhajontaa (eteenpäinsironta eli FS). Muita sytometrin kahta eri parametria yhdistäviä pylväskaavioita voidaan käyttää rajaamisvaiheen tukena käyttäjän valitseman sovelluksen mukaan.

Rajattujen solujen fluoresenssi analysoidaan, jotta positiivisesti värjäytyneet tapahtumat voidaan erottaa värjäytymättömistä tapahtumista. Tulokset ilmaistaan positiivisten tapahtumien prosenttimääränä suhteessa kaikkiin rajauksella kerättyihin tapahtumiin.

AIOTTU KÄYTTÄJÄ

Tämä tuote on tarkoitettu ammattimaiseen laboratoriokäyttöön.

KLIININEN RELEVANSSI

CD34-PC5 on CD34-vasta-aine, jonka avulla tunnistetaan ja karakterisoidaan CD34-antigeenia ilmentävät solut virtaussytometrialla. Tämä tuote yksinään ei voi eikä sen ole tarkoitus tuottaa mitään diagnostisia johtopäätöksiä.

Kun sitä käytetään yhdessä muiden merkkiaineiden kanssa, tuotetta voidaan käyttää yhteen tai useaan seuraavista toiminnoista:

- Differentiaalidiagnoosin tueksi hematologisesti poikkeaville potilaille, joilla epäillään olevan hematologinen häiriö, sekä sellaisten potilaiden valvontaan, joilla tiedetään olevan hematologinen häiriö.
- Avuksi ennusteen tekemiseen potilaista, joilla on hematopoieettinen neoplasma.
- Transplantaatioprosessin tai sen tulosten seurantaan.

Katso seuraavat viitteet:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

NÄYTTEET

Laskimoverinäytteet on otettava käyttäen steriilejä putkia, joissa on antikoagulanttina EDTA-suolaa.

Näytteet on säilytettävä huoneenlämmössä (18–25 °C), eikä niitä saa ravistaa. Näytteet on homogenoitava sekoittamalla hellävaraisesti ennen testinäytteen ottamista.

Näytteet on analysoitava 24 tunnin sisällä laskimopunktiosta.

PITOISUUS

Katso eräkohtainen analyysitodistus osoitteesta www.beckman.com.

VAROITUS JA VAROTOIMET

1. Älä käytä reagenssia viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
2. Ei saa jäätyä.
3. Anna sen lämmetä huoneenlämpöiseksi (18–25 °C) ennen käyttöä.
4. Minimoi altistuminen valolle.
5. Vältä reagenssien mikrobikontaminaatiota, muutoin vaarana ovat virheelliset tulokset.
6. Natriumatsidia (NaN_3) sisältäviä vasta-aineliuoksia tulee käsitellä varoen. Sitä ei saa niellä, ja sen joutumista iholle, limakalvoille ja silmiin on vältettävä.

Lisäksi happamassa liuoksessa natriumatsidi voi muodostaa mahdollisesti vaarallista hydratsoehappoa. Jos reagenssi on hävitettävä, se on suositeltavaa laimentaa suureen vesimäärään ennen sen kaatamista viemäriin, jotta natriumatsidia ei pääse kertymään metalliputkiin ja vältetään räjähdysvaara.

7. Kaikkia verinäytteitä on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina, ja niitä on käsiteltävä varovaisesti (erityisesti on muistettava suojakäsineiden, -pukujen ja -lasien käyttö).
8. Älä koskaan pipetoi suulla ja vältä näytteiden kaikkea kosketusta ihoon, limakalvoihin ja silmiin.
9. Veriputket ja käsittelyyn käytetyt kertakäyttöiset materiaalit on hävitettävä poltettaviksi tarkoitetuissa ad hoc -astioissa.
10. Reagenssit ja jätteet on hävitettävä paikallisten vaatimusten mukaisesti.

GHS-VAARALUOKITUS

Ei luokiteltu vaaralliseksi

SDS Käyttöturvallisuustiedote on saatavana osoitteessa beckmancoulter.com/techdocs

SÄILYTYS JA STABILITEETTI

Tätä reagensseja on säilytettävä 2–8 °C:n lämpötilassa ja suojattava valolta ennen ampullin avaamista ja sen jälkeen.

Suljetun ampullin säilyvyysaika stabiliteettitutkimuksen mukaan: 1095 päivää.

Avatun ampullin stabiliteetti: reagenssi on stabiili 180 päivän ajan.

MERKIT PILAANTUMISESTA

Mahdolliset muutokset reagenssin fyysisessä ulkonäössä voivat viitata huonontumiseen, eikä reagenssia saa tällöin käyttää.

Jos tarvitset lisätietoja tai jos sait vahingoittuneen tuotteen, soita Beckman Coulter -asiakaspalveluun numeroon 800 742 2345 (USA ja Kanada) tai ota yhteyttä Beckman Coulterin paikalliseen edustajaan.

SISÄLTÖ

Natriumatsidi-säilöntäaine saattaa muodostaa räjähtäviä yhdisteitä metallisissa viemäriputkissa. Katso NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.08.1976). Huuhtele viemäriputket vedellä laimentamattoman reagenssin poiston jälkeen mahdollisen atsidiyhdisteiden kerääntymisen estämiseksi. Hävitä natriumatsidi asianmukaisten paikallismääräysten mukaisesti.

TARVITTAVAT MATERIAALIT, JOITA EI TOIMITETA SARJAN MUKANA:

- Näytteenottoon tarvittavat näytteenottoputket ja materiaalit.
- Automaattiset pipetit, joissa kertakäyttökärjet 10, 100 ja 500 µl.
- Muoviset hemolyysiputket.
- Punasolujen lyysireagenssi ja pesuvaihe lyysin jälkeen. Esimerkiksi: VersaLyse (viite A09777).
- Leukosyyttien kiinnitysreagenssi. Esimerkiksi: IOTest 3 -fiksatiiviliuos (viite A07800).
- Isotyyppinen kontrolli PC5: IOTest-reagenssi (viite A07798).
- Puskuri (PBS: 0,01 M natriumfosfaattia, 0,145 M natriumkloridia, pH 7,2).
- Sentrifugi.
- Automaattinen sekoitin (Vortex-/pyörretyyppinen).
- Virtaussytometri.

VERSALYSE-REAGENSSIN MENETTELY

Jokaiselle analysoidulle näytteelle voidaan lisätä testiputken lisäksi yksi kontrolliputki, jossa solut sekoitetaan käyttämällä isotyyppistä kontrollia (ref. A07798).

1. Lisää 10 µl spesifisiä IOTest-konjugoituja vasta-aineita jokaiseen testiputkeen ja tarvittaessa 10 µl isotyyppistä kontrollia jokaiseen kontrolliputkeen.
2. Lisää 100 µl testinäytettä kuhunkin putkeen. Sekoita putkia vorteksilla varovaisesti.
3. Inkuboi 15–20 minuuttia huoneenlämmössä (18–25 °C), valolta suojattuna.
4. Tee sitten punasolujen lyysaus. Tutustu VersaLyse (viite A09777) -selosteeseen ja noudata mieluiten menettelyä, jonka nimessä on maininta ”rinnakkaiskiinnityksen kanssa” ja johon sisältyy ohje lisätä 1 ml kiinnitys- ja lyysiseosta, joka on valmistettu kyseistä tapausta varten. Sekoita välittömästi vorteksilla yhden sekunnin ajan ja inkuboi 10 minuuttia huoneenlämmössä, valolta suojattuna.
5. Sentrifugoi 150 x g 5 minuutin ajan huoneenlämmössä.
6. Poista supernatantti aspiroimalla.
7. Suspendoi solupelletti uudelleen käyttämällä 3 ml PBS:ää.
8. Toista vaihe 5.
9. Poista supernatantti aspiroimalla ja suspendoi solupelletti käyttämällä:

- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää plus 0,1 % formaldehydiä, jos valmisteet aiotaan säilyttää alle 24 tuntia. (0,1 % formaldehydiä sisältävä PBS saadaan laimentamalla 12,5 µl IOTest 3 -fiksatiiviliuosta (viite A07800) sen 10-kertaisella pitoisuudella 1 ml:aan PBS:ää).
- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää ilman formaldehydiä, jos valmisteet tullaan analysoimaan 2 tunnin sisällä.

Huomautus: Pidä valmisteet kaikissa tapauksissa 2–8 °C:n lämpötilassa ja valolta suojattuna.

ODOTETUT ARVOT

Tämän tuotteen kannalta olennaista odotettua arvoa ei ole.

SUORITUSKYKY

Suorituskykytiedot saadaan edellä kuvatulla menetelmällä käyttämällä alle 24 tunnin ikäisistä näytteistä, jotka on aiemmin kerätty steriileihin putkiin, joissa antikoagulanttina on EDTA-suola. Analyysi suoritetaan 2 tunnin kuluessa immunovärjäyksestä.

SPESIFISYYS

CD34 on monomeerinen, voimakkaasti glykosyloitu tyypin I transmembraaninen 116 KDa:n proteiini (13). CD34:ää on kahta molekyylimuotoa. Sen täysimittaisella 385 aminosekvenssin muodolla on solunsisäinen domeeni, joka sisältää konsensuksen proteiinikinaasi C:tä, seriiniä ja treoniinifosforylaatiota. Typistetystä muodosta puuttuu suurin osa solunsisäisestä domeenista. Solunulkoista muotoa esiintyy CD34:n molemmissa muodoissa. CD34:n osalta on tunnistettu kolme erityyppistä epitooppia perustuen neuramidaasin ja glykoliproteaasin erotusherkkyyteen. Luokan I epitoopit (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) ovat herkkiä kaikille proteolyyttisille entsyymeille. Luokan II epitoopit (QBEnd10) ovat resistantteja neuraminidaasille, mutta herkkiä glykoproteaasille. Klooni 581 tunnistaa luokkatyypin III epitoopin, on herkkä kaikille proteolyyttisille entsyymeille ja sitoutuu halukkaasti kaikkiin CD34-glykoformeihin (14).

Bostonissa vuonna 1993 pidetyssä viidennessä HLDA-seminaarissa hyväksyttiin kolme CD34:n epitooppityyppiä erotusherkkyyden perusteella.

TARKKUUS

Prosentuaaliset positiiviset arvot määritettiin käyttämällä kokoverta, johon oli lisätty positiivisia soluja. Jokainen näyte käsiteltiin 4 kertaa, kahdesti päivässä päivänä 1 2 laitteessa käyttämällä 2 erää CD34-PC5 monoklonaalisia vasta-ainereagensseja. Mittaukset (% positiivisia) tehtiin Navios-virtaussytometrillä. Analyysi tehtiin perustuen CLSI:n menetelmään EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivisten mittausmenetelmien tarkkuussuorituskyvyn arviointi).

Hyväksyntäkriteerimme on riippuvainen kussakin populaatiossa mitattujen positiivisten tapahtumien määrästä:

- Jos tapahtuma on positiivinen < 1 500, CV < 15 %
- Jos tapahtuma on positiivinen > 1 500, CV < 10 %

Kokoveri, johon on lisätty KG1a -solulinja							
Positiivisten näytteiden lukumäärä (keskiarvo) = 5355							
	Käyttäjien välinen	Sytometrin sisäinen	Erän sisäinen	Erien välinen	Ajojen välinen	Ajon sisäinen	Yhteensä
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
TULOKSET	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ULKOINEN TARKKUUS

Kohteen CD34-PC5 tarkkuus arvioitiin vertaamalla tuloksia viitereagenssiin, joka toimi Navios-virtaussytometrilla käsitellyn kokoverinäytesarjan, johon oli lisätty positiivisia soluja, predikaattina. Testireagenssin ja vertailureagenssin välinen poikkeama määritettiin testitulosten välisen eron perusteella. Jos poikkeama on sallitun virhealueen rajoissa tai p-arvo ei osoita merkityksellistä eroa (> 0,05), näiden kahden reagenssin testituloksia pidetään vastaavina.

Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Luovuttajien määrä = 25				
Positiivinen kohde	Keskiarvo Δ	Δ % -solukriteeri	p-arvo	TULOKSET
Kokoveri, johon on lisätty KG1a -solulinja	1,31	<3	5,01E-04	PASS

NOLLAMITTAUKSEN YLÄRAJA JA MITTAUKSEN ALARAJA

Tutkimus tehtiin CLSI EP17-A2:n mukaisesti, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Detektiokyvyn arviointi kliinisissä laboratoriomittausmenettelyissä). Mittauksen alaraja (LoD) on analyytin alhaisin pitoisuus, joka voidaan havaita johdonmukaisesti. Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Positive Target	Nollamittauksen yläraja (solu/µl)	Mittauksen alaraja (solu/µl)
KG1a Solulinja	1	2

RAJOITUKSET

1. Virtaussytometrialla saadut tulokset voivat olla virheellisiä, jos sytometri on kohdistettu epätarkasti, jos fluoresenssivuotoja ei ole kompensoitu oikein ja jos alueita ei ole sijoitettu tarkasti.
2. On suositeltavaa käyttää punasolujen lyysaukseen pesuvaiheen sisältävää tekniikkaa, koska tätä reagenssia ei ole optimoitu lyysaustekniikoille, joihin ei sisälly pesua.
3. Tulokset oivat tarkkoja ja toistettavissa, kunhan käytetyt menetelmät ovat teknisen selosteen mukaisia ja noudattavat hyviä laboratoriokäytäntöjä.
4. Tämän reagenssin konjugoitu vasta-aine kalibroidaan siten, että saadaan paras spesifisen signaalin ja epäspesifisen signaalin suhde. Siksi on tärkeää noudattaa reagenssin tilavuuden / näytteen suhdetta jokaisessa testissä.
5. Jos kyseessä on hyperleukosytoosi, laimenna veri PBS:ään siten, että saat arvoksi noin 5 x 10^9 leukosyyttiä/l (15).
6. Tietyissä sairaustiloissa, kuten vaikeassa munuaisten vajaatoiminnassa tai hemoglobinopatioissa, punasolujen hajoaminen voi olla hidasta, epätäydellistä tai jopa mahdotonta. Tässä tapauksessa yksitumaiset solut on suositeltavaa eristää käyttämällä tiheysgradienttia (esimerkiksi Ficoll) ennen värjäystä (16).
7. Fluorokromin tandemrakenteen vuoksi PC5 säteilee valoa myös aallonpituudella 575 nm. Tämä sekundäärinen emissiohuippu vaihtelee PC5-erien välillä. Siksi monivärianalyysissä kompensaatiomatriisi on tarkistettava huolellisesti, kun -PC5-konjugaatin erää vaihdetaan.
8. Potilailla, joita on hoidettu muun kuin ihmisen monoklonaalisilla vasta-aineilla, kohdeantigeenin havaitseminen voi heikentyä tai estyä osittain tai kokonaan hoidossa käytetyn vasta-aineen vaikutuksesta.
9. CD34-PC5-tulosten tulkinnassa on otettava huomioon potilaan kaikki kliiniset tiedot, mukaan lukien oireet, kliininen historia, lisätestien tiedot ja muut asianmukaiset tiedot.

Katso esimerkkejä ja viitteitä liitteestä.

TAVARAMERKIT

Beckman Coulter, tyylitelty logo ja tässä mainitut Beckman Coulter -tuotteiden ja palveluiden merkit ovat Beckman Coulter, Inc:in tavaramerkkejä tai rekisteröityjä tavaramerkkejä Yhdysvalloissa ja muissa maissa.

LISÄTIETOJA

Potilaalle / käyttäjälle / kolmannelle osapuolelle Euroopan unionin alueella ja maissa, joissa on samanlainen sääntelyjärjestelmä (in vitro -diagnostiikkaan tarkoitettuja lääkinnällisiä laitteita koskeva asetus 2017/746/EU): jos tämän laitteen käytön aikana tai sen käytön seurauksena on tapahtunut vakava tapahtuma, ilmoita siitä valmistajalle ja/tai valmistajan valtuutetulle edustajalle sekä kansalliselle viranomaiselle.

Turvallisuutta ja suorituskykyä koskeva yhteenveto on saatavilla EUDAMED-tietokannasta osoitteesta ec.europa.eu/tools/eudamed.

TARKISTUSHISTORIA

VERSIO AD:	Julkaisupäivä: Lokakuu 2020

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AW	Toukokuu 2022
Päivitetty noudattamaan Beckman Coulterin maailmanlaajuista merkintämenettelyä ja IVD-R (EU)2017/746 -standardin vaatimuksia:	
Lisätyt osat	BSI 2797 -numero, Käyttötarkoituksen mukainen käyttäjä, Kliininen relevanssi, Pitoisuus, Tarkkuus, Ulkoinen tarkkuus, Nollamittauksen yläraja ja mittauksen alaraja, Lisätietoja, Tarkistushistoria.
Lisätyt tiedot	Katso kohta Rajoitukset
Sanamuodot tai typografiset päivitykset	Katso kohdat Menettely, Suorituskyky, Rajoitukset, Varoitus ja varotoimet, Säilytys ja stabiliteetti.
Poistetut osat	Esimerkki kliinisistä käyttötarkoituksista, Reagenssit, Laboratorionsisäinen toistettavuus, Lineaarisuus
Päivitetyt osat	Käyttötarkoitus, GHS-vaaraluokitus, Merkit pilaantumisesta, Menettely, Liite.

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AX	Huhtikuu 2023
Päivitetyt osat	Lisää kazakki
Päivitetyt osat	Säilytys ja stabiliteetti

Tarkistettu versio	AY
Tarkistuksen päivämäärä	Toukokuu 2024
Päivitetyt käännökset	**Kliininen merkitys:**
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Tarkistettu versio	AZ
Tarkistuksen päivämäärä	Heinäkuu 2024
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Symboliluettelo

Symbolisanasto on saatavana osoitteessa beckman.com/techdocs (asiakirjan numero B60062)

	Προδιαγραφές
Ειδικότητα	CD34
Κλώνος	581
Υβρίδωμα	NS0 x balb/c
Ανοσογόνο	Human CD34+ leukaemic cells
Ανοσοσφαιρίνη	IgG1
Είδος	Μυς
Κάθαρση	Χρωματογραφία συγγένειας
Φθορόχρωμα	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Γραμμομοριακή αναλογία	PC5/Ig: 0,5-1,5
διέγερση λ	488 nm
Μέγιστη τιμή εκπομπών	670 nm
Ρυθμιστικό Διάλυμα	PBS pH 7,2 συν 2 mg/mL BSA και 0,1% NaN_3

IOTest
Συζευγμένο αντίσωμα
CD34-PC5

REF A07777 100 δοκιμασίες, 1 mL, 10 µL / test

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Αυτό το συζευγμένο με φθοροχρώματα αντίσωμα επιτρέπει την ποιοτική και μη αυτοματοποιημένη ταυτοποίηση των κυτταρικών πληθυσμών που εκφράζουν το αντιγόνο CD34 που απαντάται σε ανθρώπινα βιολογικά δείγματα, με χρήση κυτταρομετρίας ροής (δείτε την παρακάτω ενότητα «Δείγματα»).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Αυτή η εξέταση βασίζεται στην ικανότητα συγκεκριμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων να δεσμεύονται στους αντιγονικούς καθοριστές που εκφράζονται από τα λευκοκύτταρα.

Η ειδική χρώση των λευκοκυττάρων πραγματοποιείται μέσω της επώασης του δείγματος με το αντιδραστήριο IOTest. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια αφαιρούνται στη συνέχεια με λύση και τα λευκοκύτταρα, τα οποία δεν επηρεάζονται από αυτήν τη διαδικασία, αναλύονται με κυτταρομετρία ροής.

Το κυτταρόμετρο ροής μετρά τη διάχυση φωτός και τον φθορισμό των κυττάρων. Καθιστά δυνατή την οριοθέτηση του πληθυσμού ενδιαφέροντος εντός του ηλεκτρονικού παραθύρου που ορίζεται σε ένα ιστόγραμμα, το οποίο συσχετίζει την ορθογώνια διάχυση φωτός (πλάγια σκέδαση ή SS) και τη διάχυση φωτός κλειστής γωνίας (πρόσθια σκέδαση ή FS). Άλλα ιστογράμματα που συνδυάζουν δύο από τις διαθέσιμες διαφορετικές παραμέτρους του κυτταρόμετρου μπορούν να χρησιμοποιηθούν υποστηρικτικά κατά το στάδιο της οριοθέτησης, ανάλογα με την εφαρμογή που επιλέγει ο χρήστης.

Ο φθορισμός των οριοθετημένων κυττάρων αναλύεται προκειμένου να είναι δυνατή η διάκριση μεταξύ των θετικά σημασμένων συμβάντων και των μη σημασμένων συμβάντων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ποσοστό των θετικών συμβάντων σε σχέση με το σύνολο των συμβάντων που ελήφθησαν από την οριοθέτηση.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΟΣ ΧΡΗΣΤΗΣ

Αυτό το προϊόν προορίζεται για επαγγελματική εργαστηριακή χρήση.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΝΑΦΕΙΑ

Το CD34-PC5 είναι ένα αντίσωμα CD34 που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό κυττάρων που εκφράζουν το αντιγόνο CD34 με κυτταρομετρία ροής. Αυτό το προϊόν από μόνο του δεν μπορεί να παράγει οποιοδήποτε διαγνωστικό συμπέρασμα και δεν προορίζεται για αυτήν τη χρήση.

Όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλους δείκτες, αυτό το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μία ή περισσότερες από τις ακόλουθες λειτουργίες:

- Ως βοήθημα στη διαφορική διάγνωση μη φυσιολογικών αιματολογικά ασθενών με υποψία αιματολογικής διαταραχής και για την παρακολούθηση ασθενών με γνωστή αιματολογική διαταραχή.
- Ως βοήθημα στην πρόγνωση ασθενών με αιμοποιητική νεοπλασία.
- Για την παρακολούθηση της διαδικασίας μεταμόσχευσης ή των αποτελεσμάτων.

Δείτε τις ακόλουθες παραπομπές:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Τα δείγματα φλεβικού αίματος πρέπει να διατηρούνται σε αποστειρωμένα σωληνάρια που περιέχουν άλας EDTA ως αντιπηκτικό.

Τα δείγματα θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) και δεν θα πρέπει να ανακινούνται. Πριν από τη λήψη του δείγματος προς εξέταση, τα δείγματα πρέπει να ομογενοποιούνται με ήπια ανάδευση.

Τα δείγματα πρέπει να αναλύονται εντός 24 ωρών από τη φλεβοκέντηση.

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ

Δείτε το ειδικό για την παρτίδα πιστοποιητικό ανάλυσης στη διεύθυνση www.beckman.com.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

1. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης.
2. Μην καταψύχετε.
3. Αφήστε το να περιέλθει σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) πριν από τη χρήση.

4. Ελαχιστοποιήστε την έκθεση στο φως.
5. Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διαφορετικά ενδέχεται να προκύψουν ψευδή αποτελέσματα.
6. Να χειρίζεστε τα διαλύματα αντισωμάτων που περιέχουν αζίδιο του νατρίου (NaN_3) με προσοχή. Μην εισπνέετε και αποφεύγετε κάθε επαφή με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.

   Επιπλέον, σε όξινο μέσο, το αζίδιο του νατρίου μπορεί να σχηματίσει ένα δυνητικά επικίνδυνο υδραζωτικό οξύ. Αν χρειαστεί να απορριφθεί, συνιστάται η αραίωση του αντιδραστηρίου με μεγάλη ποσότητα νερού πριν από την έκχυση στο αποχετευτικό σύστημα, προκειμένου να αποφευχθεί η συσσώρευση αζιδίου του νατρίου στις μεταλλικές σωληνώσεις και να αποτραπεί ο κίνδυνος έκρηξης.
7. Πρέπει να θεωρείτε όλα τα δείγματα αίματος δυνητικά μολυσματικά και να τα χειρίζεστε με προσοχή (ειδικότερα: να φοράτε προστατευτικά γάντια, ποδιές και γυαλιά).
8. Μην χρησιμοποιείτε ποτέ πιπέτα με το στόμα και αποφεύγετε κάθε επαφή των δειγμάτων με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.
9. Τα σωληνάρια αίματος και το υλικό μίας χρήσης που χρησιμοποιούνται για τον χειρισμό πρέπει να απορρίπτονται σε ειδικά δοχεία που προορίζονται για αποτέφρωση.
10. Τα αντιδραστήρια και τα απόβλητα πρέπει να απομακρύνονται σύμφωνα με τις τοπικές απαιτήσεις.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ GHS

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο

SDS Το δελτίο δεδομένων ασφάλειας διατίθεται στη διεύθυνση beckmancoulter.com/techdocs

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Πρέπει να φυλάσσετε αυτό το αντιδραστήριο σε θερμοκρασία 2 έως 8 °C και να το προστατεύετε από το φως πριν και μετά το άνοιγμα του φιαλιδίου.

Διάρκεια ζωής κλειστού φιαλιδίου ανά μελέτη σταθερότητας: 1095 ημέρες.

Σταθερότητα ανοιχτού φιαλιδίου: το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό για 180 ημέρες.

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ

Οποιαδήποτε μεταβολή στην εμφάνιση των αντιδραστηρίων είναι πιθανό να υποδεικνύει αλλοίωση και το αντιδραστήριο δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται.

Για επιπλέον πληροφορίες ή σε περίπτωση παραλαβής ελαττωματικού προϊόντος, επικοινωνήστε με την υπηρεσία εξυπηρέτησης πελατών της Beckman Coulter στο 800-742-2345 (για ΗΠΑ και Καναδά) ή με τον τοπικό αντιπρόσωπο της Beckman Coulter.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Το συντηρητικό αζιδίου του νατρίου μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικές ενώσεις στους μεταλλικούς αποχετευτικούς αγωγούς. Δείτε το ενημερωτικό δελτίο του NIOSH: Explosive Azide Hazard (Κίνδυνος έκρηξης αζιδίου) (16/8/76)
Για να αποφύγετε την ενδεχόμενη συσσώρευση ενώσεων αζιδίου, να εκπλένετε τους σωλήνες αποβλήτων με νερό μετά την απόρριψη μη αραιωμένου αντιδραστηρίου. Η απόρριψη του αζιδίου του νατρίου πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους αντίστοιχους τοπικούς κανονισμούς.

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ KIT:

- Σωλήνες δειγματοληψίας και υλικό που είναι απαραίτητο για τη δειγματοληψία.
- Αυτόματες πιπέτες με ρύγχη μιας χρήσης για 10, 100 και 500 µL.
- Πλαστικά σωληνάρια αιμόλυσης.
- Αντιδραστήριο λύσης ερυθροκυττάρων με στάδιο πλύσης μετά τη λύση. Για παράδειγμα: VersaLyse (Ref. A09777).
- Αντιδραστήριο μονιμοποίησης λευκοκυττάρων. Για παράδειγμα: Διάλυμα μονιμοποίησης IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ισοτυπικός μάρτυρας PC5: Αντιδραστήριο IOTest (Ref. A07798).
- Ρυθμιστικό διάλυμα (PBS: 0,01 M φωσφορικό νάτριο, 0,145 M χλωριούχο νάτριο, pH 7,2).
- Φυγόκεντρος.
- Αυτόματος αναδευτήρας (τύπου περιδίνησης).
- Κυτταρόμετρο ροής.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ VERSALYSE

Για κάθε δείγμα που αναλύεται, εκτός του σωληναρίου εξέτασης, μπορεί να προστεθεί ένα σωληνάριο μάρτυρα μέσα στο οποίο αναμειγνύονται τα κύτταρα παρουσία του ισοτυπικού μάρτυρα (Ref. A07798).

1. Προσθέστε 10 µL ειδικού συζευγμένου αντισώματος IOTest σε κάθε δοκιμαστικό σωληνάριο και, εάν απαιτείται, 10 µL του ισοτυπικού μάρτυρα σε κάθε σωληνάριο μάρτυρα.
2. Προσθέστε 100 µL του αναλυόμενου δείγματος σε κάθε σωληνάριο. Περιδινήστε απαλά τα σωληνάρια.
3. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) για 15 έως 20 λεπτά, προστατεύοντας από το φως.
4. Στη συνέχεια, πραγματοποιήστε λύση των ερυθροκυττάρων. Ανατρέξτε στο φύλλο οδηγιών του VersaLyse (Ref. A09777) και ακολουθήστε κατά προτίμηση τη διαδικασία «με ταυτόχρονη μονιμοποίηση», που περιλαμβάνει την προσθήκη 1 mL μείγματος «μονιμοποίησης και λύσης», το οποίο παρασκευάστηκε πρόχειρα. Περιδινήστε αμέσως επί ένα δευτερόλεπτο και επωάστε επί 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, προστατεύοντας από το φως.
5. Φυγοκεντρήστε για 5 λεπτά στα 150 x g σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση.
7. Πραγματοποιήστε επαναιώρηση του κυτταρικού ιζήματος με 3 mL PBS.
8. Επαναλάβετε το βήμα 5.

9. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση και επαναιωρήστε το κυτταρικό ίζημα με:

- 0,5 mL ή 1 mL PBS συν 0,1% φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να φυλαχθούν για λιγότερο από 24 ώρες. (Μπορείτε να παρασκευάσετε διάλυμα 0,1% φορμαλδεΰδης/PBS με αραίωση 12,5 μL του μονιμοποιητικού διαλύματος IOTest 3 (Ref. A07800) 10πλάσιας συγκέντρωσης σε 1 mL PBS).
- 0,5 mL ή 1 mL PBS χωρίς φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να αναλυθούν εντός 2 ωρών.

Σημείωση: Σε κάθε περίπτωση, φυλάσσετε τα παρασκευάσματα προστατευμένα από το φως, σε θερμοκρασία μεταξύ 2 και 8 °C.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Δεν υπάρχει αναμενόμενη τιμή σχετικά με αυτό το προϊόν.

ΑΠΟΔΟΣΗ

Τα δεδομένα απόδοσης λαμβάνονται με χρήση της διαδικασίας που περιγράφηκε παραπάνω σε δείγματα αίματος ηλικίας μικρότερης των 24 ωρών που συλλέχθηκαν προηγουμένως σε αποστειρωμένα σωληνάρια με άλας EDTA ως αντιπηκτικό. Η ανάλυση εκτελείται εντός 2 ωρών από την ανοσοχρώση.

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Το CD34 είναι μια μονομερής έντονα γλυκοζυλιωμένη τύπου I διαμεμβρανική πρωτεΐνη μοριακού βάρους 116 KDa (13). Υπάρχουν δύο μοριακές μορφές του CD34: η μορφή πλήρους μήκους με 385 αλληλουχίες αμινοξέων διαθέτει μια ενδοκυτταρική περιοχή που περιέχει μια συναινετική αλληλουχία φωσφορυλίωσης πρωτεϊνικής κινάσης C, σερίνης και θρεονίνης. Η συντετμημένη μορφή δεν διαθέτει το μεγαλύτερο μέρος της ενδοκυτταρικής περιοχής. Η εξωκυτταρική μορφή απαντάται και στις δύο μορφές του CD34. Για το CD34, έχουν αναγνωριστεί τρεις τύποι επιτόπων με βάση τη διαφορική ευαισθησία στη νευραμινιδάση, και οι επίτοποι γλυκοπρωτεάσης τάξης I (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) είναι ευαίσθητοι σε όλα τα πρωτεολυτικά ένζυμα. Οι επίτοποι τάξης II (QBEnd10) είναι ανθεκτικοί στη νευραμινιδάση, αλλά εμφανίζουν ευαισθησία στη γλυκοπρωτεάση. Ο κλώνος 581 αναγνωρίζει έναν επίτοπο τύπου κλάσης III, δεν εμφανίζει ευαισθησία σε όλα τα πρωτεολυτικά ένζυμα και δεσμεύεται με ευκολία σε όλες τις γλυκομορφές του CD34 (14).

Το 5ο HLDA workshop (Συνάντηση εργασίας για τα αντιγόνα διαφοροποίησης των ανθρώπινων λευκοκυττάρων - Βοστώνη 1993) ενέκρινε τους τρεις τύπους επιτόπων του CD34 με βάση τη διαφορική ευαισθησία.

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Οι ποσοστιαίες θετικές τιμές προσδιορίστηκαν με χρήση ολικού αίματος ενισχυμένου με θετικά κύτταρα. Κάθε δείγμα αναλύθηκε 4 φορές, δύο φορές την ημέρα για 1 ημέρα σε 2 όργανα με χρήση 2 παρτίδων αντιδραστηρίων μονοκλωνικού αντισώματος CD34-PC5. Οι μετρήσεις (% θετικών) πραγματοποιήθηκαν σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με βάση τη μέθοδο CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Αξιολόγηση της απόδοσης ακρίβειας για μεθόδους ποσοτικής μέτρησης).

Τα κριτήρια έγκρισης εξαρτώνται από τον αριθμό των θετικών συμβάντων που μετρώνται για κάθε πληθυσμό:

- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος <1.500, <15% CV
- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος >1.500, <10% CV

Ολικό αίμα ενισχυμένο με KG1a σειρά κυττάρων							
Αριθμός θετικών συμβάντων (μέσος όρος) = 5355							
	Μεταξύ χειριστών	Μεταξύ κυτταρόμετρων	Εντός παρτίδας	Μεταξύ παρτίδων	Μεταξύ αναλύσεων	Εντός ανάλυσης	Σύνολο
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ακρίβεια του CD34-PC5 αξιολογήθηκε μέσω σύγκρισης των αποτελεσμάτων με ένα αντιδραστήριο αναφοράς ως μέσο πρόγνωσης, σε ένα σύνολο δειγμάτων ολικού αίματος ενισχυμένου με θετικά κύτταρα που αναλύθηκε σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Το συστηματικό σφάλμα μεταξύ εξέτασης και αντιδραστηρίου αναφοράς προσδιορίστηκε με βάση τη διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δοκιμής. Εάν το συστηματικό σφάλμα βρίσκεται εντός του επιτρεπόμενου εύρους σφαλμάτων ή η τιμή p δεν υποδεικνύει καμία σημαντική διαφορά (>0,05), τα αποτελέσματα δοκιμών για τα δύο αντιδραστήρια θεωρούνται ισοδύναμα.

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον πίνακα που ακολουθεί:

Αριθμός δοτών = 25				
Θετικός στόχος	Μέση τιμή Δ	Κριτήρια κυττάρων Δ %	Τιμή p	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
Ολικό αίμα ενισχυμένο με KG1a σειρά κυττάρων	1,31	<3	5,01E-04	PASS

ΟΡΙΟ ΤΥΦΛΟΥ ΚΑΙ ΟΡΙΟ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

Διεξήχθη μια μελέτη με βάση τις οδηγίες του CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Αξιολόγηση της ικανότητας ανίχνευσης για διαδικασίες μέτρησης κλινικών εργαστηρίων). Το όριο ανίχνευσης (OA) είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση αναλυόμενης ουσίας που μπορεί να ανιχνευτεί σταθερά. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Positive Target	Όριο τυφλού (κύτταρο/μL)	Όριο ανίχνευσης (κύτταρο/μL)
KG1a Κυτταρική σειρά	1	2

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Η κυτταρομετρία ροής ενδέχεται να παράγει ψευδή αποτελέσματα αν το κυτταρόμετρο δεν είναι σωστά ευθυγραμμισμένο, αν οι διαρροές φθορισμού δεν έχουν αντισταθμιστεί σωστά και αν οι περιοχές δεν έχουν τοποθετηθεί προσεκτικά.
2. Η τεχνική λύσης RBC είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται με ένα βήμα πλύσης, καθώς το συγκεκριμένο αντιδραστήριο δεν έχει βελτιστοποιηθεί για τεχνικές λύσης «χωρίς πλύση».
3. Ακριβή και επαναλήψιμα αποτελέσματα προκύπτουν στο μέτρο που οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι σύμφωνες με το ένθετο τεχνικών οδηγιών και συμβατές με τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές.

4. Το συζευγμένο αντίσωμα αυτού του αντιδραστηρίου είναι βαθμονομημένο ώστε να προσφέρει την καλύτερη αναλογία ειδικής σήμανσης/μη ειδικής σήμανσης. Γι' αυτό είναι σημαντικό να τηρείτε την αναλογία όγκου αντιδραστηρίου/όγκου δείγματος σε κάθε εξέταση.
5. Σε περίπτωση υπερλευκοκυττάρωσης, αραιώστε το αίμα σε PBS ώστε να επιτευχθεί τιμή περίπου 5 x 10^9 λευκοκύτταρα/L (15).
6. Σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις, όπως η σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια ή οι αιμοσφαιρινοπάθειες, η λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων ενδέχεται να είναι αργή, ατελής ή και ανέφικτη. Σε αυτήν την περίπτωση, συνιστάται η απομόνωση των μονοπύρηνων κυττάρων με διαβάθμιση πυκνότητας (για παράδειγμα Ficoll) πριν από τη χρώση (16).
7. Λόγω της διαδοχικής δομής του φθοροχρώματος, PC5 εκπέμπεται επίσης φως στα 575 nm. Η κορυφή αυτών των δευτερογενών εκπομπών διαφέρει από παρτίδα σε παρτίδα PC5. Ως εκ τούτου, στην ανάλυση πολλών χρωμάτων, θα πρέπει να ελέγχεται προσεκτικά η μήτρα αντιστάθμισης κατά την αλλαγή της παρτίδας ενός συζεύγματος -PC5.
8. Σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπείες με αντι-ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα, η ανίχνευση των ειδικών στοχευόμενων αντιγόνων ενδέχεται να είναι μειωμένη ή να απουσιάζει λόγω μερικού ή πλήρους αποκλεισμού από το θεραπευτικό αντίσωμα.
9. Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων του CD34-PC5 θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η συνολική κλινική εικόνα του ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων των συμπτωμάτων, του κλινικού ιστορικού, των δεδομένων πρόσθετων εξετάσεων και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Δείτε το Παράρτημα για παραδείγματα και παραπομπές.

ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ

Η επωνυμία Beckman Coulter, το τυποποιημένο λογότυπο και τα σήματα προϊόντων και υπηρεσιών της Beckman Coulter που αναφέρονται στο παρόν είναι εμπορικά σήματα ή σήματα κατατεθέντα της Beckman Coulter, Inc. στις Ηνωμένες Πολιτείες και σε άλλες χώρες.

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Για ασθενή/χρήστη/τρίτους στην Ευρωπαϊκή Ένωση και σε χώρες με όμοιο ρυθμιστικό καθεστώς (Οδηγία 2017/746/ΕΕ σχετικά με τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα), εάν, κατά τη χρήση αυτής της συσκευής ή ως αποτέλεσμα της χρήσης της, προκύψει σοβαρό περιστατικό, πρέπει να το αναφέρετε στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στις εθνικές αρχές της χώρας στην οποία κατοικείτε.

Το Summary of Safety and Performance (Σύνοψη ασφάλειας και απόδοσης) είναι διαθέσιμο στη βάση δεδομένων EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΕΩΝ

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ AD:	Ημερομηνία έκδοσης: Οκτώβριος 2020

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AW	2022. május
Ενημερώσεις για την επίτευξη συμμόρφωσης με την παγκόσμια πολιτική σήμανσης της Beckman Coulter και σύμφωνα με τις απαιτήσεις IVD-R (ΕΕ)2017/746:	
Προσθήκη ενοτήτων	Αριθμός BSI 2797, προβλεπόμενος χρήστης, κλινική συνάφεια, συγκέντρωση, πιστότητα, ακρίβεια, όριο τυφλού και όριο ανίχνευσης, πρόσθετες πληροφορίες, ιστορικό αναθεωρήσεων.
Προσθήκη πληροφοριών	Δείτε τις ενότητες «Περιορισμοί»
Εκφραστικές ή τυπογραφικές ενημερώσεις	Δείτε τις ενότητες «Διαδικασία», «Απόδοση», «Περιορισμοί», «Προειδοποίηση και προφυλάξεις», «Αποθήκευση και σταθερότητα».
Αφαίρεση ενοτήτων	Παράδειγμα κλινικών εφαρμογών, αντιδραστήρια, διεργαστηριακή επαναληψιμότητα, γραμμικότητα
Ενημερωμένες ενότητες	Προβλεπόμενη χρήση, Ταξινόμηση επικινδυνότητας κατά GHS, Ενδείξεις αλλοίωσης, Διαδικασία, Παράρτημα.

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AX	Απρίλιος 2023
Ενημερωμένες ενότητες	Προσθήκη Καζακικών
Ενημερωμένες ενότητες	Φύλαξη και σταθερότητα

Αναθεωρημένη έκδοση	AY
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Μάιος 2024
Ενημέρωση μεταφράσεων	**Κλινική συνάφεια:**
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθεωρημένη έκδοση	AZ
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Ιούλιος 2024
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Υπόμνημα συμβόλων

Το γλωσσάριο συμβόλων είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση beckman.com/techdocs (αριθμός εγγράφου B60062)

	仕様
特異性	CD34
クローン	581
ハイブリドーマ	NS0 x balb/c
免疫原	Human CD34+ leukaemic cells
免疫グロブリン	IgG1
動物種	マウス
精製	アフィニティークロマトグラフィー
蛍光色素	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
モル比	PC5 / Ig： 0.5-1.5
λ励起	488 nm
発光のピーク	670 nm
緩衝化剤	PBS(pH 7.2) + 2 mg/mL BSAおよび0.1% NaN_3

IOTest

コンジュゲート抗体
CD34-PC5

REF A07777 100 試験、1 mL, 10 µL / test

***体外*診断用医薬品**

用途

この蛍光色素結合抗体混合物により、フローサイトメトリーを用いてヒト生物検体に存在するCD34抗原を発現する細胞集団の定性的かつ非自動での同定が可能になります（以下の「検体」の項を参照）。

原理

このテストは、白血球が発現する抗原決定因子に対する特異的モノクローナル抗体の結合能に基づいています。

白血球の特異的染色は、検体をIOTest試薬とインキュベートすることによって行います。次に、赤血球を溶解によって除去し、このプロセスの影響を受けない白血球をフローサイトメトリーによって分析します。

フローサイトメーターは、細胞の光拡散および蛍光を測定します。これにより、直角散乱光（側方散乱、SS）および鋭角散乱光（前方散乱、FS）と相関するヒストグラム上で規定した電子枠内で対象集団の限界設定が可能になります。ユーザーが選択したアプリケーションに依存して、サイトメーターで利用可能な種々のパラメーターの2つを組み合わせたその他のヒストグラムが、ゲーティング段階の補助として利用できます。

陽性染色イベントと未染色イベントを鑑別するために、区分した細胞の蛍光を測定します。結果は、ゲーティングで得られた全イベントに対する陽性イベントの比率として表します。

対象ユーザー

本製品は、検査室での専門的な使用を目的としています。

臨床的妥当性

CD34-PC5は、フローサイトメトリーでCD34抗原を発現する細胞を同定および特性評価するために使用する抗体です。CD34この製品だけで診断の結論を下すことはできず、そのように意図されていません。

本製品は、他のマーカーと組み合わせて使用する場合、次の機能の1つまたは複数で使用できます。

- 血液学的疾患が疑われる血液学的に異常な患者の鑑別診断を補助し、既知の血液学的疾患を有する患者をモニタリングするため。
- 造血系新生物を有する患者の予後を支援するため。
- 移植プロセスまたは結果をモニターするため。

以下の参考文献を参照してください。

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

検体

静脈血は、抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブを用いて採取しなければなりません。

検体は室温（18～25°C）で保管し、揺らさないようにする必要があります。検体は、テスト検体を採取する前に、穏やかな撹拌によって均質化する必要があります。

この検体は、静脈穿刺から24時間以内に分析する必要があります。

濃度

www.beckman.comでロット固有の分析証明書を参照してください。

警告および注意

1. 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
2. 凍結しないでください。
3. 使用前に室温（18～25°C）にしてください。
4. 露光をできるだけ避けてください。
5. 試薬の微生物汚染を避けてください。誤った結果の原因となる場合があります。

6. アジ化ナトリウム（NaN_3）を含む抗体溶液は慎重に扱う必要があります。体内に摂取してはならず、皮膚、粘膜および眼との接触はすべて避けてください。

   また、酸性媒体では、アジ化ナトリウムから潜在的危険性のあるアジ化水素酸が生成されることがあります。アジ化ナトリウムを含む試薬を廃棄する必要がある場合、金属製のパイプにアジ化ナトリウムが蓄積しないように、また爆発の危険性を防ぐために、試薬を多量の水で希釈してから排水システムに廃棄することを推奨します。
7. すべての血液検体は感染性の可能性があるとみなして慎重に取り扱う必要があります（特に保護手袋、実験着、ゴーグルの着用）。
8. 絶対に口でピペットを吸わないでください。また、皮膚、粘膜、目に検体が接触しないようにしてください。
9. 使用済みの採血管およびディスポーザブル製品は、焼却用の専用容器に入れて廃棄してください。
10. 試薬や廃棄物は地方自治体の要件に従って廃棄してください。

GHSハザード分類

危険有害物質には分類されない

SDS　安全性データシートは、beckmancoulter.com/techdocsで入手できます。

保管および安定性

この試薬は、バイアル開封の前後に2～8℃で保管し、遮光する必要があります。

各安定性試験におけるクローズドバイアルの保存期間：1095日間

開封後のバイアル：試薬は180日間安定しています。

変質や劣化の兆候

試薬の物理的な外観の変化は劣化の徴候である場合があり、その試薬を使用してはなりません。

追加情報に関して、または損傷している製品をお受け取りになった場合、ベックマン・コールターのカスタマーサービス800-742-2345（米国またはカナダ）にお電話をくださるか、最寄りの代理店に連絡してください。

内容

保存剤のアジ化ナトリウムは、金属製排水管内で爆発性化合物を生成するおそれがあります。 NIOSH Bulletinを参照してください: アジド爆発危険性（76/8/16）
アジド化合物が蓄積する可能性を回避するため、未希釈の試薬を廃棄した後は排水管を水で洗い流します。アジ化ナトリウムは地方自治体の規定に従い適切に廃棄してください。

ご用意いただくもの:

- サンプリングに必要なサンプリングチューブと材料。
- 使い捨てチップ付き自動ピペット（100および500 µL用）。10
- プラスチックの溶血チューブ。
- 溶血処理後に洗浄操作した赤血球溶血試薬。例：VersaLyse（製品番号A09777）。
- 白血球固定試薬。例：IOTest 3固定液（製品番号A07800）。
- アイソタイプ対照PC5：IOTest試薬（製品番号A07798）。
- 緩衝化剤（PBS：0.01 Mリン酸ナトリウム、0.145 M塩化ナトリウム、pH 7.2）。
- 遠心機
- 自動アジテーター（ボルテックスタイプ）。
- フローサイトメーター

VERSALYSE試薬による手順

測定する各検体について、テストチューブのほか、アイソタイプ対照存在下で細胞を混合した対照チューブ1本を追加することができます（製品番号A07798）。

1. 各テストチューブに10 µLの特異的IOTest結合抗体を加え、必要に応じて10 µLのアイソタイプ対照を各対照チューブに加えます。
2. 各チューブに100 µLのテスト検体を添加します。チューブを穏やかに攪拌します。
3. 遮光した状態で、室温（18～25°C）で15～20分間インキュベートします。
4. 次に、赤血球の溶解を行います。VersaLyse(製品番号A09777)のリーフレットを参照し、できれば「同時固定」と呼ばれる手順に従います。この手順では、その場で調製した「固定/溶解」混合液1 mLを加えます。直ちに1秒間撹拌し、室温、遮光下で10分間インキュベートします。
5. 室温で5分間遠心分離（150 x g）します。
6. 吸引により上清を除去します。
7. 3 mLのPBSを用いて細胞ペレットを懸濁します。
8. ステップ5を繰り返します。
9. 吸引により上清を除去し、以下により細胞ペレットを再懸濁します。

- 調製液の保存期間が24時間未満の場合、ホルムアルデヒド0.1％を含むPBS 0.5 mLまたは1 mL。（0.1%ホルムアルデヒドを含むPBSは、12.5 µLの10倍濃度のIOTest 3固定液（製品番号A07800）を1 mLのPBSに希釈して作製できます）。
- 調製液を2時間以内に分析する場合、ホルムアルデヒドを含まないPBS 0.5 mLまたは1 mL。

注記：いかなる場合でも、調製液は2～8°Cに保ち、遮光してください。

期待値

本製品に関連する期待値はありません。

性能

性能データは、以前に抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブに採取した24時間未満経過した血液検体を対象に、上述の手順を用いて取得しなければなりません。分析は、免疫染色後2時間以内に行います。

特異性

CD34は単量体重グリコシル化I型膜貫通116 KDaタンパク質です（13）。CD34には2つの分子形態があります。385アミノ配列の完全長はタンパク質キナーゼC、セリンおよびスレオニンリン酸化のコンセンサスを含む細胞内ドメインを有しています。切断体では、細胞内ドメインのほとんどを喪失しています。細胞外形態はCD34の両形態で認められます。CD34では、ノイラミダーゼに対する異なる感受性差に基づき、3種類のエピトープが認められており、グリコプロテアーゼクラスIエピトープ（BEC Immu133.My10、BI-3C5、12.8、ICH3）はあらゆるタンパク分解酵素に反応します。クラスIIエピトープ（QBEnd10）はノイラミターゼに抵抗しますがグリコプロテアーゼに反応します。クローン581はクラスIIIエピトープを認識し、あらゆるタンパク質分解酵素に反応せず、CD34のあらゆるグリコフォームに積極的に結合します（14）。

第5回HLDAワークショップ（1993年ボストン）では、感受性差に基づいて、CD34のエピトープ3種類が承認されました。

精密性

陽性細胞を添加した全血を用いて、陽性率の値を判定しました。各検体について、2つの装置で各4回を1日に2回、2ロットのCD34-PC5モノクローナル抗体試薬を使用して測定しました。Naviosフローサイトメーターで測定（%陽性）しました。CLSIメソッドEP5-A2に基づいて分析しました。Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.（定量的測定メソッドの精密性性能の評価。）

当社の判定基準は、各集団について測定された陽性イベントの数によって異なります。

- 陽性イベント< 1,500の場合、CV< 15%
- 陽性イベント> 1,500の場合、CV< 10%

KG1a細胞株を添加した全血							
陽性イベント数（平均）= 5355							
	オペレータ間	血球計算器間	ロット内	ロット間	測定間	測定内	総計
CV（%）	0.68	0.54	2.16	0.79	0.66	1.94	2.36
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

正確性

CD34-PC5の正確度は、一連の陽性細胞を添加した全血検体についてNaviosフローサイトメーターで測定した規準としての参照試薬と、結果を比較して評価しました。テスト試薬と参照試薬との間のバイアスは、テスト結果の差に基づいて決定しました。バイアスが許容誤差範囲内にある場合、またはp値が有意差を示さない場合（> 0.05）、2つの試薬のテスト結果は同等と見なされます。

得られた結果を、下表にまとめます。

ドナー数 = 25				
陽性標的細胞	平均Δ	Δ % 細胞基準	p値	結果
KG1a細胞株を添加した全血	1.31	<3	5.01E-04	PASS

ブランク上限と検出限界

試験は、CLSI EP17-A2、Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（臨床検査室測定手順の検出能力の評価）に基づいて実施されました。検出限界（LoD）とは、一貫して検出可能な分析物の最小濃度です。取得した結果は、下表に表示されています。

Positive Target	ブランク上限（細胞/µL）	検出限界（細胞/µL）
KG1a細胞株	1	2

制限事項

1. フローサイトメトリーは、血球計数器が完全に配列されていない場合、蛍光リークが正しく相殺されていない場合、および領域が慎重に配置されていない場合、誤った結果を示す可能性があります。
2. この試薬は「洗浄なし」溶解手法用に最適化されていないため、洗浄ステップでRBC溶解法を使用することをお勧めします。
3. 取扱説明書および対応する検査室の実施基準に従って作業する限り、正確かつ再現性のある結果が得られます。
4. この試薬の結合抗体は、特異的シグナル/非特異的シグナル比が最適となるようにキャリブレーションされています。そのため、各テストでは、試薬量/検体量比を順守することが重要です。
5. 白血球増加症の場合、白血球数がおよそ5 x 10^9個/Lとなるよう、血液をPBSで希釈してください（15）。
6. 重度の腎不全やヘモグロビン異常など、特定の疾患状態では、赤血球の溶解が遅くなったり、不完全になったり、あるいは溶解できないことさえあります。この場合、染色する前に密度勾配（Ficollなど）を使用して単核細胞を分離することを推奨します（16）。
7. 蛍光色素のタンデム構造のため、PC5も575 nmで発光します。この二次放出ピークは、PC5のロットごとに異なります。したがって、マルチカラー分析では、-PC5コンジュゲートのロットを変更する際に補正マトリックスを慎重にチェックする必要があります。
8. 抗ヒトモノクローナル抗体療法で治療を受けた患者では、治療用抗体による部分的または完全な遮断により、特定の標的抗原の検出が減少または消失する場合があります。
9. CD34-PC5の結果は、患者の総合的な臨床像、例えば諸症状、病歴、他のテストデータ、その他の該当情報などを踏まえて解釈する必要があります。

附録にある例および参考文献を参照してください。

商標

ここに記載されているBeckman Coulter、ロゴマーク、ならびにベックマン・コールターの製品およびサービスマークは、ベックマン・コールターの米国およびその他の国における商標と登録商標です。

その他

欧州連合、および規制制度が欧州連合と同一の国の患者/ユーザー/第三者（体外診断医療機器規制2017/746/EU）については、本機器の使用中または使用の結果、重大な事故が発生した場合、製造元および/または認定代理店ならびに所管の行政機関に報告してください。

「安全性および性能の概要」はEUDAMEDデータベース：ec.europa.eu/tools/eudamedより入手できます。

改訂履歴

改訂番号 AD：	発売日：2020年10月

改訂	**発行日**
AW	2022年5月
ベックマン・コールターのグローバルラベリングポリシーおよびIVD-R（EU）2017/746の要件に準拠するための更新：	
セクションの追加	BSI 2797番号、対象ユーザー、臨床関連性、濃度、精度、正確度、ブランク上限および検出限界、その他、改訂履歴。
情報を追加	「制限事項」のセクションを参照してください
言い回しまたはタイプミスの更新	「手順」、「性能」、「制限」、「警告および注意」、「保管および安定性」のセクションを参照してください。
セクションの削除	臨床応用の例、試薬、検査室内再現性、直線性
セクションの更新	用途、GHSハザード分類、変質や劣化の兆候、手順、附録。

改訂	**発行日**
AX	4月 2023
セクションの更新	カザフ語を追加
セクションの更新	コントロールの調製

改訂版	AY
改訂日	5月 2024
更新された翻訳	**臨床的妥当性：**
セクションの更新	保管および安定性

改訂版	AZ
改訂日	7月 2024
セクションの更新	保管および安定性

記号凡例

記号一覧は、beckman.com/techdocsで入手できます（文書番号B60062）

	规格
特异性	CD34
克隆	581
杂交瘤	NS0 x balb/c
免疫原	Human CD34+ leukaemic cells
免疫球蛋白	IgG1
种类	小鼠
纯化	亲和色谱法
荧光染料	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
摩尔比率	PC5/Ig： 0.5-1.5
λ 激励	488 nm
辐射峰值	670 nm
缓冲液	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 和 0.1% NaN_3

IOTest

结合抗体
CD34-PC5

REF A07777 100 测试；1 mL, 10 µL / test

供体外 *诊断* 使用

预期用途

此种荧光染料结合抗体可通过流式细胞术对人体生物样本中存在的 CD34 抗原表达细胞群进行定性和非自动化鉴别（参阅下文“样本”部分）。

原理

该测试以特异性单克隆抗体能够与白细胞表达的抗原决定簇相结合这一特性为基础。

将样本与 IOTest 试剂一起培育，以便进行白细胞的特异性染色。然后通过裂解去除红细胞，再使用流式细胞术分析不受裂解过程影响的白细胞。

流式细胞仪可测定细胞的光漫射和荧光。这样可以限定直方图上定义的电子窗口内的感兴趣群体，直方图可以关联光的正交漫射（侧向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。细胞仪上可用的结合两个不同参数的其他直方图可以用于支持设门阶段，具体取决于用户所选的应用。

为了区分阳性染色事件和未染色事件，我们对划定细胞的荧光进行了分析。结果表示为阳性事件相对于设门获得的所有事件的百分比。

预期用户

本产品的预期用户为实验室专业人员。

临床意义

CD34-PC5 是一种 CD34 抗体，这些抗体用于通过流式细胞术鉴定和表征表达 CD34 抗原的细胞。单独使用此产品不能产生任何诊断结论，这也并非其预期用途。

与其他标志物结合使用时，本产品可用于以下一种或多种用途：

- 对疑似有血液系统疾病的血液学异常患者进行辅助鉴别诊断，并对已知患有血液系统疾病的患者进行监测。
- 辅助造血系统肿瘤患者的预后诊断。
- 监测移植过程或结果。

参阅以下参考文献：

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

样本

必须使用含有 EDTA 盐作为抗凝血剂的无菌试管采集静脉血。

样本应保存在室温 (18-25°C) 条件下，并注意避免摇动。在吸取测试样本之前，应通过轻轻搅动使样本均质化。

样本必须在静脉采血后的 24 小时内分析。

浓度

请参阅 www.beckman.com 上的特定批次分析证书。

警告和注意事项

1. 请勿使用已过失效日期的试剂。
2. 切勿冷冻。
3. 使用前使其达到室温 (18–25°C)。
4. 尽量减少曝光。
5. 避免试剂受到微生物污染，否则可能出现错误结果。
6. 应小心处理含有叠氮化钠 (NaN_3) 的抗体溶液。请勿内服，并避免接触皮肤、粘膜和眼睛。

   此外，在中度酸性条件下，叠氮化钠可形成具有潜在危害的叠氮酸。若需要对其进行处置，建议您在将试剂倒入排污系统前用大量清水将其稀释，以避免叠氮化钠在金属管中累积并预防爆炸。
7. 所有血样都必须被视为具有潜在传染性，并且必须小心处理（具体地讲：穿戴防护手套、防护服和护目镜）。

8. 不得通过嘴巴移液，并避免样本以任何方式接触皮肤、黏膜和眼睛。
9. 用于处理的血液试管和一次性材料应丢弃于专门用于焚化的容器中。
10. 应根据当地要求处置试剂和废物。

GHS 危险等级分类

未被归为危险品

SDS 化学品安全技术说明书发布在 beckmancoulter.com/techdocs 上

存储和稳定性

在开瓶前后，必须将此试剂保存在 2-8°C 环境下，并注意避免光照。

根据稳定性研究的开封前保质期：1095 天。

已开瓶试剂的稳定性：试剂可稳定保存 180 天。

变质的迹象

试剂物理外观的任何变化都可能表明试剂变质，此时不应使用试剂。

有关其他信息，或者如果收到受损产品，请致电贝克曼库尔特公司客服：800-742-2345（美国或加拿大），或联系您当地的贝克曼库尔特代表。

目录

叠氮化钠防腐剂可在金属下水管道中形成易爆化合物。 请参阅 NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76)（美国国家职业安全与卫生研究所公报：易爆的叠氮化物危险品 [76/8/16]）。
为避免可能产生的叠氮化合物堆积，请在丢弃未经稀释的试剂后用水冲洗排污管。对叠氮化钠的丢弃必须符合当地的相关规定。

试剂盒中未提供的必需材料：

- 采样所需的采样管和材料。
- 可吸取 10100 和 500 µL 试剂的带有一次性吸头的自动移液器。
- 塑料溶血管。
- 红细胞溶解试剂在溶解后清洗。例如：VersaLyse（REF A09777）。
- 白细胞固定剂。例如：IOTest 3 固定剂（REF A07800）。
- 同型质控品 PC5：IOTest 试剂（REF A07798）。
- 缓冲液（PBS：0.01 M 磷酸钠；0.145 M 氯化钠；pH 7.2）。
- 离心处理。
- 自动搅动器（旋涡型）。
- 流式细胞仪。

VERSALYSE 试剂的使用程序

对于分析的每种样本，除使用分析测试试管外，还可增加一个质控品试管，以在其中混合细胞与同型质控品（REF A07798）。

1. 将 10 µL 特异性 IOTest 结合抗体添加到每个分析测试试管中，并视需要将 10 µL 同型质控品添加到每个质控品试管中。
2. 添加 100 µL 测试样本到每个试管中。轻轻摇动试管。
3. 在室温 (18–25°C) 下避光孵育 15-20 分钟。
4. 然后进行红细胞裂解。请参阅 VersaLyse（REF A09777）说明书，最好按照名为“同时固定”的程序实施：加入 1 mL 临时配制的“固定-裂解”混合液。立即摇动 1 秒，并在室温条件下培育 10 分钟，注意避光。
5. 在室温下以 150 x g 离心处理 5 分钟。
6. 通过吸样去除上层清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新悬浮细胞微粒。
8. 重复第 5 步。
9. 通过吸样去除上层清液并使用以下溶液重新悬浮细胞微粒：

- 0.5 mL 或 1 mL PBS 与 0.1% 甲醛，若备品的保存时间低于 24 小时。（可通过在 1 mL PBS 中稀释 10 倍浓度的 12.5 µL IOTest 3 固定剂 [REF A07800] 获取含 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 0.5 mL 或 1 mL PBS，无甲醛，若制剂将在 2 小时内分析。

注释：任何情况下，制备试剂均需在 2-8°C 下避光保存。

预计值

没有与此产品相关的预期值。

性能

使用上文描述的程序，通过分析之前采集在无菌试管（含有 EDTA 盐作为抗凝血剂）中未达 24 小时的血液样本获得了性能数据。在免疫染色后的 2 小时内进行分析。

特异性

CD34 是一种高度糖基化的 I 型单体跨膜 116 KDa 蛋白 (13)。CD34 有两种分子形式；其 385 氨基酸序列全长形式的胞内区包含蛋白激酶 C 的共有序列、丝氨酸和磷酸化苏氨酸。其截断形式只有小部分的胞内区。两种形式的 CD34 均具有胞外区。对于 CD34，根据对神经氨酸苷酶和糖蛋白酶的敏感性不同

识别出三类表位。I 类表位 (BEC Immu133.My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) 对所有蛋白酶敏感。II 类表位 (QBEnd10) 耐神经氨酸苷酶，但对糖蛋白酶敏感。克隆号 581 识别 III 类表位，并对所有蛋白酶不敏感，且极容易与所有 CD34 糖型结合 (14)。

1993 年于波士顿举行的 5th HLDA workshop（第 5 届国际人类白细胞分化抗原会议）根据不同的敏感性批准了三种表位类型的 CD34。

精度

阳性百分比值用掺入阳性细胞的全血测定。每份样本使用 2 个批次的 CD34-PC5 单克隆抗体试剂，在 2 台仪器上运行 4 次，每天 2 次，持续 1 天。使用 Navios 流式细胞仪进行测量（阳性 %）。分析基于 CLSI method EP5-A2：Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：定量测量方法精度性能的评估）。

我们的接受限取决于针对每个群体所测得的阳性颗粒数：

- 如果阳性颗粒数 < 1,500，则 CV < 15%
- 如果阳性颗粒数 > 1,500，则 CV < 10%

掺有 KG1a 细胞系的全血							
阳性颗粒数（平均值） = 5355							
	操作人员间	细胞仪间	批次内	批次间	运行间	运行内	总数
CV (%)	0.68	0.54	2.16	0.79	0.66	1.94	2.36
结果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

准确性

评估 CD34-PC5 的准确性的方法为：将其与参考试剂分别应用于一组掺有阳性细胞的全血样本，然后用 Navios 流式细胞仪进行检测，之后比较结果。该测试与参考试剂之间的偏差根据测试结果的差异而确定。如果偏差在允许的错误范围内，或者 p 值没有显著差异 (> 0.05)，则认为这两种试剂的测试结果是等效的。

所得结果如下表所示：

献血人次 = 25				
阳性目标	平均值 Δ	Δ % 细胞标准	p 值	结果
掺有 KG1a 细胞系的全血	1.31	<3	5.01E-04	PASS

空白检测限和检测限

研究人员根据 CLSI EP17-A2 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2 临床实验室测量程序检测能力的评估）进行了一项研究。检测限 (LOD) 指可被一致检出的最低分析物浓度。所得结果如下表所示：

Positive Target	空白检测限（个细胞/µL）	检测限（个细胞/µL）
KG1a 细胞系	1	2

限制

1. 若流式细胞术未完全校准、荧光泄漏未得到正确补偿或未在该区域谨慎定位，则流式细胞术可能会产生错误结果。
2. 最好使用包含洗涤步骤的 RBC 裂解技术，因为该试剂未针对“无洗涤”裂解技术进行优化。
3. 只要所使用的程序符合技术插页说明书并遵守实验室管理规范，就可以获得准确和可重现的结果。
4. 校准该试剂的结合抗体，以提供最佳的特异性信号/非特异性信号比率。因此，在每次测试中都务必遵从此试剂体积/样本体积比率。
5. 如果白细胞过多，请在 PBS 中稀释血液，使白细胞浓度降低到约 5 x 10^9 个/L (15)。
6. 在严重肾衰竭、血红蛋白病等特定疾病状态中，红细胞裂解会变得缓慢、不完全，甚至无法实现。在这种情况下，建议在染色前通过密度梯度（例如聚蔗糖）隔离单核细胞 (16)。
7. 由于荧光染料的混合结构，PC5 也会发射 575 nm 的光。此二次辐射峰值因 PC5 的批次而异。因此，对于多色分析，在更换 -PC5 结合物的批次时，应仔细检查补偿基质。
8. 接受抗人单克隆抗体治疗的患者可能会因治疗抗体的部分或完全阻断而难以或无法检测特定的靶抗原。
9. 在判读 CD34-PC5 结果时，需参照患者的整体临床表现，包括：症状、临床病史、其他检查数据和其他适用的信息。

请参阅附录中的示例和参考文献。

商标

Beckman Coulter、标志以及文中提及的贝克曼库尔特产品和服务标记均是美国贝克曼库尔特有限公司在美国和其他国家/地区的商标或注册商标。

其他信息

对于欧盟及具有相同监管制度的国家/地区的患者/用户/第三方（Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices [有关体外诊断医疗装置的法规 2017/746/EU]）：如果在使用本装置期间或由于使用本装置而发生严重事件，请向制造商和/或其授权代表以及当地国家主管部门报告。

Summary of Safety and Performance（安全和性能摘要）提供在 EUDAMED 数据库中：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修订历史

修订版本 AD：	发布日期：2020 年 10 月

修订	**发布日期**
AW	2022 年 5 月
更新文档以符合贝克曼库尔特公司全球标签政策和 IVD-R (EU)2017/746 的要求：	

新增章节	BSI 2797 编号、预期用户、临床意义、浓度、精度、准确性、空白检测限和检测限、其他信息、修订记录。
添加了信息	参阅“限制”章节
更新了措辞或版面	参阅程序、性能、限制、警告和注意事项、储存和稳定性章节。
删除了几个章节	临床应用示例、试剂、实验室内重复性、线性度
更新后章节	预期用途、GHS 危险等级分类、变质的迹象、程序、附录。

修订	**发布日期**
AX	4 月 2023
更新后章节	添加哈萨克语
更新后章节	储存及稳定性

修订版本	AY
修订日期	5 月 2024
更新的翻译	**临床意义**：
更新后章节	修订历史

修订版本	AZ
修订日期	7 月 2024
更新后章节	修订历史

符号注解

符号词汇表发布于 beckman.com/techdocs（文档编号 B60062）

	Specifikacijos
Specifiškumas	CD34
Klonas	581
Hibridoma	NS0 x balb/c
Imunogenas	Human CD34+ leukaemic cells
Imunoglobulinas	IgG1
Rūšis	Pelė
Išgryninimas	Gimininguмo chromatografija
Fluorochromas	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molinis santykis	PC5/Ig: 0,5-1,5
λ žadinimas	488 nm
Spinduliuotės smailė	670 nm
Buferinis tirpalas	7,2 pH fosfato buferinis tirpalas plius 2 mg/ml GSA ir 0,1 % NaN_3

„IOTest“
Konjuguotas antikūnas CD34-PC5

REF A07777 100 testų; 1 ml, 10 µl / test

***In vitro* diagnostiniam naudojimui**

NAUDOJIMO PASKIRTIS

Naudojant šį su fluorochromu konjuguotą antikūną, srauto citometrijos būdu galima kokybiškai ir neautomatizuotu būdu identifikuoti ląstelių populiacijas, išreiškiančias CD34 antigeną, esantį žmogaus biologiniuose mėginiuose (žr. paskesnį skyrių „Mėginiai“).

PRINCIPAS

Šis tyrimas pagrįstas specifinių monokloninių antikūnų gebėjimu jungtis prie antigenų determinantų, kuriuos ekspresuoja leukocitai.

Specifinis leukocitų dažymo procesas atliekamas mėginį inkubuojant reagentu „IOTest“. Tada lizuojant pašalinami eritrocitai ir srauto citometrijos būdu analizuojami leukocitai, kurie per šį etapą nepaveikiami.

Srauto citometru matuojama ląstelių šviesos sklaida ir fluorescencija. Šiuo būdu galima tiriamąją populiaciją apriboti histogramoje apibrėžtu elektroniniu langu, kuris koreliuoja su šviesos sklaida stačiu kampu (šonine sklaida arba ŠS) ir šviesos sklaida smailu kampu (priekine sklaida arba FS). Kitos citometre įdiegtos histogramos, kuriose derinami du skirtingi parametrai, gali būti naudojamos kaip papildoma priemonė nustatant atrankos intervalus, žiūrint, kokį naudojimo būdą pasirinko naudotojas.

Analizuojant apribotų ląstelių fluorescenciją, teigiamai nudažyti įvykiai atskiriami nuo neigiamai nudažytų. Rezultatai išreiškiami kaip teigiamų įvykių procentinė dalis visų įvykių, gautų nustačius atrankos intervalą, atžvilgiu.

NUMATOMAS NAUDOTOJAS

Šis gaminys skirtas naudoti specialistams laboratorijose.

KLINIKINĖ SVARBA

CD34-PC5 yra CD34 antikūnas, naudojamas CD34 antigeną ekspresuojančioms ląstelėms identifikuoti ir charakterizuoti srauto citometrijos būdu. Naudojant vien šį gaminį negalima padaryti jokios diagnostinės išvados ir jis nėra tam skirtas.

Kartu su kitais žymenimis naudojamas šis gaminys gali būti naudojamas vienu ar keliais iš toliau nurodytų tikslų.

- Hematologiškai nenormalių pacientų, kuriems įtariama hematologinė liga, diferencinei diagnozei palengvinti ir pacientams, kuriems jau nustatyta hematologinė liga, stebėti.
- Kraujodaros sistemos neoplazma sergančių pacientų prognozės numatymui palengvinti.
- Transplantacijos procesui arba rezultatams stebėti.

Žr. šias nuorodas:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

MĖGINIAI

Veninio kraujo mėginius reikia imti į sterilius mėgintuvėlius su EDTA druska kaip antikoaguliantu.

Mėginius reikia laikyti kambario temperatūroje (18–25 °C) ir nekratyti. Prieš paimant tiriamąjį mėginį reikia atsargiai sujudinti mėginus, kad jie taptų vienalyčiai.

Mėginiai turi būti išanalizuoti per 24 valandas po venų punkcijos.

KONCENTRACIJA

Žr. konkrečios partijos analizės sertifikatą, pateikiamą interneto svetainėje www.beckman.com.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. Reagento nenaudoti pasibaigus galiojimo laikui.
2. Neužšaldyti.
3. Prieš naudojant reikia leisti sušilti iki kambario temperatūros (18–25 °C).
4. Laikykite kuo mažiau apšviestoje vietoje.
5. Saugokite, kad reagentai nebūtų užteršti mikrobais, nes antraip gali būti gaunami klaidingi rezultatai.

6. Su antikūnų tirpalais, kurių sudėtyje yra natrio azido (NaN_3), reikia elgtis atsargiai. Nevartokite į vidų ir saugokitės, kad nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.

   Be to, rūgščioje terpėje natrio azidas gali išskirti potencialiai pavojingą hidrazo rūgštį. Jei jį reikia pašalinti, prieš pilant į nutekėjimo sistemą, reagentą rekomenduojama praskiesti dideliu vandens kiekiu, kad būtų išvengta natrio azido kaupimosi metaliniuose vamzdžiuose ir išvengta sprogimo pavojaus.
7. Visi kraujo mėginiai turi būti laikomi potencialiai užkrečiamais ir su jais turi būti elgiamasi atsargiai (itin svarbu dėvėti apsaugines pirštines, apsiaustus ir akinius).
8. Jokiu būdu nesiurbkite burna ir saugokitės, kad mėginių nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.
9. Panaudoti kraujo mėgintuvėliai ir vienkartinės medžiagos turėtų būti išmetami į sudeginamas ad hoc talpyklas.
10. Reagentai ir atliekos turi būti šalinami pagal vietinius reikalavimus.

GHS PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Neklasifikuojama kaip pavojinga

SDS Saugos duomenų lapą galima gauti interneto svetainėje beckmancoulter.com/techdocs

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Prieš atidarant ir atidarius buteliuką reagentas turi būti laikomas 2–8 °C temperatūroje ir saugomas nuo šviesos.

Uždaryto buteliuko tinkamumo naudoti laikas pagal stabilumo tyrimą: 1095 d.

Atidaryto buteliuko stabilumas: reagentas lieka stabilus 180 d.

KOKYBĖS PABLOGĖJIMO POŽYMIAI

Bet koks reagentų fizinės išvaizdos pokytis gali reikšti pablogėjusias gaminio savybes, todėl tokio reagento naudoti negalima.

Prireikus papildomos informacijos arba gavę sugadintą gaminį skambinkite į „Beckman Coulter“ klientų aptarnavimo skyrių telefonu 800-742-2345 (JAV arba Kanadoje) arba susisiekite su vietiniu „Beckman Coulter“ atstovu.

TURINYS

Natrio azido konservantas metalo vamzdynuose gali sudaryti sprogiuosius junginius. Žr. „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (Nacionalinio darbų saugos ir sveikatos instituto biuletenį: sprogstamojo azido pavojus) (76-8-16).
Norėdami išvengti galimo azido junginių susikaupimo, išpylę į kanalizacijos sistemą neatskiesto reagento, vandeniu praplaukite nutekamuosius vamzdžius. Natrio azidas turi būti šalinamas pagal taikomų vietos reglamentų reikalavimus.

REIKALINGOS, BET SU RINKINIU NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS

- Mėginiams imti reikalingi mėginių ėmimo mėgintuvėliai ir medžiagos.
- Automatinės pipetės su vienkartiniais antgaliais, skirtos 10, 100 ir 500 µl tūrio mėginiams.
- Plastikiniai hemolizės mėgintuvėliai.
- Raudonųjų kraujo kūnelių lizavimo reagentas su plovimo etapu baigus lizuoti. Pavyzdys: „VersaLyse“ (kat. nr. A09777).
- Leukocitų fiksavimo reagentas. Pavyzdys: fiksavimo tirpalas „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800).
- Izotipų kontrolinė medžiaga PC5: „IOTest“ reagentas (kat. Nr. A07798).
- Buferinis tirpalas (fosfato buferinis tirpalas: 0,01 M natrio fosfato; 0,145 M natrio chlorido; pH 7,2).
- Nucentrifuguokite.
- Automatinis maišytuvas (sūkurinio tipo).
- Srauto citometras.

PROCEDŪRA NAUDOJANT REAGENTĄ „VERSALYSE“

Analizuojant kiekvieną mėginį, be tiriamojo mėgintuvėlio galima naudoti vieną kontrolinį mėgintuvėlį, kuriame ląstelės sumaišytos su izotipine kontroline medžiaga (kat. Nr. A07798).

1. Į kiekvieną tiriamąjį mėgintuvėlį įpilkite po 10 µl specifinio su „IOTest“ konjuguoto antikūno ir prireikus į kiekvieną kontrolinį mėgintuvėlį įpilkite po 10 µl kiekvieno izotipo kontrolinės medžiagos.
2. Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite po 100 µl tiriamojo mėginio. Mėgintuvėlius atsargiai išmaišykite sūkuriniu būdu.
3. 15–20 minučių inkubuokite kambario temperatūroje (18–25 °C), saugodami nuo šviesos.
4. Tai padarę sulizuokite eritrocitus. Žr. „VersaLyse“ (kat. Nr. A09777) informacinį lapelį; rekomenduojama laikytis procedūros, vadinamos „su vienalaikiu fiksavimu“, kurios metu įpilama 1 ml prieš pat naudojant paruošto fiksavimo ir lizavimo mišinio. Tuojau pat vieną sekundę maišykite sūkuriniu būdu ir 10 minučių inkubuokite kambario temperatūroje, saugodami nuo šviesos.
5. 5 minutes centrifuguokite veikiant 150 x g jėgai kambario temperatūroje.
6. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą.
7. Iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami 3 ml fosfato buferinį tirpalą.
8. Pakartokite 5 veiksmą.
9. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą ir iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami toliau nurodytas medžiagas.

- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo ir 0,1 % formaldehido, jeigu preparatai bus laikomi mažiau nei 24 val. (0,1 % formaldehido fosfato buferinio tirpalo galima gauti 12,5 µl 10X koncentracijos fiksavimo tirpalo „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800) atskiedus 1 ml fosfato buferinio tirpalo.)
- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo be formaldehido, jeigu preparatai bus analizuojami per 2 val.

Pastaba. Visais atvejais preparatus laikykite 2–8 °C temperatūroje ir saugodami nuo šviesos.

TIKĖTINOS VERTĖS

Šiam gaminiui aktualios numatomos vertės nėra.

VEIKIMAS

Veikimo duomenys gauti, pirmiau aprašytą procedūrą atliekant su mažiau nei 24 val. senumo mėginiais, kurie buvo anksčiau paimti į sterilius mėgintuvėlius su antikoaguliantu EDTA druska. Analizė atliekama ne vėliau kaip 2 val. po imunodažymo.

SPECIFIŠKUMAS

CD34 yra monomerinis intensyviai glikozilintas I tipo transmembraninis 116 KDa baltymas (13). Yra dvi CD34 molekulinės formos: viso ilgio forma, sudaryta iš 385 amino sekų, turi vidinį domeną, kuriame yra baltymų kinazės C, serino ir treonino fosforilinimo konsensusas. Sutrumpintoje formoje nėra didžiosios dalies vidinio domeno. Išorinė forma yra abejose CD34 formose. Atpažinti trys CD34 epitopų tipai, besiskiriantys diferenciniu jautriu neuramidazei ir glikolproteazei. I klasės epitopai (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) jautrūs visiems proteolitiniams fermentams. II klasės epitopai yra (QBEnd10) atsparūs neuramidazei, tačiau jautrūs glikoproteazei. 581 klonas pripažįstamas III klasės tipo epitopu ir yra nejautrus visiems proteolitiniams fermentams bei intensyviai jungiasi su visomis CD34 glikoformomis (14).

„5th HLDA workshop“ (5-ąją HLDA konferencijoje) (Bostonas, 1993 m.) buvo patvirtinti trys CD34 epitopų tipai, besiskiriantys diferenciniu jautrumu.

GLAUDUMAS

Procentinės teigiamosios vertės nustatytos naudojant teigiamomis ląstelėmis papildytą visą kraują. Kiekvienas mėginys buvo analizuojamas 4 kartus: 1 dieną, po du kartus, naudojant 2 prietaisus ir 2 CD34-PC5 monokloninių antikūnų reagentų partijas. Matavimai (% teigiamų) buvo atlikti srauto citometru „Navios“. Analizė atlikta pagal „CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods“ (CLSI metodą EP5-A2 „Kiekybinių matavimo metodų glaudumo veikimo vertinimas“).

Mūsų priėmimo kriterijai priklauso nuo kiekvienoje populiacijoje nustatyto teigiamų įvykių skaičiaus:

- jeigu teigiamų įvykių < 1 500, VK < 15 %
- Jeigu teigiamų įvykių > 1 500, VK < 10 %

Visas kraujas, papildytas KG1a ląstelių linija							
Teigiamų įvykių skaičius (vidurkis) = 5355							
	Skirtingų operatorių	Skirtingų citometrų	Tos pačios partijos	Skirtingų partijų	Skirtingų analizių	Tos pačios analizės	Iš viso
VK (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
REZULTATAI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TIKSLUMAS

CD34-PC5 tikslumas vertintas palyginant rezultatus su etaloniniu reagentu kaip patvirtinamąja priemone, srauto citometru „Navios“ analizuojant teigiamomis ląstelėmis papildytų viso kraujo mėginių rinkinį. Bandomojo ir etaloninio reagentų paklaida nustatyta pagal tyrimo rezultatų skirtumą. Jeigu paklaida neviršija leidžiamojo paklaidų diapazono arba p reikšmė nerodo reikšmingo skirtumo (> 0,05), abiejų reagentų tyrimo rezultatai laikomi lygiaverčiais.

Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Donorų skaičius = 25				
Teigiamas taikinys	Vidurkis Δ	Δ % ląstelių kriterijai	p reikšmė	REZULTATAI
Visas kraujas, papildytas KG1a ląstelių linija	1,31	<3	5,01E-04	PASS

RUOŠINIO RIBA IR APTIKIMO RIBA

Pagal CLSI EP17-A2 dokumentą „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Klinikinių laboratorinių matavimų procedūrų aptikimo pajėgumų vertinimas) atliktas mokslinis tyrimas. Aptikimo riba (LOD) yra mažiausioji analitės koncentracija, kurią galima nuolat aptikti. Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Positive Target	Ruošinio riba (ląst./µl)	Aptikimo riba (ląst./µl)
KG1a Ląstelių linija	1	2

RIBOJIMAI

1. Atliekant srauto citometriją klaidingi rezultatai gali būti gauti tuo atveju, jei citometras nebuvo tiksliai sureguliuotas, fluorescencijos nuotėkiai nebuvo tinkamai kompensuoti ar regionai nebuvo kruopščiai išdėstyti.
2. Pageidautina taikant RBC lizavimo metodą atlikti plovimo etapą, nes šis reagentas nėra optimizuotas lizavimo „be plovimo“ metodikoms.
3. Tikslūs ir atkuriami rezultatai bus gaunami tol, kol naudojamos procedūros atitiks techniniame lapelyje pateiktą informaciją ir bus atliekamos laikantis geros laboratorijos praktikos.
4. Šio reagento konjuguotas antikūnas sukalibruotas taip, kad būtų gaunamas geriausias specifinio ir nespecifinio signalų santykis. Dėl šios priežasties atliekant kiekvieną tyrimą svarbu tiksliai laikytis nurodyto reagento ir mėginio tūrių santykio.
5. Hiperleukocitozės atveju kraują atskieskite fosfato buferiniu tirpalu, kad gautumėte maždaug 5 x 10^9 leukocitų/l koncentraciją (15).
6. Sergant kai kuriomis ligomis, pavyzdžiui, sunkiu inkstų nepakankamumu arba hemoglobinopatijomis, eritrocitai gali būti lėtai arba nevisiškai sulizuojami arba jų visai neįmanoma lizuoti. Tokiu atveju rekomenduojama prieš dažant atskirti vienbranduoles ląsteles tankio gradiento būdu (pavyzdžiui, Ficollo) (16).
7. Dėl dvigubos fluorochromo struktūros PC5 taip pat skleidžia 575 nm bangos ilgio šviesą. Ši antrinė spinduliuotė skiriasi priklausomai nuo konkrečios PC5 partijos. Dėl šios priežasties, atliekant daugelio spalvų analizę ir pakeitus -PC5 konjugato partiją reikia kruopščiai patikrinti kompensavimo matricą.
8. Jeigu pacientams atliekama žmogaus monokloninių antikūnų terapija, specifiniai tiksliniai antigenai gali būti aptinkami prasčiau arba visai neaptinkami dėl dalinio arba visiško terapinio antikūno blokavimo.

9. CD34-PC5 rezultatai turi būti interpretuojami remiantis bendra paciento klinikine būkle, atsižvelgiant į: simptomus, klinikinę anamnezę, papildomų tyrimų duomenis ir kitą atitinkamą informaciją.

Pavyzdžiai ir nuorodos pateikti priede.

PREKIŲ ŽENKLAI

„Beckman Coulter“, stilizuotas logotipas ir kiti šiame dokumente nurodyti „Beckman Coulter“ gaminių ir prekių ženklai yra „Beckman Coulter, Inc.“ prekių ženklai arba registruotieji prekių ženklai Jungtinėse Amerikos Valstijose ir kitose šalyse.

PAPILDOMA INFORMACIJA

Pacientams / naudotojams / trečiosioms šalims Europos Sąjungoje ir šalyse, kuriose galioja identiški reguliaciniai reikalavimai (Reglamentas (ES) 2017/746 dėl in vitro diagnostikos medicinos priemonių): jeigu naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko sunkus incidentas, apie jį praneškite gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui ir savo šalies nacionalinei institucijai.

„Summary of Safety and Performance“ (Saugos ir veikimo suvestinė) pateikiama EUDAMED interneto svetainėje ec.europa.eu/tools/eudamed.

PERŽIŪRŲ ISTORIJA

PERŽIŪRA AD:	Leidimo data: 2020 m. spalis

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AW	2022 m. gegužė
Atnaujinta pagal „Beckman Coulter“ visuotinių ženklinimo taisyklių ir IVD-R (ES)2017/746 reikalavimus.	
Pridėti skyriai	BSI 2797 numeris, „Numatomas naudotojas“, „Klinikinė svarba“, „Koncentracija“, „Glaudumas“, „Tikslumas“, „Ruošinio riba ir aptikimo riba“, „Papildoma informacija“, „Peržiūrų istorija“.
Pridėta informacija	Žr. skyrių „Ribojimai“
Frazavimo arba tipografiniai atnaujinimai	Žr. skyrius „Procedūra“, „Veikimas“, „Ribojimai“, „Įspėjimai ir atsargumo priemonės“, „Laikymas ir stabilumas“.
Pašalinti skyriai	„Klinikinio naudojimo pavyzdys“, „Reagentai“, „Laboratorijos vidaus atkartojamumas“, „Tiesiškumas“
Atnaujinti skyriai	„Paskirtis“, „Visuotiniai suderintos sistemos (GHS) pavojingumo klasifikacija“, „Kokybės pablogėjimo požymiai“, „Procedūra“, priedas.

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AX	Balandis 2023
Atnaujinti skyriai	Pridėta kazachų kalba
Atnaujinti skyriai	Laikymas ir stabilumas

Peržiūrėta versija	AY
Peržiūros data	Gegužė 2024
Atnaujintas vertimas	**Klinikinė svarba:**
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Peržiūrėta versija	AZ
Peržiūros data	Liepa 2024
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Simbolių sutartiniai ženklai

Simbolių terminų žodynas pateikiamas interneto svetainėje beckman.com/techdocs (dokumento numeris B60062).

	Specifikációk
Specificitás	CD34
Klón	581
Hibridóma	NS0 x balb/c
Immunogén	Human CD34+ leukaemic cells
Immunglobulin	IgG1
Faj	Egér
Tisztítás	Affinitáskromatográfia
Fluorokróm	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Moláris arány	PC5 / Ig: 0,5-1,5
λ gerjesztés	488 nm
Kibocsátási csúcs	670 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plusz 2 mg/mL BSA és 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugált antitest
CD34-PC5

REF A07777 100 teszt; 1 mL, 10 µL / test

***In vitro* diagnosztikai használatra.**

RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

Ez a fluorokrómmal konjugált antitest lehetővé teszi a humán biológiai mintákban a(z) CD34 antigént expresszáló sejtpopulációk áramlási citometriával végzett kvalitatív és nem automatizált azonosítását (lásd a „Minták” című alábbi fejezet).

MŰKÖDÉSI ELV

A vizsgálat azon alapul, hogy a specifikus monoklonális antitestek képesek-e kötődni a leukociták által expresszált antigén-determinánsokhoz.

A leukociták specifikus festése a mintának az IOTest reagenssel való inkubálásával történik. Az eritrocitákat ezután lízissel eltávolítják, és a leukocitákat, amelyekre nincs hatással ez a művelet, analizálni lehet áramlási citometriával.

Az áramlási citométer a sejtek fényszórását és fluoreszcenciáját méri. Ez lehetővé teszi a vizsgált populáció elhatárolását egy olyan elektronikus ablakon belül, amelyet a derékszögben szórt fény (oldalszóródás vagy SS) és a hegyes szögben szórt fény (előreszóródás vagy FS) intenzitását összehasonlító hisztogramon határoztak meg. Más, a citométer által mértek közül két paramétert kombináló hisztogramok használhatók kiegészítésként a kapuzási fázisban, a felhasználó által választott alkalmazástól függően.

Az elkülönített sejtek fluoreszcenciáját a rendszer elemzi a pozitívan festődött események megkülönböztetésére a nem festődöttektől. Az eredmények kifejezése a pozitív események százalékos arányaként történik a kapuzás által regisztrált összes eseményhez képest.

CÉLFELHASZNÁLÓ

Ez a termék laboratóriumi szakemberek általi használatra készült.

KLINIKAI JELENTŐSÉG

A CD34-PC5 egy CD34 antitest, amely a(z) CD34 antigént expresszáló sejtek áramlási citometriás azonosítására és jellemzésére szolgál. Ez a termék önmagában nem képes arra, és nem is arra a célra lett kialakítva, hogy bármilyen diagnosztikai következtetést generáljon.

Más markerekkel kombinált használata esetén ez a termék az alábbiak közül egy vagy több célra használható:

- Segít azon rendellenes vérképű betegek differenciáldiagnózisában, akiknél fennáll hematológiai betegség gyanúja, valamint az ismert hematológiai betegséggel rendelkező betegek monitorozásában.
- Segít a hemopoetikus neoplasiaban szenvedő betegek prognózisának felállításában.
- A transzplantációs folyamat vagy eredmények monitorozására.

Lásd a következő hivatkozásokat:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

MINTÁK

A vénás vért steril, alvadásgátlóként EDTA sóját tartalmazó csövekbe kell gyűjteni.

A mintákat szobahőmérsékleten (18–25 °C között) kell tárolni, és nem szabad felrázni. A tesztminta vétele előtt a mintákat homogenizálni kell óvatos rázással.

A minták elemzését a vénaszúráshoz képest 24 órán belül el kell végezni.

KONCENTRÁCIÓ

Lásd: www.beckman.com, tételspecifikus analitikai bizonylat.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

1. Ne használja a reagenst a lejárati időn túl.
2. Fagyasztani tilos.
3. Használat előtt hagyja felmelegedni szobahőmérsékletre (18–25 °C).
4. Minimalizálja a fényexpozíciót.
5. Kerülje el a reagensek mikrobiális kontaminációját, ebben az esetben hamis eredményeket kaphat.

6. A nátrium-azidot (NaN_3) tartalmazó antitestoldatokat körültekintően kell kezelni. A terméket nem szabad lenyelni, és nem érintkezhet bőrrel, nyálkahártyával vagy a szemmel.

   Sőt, savas közegben a nátrium-azid potenciálisan robbanékony nitrogén-hidrogénsavat képez. Ha ártalmatlanítani kell, javasolt a reagenst nagy mennyiségű vízzel hígítani a szennyvízcsatornába öntés előtt, hogy ne halmozódhasson fel nátrium-azid a fémcsövekben, és ne keletkezzen robbanásveszély.
7. Minden vérmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és óvatosan kell kezelni (azaz védőkesztyűt, köpenyt és szemüveget viselve).
8. Soha ne pipettázzon szájjal, és a minták soha ne érintkezzenek szemmel, bőrrel vagy nyálkahártyával!
9. A vércsöveket és a kezeléshez használt, egyszer használatos anyagokat olyan ad hoc tartóedényben kell kidobni, amely égetésre szolgál.
10. A reagenseket és a hulladékot a helyi követelmények szerint kell ártalmatlanítani.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Nincs veszélyes anyagként besorolva

SDS A biztonsági adatlap megtalálható a következő weboldalon: beckmancoulter.com/techdocs

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A reagenst a fiola kibontása előtt és után is 2 és 8 °C között, fénytől védve kell tárolni.

A lezárt fiola eltarthatósági ideje a stabilitási vizsgálat alapján: 1095 nap.

A felbontott fiola stabilitása: a reagens 180 napig stabil.

A MINŐSÉGROMLÁS JELEI

A reagensek fizikai megjelenésének bármilyen megváltozása megromlásra utalhat, és a reagenst nem szabad felhasználni.

További információkért, illetve sérült termék kézhezvétele esetén hívja a Beckman Coulter ügyfélszolgálatát a 800-742-2345-es számon (az Amerikai Egyesült Államokban és Kanadában), vagy lépjen kapcsolatba a Beckman Coulter területileg illetékes képviselőjével.

A CSOMAG TARTALMA

A nátrium-azid tartósítószer robbanékony vegyületeket képezhet a fém lefolyócsövekben. Lásd az alábbi NIOSH-közleményt: Explosive Azide Hazard (Robbanékony azidokkal kapcsolatos veszélyek) (76. 8. 16.).
Az azidvegyületek esetleges felhalmozódásának elkerülése érdekében a hígítatlan reagens szennyvízlefolyóba történő kiöntése után a szennyvízvezetéket vízzel át kell öblíteni. A nátrium-azid ártalmatlanítását a vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell végezni.

SZÜKSÉGES, DE A KÉSZLETTEL NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK:

- Mintacsövek és a mintavételhez használt anyagok.
- Automata pipetták eldobható hegyekkel 10, 100 és 500 µL-hez.
- Műanyag hemolíziscsövek.
- Vörösvértesteket lizáló reagens, a lízis után mosási fázissal. Például: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leukocitafixáló reagens. Például: IOTest 3 fixálóoldat (Ref. A07800).
- Izotípus-kontroll PC5: IOTest reagens (Ref. A07798).
- Puffer (PBS: 0,01 M nátrium-foszfát; 0,145 M nátrium-klorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automata keverő (vortex típusú).
- Áramlási citométer.

ELJÁRÁS VERSALYSE REAGENS ESETÉN

Mindegyik analizált minta esetében a vizsgált mintacsövön kívül a vizsgálatot ki lehet egészíteni egy kontrollmintacsővel is, amelyben a sejtek az izotípus-kontroll jelenlétében vannak összekeverve (Ref. A07798).

1. Adjon mindegyik mintacsőhöz 10 µL specifikus IOTest konjugált antitestet, és szükség esetén mindegyik kontrollmintacsőhöz 10 µL izotípuskontrollt.
2. Adjon 100 µL tesztmintát mindegyik mintacsőhöz. Óvatosan vortexelje a mintacsöveket.
3. Inkubálja 15–20 percig szobahőmérsékleten (18–25 °C), fénytől védett helyen.
4. Ezután végezze el a vörösvértestek lízisét. Kövesse a VersaLyse (Ref. A09777) füzet utasításait és lehetőség szerint a „konkomittáns fixációval” nevű eljárást alkalmazza, amelynek során 1 mL, akkor és ott elkészített „Fix-and-Lyse” keveréket kell hozzáadni a mintához. Azonnal vortexelje egy másodpercig, majd inkubálja 10 percig szobahőmérsékleten, fénytől védve.
5. Centrifugálja 5 percig szobahőmérsékleten, 150 x g-vel.
6. Felszívás segítségével távolítsa el a felülúszót.
7. Reszuszpendálja a sejtpelletet 3 mL PBS-ben.
8. Ismételje meg az 5. lépést.
9. Felszívással távolítsa el a felülúszót, és reszuszpendálja a sejtpelletet az alábbi reagenssel:

- 0,1% formaldehidet tartalmazó 0,5 mL vagy 1 mL PBS, ha a készítményt kevesebb mint 24 óráig fogják tárolni. (0,1% formaldehidet tartalmazó PBS készítéséhez hígítson 12,5 µL IOTest 3 fixálóoldatot (Ref. A07800) a 10X koncentrációra 1 mL PBS-ben.)
- 0,5 mL vagy 1 mL PBS formaldehid nélkül, ha a preparátum elemzése 2 órán belül fog történni.

Megjegyzés: A készítményeket fénytől védve, 2 és 8 °C között kell tárolni.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

Ennél a terméknél nincsenek releváns várt értékek.

TELJESÍTMÉNY

A teljesítményadatokat a fent leírt eljárás segítségével lehet megkapni az alvadásgátlóként EDTA-sót tartalmazó steril csövekbe levett vérmintákból a vérvételt követő kevesebb mint 24 órán belül. Az analízist az immunfestést követő 2 órán belül kell elvégezni.

SPECIFICITÁS

A CD34 egy 116 KDa-os, erősen glikozilált, I. típusú monomer transzmembrán fehérje (13). A CD34-nek két molekuláris formája van: a 385 aminosavból álló teljes hosszúságú formának van egy intracelluláris doménje, amely tartalmazza a proteinkináz C-vel megegyező szekvenciát, a szerin- és a treoninfoszforizációs helyeket. A csonkolt formából hiányzik az intracelluláris domén nagy része. Az extracelluláris domén a CD34 mindkét formájában jelen van. A CD34 esetében háromféle típusú epitópot ismertek fel a neuramidáz és a glikoproteáz iránti különböző érzékenység alapján. Az I. osztályú epitópok (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) minden proteolitikus enzimre érzékenyek. A II. osztályú epitópok (QBEnd10) rezisztensek a neuraminidázra, de érzékenyek a glikoproteázra. Az 581. klón egy III. osztályú epitópot ismer fel, és nem érzékeny semelyik proteolitikus enzimre, és erőteljesen kötődik a CD34 összes glikoformájához (14).

Az 5. HLDA Workshop (kutatási műhely) alkalmával (1993, Boston, Egyesült Államok) jóváhagyták a CD34 három epitóptípusát a különböző érzékenységek alapján.

PRECIZITÁS

A százalékos pozitív értékeket pozitív sejtekkel kiegészített teljes vér felhasználásával határozták meg. Mindegyik mintát 4-szer futtatták, naponta kétszer 1 napig, 2 berendezésen, a CD34-PC5 monoklonális antitest reagensek 2 gyártási tételének felhasználásával. A méréseket (pozitív %) Navios áramlási citométerrel végezték. Az analízist a CLSI által közzétett EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (A kvantitatív mérési módszerek precizitási teljesítményének értékelése) módszer alapján végezték.

Az elfogadhatósági kritériumaink az egyes populációknál mért pozitív események számától függ:

- Ha a pozitív esemény < 1500, CV < 15%
- Ha a pozitív esemény > 1500, CV < 10%

Teljes vér KG1a sejtvonallal kiegészítve							
Pozitív események száma (átlag) = 5355							
	Felhasználók közötti	Citométerek közötti	Egy gyártási tételen belüli	Eltérő gyártási tételek közötti	Futtatások közötti	Egy futtatáson belüli	Összes
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
EREDMÉNYEK	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PONTOSSÁG

A CD34-PC5 pontosságának értékeléséhez összevetették egy referencia reagens és a pozitív sejtekkel preparált, Navios áramlási citométeren futtatott teljesvér-minták eredményeit. A teszt- és a referenciareagens közötti torzítást a teszteredmények közötti különbségek alapján határozták meg. Ha a torzítás a megengedhető hibatartományon belül maradt, vagy ha a p-érték nem jelzett szignifikáns különbséget (> 0,05), akkor a két reagenssel kapott teszteredményeket egyenértékűnek tekintették.

Az eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Donorok száma = 25				
Pozitív cél	Átlag Δ	Δ % sejt kritériumok	p-érték	EREDMÉNYEK
Teljes vér KG1a sejtvonallal kiegészítve	1,31	<3	5,01E-04	PASS

VAK HATÁRÉRTÉK ÉS KIMUTATHATÓSÁGI HATÁRÉRTÉK

Vizsgálatot végeztek a CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (A klinikai laboratóriumi mérési eljárások kimutatási képességének értékelése) útmutatónak megfelelően. Kimutathatósági határérték (LOD) – a vizsgált anyag következetesen kimutatható legalacsonyabb koncentrációja. A kapott eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Positive Target	Vak határérték (sejt/µL)	Kimutathatósági határérték (sejt/µL)
KG1a Sejtvonal	1	2

KORLÁTOZÁSOK

1. Az áramlási citometria hamis eredményeket adhat, ha a citométert nem igazítják tökéletesen, ha nem kompenzálják megfelelően a fluoreszcenciaszivárgást és ha a régiókat nem pozicionálják elég gondosan.
2. Érdemes egy mosási lépést is tartalmazó vörösvértest lizáló módszert alkalmazni, mivel ezt a reagenst nem optimalizálták „mosás nélküli” lizáló módszerekhez.
3. Pontos és megismételhető eredmények születnek, amennyiben az eljárásokat a műszaki tájékoztató szerint és a helyes laboratóriumi gyakorlattal összhangban végzik el.
4. A reagens konjugált antitestjét úgy kalibrálták, hogy a legjobb specifikus jel/nem specifikus jel arányt produkálja. Ezért fontos, hogy minden tesztnél betartsa a reagenstérfogat/mintatérfogat arányt.
5. Emelkedett leukocitaszám esetén hígítsa a vért annyi PBS hozzáadásával, hogy a fehérvérsejtek koncentrációja körülbelül 5 x 10^9 leukocita/L legyen (15).

6. Bizonyos betegségek, például súlyos veseelégtelenség vagy hemoglobinopátiák esetében előfordulhat, hogy a vörösvértestek lízise lassú, részleges, vagy akár lehetetlen. Ilyenkor javasolt a festés előtt a mononukleáris sejtek elkülönítése egy sűrűséggradiens alapján működő eljárással (ilyen például a Ficoll) (16).
7. A fluorokróm kettős (tandem) szerkezete miatt a PC5 575 nm-en is bocsát ki fényt. Ez a másodlagos emissziós csúcs különböző a(z) PC5 egyes gyártási tételei esetében. Ezért a -PC5 konjugátum új tételének használata esetén a többszínű analízishez gondosan ellenőrizni kell a kompenzációs mátrixot.
8. A humán antigén elleni monoklonális antitest terápiában részesülő betegek esetében a specifikus célantigén kimutatásának mértéke csökkenhet vagy sikertelen lehet az alkalmazott terápiás antitest által okozott részleges vagy teljes gátlás miatt.
9. Az CD34-PC5 eredményeket a beteg teljes klinikai képének fényében kell értelmezni, figyelembe véve a tüneteket, a kórtörténetet, más tesztek eredményeit és egyéb releváns adatokat.

A példákért és az irodalomjegyzékért lásd a Függeléket.

VÉDJEGYEK

A Beckman Coulter, a stilizált logó, valamint az itt említett Beckman Coulter termék- és szolgáltatásjegyek a Beckman Coulter, Inc. védjegyei vagy bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és más országokban.

TOVÁBBI INFORMÁCIÓK

Az Európai Unióban, illetve az EU-val azonos szabályozási rendszerrel (lásd: az EU 2017/746 rendelete az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökről) rendelkező országokban élő beteg/felhasználó/harmadik fél esetében: ha a jelen eszköz használata során vagy használata eredményeként súlyos váratlan esemény történik, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy hivatalos területi képviselőjének, valamint az illetékes nemzeti hatóságnak.

A Summary of Safety and Performance (A biztonság és a teljesítmény összefoglalása) című dokumentum elérhető az EUDAMED adatbázisban: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ÁTDOLGOZÁSOK

AD ÁTDOLGOZÁS:	Kiadás dátuma: 2020. október

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AW	2022. május
A Beckman Coulter globális címkézési szabályzatának megfelelő, valamint az IVD-R (EU) 2017/746 követelmények szerinti frissítések:	
Hozzáadott szakaszok	BSI 2797 szám, Célfelhasználó, Klinikai jelentőség, Koncentráció, Precizitás, Pontosság, Vak határérték és kimutathatósági határérték, További információk, Átdolgozások.
Új információk	Lásd a Korlátozások című részeket
Megfogalmazási vagy tipográfiai frissítések	Lásd az Eljárás, Teljesítmény, Korlátozások, Figyelmeztetések és óvintézkedések, Tárolás és stabilitás című részeket.
Eltávolított szakaszok	Példa klinikai alkalmazásra, Reagensek, Laboratóriumon belüli reprodukálhatóság, Linearitás
Frissített szakaszok	Rendeltetésszerű használat, GHS szerinti veszélyességi besorolás, A minőségromlás jelei, Eljárás, Függelék.

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AX	Április 2023
Frissített szakaszok	Kazak nyelv hozzáadása
Frissített szakaszok	Tárolás és stabilitás

Átdolgozott verzió	AY
Átdolgozás dátuma	Május 2024
Frissített fordítások	**Klinikai jelentőség:**
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Átdolgozott verzió	AZ
Átdolgozás dátuma	július 2024
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Szimbólumok listája

A szimbólumok jegyzéke elérhető a következő weboldalon: beckman.com/techdocs (dokumentumszám: B60062)

	Specyfikacje
Swoistość	CD34
Klon	581
Hybrydoma	NS0 x balb/c
Immunogen	Human CD34+ leukaemic cells
Immunoglobulina	IgG1
Gatunek	Mysz
Oczyszczanie	Chromatografia powinowactwa
Fluorochrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Stosunek molowy	PC5 / Ig: 0,5-1,5
Wzbudzenie λ	488 nm
Pik emisji	670 nm
Bufor	PBS o pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Przeciwciało skoniugowane CD34-PC5

REF A07777 100 testów; 1 mL, 10 µL / test

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

PRZEZNACZENIE

To przeciwciało skoniugowane z fluorochromem umożliwia jakościową i niezautomatyzowaną identyfikację populacji komórek wykazujących ekspresję antygenu CD34 obecnego w ludzkich próbkach biologicznych metodą cytometrii przepływowej (zobacz część „Próbki" poniżej).

ZASADA DZIAŁANIA

Ten test jest oparty na zdolności swoistych przeciwciał monoklonalnych do wiązania się z determinantami antygenowymi ekspresjonowanymi przez lekukocyty.

Barwienie swoiste leukocytów jest wykonywane poprzez inkubację próbki z odczynnikiem IOTest. Krwinki czerwone są następnie usuwane poprzez lizę, a leukocyty, na które ta liza nie wpływa, są analizowane metodą cytometrii przepływowej.

Cytometr przepływowy mierzy rozpraszanie światła i fluorescencję komórek. Umożliwia to odgraniczenie populacji zainteresowania w elektronicznym oknie zdefiniowanym na histogramie, który koreluje ortogonalne rozpraszanie światła (rozpraszanie boczne — Side Scatter, w skrócie SS) i rozpraszanie światła pod wąskim kątem (rozpraszanie do przodu, Forward Scatter, w skrócie FS). Na etapie bramkowania, w zależności od zastosowania wybranego przez użytkownika, można używać innych histogramów łączących dwa z różnych parametrów dostępnych w cytometrze.

Fluorescencja odgraniczonych komórek jest analizowana w celu odróżnienia zdarzeń barwionych dodatnio od zdarzeń nieulegających barwieniu. Wyniki są wyrażane jako odsetek zdarzeń dodatnich względem wszystkich zdarzeń zarejestrowanych poprzez bramkowanie.

UŻYTKOWNIK DOCELOWY

Produkt jest przeznaczony do profesjonalnego użytku w laboratoriach.

ZNACZENIE KLINICZNE

CD34-PC5 to przeciwciało CD34 służące do identyfikowania i charakteryzowania komórek wykazujących ekspresję antygenu CD34 za pomocą cytometrii przepływowej. Ten produkt nie może samodzielnie generować i nie jest przeznaczony do generowania jakichkolwiek wniosków diagnostycznych.

W połączeniu z innymi markerami produkt ten może służyć do jednego lub kilku z następujących zastosowań:

- Do wspomagania diagnostyki różnicowej pacjentów z nieprawidłowymi wynikami badań hematologicznych, u których podejrzewa się zaburzenia hematologiczne, i do monitorowania pacjentów, u których rozpoznano zaburzenia hematologiczne.
- Jako pomoc w ustaleniu rokowania u pacjentów z nowotworem układu krwiotwórczego.
- Do monitorowania procesu lub wyników przeszczepiania.

Zobacz poniższe piśmiennictwo:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

PRÓBKI

Krew żylną należy pobierać do sterylnych probówek zawierających antykoagulant w postaci soli EDTA.

Próbki należy przechowywać w temperaturze pokojowej (18–25°C), bez wytrząsania. Przed pobraniem próbki do testu należy uzyskać jednorodną mieszaninę poprzez delikatne mieszanie.

Próbki muszą zostać zbadane w ciągu 24 godzin od pobrania krwi żylnej przez nakłucie.

STĘŻENIE

Zobacz świadectwo analizy właściwe dla serii pod adresem www.beckman.com.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Nie używać odczynników po upływie daty ważności.
2. Nie zamrażać.
3. Przed użyciem odczekać, aż osiągnie temperaturę pokojową (18–25°C).
4. Maksymalnie ograniczyć narażenie na działanie światła.
5. Nie dopuścić do skażenia mikrobiologicznego odczynników, gdyż może to spowodować uzyskanie fałszywych wyników.

6. Z roztworami przeciwciał zawierającymi azydek sodu (NaN_3) należy postępować ostrożnie. Nie spożywać i nie dopuszczać do kontaktu ze skórą, błoną śluzową oraz oczami.

   Ponadto w środowisku kwaśnym azydek sodu może tworzyć potencjalnie niebezpieczny kwas azotowodorowy. W przypadku konieczności usunięcia zalecane jest rozcieńczenie odczynnika w dużej objętości wody przed wlaniem go do kanalizacji, aby uniknąć gromadzenia się azydku sodu w metalowych rurach i uniknąć ryzyka wybuchu.
7. Wszystkie próbki krwi należy uważać za potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi ostrożnie (w szczególności nosić ochronne rękawice, fartuchy i okulary).
8. Nigdy nie wolno pipetować ustami. Nie dopuszczać do kontaktu próbek ze skórą, błonami śluzowymi i oczami.
9. Probówki przeznaczone na krew i materiały jednorazowego użytku używane podczas procedury należy usuwać do pojemników ad hoc przeznaczonych do spalenia.
10. Odczynniki i odpady należy usuwać zgodnie z wymogami lokalnymi.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Produkt nie został sklasyfikowany jako niebezpieczny

SDS Karta charakterystyki jest dostępna pod adresem beckmancoulter.com/techdocs

MAGAZYNOWANIE I STABILNOŚĆ

Ten odczynnik musi być przechowywany w temperaturze 2–8°C z zapewnieniem ochrony przed światłem, zarówno przed otwarciem fiolki jak i po jej otwarciu.

W oparciu o wyniki badania stabilności dopuszczalny okres przechowywania w zamkniętej fiolce ustalono na: 1095 dni.

Stabilność otwartej fiolki: odczynnik zachowuje stabilność przez 180 dni.

OZNAKA POGORSZENIA WŁAŚCIWOŚCI

Wszelkie zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników mogą wskazywać na pogorszenie właściwości — odczynników takich nie należy używać.

W celu otrzymania dodatkowych informacji lub w przypadku otrzymania uszkodzonego produktu należy skontaktować się z działem obsługi klienta firmy Beckman Coulter pod numerem telefonu 800-742-2345 (USA lub Kanada) lub z miejscowym przedstawicielem firmy Beckman Coulter.

ZAWARTOŚĆ

Środek konserwujący, azydek sodu, może tworzyć związki wybuchowe w metalowych rurach kanalizacyjnych. Patrz NIOSH Bulletin (Biuletyn instytutu NIOSH): Explosive Azide Hazard (Niebezpieczeństwo wybuchu azydku) (16.8.76).
Po usunięciu nierozcieńczonego odczynnika należy przepłukać rury ściekowe wodą, aby uniknąć gromadzenia się azydków. Azydek sodu musi być usuwany zgodnie z odpowiednimi przepisami lokalnymi.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE Z ZESTAWEM:

- Probówki do pobierania próbek i materiały wymagane do pobierania próbek.
- Pipety automatyczne z jednorazowymi końcówkami na 10, 100 i 500 µL.
- Probówki z tworzywa sztucznego przeznaczone do hemolizy.
- Odczynnik do lizy erytrocytów, z etapem przemywania po etapie lizy. Przykład: VersaLyse (nr ref. A09777).
- Odczynnik do utrwalania limfocytów. Przykład: Roztwór utrwalający IOTest 3 (nr ref. A07800).
- Kontrola izotypowa PC5: Odczynnik IOTest (nr ref. A07798).
- Bufor (PBS: 0,01 M fosforan sodu; 0,145 M chlorek sodu; pH 7,2).
- Wirówka.
- Mieszadło automatyczne (typu worteks).
- Cytometr przepływowy.

PROCEDURA Z ODCZYNNIKIEM VERSALYSE

Do każdej badanej próbki, dodatkowo oprócz probówki testowej, można dodać jedną probówkę kontrolną, w której komórki są mieszane w obecności kontroli izotypowej (nr ref. A07798).

1. Dodać po 10 µL swoistego przeciwciała skoniugowanego IOTest do każdej probówki testowej i, w razie potrzeby, po 10 µL kontroli izotypowej do każdej probówki kontrolnej.
2. Do każdej probówki dodać 100 µL próbki testowej. Łagodnie worteksować probówki.
3. Inkubować przez 15–20 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C), chroniąc przed światłem.
4. Następnie przeprowadzić lizę krwinek czerwonych. Zapoznać się z ulotką VersaLyse (nr ref. A09777). Preferowane jest postępowanie zgodnie z procedurą „z towarzyszącym utrwalaniem”, która polega na dodaniu 1 mL przygotowanej wcześniej mieszaniny do utrwalania i lizy (Fix-and-Lyse). Bezzwłocznie worteksować przez jedną sekundę i inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej, chroniąc przed światłem.
5. Wirować przez 5 minut przy 150 x g w temperaturze pokojowej.
6. Usunąć supernatant poprzez zasysanie.
7. Zawiesić osad komórkowy w 3 mL PBS.
8. Powtórzyć etap 5.
9. Usunąć supernatant poprzez zasysanie i ponownie zawiesić osad komórkowy w:

- 0,5 mL lub 1 mL PBS oraz 0,1% formaldehydu, jeśli preparaty mają być przechowywane przez mniej niż 24 godz. (0,1% roztwór formaldehydu w PBS można uzyskać, rozcieńczając 12,5 µL roztworu utrwalającego IOTest 3 (nr ref. A07800) stężonego 10X w 1 mL PBS).

- 0,5 mL lub 1 mL PBS bez formaldehydu, jeśli preparaty zostaną poddane analizie w ciągu 2 godz.

Uwaga: Niezależnie od sytuacji preparaty należy przechowywać w temperaturze 2–8°C, chroniąc je przed światłem.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

Nie ma wartości oczekiwanej istotnej dla tego produktu.

WYDAJNOŚĆ

Dane dotyczące wydajności uzyskano z wykorzystaniem procedury opisanej powyżej na próbkach krwi mających mniej niż 24 godziny, uprzednio pobranych do sterylnych probówek z solą EDTA jako antykoagulantem. Badanie przeprowadzono w ciągu 2 godzin po barwieniu immunologicznym.

SWOISTOŚĆ

CD34 to monomeryczne, silnie glikozylowane białko transmembranowe typu I o masie 116 KDa (13). Istnieją dwie formy molekularne CD34, pełnej długości forma 385 aminokwasowa ma domenę wewnątrzkomórkową, która zawiera konsensusową kinazę białkową C, serynę i fosforylowaną treoninę. Forma skrócona nie ma domeny wewnątrzkomórkowej. Forma zewnątrzkomórkowa występuje w obu formach CD34. W przypadku CD34 rozpoznano trzy rodzaje epitopów na podstawie różnej wrażliwości na neuramidazę i epitopy glikoproteazy klasy I (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) są wrażliwe na wszystkie enzymy proteolityczne. Epitopy klasy II są (QBEnd10) oporne na neuraminidazę, ale wrażliwe na glikoproteazę. Klon 581 rozpoznaje epitop klasy III i jest niewrażliwy na wszystkie enzymy proteolityczne i chętnie wiąże się ze wszystkimi glikoformami CD34 (14).

Na 5. warsztatach HLDA (Boston 1993) zatwierdzono trzy rodzaje epitopów CD34 na podstawie czułości różnicowej.

PRECYZJA

Odsetek wartości dodatnich określono przy użyciu krwi pełnej z dodanymi komórkami dodatnimi. Każdą próbkę oznaczano 4 razy, dwa razy na dobę przez 1 dzień na 2 analizatorach przy użyciu 2 serii odczynnika przeciwciała monoklonalnego CD34-PC5. Pomiary (% dodatnich) przeprowadzono na cytometrze przepływowym Navios. Badanie przeprowadzono na podstawie metody opisanej w wytycznych CLSI w dokumencie EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Ocena wydajności precyzji metody pomiarów ilościowych).

Nasze kryteria akceptacji są uzależnione od liczby zdarzeń dodatnich zmierzonych w każdej populacji:

- Jeśli zdarzenie dodatnie < 1500, WZ < 15%
- Jeśli zdarzenie dodatnie > 1500, WZ < 10%

Krew pełna z dodaną linią komórkową KG1a							
Liczba zdarzeń dodatnich (średnia) = 5355							
	Między operatorami	Między cytometrami	W ramach serii	Między seriami	Między oznaczeniami	W ramach analizy	Łącznie
WZ (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
WYNIKI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOKŁADNOŚĆ

Dokładność odczynnika CD34-PC5 oceniono porównując wyniki z odczynnikiem referencyjnym jako wyrobem predyktatowym na zestawie próbek krwi pełnej z dodanymi komórkami dodatnimi oznaczanych na cytometrze przepływowym Navios. Odchylenie między odczynnikiem testowym i referencyjnym określono na podstawie różnicy między wynikami testu. Jeśli odchylenie mieści się w dopuszczalnym zakresie błędu lub wartość p wskazuje na brak istotnej różnicy (> 0,05), wyniki testu dla dwóch odczynników są uznawane za równoważne.

W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Liczba dawców = 25				
Dodatnie docelowe komórki	Średnia Δ	Kryteria Δ % komórki	Wartość p	WYNIKI
Krew pełna z dodaną linią komórkową KG1a	1,31	<3	5,01E-04	PASS

GRANICA PRÓBY ŚLEPEJ I GRANICA WYKRYWALNOŚCI

Przeprowadzono badanie zgodnie z dokumentem CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zdolności wykrywania dla procedur pomiarowych w laboratoriach medycznych). Granica wykrywalności (LOD) to najniższe stężenie analitu, które może być powtarzalnie wykrywane. W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Positive Target	Granica próby ślepej (l. komórek/µL)	Granica wykrywalności (l. komórek/µL)
Linia komórkowa KG1a	1	2

ORGANICZENIA

1. Wyniki cytometrii przepływowej mogą być zafałszowane, jeśli osiowanie cytometru nie było dokładne, przepuszczona fluorescencja nie została prawidłowo skompensowana, a regiony nie zostały starannie upozycjonowane.
2. Preferowane jest stosowanie techniki lizy RBC z etapem przemywania, ponieważ odczynnik ten nie został zoptymalizowany dla technik lizy „bez przemywania”.
3. Uzyskane wyniki będą dokładne i odtwarzalne pod warunkiem, że stosowane będą procedury zgodne z informacjami zawartymi w ulotce z danymi technicznymi oraz z dobrymi praktykami laboratoryjnymi.
4. Skoniugowane przeciwciało zawarte w tym odczynniku zostało skalibrowane tak, aby zapewniać najlepszy stosunek sygnału swoistego do nieswoistego. Dlatego ważne jest przestrzeganie stosunku objętości odczynnika do objętości próbki w każdym teście.
5. W przypadku hiperleukocytozy należy rozcieńczyć krew w PBS, aby uzyskać wartość w przybliżeniu 5 x 10^9 leukocytów/L (15).

6. W niektórych stanach chorobowych, takich jak ciężka niewydolność nerek lub hemoglobinopatie, liza krwinek czerwonych może być powolna, niepełna lub nawet niemożliwa. W takich przypadkach przed barwieniem zalecane jest wyizolowanie komórek jednojądrzastych na gradiencie gęstości (na przykład Ficoll) (16).
7. Z powodu tandemowej struktury fluorochromu odczynnik PC5 emituje również światło o długości fali 575 nm. Pik tej emisji wtórnej różni się między seriami odczynnika PC5. Dlatego podczas badania wielobarwnego należy uważnie sprawdzić matrycę kompensacji przy zmianie serii koniugatu PC5.
8. U pacjentów poddawanych terapii anty-ludzkimi przeciwciałami monoklonalnymi, wykrywanie swoistych antygenów docelowych może być osłabione lub niemożliwe z powodu częściowego lub całkowitego zablokowania przez przeciwciało terapeutyczne.
9. Wyniki oznaczenia CD34-PC5 należy interpretować w świetle ogólnego obrazu klinicznego pacjenta, w tym objawów, historii klinicznej, danych z dodatkowych testów oraz innych właściwych informacji.

Przykłady i piśmiennictwo można znaleźć w załączniku.

ZNAKI TOWAROWE

Beckman Coulter, stylizowane logo oraz wymienione w tym dokumencie znaki produktów i usług firmy Beckman Coulter są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Beckman Coulter, Inc. w Stanach Zjednoczonych i innych krajach.

DODATKOWE INFORMACJE

Dotyczy pacjentów/użytkowników/stron trzecich w Unii Europejskiej i w krajach o identycznym systemie regulacyjnym (rozporządzenie 2017/746/UE w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro) — jeśli podczas lub w wyniku korzystania z tego wyrobu wystąpi poważny incydent, należy zgłosić go producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz odpowiedniemu organowi krajowemu.

Dokument The Summary of Safety and Performance (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania) jest dostępne w bazie danych EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIA ZMIAN

WERSJA AD:	Data wydania: październik 2020 r.

WERSJA	**Data wydania**
AW	Maj 2022 r.
Aktualizacje w celu zapewnienia zgodności z globalnymi zasadami oznakowania firmy Beckman Coulter i według wymogów rozporządzenia IVD-R (UE)2017/746:	
Dodano części	Numer BSI 2797, Użytkownik docelowy, Znaczenie kliniczne, Stężenie, Precyzja, Dokładność, Granica próby ślepej i granica wykrywalności, Informacje dodatkowe, Historia zmian.
Dodano informacje	Zobacz części Ograniczenia
Aktualizacje wyrażeń lub typograficzne	Zobacz części Procedura, Wydajność, Ograniczenia, Ostrzeżenia i środki ostrożności, Magazynowanie i stabilność.
Usunięte części	Przykłady zastosowań klinicznych, Odczynniki, Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna, Liniowość
Zaktualizowane części	Przeznaczenie, Klasyfikacja zagrożeń wg GHS, Dowód pogorszenia jakości, Procedura, Załącznik.

WERSJA	**Data wydania**
AX	Kwiecień 2023
Zaktualizowane części	Dodano język kazachski
Zaktualizowane części	Przechowywanie i stabilność

Wersja zmieniona	AY
Data zmiany	Maj 2024
Zaktualizowano tłumaczenia	**Znaczenie kliniczne:**
Zaktualizowane części	Historia zmian

Wersja zmieniona	AZ
Data zmiany	Lipiec 2024
Zaktualizowane części	Historia zmian

Legenda symboli

Słowniczek symboli jest dostępny pod adresem beckman.com/techdocs (numer dokumentu B60062)

	Specifikace
Specificita	CD34
Klon	581
Hybridom	NS0 x balb/c
Imunogen	Human CD34+ leukaemic cells
Imunoglobulin	IgG1
Druhy	Myš
Purifikace	Afinitní chromatografie
Fluorochrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molární poměr	PC5/Ig: 0,5-1,5
Excitace λ	488 nm
Emisní vrchol	670 nm
Pufr	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugovaná protilátka CD34-PC5

REF A07777 100 testů; 1 ml, 10 µl / test

Pouze pro diagnostiku *in vitro*

URČENÉ POUŽITÍ

Tato protilátka konjugovaná s fluorochromem umožňuje kvalitativní a neautomatizovanou identifikaci buněčných populací exprimujících antigen CD34 v lidských biologických vzorcích (viz část „Vzorky“ níže) pomocí průtokové cytometrie.

PRINCIP

Tento test je založen na schopnosti monoklonálních protilátek specificky se vázat na antigenní determinanty exprimované na leukocytech.

Specifické značení leukocytů se provádí inkubováním vzorku s reagencií IOTest. Červené krvinky jsou poté odstraněny provedením lýzy a bílé krvinky, jež tímto procesem nejsou ovlivněny, jsou analyzovány na průtokovém cytometru.

Průtokový cytometr měří difúzi světla a fluorescenci buněk. Umožňuje oddělit zkoumanou populaci v rámci elektronického okna definovaného na histogramu, který je v korelaci s ortogonální difúzí světla (kolmý rozptyl) a s difúzí světla v úzkém úhlu (přímý rozptyl). Jako podporu ve fázi gatování lze, v závislosti na aplikaci zvolené uživatelem, použít další histogramy s kombinací dvou různých parametrů, které jsou v cytometru k dispozici.

Fluorescence oddělených buněk je analyzována s cílem odlišit pozitivně obarvené události od neobarvených. Výsledky jsou vyjádřeny jako procentní podíl pozitivních událostí ze všech událostí zjištěných gatováním.

ZAMÝŠLENÝ UŽIVATEL

Tento produkt je určen pro profesionální laboratorní použití.

KLINICKÁ VÝZNAMNOST

CD34-PC5 je protilátka CD34 používaná k identifikaci a charakterizaci buněk exprimujících antigen CD34 pomocí průtokové cytometrie. Tento produkt sám o sobě nevytváří a nemá vytvářet žádný diagnostický závěr.

Při použití v kombinaci s dalšími markery lze tento produkt použít k jedné nebo více z následujících funkcí:

- Jako pomůcka pro diferenciální diagnostiku pacientů s hematologickými abnormalitami, u kterých je podezření na hematologickou poruchu, a k monitorování pacientů se známou hematologickou poruchou.
- Jako pomůcka pro stanovení prognózy u pacientů s hematopoetickou neoplazií.
- K monitorování procesu nebo výsledků transplantace.

Viz následující odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

VZORKY

Vzorky žilní krve musejí být odebrány do sterilních zkumavek obsahujících sůl EDTA jako antikoagulační činidlo.

Vzorky by měly být uchovávány při laboratorní teplotě (18–25 °C) a neměly by se protřepávat. Vzorek by měl být před odebráním vzorku k testování homogenizován mírným promícháním.

Vzorky je nutné analyzovat do 24 hodin od venepunkce.

KONCENTRACE

Viz certifikát o analýze specifický pro šarži na www.beckman.com.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagencii nepoužívejte po datu exspirace.
2. Nezmrazujte.
3. Před použitím nechte vytemperovat na laboratorní teplotu (18–25 °C).
4. Minimalizujte expozici světlu.
5. Zabraňte mikrobiologické kontaminaci reagencií, jinak mohou být výsledky chybné.

6. S roztoky protilátek obsahujícími azid sodný (NaN_3) je třeba manipulovat opatrně. Neužívejte vnitřně a zabraňte veškerému kontaktu s pokožkou, sliznicemi a očima.

   V kyselém prostředí může azid sodný navíc vytvářet potenciálně nebezpečnou kyselinu azidovodíkovou. Při likvidaci se doporučuje před vylitím do odpadu reagencii zředit velkým objemem vody, aby nedocházelo k hromadění nebezpečného azidu sodného v kovovém potrubí a předešlo se tak riziku exploze.
7. Všechny vzorky krve je nutno považovat za potenciálně infekční a je nutné manipulovat s nimi opatrně (zvláště: používat ochranné rukavice, pláště a brýle).
8. Nikdy nepipetujte ústy a zabraňte tomu, aby se vzorky dostaly do kontaktu s kůží, sliznicí ani očima.
9. Zkumavky s krví a jednorázový materiál určený pro manipulaci je třeba likvidovat v kontejnerech ad hoc určených ke spálení.
10. Reagencie a odpad by měly být odstraňovány v souladu s místními požadavky.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Není klasifikované jako nebezpečné

SDS Bezpečnostní list je k dispozici na internetové adrese beckmancoulter.com/techdocs.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Před otevřením lahvičky a po jejím otevření musí být tato reagencie uchovávána při teplotě mezi 2 a 8 °C a chráněna před světlem.

Doba použitelnosti uzavřené lahvičky podle studie stability: 1095 dnů/dní.

Stabilita již jednou otevřené lahvičky: reagencie je stabilní po dobu 180 dní.

ZNÁMKY ZHORŠENÍ KVALITY

Jakákoli změna fyzického vzhledu reagencií může znamenat jejich znehodnocení a taková reagencie by se neměla používat.

Pokud potřebujete další informace nebo jste obdrželi poškozený produkt, zavolejte na telefonní číslo zákaznické služby společnosti Beckman Coulter 800-742-2345 (USA nebo Kanada) nebo se obraťte na místního zástupce společnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervační látka azid sodný může v kovovém odpadním potrubí vytvářet výbušné sloučeniny. Viz buletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečí výbušných azidů) (16.8.76).
Po vypuštění neředěné reagencie propláchněte odpadní potrubí vodou, aby se v něm nehromadily azidové sloučeniny. Likvidace azidu sodného musí být prováděna podle příslušných místních předpisů.

MATERIÁLY POTŘEBNÉ, ALE NEDODANÉ SE SOUPRAVOU:

- Zkumavky na odběr vzorků a materiál potřebný k odběru vzorků.
- Automatické pipety s jednorázovými špičkami pro 10, 100 a 500 µl.
- Plastové zkumavky na hemolýzu.
- Reagencie pro lýzu červených krvinek s fází promývání po lýze. Například: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagencie pro fixaci leukocytů. Například: Fixační roztok IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotypová kontrola PC5: Reagencie IOTest (ref. A07798).
- Pufr (PBS: 0,01 M fosforečnan sodný; 0,145 M chlorid sodný; pH 7,2).
- Odstředivka.
- Automatické míchadlo (typu vortex).
- Průtokový cytometr.

POSTUP S REAGENCIÍ VERSALYSE

Pro každý analyzovaný vzorek lze kromě testovací zkumavky přidat jednu kontrolní zkumavku, v níž jsou buňky promíchány v přítomnosti izotypové kontroly (ref. A07798).

1. Do každé z testovacích zkumavek přidejte 10 µl konjugované protilátky specifické pro IOTest a podle potřeby do každé ze zkumavek kontroly přidejte 10 µl kontroly izotypu.
2. Do každé zkumavky přidejte 100 µl testovaného vzorku. Zkumavky jemně promíchejte na vortexové míchačce.
3. Provádějte inkubaci po dobu 15 až 20 minut při laboratorní teplotě (18–25 °C), chraňte před světlem.
4. Poté lyzujte červené krvinky. Postupujte dle brožury VersaLyse (ref. A09777) a řiďte se, pokud možno, postupem nazvaným „s průvodní fixací“, který spočívá v přidání 1 ml fixační a lyzační směsi připravené bezprostředně před použitím. Ihned vortexujte po dobu jedné sekundy a inkubujte po dobu 10 minut při laboratorní teplotě, přičemž chraňte před světlem.
5. Odstřeďujte 5 minut při 150 x g při laboratorní teplotě.
6. Supernatant odsajte.
7. Resuspendujte buněčnou peletu pomocí 3 ml PBS.
8. Opakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte buněčnou peletu pomocí:

- 0,5 ml nebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, pokud mají být preparáty uchovány po dobu kratší než 24 hodin. (PBS s 0,1 % formaldehydu lze získat zředěním 12,5 µl fixačního roztoku IOTest 3 (ref. A07800) o koncentraci 10x v 1 ml PBS.)
- 0,5 ml nebo 1 ml PBS bez formaldehydu, pokud mají být preparáty analyzovány do 2 hodin.

Poznámka: Ve všech případech uchovávejte preparáty při teplotě mezi 2 a 8 °C a chraňte je před světlem.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Tento produkt nemá žádnou relevantní očekávanou hodnotu.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Data o výkonu se získávají výše popsaným postupem na vzorcích krve starých méně než 24 hodin, které byly odebrány do sterilních zkumavek se solí EDTA jakožto antikoagulačním činidlem. Analýza se provádí do 2 hodin od imunobarvení.

SPECIFICITA

CD34 je monomerový, vysoce glykosylovaný transmembránový protein typu I o hmotnosti 116 kDa (13). Existují dvě molekulární formy CD34; forma s plnou délkou 385 aminosekvencí obsahuje nitrobuněčnou doménu s konsenzem po fosforylaci proteinkinázy C, serinu a treoninu. Ve zkrácené formě chybí většina nitrobuněčné domény. Mimobuněčná forma je přítomna v obou formách CD34. V případě CD34 byly rozpoznány tři typy epitopu na základě rozdílné citlivosti na neuraminidázu a glykoproteázu. Epitopy třídy I (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) jsou citlivé na všechny proteolytické enzymy. Epitopy třídy II jsou (QBEnd10) rezistentní na neuraminidázu, jsou však citlivé na glykoproteázu. Klon 581 rozpoznává epitop třídy III, je necitlivý na všechny proteolytické enzymy a ochotně se váže na všechny glykoformy CD34 (14).

Na 5. konferenci HLDA (5th HLDA workshop) konané v Bostonu v roce 1993 byly schváleny tři typy epitopu CD34 na základě rozdílné citlivosti.

PRECIZNOST

Procentuální pozitivní hodnoty byly stanoveny pomocí plné krve obohacené pozitivními buňkami. Každý vzorek byl analyzován 4krát, dvakrát denně v průběhu 1 dne na 2 přístrojích pomocí 2 šarží reagencií s monoklonální protilátkou CD34-PC5. Měření (% pozitivních) byla provedena na průtokovém cytometru Navios. Analýza byla provedena na základě metody CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vyhodnocení výkonu preciznosti kvantitativních měřicích metod).

Naše kritéria přijatelnosti závisí na počtu pozitivních událostí změřených pro každou populaci:

- Pokud pozitivní událost < 1 500, VK < 15 %
- Pokud pozitivní událost > 1 500, VK < 10 %

Plná krev obohacená buněčnou linií KG1a							
Počet pozitivních událostí (průměr) = 5355							
	Mezi obslužnými pracovníky	Mezi cytometry	V rámci šarže	Mezi šaržemi	Mezi cykly	V rámci cyklu	Celkem
VK (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PŘESNOST

Přesnost CD34-PC5 byla vyhodnocena porovnáním výsledků s referenční reagencií sloužící jako srovnávací látka na sadě vzorků plné krve obohacené pozitivními buňkami a analyzované na průtokovém cytometru Navios. Na základě rozdílu mezi výsledky testů byla stanovena odchylka mezi testem a referenční reagencií. Pokud je odchylka v rámci rozsahu přípustné chyby nebo hodnota p naznačuje, že nedošlo k žádnému významnému rozdílu (> 0,05), výsledky testů daných dvou reagencií se považují za shodné.

Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Počet dárců = 25				
Pozitivní nosič	Průměr Δ	Kritéria Δ % buněk	Hodnota p	VÝSLEDKY
Plná krev obohacená buněčnou linií KG1a	1,31	<3	5,01E-04	PASS

MEZ PRÁZDNÉHO VZORKU A MEZ MĚŘITELNOSTI

Byla provedena studie v souladu se směrnicí CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnocení schopnosti detekce pro klinické laboratorní postupy měření). Mez měřitelnosti (LOD) je nejnižší koncentrace analytu, kterou lze spolehlivě detekovat. Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Positive Target	Mez prázdného vzorku (buňky/µl)	Mez měřitelnosti (buňky/µl)
KG1a Buněčná linie	1	2

OMEZENÍ

1. Průtoková cytometrie může přinést falešné výsledky, pokud cytometr nebyl dokonale seřízen, pokud nebyly správně kompenzovány úniky fluorescence a pokud oblasti nebyly pečlivě umístěny.
2. Je vhodné používat techniku lýzy RBC s promývacím krokem, protože tato reagencie není optimalizována pro techniku lýzy bez promývání.
3. Přesných a reprodukovatelných výsledků bude dosaženo, pokud jsou použité postupy v souladu s technickým příbalovým letákem a se správnou laboratorní praxí.
4. Konjugovaná protilátka této reagencie je kalibrována tak, aby poskytovala nejlepší možný poměr specifického signálu k nespecifickému signálu. Proto je důležité při každém testu dodržovat poměr objemu reagencie a objemu vzorku.
5. V případě hyperleukocytózy nařeďte krev v přípravku PBS tak, aby byla dosažena hodnota přibližně 5 x 10^9 leukocytů/l (15).
6. U určitých chorob, například závažného selhání ledvin či hemoglobinopatií, se může stát, že lýza červených krvinek bude probíhat pomalu, nedokončí se, nebo dokonce nebude možná. V tomto případě se před značením doporučuje izolovat mononukleární buňky s použitím hustotního gradientu (např. Ficoll) (16).
7. Vzhledem k tandemové struktuře fluorochromu látka PC5 rovněž emituje světlo o vlnové délce 575 nm. Tento sekundární emisní vrchol se liší mezi šaržemi látky PC5. V případě vícebarevné analýzy je proto třeba při výměně šarže konjugátu PC5 pečlivě zkontrolovat kompenzační matrici.

8. U pacientů léčených pomocí monoklonálních protilátek proti lidským antigenům může být detekce specificky cílených antigenů snížena nebo může chybět kvůli částečné nebo celkové blokaci terapeutickými protilátkami.
9. Výsledky analýzy CD34-PC5 je nutné interpretovat s přihlédnutím k celkovému klinickému obrazu pacienta, včetně symptomů, klinické anamnézy, údajů z dalších testů a dalších vhodných informací.

Příklady a reference jsou uvedeny v příloze.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, stylizované logo a známky produktů a služeb společnosti Beckman Coulter uvedené v tomto dokumentu jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Beckman Coulter, Inc. ve Spojených státech amerických a dalších zemích.

DALŠÍ INFORMACE

Pro pacienty, uživatele nebo třetí osoby v Evropské unii a v zemích se stejným regulačním režimem (nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro); pokud při používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání dojde k závažné nehodě, prosím ohlaste tuto nehodu výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a kompetentnímu vnitrostátnímu orgánu.

Summary of Safety and Performance (Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti) je k dispozici v databázi EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIE REVIZÍ

REVIZE AD:	Datum vydání: Říjen 2020

REVIZE	**Datum vydání**
AW	Květen 2022
Aktualizace kvůli shodě s globálními zásadami označování společnosti Beckman Coulter a dle požadavků IVD-R (EU) 2017/746:	
Přidání částí	Číslo BSI 2797, Určený uživatel, Klinická významnost, Koncentrace, Preciznost, Přesnost, Mez prázdného vzorku a mez měřitelnosti, Další informace, Historie změn.
Přidány informace	Viz část Omezení
Aktualizace formulací a typografické aktualizace	Viz části Postup, Výkon, Omezení, Varování a bezpečnostní opatření, Skladování a stabilita.
Odstranění částí	Příklad klinických použití, Reagencie, Reprodukovatelnost v rámci laboratoře, Linearita
Aktualizované části	Určené použití, Klasifikace nebezpečí podle GHS, Známky znehodnocení, Postup, Příloha.

REVIZE	**Datum vydání**
AX	duben 2023
Aktualizované části	Přidání kazašského jazyka
Aktualizované části	Skladování a stabilita

Revidovaná verze	AY
Datum revize	Květen 2024
Aktualizované překlady	**Klinická významnost:**
Aktualizované části	Historie revizí

Revidovaná verze	AZ
Datum revize	cervenec 2024
Aktualizované části	Historie revizí

Klíč k symbolům

Slovníček symbolů je k dispozici na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	Špecifikácie
Špecificita	CD34
Klon	581
Hybridóm	NS0 x balb/c
Imunogén	Human CD34+ leukaemic cells
Imunoglobulín	IgG1
Druhy	Myš
Purifikácia	Afinitná chromatografia
Fluorochróm	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molárny pomer	PC5/Ig: 0,5-1,5
Excitácia λ	488 nm
Vrchol emisií	670 nm
Tlmivý roztok	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugovaná protilátka CD34-PC5

REF A07777 100 testov; 1 ml, 10 µl / test

Na diagnostické použitie *in vitro*

URČENÉ POUŽITIE

Táto protilátka konjugovaná s fluorochrómom umožňuje pomocou prietokovej cytometrie vykonávať kvalitatívnu, neautomatizovanú identifikáciu populácie buniek exprimujúcich antigén CD34 v ľudských biologických vzorkách (pozri časť „vzorky“ nižšie).

PRINCÍP

Tento test je založený na schopnosti špecifických monoklonálnych protilátok viazať sa na antigénne determinanty exprimované na leukocytoch.

Špecifické farbenie leukocytov sa vykoná inkubáciou vzorky s činidlom IOTest. Červené krvinky sa následne odstránia lýzou a leukocyty, na ktoré tento postup nemá vplyv, sa analyzujú prietokovou cytometriou.

Prietokový cytometer meria rozptyl svetla a fluorescenciu buniek. Umožňuje vymedzenie požadovanej populácie v rámci elektronického okna zadefinovaného v histograme znázorňujúcom koreláciu ortogonálneho rozptylu svetla (bočný rozptyl, SS) a rozptylu svetla v úzkom uhle (predný rozptyl, FS). Ostatné histogramy obsahujúce kombináciu dvoch rozličných parametrov dostupných na cytometri možno použiť na podporu vo fáze gatingu v závislosti od aplikácie zvolenej používateľom.

Fluorescencia vymedzených buniek sa analyzuje s cieľom odlíšiť pozitívne sfarbené udalosti od nesfarbených. Výsledky sú vyjadrené ako percento pozitívnych udalostí vzhľadom na všetky udalosti zaznamenané gatingom.

URČENÝ POUŽÍVATEĽ

Tento produkt je určený na profesionálne laboratórne použitie.

KLINICKÝ VÝZNAM

CD34-PC5 je protilátka proti CD34 používaná na identifikáciu a charakterizáciu buniek exprimujúcich antigén CD34 pomocou prietokovej cytometrie. Tento výrobok sám osebe nemôže a ani nemá slúžiť na vyvodzovanie akýchkoľvek diagnostických záverov.

Pri použití v kombinácii s inými markermi možno tento produkt použiť na jeden alebo viac z týchto účelov:

- Ako pomôcka pri diferenciálnej diagnostike hematologicky abnormálnych pacientov s podozrením na hematologickú poruchu a na monitorovanie pacientov so známou hematologickou poruchou.
- ako pomôcka pri stanovovaní prognózy u pacientov s hematopoetickou neoplazmou,
- Na monitorovanie transplantačného procesu alebo výsledkov.

Pozrite si nasledujúce odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

VZORKY

Vzorky žilovej krvi musia byť odobraté do sterilných skúmaviek, ktoré obsahujú soľ EDTA ako antikoagulačné činidlo.

Vzorky by sa mali uchovávať pri izbovej teplote (18 – 25 °C) a nemalo by sa nimi triasť. Vzorky by sa mali pred odobratím testovacej vzorky homogenizovať jemným pretrepaním.

Vzorky sa musia analyzovať do 24 hodín od odberu.

KONCENTRÁCIA

Pozrite si certifikát analýzy pre konkrétnu šaržu na adrese www.beckman.com.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

1. Činidlo nepoužívajte po dátume exspirácie.
2. Nezamrazujte.
3. Pred použitím nechajte zahriať na izbovú teplotu (18 – 25 °C).
4. Minimalizujte vystavenie svetlu.
5. Zabráňte mikrobiálnej kontaminácii činidiel, inak môže dôjsť k falošným výsledkom.

6. S roztokmi protilátok obsahujúcimi azid sodný (NaN_3) by sa malo zaobchádzať opatrne. Nepožívajte ich a vyhýbajte sa akémukoľvek kontaktu s kožou, sliznicami a očami.

   V médiu s obsahom kyseliny môže navyše azid sodný vytvárať potenciálne nebezpečnú kyselinu azidovodíkovú. Ak je činidlo potrebné zlikvidovať, odporúča sa ho pred vyliatím do kanalizácie zriediť vo veľkom objeme vody, aby sa predišlo riziku explózie v dôsledku hromadenia azidu sodného v kovovom potrubí.
7. Všetky vzorky krvi sa musia považovať za potenciálne infekčné, a preto sa s nimi musí narábať opatrne (predovšetkým: používajte ochranné rukavice, plášte a okuliare).
8. Nikdy nepipetujte ústami a zabráňte akémukoľvek kontaktu vzoriek s pokožkou, sliznicami a očami.
9. Skúmavky na krv a jednorazový materiál používané pri manipulácii sa musia zlikvidovať do schválených nádob určených na spálenie.
10. Činidlá a odpad by sa mali eliminovať v súlade s miestnymi požiadavkami.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Nie je klasifikované ako nebezpečné

SDS Bezpečnostný list je dostupný na adrese beckmancoulter.com/techdocs

SKLADOVANIE A STABILITA

Toto činidlo sa musí skladovať pri teplote od 2 do 8 °C a chrániť pred svetlom pred aj po otvorení fľaštičky.

Doba použiteľnosti uzavretej fľaštičky podľa štúdie stability: 1095 dní.

Stabilita otvorenej fľaštičky: činidlo je stabilné 180 dní.

ZNÁMKY ZNEHODNOTENIA

Akákoľvek zmena fyzického vzhľadu činidla môže svedčiť o zhoršení kvality a takéto činidlo by sa nemalo používať.

Ak potrebujete ďalšie informácie alebo ak je výrobok poškodený, kontaktujte stredisko zákazníckych služieb spoločnosti Beckman Coulter na telefónnom čísle 800-742-2345 (ak sa nachádzate v USA alebo Kanade) alebo kontaktujte miestneho zástupcu spoločnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervačné činidlo azid sodný môže v kovovej kanalizačnej sieti vytvárať výbušné zlúčeniny. Pozrite si informačný bulletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečenstvo výbušného azidu) (16. 8. 76).
Aby nedošlo k možnému nahromadeniu azidových zlúčenín, po likvidácii neriedeného činidla vypláchnite potrubie vodou. Likvidácia azidu sodného musí prebiehať v súlade s príslušnými miestnymi predpismi.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ NIE JE SÚČASŤOU SÚPRAVY:

- Vzorkovacie skúmavky a materiál potrebný na vzorkovanie.
- Automatické pipety s jednorazovými špičkami na dávkovanie objemov 10, 100 a 500 µl.
- Plastové hemolytické skúmavky.
- Činidlo na lýzu červených krviniek s umývacou fázou po lýze. Napríklad: VersaLyse (Ref. A09777).
- Činidlo na fixáciu leukocytov. Napríklad: fixačný roztok IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotypová kontrolaPC5: činidlo IOTest (Ref. A07798).
- Tlmiaci roztok (PBS: fosforečnan sodný 0,01 M; chlorid sodný 0,145 M; pH 7,2).
- Centrifúga.
- Automatické miešadlo (typ Vortex).
- Prietokový cytometer.

POSTUP S ČINIDLOM VERSALYSE

Na každú analyzovanú vzorku je možné okrem testovacej skúmavky pridať aj jednu kontrolnú skúmavku, v ktorej sa zmiešajú bunky v prítomnosti izotypovej kontroly (Ref. A07798).

1. Pridajte 10 µl špecifickej konjugovanej protilátky IOTest do každej testovacej skúmavky a v prípade potreby 10 µl izotopovej kontroly do každej kontrolnej skúmavky.
2. Do každej skúmavky pridajte 100 µl testovanej vzorky. Skúmavky jemne vortexujte.
3. Inkubujte 15 až 20 minút pri izbovej teplote (18 – 25 °C) bez prístupu svetla.
4. Potom vykonajte lýzu červených krviniek. Postupujte podľa písomnej informácie VersaLyse (Ref. A09777) a ideálne použite postup označený ako „so sprievodnou fixáciou“, ktorý zahŕňa pridanie 1 ml bezprostredne pripravenej zmesi „na fixáciu a lýzu“. Ihneď premiešajte jednu sekundu a inkubujte 10 minút pri izbovej teplote a chráňte pred svetlom.
5. Odstreďujte 5 minút pri 150 x g pri izbovej teplote.
6. Nasatím odoberte supernatant.
7. Resuspendujte bunkový pelet použitím 3 ml PBS.
8. Zopakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte bunkový pelet použitím:

- 0,5 ml alebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, ak sa preparáty budú skladovať kratšie ako 24 hodín. (Roztok PBS s 0,1 % formaldehydu možno pripraviť zriedením 12,5 µl fixačného roztoku IOTest 3 (Ref. A07800) v 10X koncentrácii v 1 ml roztoku PBS).
- 0,5 ml alebo 1 ml PBS bez formaldehydu, ak sa preparáty budú analyzovať do 2 hodín.

Poznámka: Preparáty vždy uchovávajte pri teplote 2 až 8 °C a mimo dosahu svetla.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

Pre tento výrobok neexistuje žiadna relevantná očakávaná hodnota.

VÝKONNOSŤ

Údaje o výkonnosti boli získané pomocou vyššie opísaného postupu z menej ako 24 hodín starých vzoriek krvi odobraných do sterilných skúmaviek so soľou EDTA ako antikoagulačným činidlom. Analýza prebehla do 2 hodín od imunologického farbenia.

ŠPECIFICITA

CD34 je monomérny, výrazne glykozylovaný transmembránový proteín typu I s hmotnosťou 116 kDa (13). Existujú dve molekulové formy CD34: plná forma so sekvenciou 385 aminokyselín má vnútrobunkovú doménu, ktorá obsahuje konsenzus proteínkinázy C, serín a fosforyláciu treonínu. Skrátenej forme chýba väčšina vnútrobunkovej domény. Mimobunková forma existuje u oboch foriem CD34. Pri CD34 sa rozoznávajú tri typy epitopov na základe odlišnej citlivosti voči neuraminidáze a epitopy glykolproteázy I. triedy (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) sú senzitívne na všetky proteolytické enzýmy. Epitopy II. triedy sú (QBEnd10) rezistentné voči neuraminidáze, no senzitívne na glykoproteázu. Klon 581 rozpoznáva epitop III. triedy a je nesenzitívny voči všetkým proteolytickým enzýmom a ochotne sa viaže na všetky glykoformy CD34 (14).

Na konferencii 5th HLDA workshop (5. Konferencia o diferenciačných antigénoch ľudských leukocytov, Boston 1993) boli schválené tri epitopové typy CD34 na základe odlišnej citlivosti.

PRESNOSŤ

Percentuálne pozitívne hodnoty boli stanovené s použitím plnej krvi s pridanými pozitívnymi bunkami. Každá vzorka bola analyzovaná 4-krát, dva razy denne počas 1 dňa na 2 prístrojoch pri použití 2 šarží činidiel s monoklonálnymi protilátkami proti CD34-PC5. Merania (% pozitívnych) sa vykonávali na prietokovom cytometri Navios. Analýza sa vykonávala podľa metódy CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Hodnotenie zhodnosti pri metódach kvantitatívneho merania).

Naše kritériá prijateľnosti závisia od počtu pozitívnych udalostí nameraného v jednotlivých populáciách:

- Ak je pozitívnych udalostí < 1500, CV < 15 %
- Ak je pozitívnych udalostí > 1500, CV < 10 %

Plná krv s pridanou bunkovou líniou KG1a							
Počet pozitívnych udalostí (priemer) = 5355							
	Medzi operátormi	Medzi cytometrami	V rámci jednej šarže	Medzi šaržami	Medzi analýzami	V rámci jednej analýzy	Celkovo
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRESNOSŤ

Presnosť CD34-PC5 bola vyhodnotená porovnaním výsledkov s porovnávacím referenčným činidlom na súbore vzoriek plnej krvi s pridanými pozitívnymi bunkami analyzovaných v prietokovom cytometri Navios. Odchýlka medzi testovaným a referenčným činidlom bola stanovená na základe rozdielu medzi výsledkami testov. Ak je odchýlka v medziach prípustného chybového rozsahu, alebo ak p-hodnota svedčí o nevýznamnom rozdiele (> 0,05), výsledky testovania daných dvoch činidiel sa považujú za rovnocenné.

Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Počet darcov = 25				
Pozitívny cieľ	Priemer Δ	Kritériá Δ % buniek	p-hodnota	VÝSLEDKY
Plná krv s pridanou bunkovou líniou KG1a	1,31	<3	5,01E-04	PASS

MEDZA PRÁZDNEJ VZORKY A MEDZA MERATEĽNOSTI

Bola vykonaná štúdia v súlade s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnotenie detekčnej schopnosti pre postupy klinických laboratórnych meraní). Medza merateľnosti (LoD) je najnižšia koncentrácia analytu, ktorú možno konzistentne detegovať. Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Positive Target	Medza prázdnej vzorky (buniek/µl)	Medza merateľnosti (buniek/µl)
KG1a Bunková línia	1	2

OBMEDZENIA

1. Prietoková cytometria môže vytvárať falošné výsledky, ak cytometer nie je správne zarovnaný, ak úniky fluorescencie nie sú správne kompenzované, alebo ak nie sú oblasti správne umiestnené.
2. Vhodnejšie je používať metódu lýzy RBC s krokom premývania, keďže toto činidlo nie je optimalizované na metódy lýzy „bez premývania“.
3. Presné a reprodukovateľné výsledky sa získajú len vtedy, ak sa použijú postupy v súlade s technickými údajmi v príbalovom letáku a v súlade s osvedčenou laboratórnou praxou.
4. Konjugovaná protilátka tohto činidla sa kalibruje tak, aby ponúkala najlepší pomer špecifického signálu/nešpecifického signálu. Preto je dôležité pri každom teste dodržať pomer objem činidla/objem vzorky.
5. V prípade hyperleukocytózy zrieďte krv v PBS na koncentráciu približne 5 x 10^9 leukocytov/l (15).
6. Pri niektorých chorobných stavoch, akými sú napríklad závažné zlyhanie obličiek alebo hemoglobinopatie, môže byť lýza červených krviniek pomalá, neúplná alebo dokonca nemožná. V takom prípade sa odporúča pred farbením izolovať mononukleárne bunky pomocou hustotného gradientu (napríklad Ficoll) (16).

7. V dôsledku tandemovej štruktúry fluorochrómu PC5 emituje svetlo aj pri vlnovej dĺžke 575 nm. Tento sekundárny emisný pík sa líši medzi jednotlivými šaržami PC5. Preto je pri viacfarebnej analýze potrebné dôkladne skontrolovať kompenzačnú matricu pri zmene šarže konjugátu -PC5.
8. U pacientov liečených monoklonálnymi protilátkami proti ľudským protilátkam môže byť detekcia špecifických cieleným antigénom znížená alebo môže úplne chýbať v dôsledku čiastočného alebo úplného blokovania terapeutickej protilátky.
9. Pri interpretácii výsledkov CD34-PC5 treba brať do úvahy celkový klinický obraz pacienta vrátane symptómov, klinickej anamnézy, výsledkov ďalších testov a iných súvisiacich informácií.

Príklady a referencie nájdete v Dodatku.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, štylizované logo a známky produktov a služieb spoločnosti Beckman Coulter spomenuté v tomto dokumente sú ochranné známky alebo registrované ochranné známky spoločnosti Beckman Coulter, Inc. v USA a ďalších krajinách.

DOPLŇUJÚCE INFORMÁCIE

Pre pacienta/používateľa/tretiu stranu v Európskej únii a v krajinách s identickým regulačným režimom (Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/746 o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro): ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne vážna nehoda, nahláste ju výrobcovi a/alebo jeho autorizovanému zástupcovi a vášmu národnému orgánu.

Summary of Safety and Performance (Súhrn informácií o bezpečnosti a výkonnosti) je k dispozícii v databáze EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRIA REVÍZIÍ

REVÍZIA AD:	Dátum vydania: Október 2020

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AW	Máj 2022
Aktualizácie kvôli súladu s dokumentom Beckman Coulter Global Labelling Policy (Globálne pravidlá označovania spoločnosti Beckman Coulter) a podľa požiadaviek nariadenia IVDR (EÚ) 2017/746:	
Pridané časti	Číslo BSI 2797, Určený používateľ, Klinický význam, Koncentrácia, Zhodnosť, Presnosť, Medza prázdnej vzorky a medza merateľnosti, Doplňujúce informácie, História revízií.
Pridané informácie	Pozri časti Obmedzenia
Aktualizácie formulácií alebo typografické aktualizácie	Pozri časti Postup, Výkonnosť, Obmedzenia, Výstraha a opatrenia, Skladovanie a stabilita.
Odstránené časti	Príklad klinických aplikácií, Činidlá, Intralaboratórna reprodukovateľnosť, Linearita
Aktualizované časti	Určené použitie, Klasifikácia nebezpečenstiev podľa GHS, Známky zhoršenia kvality, Postup, Dodatok.

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AX	Apríl 2023
Aktualizované časti	Pridať kazaštinu
Aktualizované časti	Skladovanie a stabilita

Revidovaná verzia	AY
Dátum revízie	Máj 2024
Aktualizované preklady	**Klinický význam:**
Aktualizované časti	História revízií

Revidovaná verzia	AZ
Dátum revízie	Júl 2024
Aktualizované časti	História revízií

Popis symbolov

Slovník symbolov je dostupný na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	규격
특이도	CD34
클론	581
하이브리도마	NS0 x balb/c
면역원	Human CD34+ leukaemic cells
면역글로불린	IgG1
종	생쥐
정제	친화성 크로마토그래피
형광색소	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
분자비	PC5/Ig: 0.5-1.5
λ 자극	488 nm
방출 피크	670 nm
완충액	PBS pH 7.2 + 2mg/mL BSA 및 0.1 % NaN_3

IOTest

복합 항체
CD34-PC5

REF A07777 100 테스트; 1 mL, 10 µL / test

체외 **진단용**

사용목적

본 형광색소 결합 항체를 사용 시 유세포 분석법으로 인간의 생물학적 검체에 있는 CD34 항원을 나타내는 세포군의 정성적 동정 및 비자동 동정을 수행할 수 있습니다(아래 "검체" 섹션 참조).

원리

이 검사는 백혈구로 발현되는 항원 결정기에 특이적 단일클론 항체가 결합할 수 있는 능력에 기초합니다.

백혈구의 특이적 염색은 검체를 IOTest 시약과 함께 배양하여 수행합니다. 그런 다음 적혈구를 용해하여 제거하고 이 과정에서 영향을 받지 않은 백혈구를 유세포 분석법을 통해 분석하십시오.

유세포 분석기는 세포의 빛 확산과 형광 영역을 측정합니다. 유세포 분석기를 사용하면 빛의 직교 확산(측면 산란, SS)과 좁은 각의 광확산(전방 산란, FS)의 상호 관계를 지정하는 막대그래프상에 정의된 전자 창 내에서 관심 개체의 한계를 결정할 수 있습니다. 유세포 분석기에서 사용할 수 있는 두 가지 파라메타를 결합하는 기타 막대그래프를 사용자가 선택한 애플리케이션에 따라 게이팅 단계에서 지원 자료로 사용 가능합니다.

범위가 결정된 세포의 형광 영역을 분석하여 명확하게 염색된 이벤트와 염색되지 않은 이벤트를 구분합니다. 분석 결과는 게이팅으로 획득한 전체 이벤트와 비교한 양성 이벤트의 비율로 표현합니다.

의도된 사용자

본 제품은 실험실 전문가용입니다.

임상 관련성

CD34-PC5은(는) 유세포 분석법으로 CD34 항원을 나타내는 세포를 식별하고 특성화하는 데 사용하는 CD34 항체입니다. 본 제품만 사용하여 진단과 관련된 결론을 내릴 수 없으며, 해당 용도로 사용해서도 안 됩니다.

다른 표지자와 함께 사용하는 경우 이 제품은 다음 중 하나 이상의 기능에 사용할 수 있습니다.

- 혈액 장애가 있는 것으로 의심되는 혈액학적 이상을 겪는 환자의 감별 진단을 위한 보조 수단으로 활용하거나 알려진 혈액 장애가 있는 환자를 모니터링하는 데 사용합니다.
- 혈액암 환자 예후의 보조 수단으로 활용.
- 이식 과정 또는 결과를 모니터링합니다.

다음 참조를 살펴보십시오.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

검체

정맥혈은 EDTA 염을 항응고제로 포함한 무균 튜브를 사용하여 채취해야 합니다.

검체는 실온(18~25°C)에 보관해야 하며 흔들어서는 안 됩니다. 검사 검체를 채취하기 전에 부드럽게 교반하여 검체를 균질화해야 합니다.

검체는 정맥천자 후 24시간 이내에 분석해야 합니다.

농도

www.beckman.com에서 로트별 분석증명서를 확인할 수 있습니다.

경고 및 주의 사항

1. 유효 기간이 지난 시약은 사용하지 마십시오.
2. 냉동하지 마십시오.
3. 사용 전 실온(18~25°C)에 두십시오.
4. 빛 노출을 최소화하십시오.
5. 시약이 미생물에 오염되지 않도록 하십시오. 그러지 않으면 잘못된 결과를 얻을 수 있습니다.
6. 아지드화나트륨(NaN_3)을 함유한 항체 용액은 주의해서 다루어야 합니다. 흡입을 피하고 피부, 점막 및 눈에 절대 닿지 않도록 하십시오.

또한 산성 매질에 함유된 아지드화나트륨은 잠재적 위험 물질인 히드라조산을 만들어낼 수 있습니다. 시약을 폐기할 때는 금속 파이프 내 아지드화나트륨 축적과 폭발 위험을 방지하기 위해 다량의 물에 희석한 후 배수 시설로 흘려보내야 합니다.

7. 모든 혈액 검체는 잠재적으로 전염성이 있다고 간주하고 주의해서 다루어야 합니다(특히 보호용 장갑, 가운 및 보안경 착용).
8. 피펫을 절대 입으로 사용하지 않도록 하고 검체가 피부, 점막 및 눈에 닿지 않도록 하십시오.
9. 취급에 사용한 혈액 튜브 및 일회용 물질은 소각용 특수 용기에서 폐기해야 합니다.
10. 시약 및 폐기물은 현지 요구 사항에 따라 제거해야 합니다.

GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음

SDS 안전보건자료는 beckmancoulter.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다.

보관 및 안정성

이 시약은 바이알 개봉 전후에 2~8°C로 유지하면서 빛으로부터 보호해야 합니다.

안정성 시험에 따른 밀봉 바이알 유효 기간: 1095일.

개봉한 바이알의 안정성: 시약은 180일 동안 안정적입니다.

성능 저하 증거

시약 외관에 물리적 변화가 있는 경우 성능 저하를 나타내는 것일 수 있으므로 시약을 사용해서는 안 됩니다.

자세한 정보가 필요하거나 손상된 제품을 받은 경우에는 Beckman Coulter 고객 서비스에 800-742-2345(미국 또는 캐나다)로 또는 현지 Beckman Coulter 담당자에게 문의하십시오.

목차

소디움 아자이드 보존제는 금속 배수관에서 폭발성 화합물을 형성할 수 있습니다. NIOSH 게시판을 참조하십시오. Explosive Azide Hazard(폭발성 아지드 유해물질)(76/8/16)
아지드 화합물의 축적 가능성을 방지하려면 희석되지 않은 시약을 폐기한 다음 폐기 파이프를 물로 세척하십시오. 소디움 아자이드의 폐기는 해당 지역 규정을 따라야 합니다.

필요하지만 키트와 함께 제공되지 않는 품목:

- 검체 튜브와 검체 채취에 필요한 물질.
- 10, 100 및 500µL용 일회용 팁이 있는 자동 피펫.
- 플라스틱 용혈 튜브.
- 용해 후 세척 단계의 적혈구 용해 시약. 예: VersaLyse(참조 A09777).
- 백혈구 고정 시약. 예: IOTest 3 고정액(참조 A07800).
- 동형 정도관리물질PC5: IOTest 시약(참조 A07798).
- 완충액(PBS: 0.01M 인산나트륨, 0.145M 염화나트륨, pH 7.2).
- 원심분리기.
- 자동 교반기(교반 유형).
- 유세포 분석기.

VERSALYSE 시약을 이용한 절차

분석할 각 검체마다 검사 튜브와 더불어 동형 대조물질이 있는 상태에서 세포를 혼합하는 하나의 정도관리물질 튜브를 추가할 수 있습니다(참조 A07798).

1. 10µL의 특정 IOTest 결합 항체를 각 검사 튜브에 첨가하고, 필요에 따라 10µL의 동형 정도관리물질을 각 정도관리물질 튜브에 첨가합니다.
2. 100µL의 검사 검체를 각 튜브에 첨가합니다. 튜브를 부드럽게 교반합니다.
3. 실온(18~25°C)에서 빛을 피해 15~20분 동안 배양하십시오.
4. 그런 다음 적혈구 용해를 수행합니다. VersaLyse(참조 A09777) 책자 내용을 참조하여 즉석에서 준비한 1mL의 "고정 및 세포 용해" 혼합물을 첨가하는 "수반 고정" 절차를 따릅니다. 즉시 1초 동안 교반한 후 직사광선을 피해 상온에서 10분 동안 배양합니다.
5. 상온에서 150 x g로 5분 동안 원심분리합니다.
6. 흡입 시 상청액을 제거하십시오.
7. 3mL의 PBS를 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.
8. 5단계를 반복합니다.
9. 그런 다음 흡입 방식으로 상등액을 제거하고 다음을 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.

- 조제 물질을 24시간 미만으로 보관하려는 경우 0.1 %의 포름알데히드가 함유된 0.5mL 또는 1mL의 PBS. (0.1 % 포름알데히드 PBS는 12.5µL의 IOTest 3 고정액(참조 A07800)을 1mL의 PBS에 10X 농도로 희석하여 얻을 수 있습니다).
- 조제 물질을 2시간 이내에 분석하려는 경우 포름알데히드가 없는 0.5mL 또는 1mL의 PBS.

참고: 조제물은 항상 빛을 피해 2~8°C로 유지하십시오.

예상 수치

이 제품과 관련된 예상 값은 없습니다.

성능

성능 데이터는 위에 설명한 절차를 이용하여 이전에 EDTA 염을 항응고제로 하여 무균 튜브에서 수집한 지 24시간 미만인 혈액 검체로 획득합니다. 분석은 면역염색 후 2시간 이내에 수행됩니다.

특이도

CD34는 단인자표현 중단화 유형 I 막횡단 116 KDa 단백질입니다(13). CD34는 두 가지 분자 형태를 가지는데, 385개 아미노 배열 순서의 전체 길이 형태에는 단백질 키나아제 C, 세린 및 트레오닌 인산화의 공통 배열을 포함하는 세포 내 영역이 있습니다. 잘린 형태에는 이러한 세포 내 영역의 대부분이 없습니다. 두 가지 형태의 CD34에 모두 세포 외 형태가 존재합니다. CD34의 경우, Neuramidase에 대한 감별 민감도에 따라 3가지 유형의 항원결정인자가 인식되며, Glycolprotease 클래스 I 항원결정인자(BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3)는 모든 단백질 분해 효소에 민감합니다. 클래스 II 항원결정인자(QBEnd10)는 Neuraminidase에 내성이 있지만 Glycoprotease에는 민감합니다. 클론 581은 클래스 유형 III 항원결정인자를 인식하며, 모든 단백질 분해 효소에 둔감하고 모든 글리코형 CD34와 결합됩니다(14).

제 5차 HLDA 워크숍(1993년 보스톤)에서는 감별 민감도를 기준으로 3가지 항원결정인자 유형의 CD34를 승인했습니다.

정밀도

양성 비율 값은 양성 세포가 첨가된 전혈을 사용하여 측정되었습니다. 각 검체는 2개의 CD34-PC5 단일 클론 항체 시약 로트를 사용하여 2개의 장비에서 하루 동안 일일 2회씩 4번 실행되었습니다. 측정값(양성 비율)은 Navios 유세포 분석기로 도출했습니다. 분석은 CLSI 방법 EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods(EP5-A2: 정량적 측정 방법의 정밀도 성능 평가)를 기반으로 수행했습니다.

허용 기준은 각 집단에서 측정한 양성 이벤트 수에 따라 다릅니다.

- 양성 이벤트 수가 < 1,500인 경우 CV < 15 %
- 양성 이벤트 수가 > 1,500인 경우 CV < 10 %

KG1a 세포주가 첨가된 전혈							
양성 이벤트 수(평균) = 5355							
	작업자 간	유세포 분석기 간	로트 내	로트 간	실행 간	실행 내	총계
CV(%)	0.68	0.54	2.16	0.79	0.66	1.94	2.36
결과	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

정확도

CD34-PC5의 정확도는 그 결과를 Navios 유세포 분석기로 처리되었으며 양성 세포가 첨가된 전혈 검체에 공인 참조 시약을 가한 값과 비교하여 평가했습니다. 검사 시약과 참조 시약 간 바이어스는 검사 결과 간 차이를 기반으로 지정되었습니다. 바이어스가 허용 가능한 오차 범위 내에 있거나 p-값이 유의한 차이를 나타내지 않는 경우(> 0.05) 두 시약의 검사 결과는 동일한 것으로 간주됩니다.

얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

공여자 수 = 25				
양성 표적	평균 Δ	Δ % 세포 기준	p-값	결과
KG1a 세포주가 첨가된 전혈	1.31	<3	5.01E-04	PASS

공시료 최저 검출한계 및 검출한계

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures(CLSI EP17-A2, 임상 실험실 측정 절차에 대한 검출 능력 평가)에 따라 연구를 실시했습니다. 검출한계(LoD)는 일관되게 검출 가능한 분석물질의 최저 농도입니다. 얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

Positive Target	공시료 최저 검출한계(세포/µL)	검출한계(세포/µL)
KG1a 세포주	1	2

한계

1. 유세포 분석기가 완벽하게 정렬되지 않은 경우, 형광 누출이 올바르게 보정되지 않은 경우 또는 영역 위치를 신중하게 지정하지 않은 경우 유세포 분석법에서 잘못된 결과가 나올 수 있습니다.
2. 이 시약은 "비세척" 용해 기법에 최적화되지 않았으므로 세척 단계를 포함한 적혈구 용해법을 사용하는 것이 바람직합니다.
3. 사용한 절차가 동봉된 기술 책자의 내용을 따르고 실험실 모범 사례와 호환되는 경우 정확하고 재현 가능한 결과를 얻을 수 있습니다.
4. 이 시약의 결합 항체는 최상의 특이/비특이 신호비를 제공하도록 보정됩니다. 그러므로 모든 검사에서 시약의 용적/검체 용적 비율을 준수하는 것이 중요합니다.
5. 과백혈구 증가증의 경우 혈액을 PBS에 희석하여 대략 백혈구 5 x 10^9개/L 값을 얻어야 합니다(15).
6. 심한 신부전 또는 혈색소병증 같은 특정 질병 상태에서 적혈구의 용해는 느리거나 불완전하거나 심지어는 불가능할 수도 있습니다. 이러한 경우 염색 전에 밀도 구배(예: Ficoll)를 사용하여 단핵구 세포를 분리하는 것이 좋습니다(16).
7. 형광색소의 일렬 구조로 인해 PC5도 575nm에서 빛을 방출합니다. 이 2차 방출 피크는 PC5의 로트마다 다르게 나타납니다. 따라서 다중 색상 분석의 경우 -PC5 포합체의 로트를 변경할 때 보상 매트릭스를 신중하게 확인해야 합니다.
8. 항 인간 단일 클론 항체 요법으로 치료받은 환자에서, 특이 표적 항원의 검출이 치료 항체에 의한 일부 또는 전체 차단으로 인해 감소하거나 이루어지지 않을 수 있습니다.
9. CD34-PC5 결과는 증상, 병력, 추가 검사 데이터, 기타 적절한 정보 등 환자의 모든 임상 증상을 고려하여 해석해야 합니다.

예시와 참고 자료는 부록을 참조하십시오.

상표

본 문서에 포함된 Beckman Coulter, 스타일 로고, Beckman Coulter 제품 및 서비스 마크는 미국 및 기타 국가에서 Beckman Coulter, Inc.의 상표이거나 등록 상표입니다.

추가 정보

유럽 연합 및 이와 동일한 규정 체제(EU 규정 2017/746, 체외 진단용 의료 기기 관련)를 사용하는 국가에 거주하는 환자/사용자/타사의 경우, 이 장치의 사용 중이나 사용으로 인해 심각한 상황이 발생했다면 제조업체 및/또는 공인 담당자와 해당 국가의 담당 기관에 신고하십시오.

Summary of Safety and Performance(안전성 및 성능에 관한 개요)는 ec.europa.eu/tools/eudamed 주소의 EUDAMED 데이터베이스에서 확인할 수 있습니다.

개정 이력

개정판 AD:	출시일: 2020년 10월

개정	**발행 날짜**
AW	2022년 5월
Beckman Coulter 글로벌 라벨 지정 정책 및 IVD-R (EU) 2017/746 요건에 따라 업데이트했습니다.	
추가된 섹션	BSI 2797 번호, 대상 사용자, 임상적 관련성, 농도, 정밀도, 정확도, 공시료 최저 검출한계 및 검출한계, 추가 정보, 개정 이력.
추가된 정보	한계 섹션 참조
언어적 표현이나 글자 배치를 업데이트했습니다.	절차, 성능, 한계, 경고 및 주의 사항, 보관 및 안정성 섹션을 참조하십시오.
삭제된 섹션	임상 용도의 예, 시약, 실험실 내 재현성, 직선성
업데이트된 섹션	사용목적, GHS 유해물질 등급, 성능 저하 증거, 절차, 부록.

개정	**발행 날짜**
AX	4월 2023
업데이트된 섹션	카자흐어 추가
업데이트된 섹션	보관 및 안정성

개정된 버전	AY
개정 날짜	5월 2024
업데이트된 번역	**임상적 관련성:**
업데이트된 섹션	개정 이력

개정된 버전	AZ
개정 날짜	7월 2024
업데이트된 섹션	개정 이력

기호 목록

기호 용어집은 beckman.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다(문서 번호 B60062)

	Spesifikasyonlar
Özgüllük	CD34
Klon	581
Hibridoma	NS0 x balb/c
İmmünojen	Human CD34+ leukaemic cells
Immunoglobulin	IgG1
Türler	Fare
Arıtma	Afinite Kromatografisi
Florokrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molar oran	PC5/Ig: 0,5-1,5
λ eksitasyonu	488 nm
Emisyon piki	670 nm
Tampon	PBS pH 7,2 artı 2 mg/mL BSA ve %0,1 NaN_3

IOTest
Konjuge Antikor
CD34-PC5

REF A07777 100 test; 1 mL, 10 µL / test

***İn Vitro* Diagnostik Kullanım içindir**

KULLANIM AMACI

Bu florokrom konjuge antikor, akış sitometrisi kullanılarak insan biyolojik örneklerinde var olan CD34 antijenini eksprese eden hücre popülasyonlarının otomatik olmayan ve kalitatif tanımlamasına olanak tanır (aşağıdaki "Örnekler" bölümüne bakın).

İLKE

Bu test, spesifik monoklonal antikorların lökositler tarafından eksprese edilen antijenik belirleyicilere bağlanabilmesine dayanmaktadır.

Lökositlerin spesifik boyaması, örnek, IOTest reaktifi ile inkübe edilerek gerçekleştirilir. Sonra kırmızı hücreler parçalanarak giderilir ve bu işlemden etkilenmeyen lökositler, akış sitometrisi ile analiz edilir.

Akış sitometrisi ışık difüzyonunu ve hücre floresanını ölçer. Bu durum, ilgili popülasyonun, ışığın ortogonal difüzyonu (Yana Yayılma veya SS) ve dar açılı ışığın difüzyonu (İleri Yayılma veya FS) ile ilişkilendirilen histogram üzerinde tanımlanmış elektronik pencerede sınırlanmasını sağlar. Sitometredeki farklı parametrelerden ikisini birleştiren diğer histogramlar, kullanıcının seçtiği uygulamaya bağlı olarak kapılama aşamasında destek olarak kullanılabilir.

Sınırlı hücrelerin floresanı analiz edilerek pozitif boyalı olaylar boyasızlardan ayrılır. Sonuçlar pozitif olayların geçiş ile edinilmiş tüm olaylara yüzdesi olarak ifade edilir.

HEDEF KULLANICI

Bu ürün, laboratuvarda profesyonel kullanım için tasarlanmıştır.

KLİNİK GEÇERLİLİK

CD34-PC5, akış sitometrisiyle CD34 antijenini eksprese eden hücreleri tanımlamak ve karakterize etmek amacıyla kullanılan bir CD34 antikorudur. Bu ürün tek başına, herhangi bir tanı sonucu oluşturamaz ve tanı sonucu oluşturmak üzere tasarlanmamıştır.

Bu ürün, diğer belirteçlerle birlikte kullanıldığında aşağıdaki işlevlerden biri veya daha fazlası için kullanılabilir:

- Hematolojik bozukluğu olduğundan şüphelenilen hematolojik olarak anormal hastalarda ayırıcı tanıya yardımcı olmak ve bilinen hematolojik bozukluğu olan hastaları izlemek için.
- Hematopoetik neoplazmı olan hastalarda prognoza yardımcı olmak için.
- Nakil işlemini veya sonuçlarını izlemek için.

Şu referanslara bakın:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

ÖRNEKLER

Antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüpler kullanılarak venöz kan alınmalıdır.

Örnekler oda sıcaklığında (18-25°C) tutulmalı ve çalkalanmamalıdır. Örnekler test örneği alınmadan önce hafifçe çalkalanarak homojenize edilmelidir.

Örnekler venipunktür sonrası 24 saat içinde analiz edilmelidir.

KONSANTRASYON

Lota özel Analiz Sertifikası için www.beckman.com adresine bakın.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. Reaktifi son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
2. Dondurmayın.
3. Kullanmadan önce oda sıcaklığına (18-25°C) getirin.
4. Işığa maruz kalmasını en aza indirin.
5. Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonundan kaçının yoksa yanlış sonuçlar oluşabilir.
6. Sodyum azid (NaN_3) içeren antikor solüsyonları dikkatle işlenmelidir. Yutmayın ve cilt, mukoza ve gözlerle temasından kaçının.

Ayrıca, asit ortamında, sodyum azid potansiyel olarak tehlikeli hidrazoik asit oluşturabilir. Atılması gerekiyorsa, metal borularda sodyum azid birikmesini ve patlama riskini önlemek için, reaktifin drenaj sistemine dökülmeden önce çok miktarda suyla seyreltilmesi önerilmektedir.

7. Tüm kan örnekleri potansiyel olarak bulaşıcı olarak kabul edilmeli ve dikkatle ele alınmalıdır (özellikle koruyucu eldiven, önlük ve gözlük takılmalıdır).
8. Asla ağızla pipetleme yapmayın ve örneklerin cilt, mukoza veya gözle herhangi bir şekilde temas etmesini önleyin.
9. Taşıma için kullanılan kan tüpleri ve tek kullanımlık malzeme, yakma amacıyla özel kaplara atılmalıdır.
10. Reaktifler ve atıklar yerel gereksinimlere göre elimine edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır

SDS Güvenlik Bilgi Formuna beckmancoulter.com/techdocs adresinden ulaşılabilir

SAKLAMA VE STABİLİTE

Bu reaktifin, şişe açılmadan önce ve açıldıktan sonra 2 ile 8°C arasında tutulması ve ışıktan korunması gereklidir.

Stabilite çalışması için şişe raf ömrü: 1095 gün.

Açılan şişenin stabilitesi: reaktif 180 gün stabildir.

BOZULMA GÖSTERGESİ

Reaktiflerin fiziksel görünümündeki herhangi bir değişiklik bozulmayı gösterebilir ve reaktif kullanılmamalıdır.

Ek bilgi almak isterseniz veya aldığınız ürün hasarlı çıktıysa, 800-742-2345 numaralı telefondan (ABD veya Kanada) Beckman Coulter Müşteri Hizmetlerini arayın veya yerel Beckman Coulter Temsilcinizle temas kurun.

İÇİNDEKİLER

Sodyum azid koruyucu maddesi metal kanalizasyon hatlarında patlayıcı bileşimler oluşturabilir. NIOSH Bültenine bakın: Explosive Azide Hazard (Patlayıcı Azide Tehlikesi) (16.8.76).
Azid bileşenlerinin olası birikimini engellemek amacıyla, seyreltilmemiş reaktifi çöpe attıktan sonra atık borularını bol suyla yıkayın. Sodyum azid, uygun yerel düzenlemelere göre çöpe atılmalıdır.

GEREKLİ OLAN ANCAK KİT İLE BİRLİKTE VERİLMEYEN MALZEMELER:

- Numune alma tüpleri ve numune alma için gerekli malzemeler.
- 10, 100 ve 500 µL için tek kullanımlık uçlu otomatik pipetler.
- Plastik hemoliz tüpleri.
- Lizis sonrası yıkama aşamasıyla birlikte eritrosit lizis reaktifi. Örneğin: VersaLyse (Ref. A09777).
- Lökosit fiksasyon reaktifi. Örneğin: IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonu (Ref. A07800).
- İzotip kontrolüPC5: IOTest reaktifi (Ref. A07798).
- Tampon (PBS: 0,01 M sodyum fosfat; 0,145 M sodyum klorür; pH 7,2).
- Santrifüjleyin.
- Otomatik karıştırıcı (Vorteks tipi).
- Akış sitometresi.

VERSALYSE REAKTİFİ İLE PROSEDÜR

Analiz edilen her örnek için test tüpüne ek olarak, hücrelerin izotip kontrolü varlığında karıştırıldığı bir kontrol tüpü eklenebilir (Ref. A07798).

1. Her test tüpüne 10 µL spesifik IOTest konjuge antikor ve gerekirse, her kontrol tüpüne, 10 µL izotip kontrolü ekleyin.
2. Her bir tüpe 100 µL test örneği ekleyin. Tüpleri yavaşça vorteksleyin.
3. Oda sıcaklığında (18-25°C) ışıktan koruyarak 15-20 dakika boyunca inkübe edin.
4. Ardından kırmızı hücrelerin lizisini gerçekleştirin. VersaLyse (Ref. A09777) broşürüne bakın ve tercihen “birlikte kullanılan fiksasyon ile” adlı, doğaçlama hazırlanan 1 mL “Fiksasyon ve Lizis” karışımını eklemeyi içeren prosedürü izleyin. Hemen bir saniye boyunca vorteksleyin ve ışıktan koruyarak, 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
5. Oda sıcaklığında 5 dakika 150 x g hızda santrifüjleyin.
6. Aspirasyon ile üst fazı alın.
7. 3 mL PBS kullanarak hücre peletini yeniden süspanse edin.
8. Adım 5'i tekrarlayın.
9. Yüzer maddeyi aspirasyonla alın ve hücre topağını şunu kullanarak yeniden süspanse edin:

- Preparatlar 24 saatten az tutulacaksa, 0,5 mL veya 1 mL PBS'nin yanı sıra %0,1 formaldehit. (%0,1 formaldehit PBS, 1 mL PBS içinde 10X konsantre IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonundan (Ref. A07800) 12,5 µL seyreltilerek elde edilebilir).
- 0,5 mL veya 1 mL PBS formaldehidsiz, preparatlar 2 saat içinde analiz edilmelidir.

Not: Tüm durumlarda, preperatlar 2 ile 8°C arasında tutulmalı ve ışıktan korunmalıdır.

BEKLENEN DEĞERLER

Bu ürünle ilgili beklenen değer yoktur.

PERFORMANS

Performans verileri, antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüplerde daha önce toplanan, 24 saatten eski olmayan kan örnekleri üzerinde yukarıdaki prosedür kullanılarak elde edilmiştir. İmmün boyamayı takiben 2 saat içinde analiz gerçekleştirilir.

ÖZGÜLLÜK

CD34, monomerik ağır glikosile tip I transmembran 116 KDa proteindir (13). CD34'ün iki moleküler biçimi vardır; 385 amino sekanslı tam uzunluktaki biçimin protein kinazı C, serin ve treonin fosforilasyon konsensusu içeren hücre içi alanı bulunur. Kesik formda hücre için bölgenin çoğu yoktur. Hücre dışı biçim, CD34'ün her iki biçiminde de mevcuttur. CD34 için, nöramidaz ve glikolproteaz Sınıf I epitopları (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) tüm proteolitik enzimlerin hepsine duyarlı ayırıcı duyarlılığa dayanarak üç tip epitop tanınmıştır. Sınıf II epitoplar (QBEnd10) nöraminidaza dirençli ancak glikoproteaza duyarlıdır. Klon 581 sınıf tip III epitopunu tanır ve hiçbir proteolitik enzime duyarlı değildir ve CD34'ün tüm glikoformlarına hemen bağlanır (14).

5th HLDA workshop (5. HLDA seminer) (Boston, 1993) farklılaşma duyarlılığı temelinde üç CD34 epitop tipini kabul etmiştir.

KESİNLİK

Yüzde pozitif değerleri, pozitif hücreler eklenen Tam Kan kullanılarak belirlenmiştir. Her örnek, 2 lot CD34-PC5 Monoklonal Antikor Reaktifleri kullanılarak 2 cihazda 1 gün için günde iki kez olmak üzere 4 kez çalışılmıştır. Ölçümler (% pozitif) Navios akış sitometresi üzerinde yapılmıştır. Analiz, CLSI yöntemi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kantitatif Ölçüm Yöntemlerinin Kesinlik Performansına İlişkin Değerlendirme) temelinde yürütülmüştür.

Kabul kriterlerimiz, her popülasyon için ölçülen pozitif olay sayısına bağlıdır:

- Pozitif olay <1.500, VK <%15 ise
- Pozitif olay >1.500, VK <%10 ise

KG1aHücre soyu eklenmiş Tam Kan							
Pozitif olay sayısı (Ortalama)=5355							
	Kullanıcılar arası	Sitometreler arası	Lot içi	Lotlar arası	Çalışmalar arası	Çalışma içi	Total
VK (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
SONUÇLAR	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOĞRULUK

CD34-PC5 doğruluğu, bir Navios akış sitometresinde çalışılan pozitif hücreler eklenmiş tam kan örnekleri grubunda esas alınan referans reaktifle sonuçlar karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Test ve referans reaktif arasındaki sapma, test sonuçları arasındaki fark temelinde belirlenmiştir. Sapma, izin verilen hata aralığı dahilindeyse veya p değeri anlamlı fark göstermediğinde (>0,05), iki reaktif için test sonuçlarının eşdeğer olduğu kabul edilir.

Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Donör sayısı=25				
Pozitif Hedef	Ortalama Δ	Δ % Hücre kriteri	p değeri	SONUÇLAR
KG1aHücre soyu eklenmiş Tam Kan	1,31	<3	5,01E-04	PASS

KÖR LİMİTİ VE TESPİT LİMİTİ

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klinik Laboratuvar Ölçüm Prosedürleri için Tespit Kabiliyetinin Değerlendirilmesi) ile uyumlu bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Tespit Limiti (LOD), tutarlı olarak tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonudur. Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Positive Target	Kör Limiti (hücre/µL)	Tespit Limiti (hücre/µL)
KG1a Hücre dizisi	1	2

SINIRLAMALAR

1. Akış sitometrisi, sitometre mükemmel şekilde hizalanmadıysa, floresan sızıntıları doğru şekilde telafi edilmediyse ve bölgeler dikkatli bir şekilde konumlandırılmadıysa yanlış sonuçlar üretebilir.
2. Bu reaktif "yıkamasız" parçalama teknikleri için optimize edilmediğinden, yıkama adımı içeren bir RBC parçalama tekniği kullanılması tercih edilir.
3. Kullanılan prosedürler teknik bilgi broşürüne uygun olduğu ve iyi laboratuvar uygulamalarına uygun olduğu sürece doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilecektir.
4. Bu reaktifin konjugat antikoru, en iyi spesifik sinyal/spesifik olmayan sinyal oranını sunacak şekilde kalibre edilir. Bu nedenle her testte reaktif hacmi/örnek hacmi oranına bağlı kalmak önemlidir.
5. Hiperlökositoz durumunda yaklaşık 5 x 10^9 lökosit/L (15) değerini elde etmek için kanı PBS içinde seyreltin.
6. Şiddetli böbrek yetmezliği veya hemoglobinopatiler gibi bazı hastalık durumlarında, eritrosit lizisi yavaş, eksik ve hatta imkansız olabilir. Bu durumda mononükleotidli hücrelerin boyama öncesinde yoğunluk gradyanı (örneğin Ficoll) kullanılarak izole edilmesi önerilmektedir (16).
7. Florokromun tandem yapısı nedeniyle PC5, 575 nm'de de ışık yayar. Bu ikincil emisyon piki, PC5 için lottan lota değişir. Bu nedenle, çok renkli analiz için, -PC5 konjugatının lotu değiştirildiğinde kompanzasyon matrisi dikkatlice kontrol edilmelidir.
8. Anti-insan monoklonal antikor terapisi ile tedavi edilen hastalarda, terapötik antikorun kısmi veya tam engellemesi nedeniyle spesifik hedeflenen antijenlerin tespiti azalabilir veya yapılamayabilir.
9. CD34-PC5 sonuçları, semptomlar, klinik öykü, ilave testlerden elde edilen veriler ve diğer uygun bilgiler dahil olmak üzere hastanın genel klinik tablosu dikkate alınarak yorumlanmalıdır.

Örnekler ve referanslar için Ek'e bakın.

TİCARİ MARKALAR

Bu belgede belirtilen Beckman Coulter, stilize logo ve Beckman Coulter ürün ve hizmet markaları, Beckman Coulter, Inc. firmasının ABD'de ve diğer ülkelerdeki ticari veya tescilli ticari markalarıdır.

EK BİLGİLER

Avrupa Birliği'nde ve aynı düzenleme rejiminin olduğu ülkelerdeki (In Vitro Diagnostik Tıbbi Cihazlar hakkında 2017/746/EU sayılı Yönetmelik) hasta/kullanıcı/üçüncü taraflar için; bu cihazın kullanımı sırasında veya cihazın kullanımının bir sonucu olarak ciddi bir olay meydana gelirse lütfen olayı üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makamınıza bildirin.

Summary of Safety and Performance (Güvenlik ve Performans Özeti) EUDAMED veritabanında mevcuttur: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVİZYON GEÇMİŞİ

REVİZYON AD:	Yayınlanma tarihi: Ekim 2020

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AW	Mayıs 2022
Beckman Coulter Global Etiketleme Politikasıyla uyumluluk sağlamak için ve IVD-R (AB)2017/746 gerekliliklerine göre güncellemeler yapıldı:	
Bölümler eklendi	BSI 2797 Numarası, Hedef Kullanıcı, Klinik Anlam, Konsantrasyon, Kesinlik, Doğruluk, Kör limiti ve tespit limiti, Ek Bilgiler, Revizyon Geçmişi.
Bilgi eklendi	Sınırlamalar bölümlerine bakın
İfade veya yazım güncellemeleri	Prosedür, Performans, Sınırlamalar, Uyarılar ve Önlemler, Saklama ve Stabilite bölümlerine bakın.
Bölümler kaldırıldı	Klinik uygulama örneği, Reaktifler, Laboratuvar içi yeniden üretilebilirlik, Linearite
Güncellenmiş bölümler	Kullanım Amacı, GHS Tehlike Sınıflandırması, Bozulma Göstergesi, Prosedür, Ek.

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AX	Nisan 2023
Güncellenmiş bölümler	Kazakça ekle
Güncellenmiş bölümler	Saklama ve stabilite

Düzeltilmiş Sürüm	AY
Revizyon Tarihi	Mayıs 2024
Güncellenmiş Çeviriler	**Klinik önemi:**
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Düzeltilmiş Sürüm	AZ
Revizyon Tarihi	Temmuz 2024
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Sembol Anahtarı

Semboller Sözlüğü beckman.com/techdocs adresinde bulunabilir (belge numarası B60062)

	Спецификации
Специфичность	CD34
Клон	581
Гибридома	NS0 x balb/c
Иммуноген	Human CD34+ leukaemic cells
Иммуноглобулин	IgG1
Вид	Мышь
Очистка	Аффинная хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Молярное отношение	PC5 / Ig: 0,5-1,5
Возбуждение λ	488 nm
Пик эмиссии	670 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 мг/мл БСА и 0,1% NaN_3

Конъюгированное антитело IOTest CD34-PC5

REF A07777 100 определений; 1 мл, 10 мкл / test

Применяется для *In Vitro* диагностики.

НАЗНАЧЕНИЕ

Это конъюгированное с флуорохромом антитело позволяет с использованием проточной цитометрии выполнить качественное и не автоматизированное определение клеточных популяций, экспрессирующих антиген CD34, который присутствует в биологических пробах человека (см. раздел «Пробы» ниже).

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Данный тест основан на способности специфических моноклональных антител связывать антигенные детерминанты, экспрессированные лейкоцитами.

Специфическое окрашивание лейкоцитов выполняется путем инкубирования пробы с реагентом IOTest. Затем методом лизиса удаляются эритроциты, и выполняется анализ лейкоцитов, не затронутых этим процессом, методом проточной цитометрии.

Проточный цитометр измеряет светорассеяние и флуоресценцию клеток. Это дает возможность разграничения интересующей популяции в электронном окне, определенном на гистограмме, что коррелирует с ортогональным светорассеянием (боковое рассеяние, или SS) и рассеянием света под острым углом (прямое рассеяние, или FS). Другие гистограммы, сочетающие два из других параметров, доступных на цитометре, могут использоваться как вспомогательные на стадии селекции, в зависимости от приложения, выбранного пользователем.

Флуоресценцию разграниченных клеток анализируют с целью различения положительно-окрашенных и неокрашенных событий. Результаты выражаются в виде процентного отношения положительных событий ко всем событиям, полученным в ходе селекции.

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ

Изделие предназначено для использования в лаборатории персоналом с профессиональной подготовкой.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

CD34-PC5 представляет собой антитело к CD34, используемое для идентификации и определения характеристик клеток, экспрессирующих антиген CD34, методом проточной цитометрии. Этот продукт отдельно от других исследований не может приводить к принятию каких-либо диагностических решений и не предназначен для этого.

При использовании в сочетании с другими маркерами этот продукт может использоваться в следующих целях.

- Для использования при дифференциальной диагностике пациентов с отклонениями гематологических результатов (при подозрении на наличие гематологических нарушений), а также для мониторинга пациентов с известными гематологическими нарушениями.
- Для определения прогноза у пациентов с гематопоэтическими новообразованиями.
- Для отслеживания процесса или результатов трансплантации.

См. следующие ссылки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

ПРОБЫ

При взятии образца венозной крови необходимо использовать стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта.

Пробы следует хранить при комнатной температуре (18–25°C), не встряхивая. Пробы следует гомогенизировать, осторожно перемешав, до отбора тестовой пробы.

Пробы требуется проанализировать в течение 24 ч после венипункции.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

См. специфический для партии сертификат анализа на веб-сайте www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Не используйте реагенты после истечения срока годности.
2. Не замораживать.
3. Перед использованием довести до комнатной температуры (18–25°C).
4. Минимизируют воздействие света.

5. Во избежание получения ошибочных результатов не допускайте микробной контаминации реагентов.
6. Следует с осторожностью обращаться с растворами антител, содержащими натрия азид (NaN_3). Не принимайте внутрь и избегайте любого контакта с кожей, слизистыми оболочками и глазами.

   Кроме того, в кислой среде натрия азид может образовывать потенциально опасную азотистоводородную кислоту. Если требуется утилизация, рекомендуется разводить реагент в большом объеме воды, прежде чем выливать его в канализацию, чтобы избежать накопления натрия азида в металлических трубах и исключить возможность взрыва.
7. Все пробы крови должны считаться потенциально инфицированными, при обращении с ними необходимо соблюдать осторожность (в частности, использовать защитные перчатки, одежду и очки).
8. Никогда не пипетируйте ртом и избегайте любого контакта проб с кожей, слизистыми и глазами.
9. При утилизации пробирок и одноразовых материалов следует использовать специальные предназначенные для сжигания контейнеры.
10. При утилизации реагентов и отходов необходимо следовать требованиям местного законодательства.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Не классифицируется как опасное вещество

SDS Паспорт безопасности доступен на сайте beckmancoulter.com/techdocs

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Этот реагент требуется хранить при температуре от 2 до 8°C, защищая от света, до и после вскрытия флакона.

Срок хранения закрытого флакона согласно исследованию стабильности: 1095 день.

Стабильность в открытом флаконе: реагент сохраняет стабильность в течение 180 дн.

ПРИЗНАКИ ПОРЧИ

Любые изменения внешнего вида реагентов могут говорить о порче, использовать такой реагент не следует.

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь со своим местным представителем Beckman Coulter.

СОДЕРЖАНИЕ

Консервант с содержанием азида натрия может образовывать взрывоопасные соединения в металлической водопроводной арматуре. См. бюллетень Национального института по охране труда и промышленной гигиене (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Взрывоопасные азиды) (16.8.76). Чтобы избежать накопления азидных соединений, промывайте сливные трубы водой после сброса неразбавленного реагента. Утилизацию азида натрия следует проводить в соответствии с соответствующими местными нормами.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, КОТОРЫЕ НЕ ВХОДЯТ В НАБОР:

- Необходимые для взятия проб пробирки и материалы.
- Автоматические пипетки с одноразовыми наконечниками для 10, 100 и 500 мкл.
- Пластиковые пробирки для гемолиза.
- Реагент для лизиса эритроцитов с этапом промывки после лизиса. Например: VersaLyse (ссылочный номер A09777).
- Реагент для фиксации лейкоцитов. Например: IOTest 3 Fixative Solution (фиксирующий раствор) (ссылочный номер A07800).
- Изотипический контроль -PC5: Реагент IOTest (ссылочный номер A07798).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрия фосфата; 0,145 M натрия хлорида; pH 7,2).
- Центрифугируйте.
- Автоматическая мешалка (вортексная)
- Проточный цитометр.

ПРОЦЕДУРА С РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для каждой анализируемой пробы в дополнение к тестовой пробирке можно добавить одну контрольную пробирку, в которой клетки смешаны в присутствии изотипического контроля (ссылочный номер A07798).

1. В каждую тестовую пробирку добавьте по 10 мкл специфического конъюгированного антитела IOTest, а в каждую контрольную пробирку — по 10 мкл изотипического контроля, если необходимо.
2. Добавьте 100 мкл тестовой пробы в каждую пробирку. Аккуратно перемешайте пробирки на вортексе.
3. Инкубируют при комнатной температуре (18–25°C) в течение 15-20 мин, в защищенном от света месте.
4. Затем выполняют лизис эритроцитов. См. вкладыш VersaLyse (ссылочный номер A09777) и, предпочтительно, следуйте процедуре с названием «с сопутствующей фиксацией», которая заключается в добавлении 1 мл смеси «Фиксирующей и лизирующей», приготовленной для немедленного применения. Немедленно перемешивают на вортексе в течение одной секунды и инкубируют в течение 10 минут при комнатной температуре, защищая от света.
5. Центрифугируют в течение 5 минут при 150 g при комнатной температуре.
6. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации.
7. Ресуспендируют осадок клеток, используя 3 мл PBS.
8. Повторите шаг 5.
9. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации и ресуспендируют осадок клеток, используя:

- 0,5 мл или 1 мл PBS плюс 0,1% формальдегида, если препараты следует хранить менее 24 ч. (PBS с 0,1% формальдегида можно получить путем разведения 12,5 мкл фиксирующего раствора IOTest 3 (ссылочный номер A07800) в 10-кратной концентрации в 1 мл PBS).
- 0,5 мл или 1 мл PBS без формальдегида, если препараты следует проанализировать в течение 2 ч.

Примечание. В обязательном порядке защищайте подготавливаемые материалы от солнечного света, храните их при температуре от 2 до 8°C.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Отсутствуют ожидаемые значения, релевантные для этого продукта.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Рабочие характеристики получены с использованием описанной выше процедуры на пробах, собранных не ранее чем за 24 часа до анализа в стерильные пробирки с солью ЭДТА как антикоагулянтом. Анализ проводится в течение 2 часов после иммуноокрашивания.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

CD34 представляет собой мономерный, сильно гликированный трансмембранный белок I типа с молекулярным весом 116 КДа (13). Существует две молекулярные формы CD34; форма полной длины с последовательностью из 385 аминокислот имеет внутриклеточный домен, с консенсусом фосфорилирования киназы C, серина и треонина. Укороченная форма утратила большую часть этого внутриклеточного домена. Внеклеточная форма присутствует в обеих формах CD34. Для CD34 известны три типа эпитопов, на основании дифференциальной чувствительности к нейраминидазе и гликопротеазе. Эпитопы I класса (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) чувствительны ко всем протеолитическим ферментам. Эпитопы II класса (QBEnd10) резистентны к нейраминидазе, но чувствительны к гликопротеазе. Клон 581 распознает эпитоп классового типа III, нечувствителен ко всем протеолитическим ферментам и охотно связывается со всеми гликоформами CD34 (14).

5th HLDA workshop (5-й семинар по дифференцировочным антигенам лейкоцитов человека) (Boston, 1993 г.) утвердил три типа эпитопов CD34 на основе дифференциальной чувствительности.

ПРЕЦИЗИОННОСТЬ

Процент положительных результатов был установлен с использованием цельной крови, в которую добавили положительные клетки. Каждую пробу измеряли 4 раза, два раза в день в течение 1 дня на 2 приборах, с использованием 2 партий реагентов моноклональных антител CD34-PC5. Измерения (% положительных) выполняли на проточном цитометре Navios. Анализ проводился на основе метода CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оценка прецизионности количественных методик измерения).

Наши критерии принятия зависят от количества положительных событий, измеренных для каждой популяции:

- Если положительных событий <1 500, CV <15%
- Если положительных событий >1 500, CV <10%

Цельная кровь с добавлением клеточной линии KG1a							
Количество положительных событий (среднее) = 5355							
	Между операторами	Между цитометрами	Внутри партии	Между партиями	Между анализами	Внутри анализа	Итого
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
РЕЗУЛЬТАТЫ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТЬ

Точность CD34-PC5 оценивалась путем сравнения результатов с результатами по референсному реагенту как предикатом. Анализ выполняли на проточном цитометре Navios с использованием набора проб цельной крови с добавлением положительных клеток. Систематическая ошибка оценки между тестовым и референсным реагентами была определена на основании различий между результатами теста. Если систематическая ошибка оценки находится в пределах допустимого диапазона ошибки или если p-значение указывает на отсутствие значительного различия (>0,05), тогда результаты теста для двух реагентов рассматриваются как эквивалентные.

Полученные результаты обобщены в таблице далее.

Количество доноров = 25				
Положительная мишень	Среднее значение Δ	Критерии Δ % клеток	p-значение	РЕЗУЛЬТАТЫ
Цельная кровь с добавлением клеточной линии KG1a	1,31	<3	5,01E-04	PASS

ПРЕДЕЛ БЛАНКА И ПРЕДЕЛ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Исследование было проведено в соответствии с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Оценка способности обнаружения для методик измерения клинической лаборатории). Предел чувствительности (LOD) — наименьшая концентрация аналита, которая может последовательно обнаруживаться. Полученные результаты обобщены в таблице ниже.

Positive Target	Предел бланка (клеток/мкл)	Предел чувствительности (клеток/мкл)
KG1a Клеточная линия	1	2

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. При проведении проточной цитометрии возможно получение ложных результатов, если цитометр не был идеально позиционирован, не была проведена правильная компенсация утечек флуоресцентного агента или точное позиционирование областей.
2. Предпочтительно использовать технику лизиса RBC с шагом промывки, так как этот реагент не был оптимизирован для техник лизиса «без промывки».

3. Для получения точных и повторяемых результатов необходимо выполнять процедуры в соответствии с инструкцией-вкладышем и требованиями надлежащей лабораторной практики.
4. Выполняется калибровка конъюгированного антитела этого реагента с целью получения наилучшего для данной конкретной задачи соотношения специфичного и неспецифичного сигнала. Поэтому при каждом тесте важно придерживаться правильного соотношения объема реагента и пробы.
5. При гиперлейкоцитозе, разбавляют кровь PBS до приблизительно 5 x 10^9 лейкоцитов/л (15).
6. При определенных заболеваниях, таких как острая почечная недостаточность или гемоглобинопатии, лизис эритроцитов может протекать медленно, быть неполным или даже невозможным. В таком случае рекомендуется изолировать одноядерные клетки, используя градиент плотности (например, фиколл), перед окрашиванием (16).
7. Вследствие тандемной структуры флуорохрома PC5 также излучает свет на 575 нм. Этот пик вторичной эмиссии различается от партии к партии PC5. Соответственно, для многоцветного анализа следует тщательно проверять матрицу компенсации при смене партии конъюгата -PC5.
8. У пациентов, получавших лечение античеловеческими моноклональными антителами, обнаружение специфических целевых антител может быть снижено или может отсутствовать вследствие частичной или полной блокировки терапевтическими антителами.
9. Результаты CD34-PC5 должны интерпретироваться с учетом общих клинических проявлений пациента, включая симптомы, историю болезни, данные дополнительных тестирований и прочую информацию.

Примеры и ссылки см. в Приложении.

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

Beckman Coulter, стилизованный логотип и упоминаемые здесь знаки продукции и услуг Beckman Coulter являются товарными знаками или зарегистрированными товарными знаками корпорации Beckman Coulter, Inc. в Соединенных Штатах и других странах.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для пациента / пользователя / третьей стороны в Европейском Союзе и в странах с идентичным регуляторным режимом (Регламент 2017/746/EC в отношении медицинских изделий для in vitro диагностики); если, во время использования этого изделия или в результате его использования произошел серьезный инцидент, сообщите о нем производителю и/или его уполномоченному представителю и своему национальному органу регулирования.

Summary of Safety and Performance (Сводные данные по безопасности и функциональным характеристикам) доступны в Европейской базе данных изделий медицинского назначения (EUDAMED): ec.europa.eu/tools/eudamed.

СВЕДЕНИЯ О ВЕРСИЯХ

ВЕРСИЯ AD:	Дата выпуска: Октябрь 2020 г.

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AW	Май 2022 г.
Обновления с целью приведения в соответствие политике международной маркировки Beckman Coulter и для выполнения требований IVD-R (EC)2017/746:	
Добавлены разделы	Номер BSI 2797, «Предполагаемый пользователь», «Клиническая значимость», «Концентрация», «Прецизионность», «Точность», «Предел бланка и предел чувствительности», «Дополнительная информация», «Сведения о версиях».
Добавлена информация	См. раздел «Ограничения»
Обновлены формулировки или исправлены опечатки	См. разделы «Процедура», «Эксплуатационные характеристики», «Ограничения», «Предупреждения и меры предосторожности», «Хранение и стабильность».
Удалены разделы	«Примеры клинических областей применения», «Реагенты», «Внутрилабораторная сходимость», «Линейность»
Обновленные разделы	«Назначение», «Классификация опасностей по системе СГС», «Признаки порчи», «Процедура», «Приложение».

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AX	Апрель 2023
Обновленные разделы	Добавить казахский язык
Обновленные разделы	Хранение и стабильность

Пересмотренная версия	AY
Дата пересмотра	Май 2024
Обновленные переводы	**Клиническая значимость:**
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Пересмотренная версия	AZ
Дата пересмотра	Июль 2024
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Определения символов

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (номер документа B60062)

	Spetsifikatsioonid
Spetsiifilisus	CD34
Kloon	581
Hübridoom	NS0 x balb/c
Immunogeen	Human CD34+ leukaemic cells
Immunoglobuliin	IgG1
Liigid	Hiir
Puhastamine	Afiinsuskromatograafia
Fluorokroom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molaarsuhe	PC5/Ig: 0,5-1,5
λ ergastumine	488 nm
Emission Peak	670 nm
Puhver	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/ml BSA ja 0,1% NaN_3

IOTest
konjugeeritud antikeha
CD34-PC5

REF A07777 100 analüüsi; 1 ml, 10 µl / test

***In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks**

KASUTUSOTSTARVE

See fluorokroomiga konjugeeritud antikeha võimaldab voolutsütomeetriaga kvalitatiivselt ja mitteautomatiseeritult tuvastada rakupopulatsioone, mis esitavad inimese bioloogilistes proovides antigeeni CD34 (vt allpool osa „Proovid“).

PÕHIMÕTE

Analüüs põhineb spetsiifiliste monoklonaalsete antikehade võimel seonduda leukotsüütide sünteesitavate antigeensete determinantidega.

Leukotsüütide eriomaseks värvimiseks tuleb proovi koos tootesarja IOTest reagendiga inkubeerida. Seejärel eemaldatakse erütrotsüüdid lüüsimisega ja pärast seda analüüsitakse voolutsütomeetriaga leukotsüüte, mida see protsess ei mõjuta.

Läbivoolutsütomeeter mõõdab valguse hajumist ja rakkude fluorestsentsi. See muudab võimalikuks huvialuse populatsiooni piiristamise histogrammil määratud elektroonilisel alal. Histogramm korreleerib valguse ortogonaalset hajumist (külghajumine ehk KH) ja kitsasnurga valguse hajumist (edasihajumine ehk EH). Teisi histogramme, kus ühendatakse tsütomeetrias saadaolevat kahte parameetrit, võib kasutada lüüsimisetapis olenevalt kasutaja valitud rakendusest.

Piiritletud rakkude fluorestsentsi analüüsitakse, et eristada positiivselt värvitud sündmusi värvimata sündmustest. Tulemusi kajastatakse positiivsete sündmuste protsentuaalse osakaaluna kõigi väravdamisega hõivatud sündmuste suhtes.

SIHTKASUTAJA

See toode on ette nähtud laboratoorseks kasutamiseks.

KLIINILINE TÄHTSUS

CD34-PC5 on CD34 antikeha, mida kasutatakse CD34 antigeeni sünteesivate rakkude voolutsütomeetriaga tuvastamiseks ja kirjeldamiseks. See toode üksi ei saa ega ole mõeldud ühegi diagnostilise otsuse tegemiseks.

Koos teiste markeritega kasutades saab seda toodet kasutada ühes või mitmes järgmistest funktsioonidest:

- Lihtsustamaks diferentsiaaldiagnoosi panemist hematoloogiliste ebanormaalsustega patsientidele, kellel kahtlustatakse hematoloogilise häire esinemist, ja teadaoleva hematoloogilise häirega patsientide jälgimiseks.
- Vereloome neoplasmiga patsientidele prognoosi andmise hõlbustamiseks.
- Siirdamisprotsessi või tulemuste jälgimiseks.

Vt järgmisi viiteid.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

PROOVID

Veeniverd tuleb võtta steriilsete katsutitega, mis sisaldavad antikoagulandina etüleendiamiintetraatsetaadi (EDTA) soola.

Proove tuleb hoida toatemperatuuril (18–25 °C) ja neid ei tohi raputada. Proove tuleb ühtlustada seda enne näidisproovi võtmist ettevaatlikult loksutades.

Proove tuleb analüüsida 24 tunni jooksul alates veenipunktsioonist.

KONTSENTRATSIOON

Vt partiispetsiifilist analüüsi sertifikaati veebilehelt www.beckman.com.

HOIATUS JA ETTEVAATUSABINÕUD

1. Ärge kasutage reagenti pärast aegumiskuupäeva.
2. Ärge külmutage.
3. Enne kasutamist laske tasakaalustuda toatemperatuuriga (18–25 °C).
4. Minimeerige kokkupuudet valgusega.
5. Vältige reagentide mikroobidega saastumist, vastasel juhul võite saada valed tulemused.

6. Antikehade lahuseid, mis sisaldavad naatriumasiidi (NaN_3), tuleb käsitseda ettevaatlikult. See pole mõeldud seespidiseks kasutamiseks. Vältige kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.

   Lisaks võib naatriumasiid moodustada happelises keskkonnas potentsiaalselt ohtliku hüdrasoonhappe. Kui see tuleb kõrvaldada, on soovitatav lahjendada reagenti suure hulga veega, enne kui see äravoolusüsteemi valada, et vältida plahvatusohtu ja naatriumasiidi kogunemist metalltorudesse.
7. Kõiki vereproove tuleb pidada potentsiaalselt nakkusohtlikuks ja käsitseda ettevaatusega (kasutage kaitsekindaid, kitlit ning kaitseprille).
8. Ärge kunagi pipettige suuga ja vältige proovide kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.
9. Verekatsutid ja käitlemiseks kasutatav ühekordselt kasutatav materjal tuleb hävitada põletamiseks ettenähtud spetsiaalsetes konteinerites.
10. Reagendid ja jäätmed tuleb kõrvaldada vastavalt kohalikele nõuetele.

GHS-I OHUKLASSIFIKATSIOON

Ei ole klassifitseeritud ohtlikuks

SDS Ohutuskaart on saadaval saidil beckmancoulter.com/techdocs

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Seda reagenti tuleb enne ja pärast viaali avamist hoida temperatuuril 2–8 °C ning valguse eest kaitstult.

Suletud viaali säilivusaeg stabiilsusuuringu põhjal: 1095 päeva.

Avatud viaali stabiilsus: reagent on stabiilne 180 päeva.

RIKNEMISE TUNNUSED

Igasugune muutus reagentide füüsilises välimuses võib viidata reagendi riknemisele ja seda ei tohi kasutada.

Lisateabe hankimiseks või kahjustatud toote saamisel helistage Beckman Coulteri klienditeenindusse numbril 800-742-2345 (USA või Kanada) või võtke ühendust kohaliku Beckman Coulteri esindajaga.

SISU

Naatriumasiidist konservant võib moodustada metallist kanalisatsioonitorudes plahvatusohtlikke ühendeid. Vt asutuse NIOSH teadaannet. Explosive Azide Hazard (Plahvatusohtliku asiidi oht) (16.8.76).
Vältimaks võimalikku asiidiühendite akumuleerimist, loputage äravoolutorusid pärast lahjendamata reagendi kõrvaldamist. Naatriumasiidi kõrvaldamine peab olema kooskõlas asjakohaste kohalike eeskirjadega.

VAJALIKUD, KUID KOMPLEKTI MITTEKUULUVAD MATERJALID

- Proovide kogumiseks vajalikud proovivõtukatsutid ja vahendid.
- Automaatpipetid ühekordselt kasutatavate otsakutega, mis võimaldavad teisaldada 10, 100 ja 500 µl.
- Plastist hemolüüsi katsutid.
- Erütrotsüütide lüüsireagent koos pesemisetapiga pärast lüüsi. Analüüsinäide VersaLyse (viitenr A09777).
- Leukotsüütide fikseerimisreagent. Näide Tootesarja IOTest 3 fikseerimisreagent (viitenr A07800).
- Isotüübi kontrollPC5: Tootesarja IOTest reagent (viitenr A07798).
- Puhver (PBS: 0,01 M naatriumfosfaat; 0,145 M naatriumkloriid; pH 7,2).
- Tsentrifuugige.
- Automaatsegisti (vibratsioonsegamise tüüpi).
- Voolutsütomeeter.

PROTSEDUUR REAGENDIGA VERSALYSE

Iga analüüsitud proovi kohta võib lisaks analüüsikatsutile lisada ühe kontrollkatsuti, milles rakud segatakse isotüübi kontrolliga (viitenr A07798).

1. Lisage igasse analüüsikatsutisse 10 µl spetsiifilist tootesarja IOTest konjugeeritud antikeha ja vajaduse korral igasse kontrollkatsutisse 10 µl isotüüpset kontrolli.
2. Lisage igasse katsutisse 100 µl analüüsiproovi. Vibratsioonsegage ettevaatlikult katsuteid.
3. Inkubeerige valguse eest kaitstult 15–20 minutit toatemperatuuril (18–25 °C).
4. Seejärel lüüsige erütrotsüüdid. Lugege VersaLyse'i (viitenr A09777) teabelehte ja järgige eelistatavalt protseduuri nimega „samaaegse fikseerimisega", mis põhineb ekstemporaalselt ettevalmistatud 1 ml segu „Fix-and-Lyse" lisamisel. Vibratsioonsegage kohe üks sekund ja inkubeerige 10 minutit toatemperatuuril valguse eest kaitstult.
5. Tsentrifuugige 5 minutit toatemperatuuril kasutades sätet 150 x g.
6. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus.
7. Taassuspendeerige rakusade PBS-is, mille kogus on 3 ml.
8. Korrake etappi 5.
9. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus ja taassuspendeerige rakugraanuleid vahendiga:

- 0,5 ml või 1 ml PBS-i ja 0,1% formaldehüüdi, kui preparaate tuleb hoida vähem kui 24 tundi. (0,1% formaldehüüdi sisaldava PBS-i saamiseks võite lahjendada 12,5 µl tootesarja IOTest 3 10x kontsentratsioonil fikseerimislahust (viitenr A07800) PBS-is, mille kogus on) 1 ml.
- 0,5 ml või 1 ml formaldehüüdita PBS-iga, kui valmissegusid analüüsitakse 2 tunni jooksul.

Märkus Preparaate tuleb alati hoida temperatuuril 2–8 °C ja valguse eest kaitstult.

OODATUD VÄÄRTUSED

Selle tootega ei ole seotud oodatud väärtusi.

TOIMIMINE

Toimimisandmed saadakse kasutades ülalkirjeldatud protseduuri vähem kui 24 tundi vanadel antikoagulandi EDTA naatriumsoolaga steriilsetesse katsutitesse kogutud vereproovidel. Analüüs tehakse 2 tunni jooksul pärast immuunovärvimist.

SPETSIIFILISUS

CD34 on monomeerne tugevalt glükosüleeritud I tüübi transmembraanne 116 KDa valk (13). CD34-l on kaks molekulaarset vormi: täispikal 385 aminohappelisest järjestusest koosneval vormil on rakusisene domeen, mis sisaldab proteiinkinaasi C, seriini ja treoniini fosforüülimise kooslust. Kärbitud vormil puudub suurem osa rakusisesest domeenist. Rakuväline vorm esineb mõlemal CD34 vormil. CD34-l on erineva tundlikkuse järgi neuramidaasi ja glükoolproteaasi I klassi epitoopidele tuvastatud kolme tüüpi epitoope (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12,8, ICH3), mis on tundlikud kõigi proteolüütiliste ensüümide suhtes. II klassi epitoobid on (QBEnd10) resistentsed neuraminidaasi suhtes, kuid tundlikud glükoproteaasi suhtes. Kloon 581 tunneb ära a-klassi III tüübi epitoobi ning on tundetu kõigi proteolüütiliste ensüümide suhtes ja seondub innukalt kõigi CD34 glükovormidega (14).

Töötoas 5th HLDA workshop (5. HLDA töötuba) (Boston, 1993) kiideti heaks CD34 kolm epitoobitüüpi diferentsiaaltundlikkuse põhjal.

TÄPSUS

Positiivsete väärtuste protsent määrati täisverega, millele oli lisatud positiivseid rakke. Igat proovi testiti 4 korda, kaks korda päevas, 1 päeva jooksul 2 instrumendil, kasutades 2 CD34-PC5 monoklonaalsete antikehade reagentide partiid. Mõõtmised (% positiivne) tehti Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsiti CLSI meetodi EP5-A2 põhjal. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivsete mõõtmismeetodite täpsuse näitajate hindamine).

Meie sobivuskriteeriumid sõltuvad iga populatsiooni kohta mõõdetud positiivsete sündmuste arvust:

- Positiivse sündmuse korral < 1500, CV < 15%
- Positiivse sündmuse korral > 1500, CV < 10%

Täisveri lisatud KG1a rakuliiniga							
Positiivsete sündmuste arv (keskmine) = 5355							
	Kasutajatevaheline	Tsütomeetritevaheline	Partiisisene	Partiidevaheline	Testidevaheline	Testisisene	Kokku
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
TULEMUSED	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

MÕÕTETÄPSUS

CD34-PC5 mõõtetäpsust hinnati võrreldes tulemusi võrdlusreagendiga kui predikaadiga täisvereproovide komplektis, millele oli lisatud Naviosi voolutsütomeetriaga testitud positiivseid rakke. Analüüsi- ja võrdlusreagendi erinevused määrati analüüsitulemuste erinevuse põhjal. Kui erisus jääb lubatud veavahemikku või kui p-väärtus ei näita statistiliselt olulist erinevust (> 0,05), loetakse kahe reagendi analüüsitulemused võrdväärseteks.

Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis.

Doonorite arv = 25				
Positiivne siht	Keskmine Δ	Δ% raku kriteeriumid	p-väärtus	TULEMUSED
Täisveri lisatud KG1a rakuliiniga	1,31	<3	5,01E-04	PASS

NULLPIIR JA TUVASTUSPIIR

Uuriti vastavalt CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Kliinilise labori mõõtmisprotseduuride avastamisvõime hindamise) nõuetele. Tuvastuspiir (LOD) on väikseim analüüdi kontsentratsioon, mida saab järjekindlalt määrata. Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis:

Positive Target	Nullpiir (rakku/µl)	Tuvastuspiir (rakku/µl)
KG1a Rakuliin	1	2

PIIRANGUD

1. Voolutsütomeetria võib anda valed tulemused, kui tsütomeeter ei ole ideaalselt joondatud, kui fluorestsentsi lekkeid ei ole õigesti kompenseeritud ja kui piirkonnad ei ole hoolikalt paigutatud.
2. Eelistatav on kasutada pesemisetapiga RBC lüüsi tehnikat, kuna seda reagenti pole optimeeritud „pesemiseta“ lüüsi tehnikate jaoks.
3. Täpsed ja korratavad tulemused saadakse, kui kasutatavad protseduurid on kooskõlas tehnilise teabelehe ja heade laboritavadega.
4. Selle reagendi pööratud antikeha kalibreeritakse nii, et tagatud oleks parim spetsiifilise/mittespetsiifilise signaali suhe. Seetõttu on igas analüüsis oluline järgida reagendi- ja proovimahu suhet.
5. Hüperleukotsütoosi korral lahjendage verd PBS-is nii, et saadav väärtus oleks ligikaudu 5 x 10^9 leukotsüüti/l kohta (15).
6. Teatud haigusseisundite (näiteks raske neerupuudulikkuse või hemoglobinopaatia) korral võib erütrotsüütide lüüsimine olla aeglane, mittetäielik või isegi võimatu. Sellisel juhul on enne värvimist soovitatav mononukleaarsete rakkude isoleerimine tihedusgradiendi (näiteks Ficoll-gradiendi) abil (16).
7. Fluorokroomi tandemstruktuuri tõttu kiirgab PC5 valgust ka lainepikkusel 575 nm. Sekundaarne kiirgumise suurim tase on erinev sõltuvalt PC5 partiidest. Seetõttu tuleb mitmevärvilise analüüsi korral PC5-konjugaadi partii vahetamisel kontrollida kompensatsioonimaatriksit.
8. Inimesevastaste monoklonaalsete antikehadega ravitud patsientidel võib spetsiifiliste antigeenide tuvastamise võime väheneda või puududa, sest need on terapeutiliste antikehade poolt osaliselt või täielikult blokeeritud.
9. CD34-PC5 tulemuste tõlgendamisel tuleb arvestada patsiendi terviklikku kliinilist pilti, sh sümptomeid, kliinilist anamneesi, lisaanalüüside andmeid ja muud asjakohast teavet.

Vt näiteid ja viiteid lisast.

KAUBAMÄRGID

Beckman Coulter, stiliseeritud logo ning selles juhendis nimetatud ettevõtte Beckman Coulter toote- ja teenusemärgid on ettevõtte Beckman Coulter, Inc. kaubamärgid või registreeritud kaubamärgid Ameerika Ühendriikides ja teistes riikides.

LISATEAVE

Patsiendile / kasutajale / muule osapoolele Euroopa Liidus ja identse regulatsioonirežiimiga riikides (määrus (EL) nr 2017/746 in vitro diagnostikameditsiiniseadmete kohta), kui selle seadme kasutamise ajal või selle kasutamise tagajärjel on toimunud tõsine vahejuhtum, teatage sellest tootjale ja/või tema volitatud esindajale ning teie riiklikult pädevale asutusele.

Summary of Safety and Performance (Ohutuse ja kliinilise toimivuse kokkuvõte) on EUDAMED-andmebaasis: ec.europa.eu/tools/eudamed.

VERSIOONI AJALUGU

REVISION AD:	Avaldamise kuupäev: oktoober 2020

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AW	Mai 2022
Värskendused, mis vastavad Beckman Coulteri ülemaailmse märgistamise poliitikale ja IVD-R (EL) 2017/746 nõuetele:	
Lisatud osad	BSI 2797 number, sihtkasutaja, kliiniline tähtsus, kontsentratsioon, täpsus, mõõtetäpsus, nullpiir ja tuvastuspiir, lisateave, versiooni ajalugu.
Lisatud informatsioon	Vaata osa „Piirangud“
Fraseerimine või tüpograafiline värskendamine	Vaata osasid Protseduur, Toimimine, Piirangud, Hoiatus ja ettevaatusabinõud, Säilitamine ja stabiilsus.
Eemaldatud osad	Kasutusotstarvete, reagentide, laborisisese korratavuse, lineaarsuse näited
Uuendatud jaotised	Kasutusotstarve, GHS-i ohuklassifikatsioon, Riknemise tunnused, Protseduur, Lisa.

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AX	aprill 2023
Uuendatud jaotised	Lisada kasahhi keel
Uuendatud jaotised	Säilitamine ja stabiilsus

Muudetud versioon	AY
Muutmise kuupäev	mai 2024
Värskendatud tõlked	**Kliiniline tähtsus:**
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Muudetud versioon	AZ
Muutmise kuupäev	juuli 2024
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Sümboli tähis

Sümbolite mõisted on kättesaadavad veebilehel beckman.com/techdocs (dokument nr B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD34
Klon	581
Hibridom	NS0 x balb/c
Imunogen	Human CD34+ leukaemic cells
Imunoglobulin	IgG1
Vrsta	Miš
Pročišćavanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molarni omjer	PC5 / Ig: 0,5-1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna emisija	670 nm
Pufer	PBS pH 7,2 uz 2 mg/mL BSA i 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano antitijelo CD34-PC5

REF A07777 100 testiranja; 1 mL, 10 µL / test

Za *in vitro* dijagnostičku uporabu

NAMJENA

To fluorokromom konjugirano antitijelo omogućuje kvalitativno i neautomatizirano prepoznavanje populacija stanica koje eksprimiraju antigen CD34 prisutan u humanim biološkim uzorcima uz pomoć protočne citometrije (pogledajte odjeljak „Uzorci" u nastavku).

NAČELO

Ovaj je test utemeljen na mogućnosti vezivanja specifičnih monoklonskih antitijela na antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično se bojenje leukocita izvodi inkubacijom uzorka s reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utječe, analiziraju se protočnom citometrijom.

Citometar toka mjeri difuziju svjetlosti i fluorescenciju stanica. Omogućuje razgraničavanje promatrane populacije unutar elektroničkog prozora definiranog na histogramu, koji stvara korelaciju između ortogonalne difuzije svjetlosti (bočnog raspršenja (BR)) i difuzije uskokutne svjetlosti (prednjeg raspršenja (PR)). Drugi histogrami koji kombiniraju dva od više različitih parametara dostupnih na citometru mogu se upotrebljavati kao pomoć u fazi ograđivanja ovisno o primjeni koju je odabrao korisnik.

Analizira se fluorescencija ograničenih stanica da bi se pozitivno obojeni događaji odvojili od neobojenih. Rezultati se izražavaju kao postotak pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobivene ograđivanjem.

PREDVIĐENI KORISNIK

Proizvod je namijenjen za profesionalnu laboratorijsku uporabu.

KLINIČKA RELEVANTNOST

CD34-PC5 antitijelo je na CD34 koje se koristi za prepoznavanje i karakteriziranje stanica koje eksprimiraju antigen CD34 protočnom citometrijom. Ovaj proizvod samostalno ne može generirati nikakav dijagnostički zaključak niti je tome namijenjen.

Kada se upotrebljava u kombinaciji s drugim markerima, ovaj se proizvod može upotrebljavati u jednoj ili više sljedećih funkcija:

- Kao pomoć prilikom postavljanja diferencijalne dijagnoze u hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematološki poremećaj te za praćenje pacijenata s poznatim hematološkim poremećajem.
- Kao pomoć prilikom donošenja prognoze za pacijente s hematopoetskom neoplazmom.
- Za nadzor postupka ili rezultata transplantacije.

Pogledajte sljedeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

UZORCI

Venska krv mora se uzeti sterilnim epruvetama koje kao antikoagulans sadrže EDTA sol.

Uzorke držite na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C) i nemojte ih tresti. Prije uzimanja testnog uzorka potrebno je homogenizirati uzorke pažljivim mućkanjem.

Uzorci venske krvi moraju se analizirati u roku od 24 sata od njihova uzimanja.

KONCENTRACIJA

Na web-mjestu www.beckman.com pogledajte Certifikat o analizi specifičan za lot koji upotrebljavate.

UPOZORENJE I MJERE OPREZA

1. Reagens nemojte upotrebljavati nakon isteka roka trajanja.
2. Nemojte zamrzavati.
3. Prije upotrebe pustite da dosegne sobnu temperaturu (18 – 25 °C).
4. Smanjite izlaganje svjetlu.
5. Izbjegavajte mikrobnu kontaminaciju reagensa ili može doći do netočnih rezultata.

6. Otopinama antitijela koje sadrže natrijev azid (NaN_3) potrebno je rukovati oprezno. Ne gutajte i izbjegavajte dodir s kožom, sluznicom i očima.

   Štoviše, natrijev azid u kiselom mediju može formirati potencijalno opasnu hidrazoičnu kiselinu. Ako je reagens potrebno odložiti u otpad, preporučuje se da ga razrijedite u velikoj količini vode prije nego što ga izlijete u odvodni sustav da biste izbjegli nakupljanje natrijeva azida u metalnim cijevima i spriječili opasnost od eksplozije.
7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno zaraznima te je njima potrebno rukovati oprezno (odnosno nositi zaštitne rukavice, odjeću i naočale).
8. Nikada ne pipetirajte ustima te izbjegavajte doticaj uzoraka s kožom, sluznicom i očima.
9. Epruvete s krvlju i otpadni materijal za rukovanje treba odložiti u jednokratne spremnike namijenjene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad potrebno je ukloniti u skladu s lokalnim zahtjevima.

KLASIFIKACIJA OPASNOSTI PREMA GHS-U

Nije klasificiran kao opasan

SDS Sigurnosni list dostupan je na adresi beckmancoulter.com/techdocs

POHRANA I STABILNOST

Reagens se mora čuvati na temperaturi između 2 i 8 °C te zaštićen od svjetlosti, kako prije, tako i poslije otvaranja bočice.

Vijek trajanja zatvorene bočice prema ispitivanju stabilnosti: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dana.

DOKAZ PROPADANJA

Svaka promjena fizičkog izgleda reagensa može upućivati na propadanje te se reagens ne smije upotrebljavati.

Ako su vam potrebne dodatne informacije ili ste primili oštećen proizvod, nazovite korisnički servis tvrtke Beckman Coulter na 800-742-2345 (u SAD-u ili Kanadi) ili se obratite lokalnom predstavniku tvrtke Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans s natrijevim azidom može stvoriti eksplozivne spojeve u metalnim cjevovodima. Pogledajte bilten NIOSH: Explosive Azide Hazard (Opasnost od eksplozije azida) (16. 8. 76.).
Da biste spriječili moguće taloženje komponenata azida, prilikom odlaganja nerazrijeđenog reagensa u otpad odvodne cijevi isperite vodom. Odlaganje natrijeva azida u otpad mora biti u skladu s odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU DIO KOMPLETA:

- Epruvete za uzorke i materijal potreban za uzimanje uzoraka.
- Automatske pipete s jednokratnim nastavcima za 10, 100 i 500 µL.
- Plastične hemolitičke epruvete.
- Reagens za liziranje eritrocita s fazom pranja nakon liziranja. Na primjer: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primjer: Otopina za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotipska kontrola PC5: reagens IOTest (ref. A07798).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijeva fosfata, 0,145 M natrijeva klorida, pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska miješalica (tip vorteks).
- Citometar toka.

POSTUPAK S REAGENSOM VERSALYSE

Za svaki uzorak koji se analizira može se uz testnu epruvetu dodati jedna kontrolna epruveta u kojoj su stanice pomiješane u prisutnosti izotipskih kontrola (ref. A07798).

1. Dodajte 10 µL konjugiranog antitijela specifičnog za IOTest u svaku testnu epruvetu i, ako je potrebno, 10 µL izotipske kontrole u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µL testnog uzorka u svaku epruvetu. Epruvete polako promiješajte u vorteks-miješalici.
3. Inkubirajte od 15 do 20 min na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C), zaštićeno od svjetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje eritrocita. Pogledajte brošuru VersaLyse (ref. A09777) i po mogućnosti slijedite postupak „uz istovremeno fiksiranje" koji se sastoji od dodavanja 1 mL svježe pripremljene mješavine za fiksiranje i liziranje. Odmah promiješajte u vorteks-miješalici jednu sekundu i inkubirajte 10 min pri sobnoj temperaturi, zaštićeno od svjetlosti.
5. Centrifugirajte 5 min pri 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću 3 mL PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Uklonite supernatant aspiracijom i stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću:

- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a plus 0,1 % formaldehida ako se pripravke planira čuvati manje od 24 sati. (PBS s 0,1 % formaldehida možete pripremiti razrjeđivanjem 12,5 µL otopine za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800) pri njezinoj 10X koncentraciji u 1 mL PBS-a).
- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a bez formaldehida, ako pripravak treba analizirati u roku od 2 sati.

Napomena: U svakom slučaju pripravke čuvajte zaštićene od svjetlosti na temperaturi između 2 i 8 °C.

OČEKIVANE VRIJEDNOSTI

Nema očekivanih vrijednosti relevantnih za ovaj proizvod.

PERFORMANSE

Podaci o performansama dobivaju se prethodno opisanim postupkom na manje od 24 sata starim uzorcima krvi prethodno prikupljenima u sterilne epruvete uz EDTA sol kao antikoagulans. Analiza se provodi u roku od 2 sata nakon imunobojenja.

SPECIFIČNOST

CD34 je monomerički protein transmembrane tipa I s visokom koncentracijom glukoze i molekularnom masom od 116 kDa (13). Postoje dva molekularna oblika CD34; oblik pune dužine s 385 nizova aminokiseline ima unutarstaničnu domenu koja sadrži konsenzus proteinske C-kinaze, serina i fosforilaciju treonina. U skraćenom obliku nedostaje većina unutarstanične domene. Izvanstanični je oblik prisutan u oba oblika CD34. U slučaju CD34 prepoznate su tri vrste epitopa na temelju diferencijalne osjetljivosti na neuramidazu, a epitopi glikoproteaze razreda I (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) osjetljivi su na sve proteolitičke enzime. Epitopi razreda II (QBEnd10) otporni su na neuraminidazu, no osjetljivi su na glikoproteazu. Klon 581 prepoznaje razred epitopa tipa III te nije osjetljiv ni na jedan proteolitički enzim i dobro se veže s gliko-oblicima CD34 (14).

Na petoj su HLDA radionici (Boston, 1993.) na temelju diferencijalne osjetljivosti odobrene tri vrste epitopa CD34.

PRECIZNOST

Postotne pozitivne vrijednosti utvrđene su pomoću pune krvi u koju su dodane pozitivne stanice. Svaki je uzorak obrađen 4 puta, dvaput dnevno tijekom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagensa s monoklonskim antitijelima CD34-PC5. Mjerenja (% pozitivnih vrijednosti) provedena su s pomoću citometra toka Navios. Analiza je provedena na temelju CLSI metode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procjena radnih značajki preciznosti metoda kvantitativnog mjerenja).

Naši kriteriji prihvatljivosti ovise o broju pozitivnih događaja izmjerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivni događaj < 1500, CV < 15 %
- Ako je pozitivni događaj > 1500, CV < 10 %

Puna krv u koju je dodana stanična linija KG1a							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrijednost) = 5355							
	Među operatorima	Među citometrima	Unutar lota	Među lotovima	Među obradama	Unutar obrade	Ukupno
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost mjerenja CD34-PC5 procijenjena je usporedbom rezultata s referentnim reagensom kao predikatom na skupu uzoraka pune krvi u koje su dodane pozitivne stanice obrađenima na protočnom citometru Navios. Odstupanje između testa i referentnog reagensa utvrđeno je na temelju razlike između rezultata testa. Ako je odstupanje unutar dopuštenog raspona pogreške ili ako p-vrijednost upućuje na to da nema značajne razlike (> 0,05), rezultati testa za dva reagensa smatraju se istovjetnima.

Dobiveni rezultati sažeti su u tablici u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivna ciljna vrijednost	Srednja vrijednost Δ	Kriterij stanica Δ %	p-vrijednost	REZULTATI
Puna krv u koju je dodana stanična linija KG1a	1,31	<3	5,01E-04	PASS

GRANICA SLIJEPE PROBE I GRANICA DETEKCIJE

Ispitivanje je izvedeno u skladu s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Procjena sposobnosti otkrivanja za postupke mjerenja u kliničkim laboratorijima). Granica detekcije (LOD) – najniža koncentracija analita koja se može dosljedno otkriti. Dobiveni rezultati sažeti su u sljedećoj tablici:

Positive Target	Granica slijepe probe (stanica/µL)	Granica detekcije (stanica/µL)
KG1a Stanična linija	1	2

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti pogrešne rezultate ako citometar nije savršeno poravnat, ako fluorescentna curenja nisu pravilno kompenzirana i ako regije nisu pažljivo pozicionirane.
2. Poželjno je upotrebljavati tehniku liziranja pomoću RBC-a uz korak pranja jer ovaj reagens nije optimiziran za tehnike liziranja „bez pranja”.
3. Točni i ponovljivi rezultati dobivat će se sve dok se postupci izvode u skladu s tehničkom brošurom i u skladu s dobrim laboratorijskim praksama.
4. Konjugirano antitijelo tog reagensa kalibrirano je tako da pruža najbolji omjer specifičnog i nespecifičnog signala. Zato je važno pridržavati se omjera volumena reagensa i volumena uzorka prilikom svakog testiranja.
5. U slučaju hiperleukocitoze razrijedite uzorak u PBS-u da biste dobili vrijednost od približno 5 x 10^9 leukocita/L (15).
6. Pri određenim bolestima, kao što je ozbiljno zatajenje bubrega ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak i nemoguće. U tom se slučaju prije bojenja preporučuje izoliranje jednojezgrenih stanica s pomoću gradijenta gustoće (na primjer, Ficoll) (16).
7. Zbog tandemske strukture fluorokroma PC5 emitira svjetlost i pri duljini od 575 nm. Najveće vrijednosti sekundarne emisije razlikuju se ovisno o lotu PC5. Stoga je u slučaju višebojne analize prilikom promjene lota konjugata -PC5 potrebno pozorno provjeriti matricu kompenzacije.
8. U pacijenata koji primaju terapiju monoklonskim antihumanim antitijelima detekcija određenih ciljanih antigena može biti smanjena ili nepostojeća zbog djelomičnog ili potpunog blokiranja terapijskih antitijela.

9. Rezultate CD34-PC5 treba tumačiti u kontekstu ukupne kliničke slike pacijenta, uključujući simptome, anamnezu, podatke iz dodatnih testova i druge odgovarajuće informacije.

Za primjere i reference pogledajte Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizirani logotip te oznake proizvoda i usluga tvrtke Beckman Coulter žigovi su ili registrirani žigovi tvrtke Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim državama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta / korisnika / treću stranu u Europskoj uniji i u državama s identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskim proizvodima za in vitro dijagnostiku): ako tijekom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe dođe do ozbiljnog štetnog događaja, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovu ovlaštenom zastupniku te nadležnom nacionalnom tijelu.

Summary of Safety and Performance (Sažetak podataka o sigurnosti i performansama) potražite u bazi podataka EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

POVIJEST REVIZIJA

REVIZIJA AD:	Datum objave: listopad 2020.

REVIZIJA	**Datum objave**
AW	Svibanj 2022.
Ažuriranja radi usklađivanja s pravilnikom o globalnom označavanju tvrtke Beckman Coulter i u skladu sa zahtjevima uredbe (EU)2017/746 o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima (IVD-R):	
Dodani odjeljci	Broj BSI 2797, Ciljni korisnik, Klinička relevantnost, Koncentracija, Preciznost, Točnost, Granica slijepe probe i granica detekcije, Dodatne informacije, Povijest revizija.
Dodane informacije	Pogledajte odjeljke Ograničenja
Preformuliranje ili tipografska ažuriranja	Pogledajte odjeljke Postupak, Performanse, Ograničenja, Upozorenje i mjere opreza, Pohrana i stabilnost.
Uklonjeni odjeljci	Primjer kliničkih primjena, Reagensi, Unutarlaboratorijska obnovljivost, Linearnost
Ažurirani odjeljci	Namjena, Klasifikacija opasnosti prema GHS-u, Dokaz pogoršanja stanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum objave**
AX	Travanj 2023
Ažurirani odjeljci	Dodati kazaški
Ažurirani odjeljci	Čuvanje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Svibanj 2024
Ažurirani prijevodi	**Klinička relevantnost:**
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Srpanj 2024
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Pojmovnik simbola

Pojmovnik simbola dostupan je na web-mjestu beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Спецификации
Специфичност	CD34
Клонинг	581
Хибридома	NS0 x balb/c
Имуноген	Human CD34+ leukaemic cells
Имуноглобулин	IgG1
Вид	Мишка
Пречистване	Афинитетна хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Моларно съотношение	PC5 / Ig: 0,5-1,5
λ възбуждане	488 nm
Емисионен пик	670 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 mg/mL BSA и 0,1 % NaN_3

IOTest
Конюгирано антитяло
CD34-PC5

REF A07777 100 теста; 1 mL, 10 µL / test

За *ин витро* диагностика

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Това флуорохром-конюгирано антитяло позволява качествена и неавтоматизирана идентификация с помощта на поточна цитометрия на клетъчни популации, експресиращи CD34 антиген, присъстващ в човешки биологични проби (вижте раздел „Проби“ по-долу).

ПРИНЦИП

Този тест се базира на способността на специфични моноклонални антитела да се свързват с антигенни детерминанти, експресирани от левкоцитите.

Специфично оцветяване на левкоцитите се извършва чрез инкубиране на пробата с реактива IOTest. След това червените кръвни телца се отстраняват чрез лизиране, а левкоцитите, които не се повлияват от този процес, се анализират чрез поточна цитометрия.

Поточният цитометър измерва разсейването на светлината и флуоресценцията на клетките. Това прави възможно разграничаването на популацията, която се изследва, в електронния прозорец, дефиниран на една хистограма, която корелира с ортогоналната дифузия на светлината (странично разсейване) и дифузията на тесноъгълна светлина (предно разсейване). Други хистограми, комбиниращи два от различните параметри на разположение на цитометъра, могат да бъдат използвани като основа в етапа на определяне на област за анализ в зависимост от приложението, избрано от потребителя.

Флуоресценцията на разграничените клетки се анализира, за да се разграничат позитивно оцветените събития от неоцветените такива. Резултатите се изразяват като процент на положителни събития във връзка с всички събития, получени от определянето на областта за анализ.

ПРЕДВИДЕН ПОТРЕБИТЕЛ

Този продукт е предназначен само за лабораторна професионална употреба.

КЛИНИЧНА ЗНАЧИМОСТ

CD34-PC5 е антитяло CD34, използвано за идентифициране и характеризиране чрез поточна цитометрия на клетки, експресиращи CD34 антиген. Този продукт не може и не е предназначен самостоятелно да генерира каквото и да е диагностично заключение.

Когато се използва в комбинация с други маркери, този продукт може да се използва в една или повече от следните функции:

- Като помощно средство при поставяне на диференциална диагноза на хематологично абнормни пациенти, суспектни за хематологично нарушение, и за проследяване на пациенти с известно хематологично нарушение.
- Като помощно средство при създаване на прогноза за пациенти с хематопоетична неоплазма.
- За проследяване на процес или резултати от трансплантация.

Вижте следните справки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

ПРОБИ

Венозна кръв трябва да се взема в стерилни епруветки, съдържащи сол EDTA като антикоагулант.

Пробите трябва да бъдат съхранявани при стайна температура (18–25°C) и не трябва да се разклащат. Пробите трябва да бъдат хомогенизирани чрез внимателно смесване, преди да се вземе пробата за теста.

Пробите трябва да бъдат анализирани в рамките на 24 часа от венопункturата.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Вижте Сертификата за анализ за конкретната партида на www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Не използвайте реактива след изтичане на срока на годност.
2. Не замразявайте.
3. Оставете на стайна температура (18–25°C) преди употреба.
4. Минимизирайте излагането на светлина.

5. Избягвайте микробно замърсяване на реактивите, в противен случай е възможно да се получат погрешни резултати.
6. С разтворите на антитела, съдържащи натриев азид (NaN_3), трябва да се работи внимателно. Не приемайте вътрешно и избягвайте всякакъв контакт с кожата, лигавицата и очите.

   В допълнение, в киселинна среда натриевият азид може да образува потенциално опасната хидразоена киселина. Ако тя трябва да се изхвърли, препоръчва се реактивът да се разреди в голям обем вода, преди да се излее в дренажната система, за да се избегне натрупването на натриев азид в металните тръби и да се предотврати риск от експлозия.
7. Всички кръвни проби трябва да се считат за потенциално заразни и с тях трябва да се борави внимателно (по-специално: носене на защитни ръкавици, облекло и очила).
8. Никога не пипетирайте с уста и избягвайте всякакви контакти между пробите и Вашата кожа, лигавица и очи.
9. Епруветките за кръв и материалите за еднократна употреба, използвани за боравене, трябва да се изхвърлят във временни контейнери, предназначени за изгаряне.
10. Реактивите и отпадъците трябва да бъдат елиминирани в съответствие с местните изисквания.

КЛАСИФИЦИЯ НА ОПАСНОСТИТЕ ПО GHS

Не е класифициран като опасен

SDS Информационният лист за безопасност е наличен на адрес beckmancoulter.com/techdocs

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Този реактив трябва да се съхранява при температури между 2 и 8°C и да бъде защитен от светлина преди и след отваряне на флакона.

Изследване на срок на годност при затворена епруветка и стабилност: 1095 дни.

Стабилност на отворен флакон: реактивът е стабилен за 180 дни.

ДАННИ ЗА ВЛОШАВАНЕ

Всяка промяна във физическия изглед на реактивите може да е признак за влошаване и реактивът не трябва да бъде използван.

За допълнителна информация или при получаване на повреден продукт се свържете с отдела за обслужване на клиенти на Beckman Coulter на тел. 800-742-2345 (САЩ или Канада) или се свържете с местния представител на Beckman Coulter.

СЪДЪРЖАНИЕ

Консервантът натриев азид може да образува експлозивни съединения в метални отводнителни тръбопроводи. Вижте Бюлетина на NIOSH: Explosive Azide Hazard (Бюлетин на Националния институт по безопасност и хигиена на труда: Опасност от експлозия на азид) (16/8/76).
За да избегнете възможно натрупване на азидни съединения, промивайте канализационните тръби с вода след изхвърляне на неразтворен реактив. Изхвърлянето на натриев азид трябва да бъде в съответствие с местните разпоредби.

НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СА ДОСТАВЕНИ С КОМПЛЕКТА:

- Епруветки за проби и материали, необходими за вземане на проби.
- Автоматични пипети с накрайници за еднократна употреба за 10, 100 и 500 µL.
- Пластмасови хемолизни епруветки.
- Реактив за лизис на червени кръвни телца с етап на отмиване след лизис. Например: VersaLyse (Реф. A09777).
- Реактив за левкоцитна фиксация. Например: IOTest 3 фиксиращ разтвор (Реф. A07800).
- Изотипна контрола PC5: Реактив IOTest (Реф. № A07798).
- Буфер (PBS: 0,01 M натриев фосфат; 0,145 M натриев хлорид; pH 7,2).
- Центрофугирайте.
- Автоматичен агитатор (тип вортекс).
- Поточен цитометър.

ПРОЦЕДУРА С РЕАКТИВ VERSALYSE

За всяка анализирана проба освен тестовата епруветка може да се добави и една контролна епруветка, в която клетките да са смесени в присъствието на изотипната контрола (Реф. A07798).

1. Добавете 10 µL специфично IOTest конюгирано антитяло във всяка тестова епруветка и, ако е необходимо, 10 µL изотипна контрола във всяка контролна епруветка.
2. Добавете 100 µL от тестовата проба във всяка епруветка. Внимателно разбъркайте във вортекс епруветките.
3. Инкубирайте за 15 до 20 минути при стайна температура (18–25°C), като предпазвате от светлина.
4. След това се изпълнява лизиране на червените кръвни телца. Вижте брошурата на VersaLyse (Реф. A09777) и изпълнете за предпочитане процедурата, наречена „със съпътстващо фиксиране“, която се състои от добавяне на 1 mL от сместа „Фиксиране и лизиране“, приготвена за незабавно приложение. Незабавно завъртете епруветките с вортекс за една секунда и инкубирайте за 10 минути при стайна температура на защитено от светлина място.
5. Центрофугирайте 5 минути при 150 x g при стайна температура.
6. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация.
7. Разтворете отново клетъчната утайка, като използвате 3 mL PBS.
8. Повторете стъпка 5.
9. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация и ресуспендирайте клетъчната утайка с:

- 0,5 mL или 1 mL PBS плюс 0,1 % формалдехид, ако препаратите трябва да бъдат съхранявани по-малко от 24 часа. (Може да се получи 0,1 % формалдехид PBS чрез разреждане на 12,5 µL разтвор за фиксиране IOTest 3 (Реф. A07800) при 10X концентрация в 1 mL PBS).
- 0,5 mL или 1 mL PBS без формалдехид, ако препаратите ще бъдат анализирани в рамките на 2 часа.

Забележка: Във всички случаи съхранявайте препаратите при температури между 2 и 8°C и защитени от светлина.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

За този продукт няма съответна очаквана стойност.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данните за ефективността се получават с помощта на описаната по-горе процедура за кръвни проби до 24 часа, предварително събрани в стерилни епруветки със сол EDTA като антикоагулант. Анализ се извършва в рамките на 2 часа след имуноцветяване.

СПЕЦИФИЧНОСТ

CD34 е монометричен силно гликолизиран, тип I, трансмембранен протеин 116 KDa (13). Има две молекулни форми на CD34; пълната форма на 385 амино секвенциите разполага с вътреклетъчен домейн, който съдържа съгласуваност на протеин-киназа C, серин и треонин фосфорилиране. В преработената форма липсва по голяма част от вътреклетъчния домейн. Външноклетъчната форма присъства и в двете форми на CD34. При CD34 са разпознати три типа епитопи въз основа на диференциалната чувствителност към неурамидаза и гликол протеаза Клас I епитопите (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) са чувствителни към всички протеолитични ензими. Клас II епитопите са (QBEnd10) устойчиви на неурамидаза, но чувствителни към гликол протеаза. Клон 581 разпознава клас тип III епитоп и е нечувствителен към всички протеолитични ензими и с готовност се свързва с всички гликоформи на CD34 (14).

5th HLDA workshop (5-и HLDA семинар) (Бостън, 1993 г.) одобри трите типа епитопи на CD34 на основата на диференциална чувствителност.

ТОЧНОСТ

Процентните положителни стойности са определени посредством цялостна кръв, обогатена с положителни клетки. Всяка проба е обработена 4 пъти, два пъти на ден за 1 ден на 2 инструмента, като са използвани 2 партиди реактиви с CD34-PC5 моноклонално антитяло. Измерванията (% положителни) са направени на поточен цитометър Navios. Анализът е проведен на основата на CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods. (Метод EP5-A2 на CLSI: Оценка на точността на методите за количествено измерване.)

Нашите критерии за приемливост зависят от броя положителни събития, измерени за всяка популация:

- Ако положителните събития са < 1500, CV < 15 %
- Ако положителните събития са > 1500, CV < 10 %

Цялостна кръв, обогатена с KG1a клетъчна линия							
Брой положителни събития (средно) = 5355							
	Между оператори	Между цитометри	Вътрепартидна	Между партиди	Между цикли	В рамките на цикъл	Общо
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
РЕЗУЛТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТ

Точността на CD34-PC5 е оценена чрез сравняване на резултатите с референтен реактив като потвърждение върху група от проби от цялостна кръв, обогатени с положителни клетки, обработени на поточен цитометър Navios. Отклонението между тестовия и референтния реактив се определя въз основа на разликата между резултатите от теста. Ако отклонението е в рамките на допустимия обхват на грешка или p-стойността не показва значима разлика (> 0,05), резултатите от теста за двата реактива се считат за еквивалентни.

Получените резултати са обобщени в таблицата, дадена по-долу:

Брой донори = 25				
Положителна цел	Средна Δ	Критерии Δ % клетки	p-стойност	РЕЗУЛТАТИ
Цялостна кръв, обогатена с KG1a клетъчна линия	1,31	<3	5,01E-04	PASS

ГРАНИЦА НА СЛЯПА ПРОБА И ГРАНИЦА НА ОТКРИВАНЕ

Проведено е проучване в съответствие с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оценка на възможността за детекция за измервателни процедури в клинични лаборатории). Границата на откриване (LOD) е най-ниската концентрация на аналита, която може да бъде стабилно открита. Получените резултати са обобщени в следващата таблица:

Positive Target	Граница на сляпата проба (клетки/µL)	Граница на откриване (клетки/µL)
KG1a Клетъчна линия	1	2

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Поточната цитометрия може да даде неточни резултати, ако цитометърът не е бил идеално приравнен, ако течове на флуоресценция не са били правилно компенсирани или ако регионите не са били внимателно позиционирани.
2. Предпочита се използването на техника за лизиране на червени кръвни клетки със стъпка за промиване, тъй като този реактив не е оптимизиран за техники за лизиране „без промиване“.
3. Ще бъдат получени точни и възпроизводими резултати, при условие, че използваните процедури са в съответствие с техническата листовка и са съвместими с добрите лабораторни практики.
4. Конюгираното антитяло на този реактив е калибрирано, за да се осигури най-доброто съотношение между специфичен сигнал/неспецифичен сигнал. Затова е важно да се придържате към съотношението обем на реактива/обем на пробата във всеки тест.

5. В случай на хиперлевкоцитоза кръвта се разрежда в PBS, така че да се получи стойност приблизително 5 x 10^9 левкоцити/L (15).
6. При определени болестни състояния, например тежка бъбречна недостатъчност или хемоглобинопатии, лизирането на червените кръвни телца може да бъде бавно, непълно или дори невъзможно. В този случай се препоръчва да се изолират мононуклеарни клетки, като се използва градиент на плътността (Ficoll например) преди оцветяване (16).
7. Поради тандемната структура на флуорохрома PC5 излъчва също и светлина с 575 nm. Пикът на вторичната емисия варира между отделните партиди на PC5. Поради това при многоцветен анализ матрицата на компенсиране трябва да бъде внимателно проверявана, когато се сменя партидата на -PC5 конюгат.
8. При пациенти, лекувани с терапии с античовешко моноклонално антитяло, отриването на специфични целеви антигени може да бъде занижено или да липсват поради частично или цялостно блокиране от терапевтичното антитяло.
9. Резултатите от CD34-PC5 трябва да се интерпретират спрямо общата клинична презентация на пациента, включваща: симптоми, клинична анамнеза, данни от допълнителни тестове и друга съответстваща информация.

Вижте Приложението за примери и справки.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ

Beckman Coulter, стилизираното лого и марките на продуктите и услугите на Beckman Coulter, присъстващи в този документ, са търговски марки или регистрирани търговски марки на Beckman Coulter, Inc. в САЩ и в други държави.

ДОПЪЛНИТЕЛНА ИНФОРМАЦИЯ

За пациенти/потребители/трети лица в Европейския съюз и в страни с идентичен регулаторен режим (Регламент 2017/746/ЕС относно ин витро диагностичните медицински изделия); ако по време на използването на това изделие или в резултат на използването му е настъпил сериозен инцидент, моля, съобщете за това на производителя и/или неговия упълномощен представител и на Вашия национален орган.

Summary of Safety and Performance (Обобщение на безопасността и работата) е налично в базата данни EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ХРОНОЛОГИЯ НА РЕДАКЦИИТЕ

РЕДАКЦИЯ AD:	Дата на издаване: октомври 2020 г.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AW	май 2022 г.
Актуализации с цел съответствие с Глобалната политика за етикетиране на Beckman Coulter и съгласно изискванията на Регламент (ЕС) 2017/746 за медицинските изделия за ин витро диагностика (IVD-R):	
Добавени раздели	Номер 2797 на BSI, Предвиден потребител, Клинична значимост, Концентрация, Прецизност, Точност, Граница на сляпата проба и граница на откриване, Допълнителна информация, Хронология на редакциите.
Добавена информация	Вижте разделите „Ограничения“
Актуализации във формулировките или типографията	Вижте раздели „Процедура“, „Работни характеристики“, „Ограничения“, „Предупреждения и предпазни мерки“, „Съхранение и стабилност“.
Премахнати раздели	Пример за клинични приложения, Реактиви, Вътрешнолабораторна възпроизводимост, Линейност
Актуализирани раздели	Предвидена употреба, Класификация на опасностите по GHS, Признаци за влошаване, Процедура, Приложение.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AX	Април 2023
Актуализирани раздели	Добавен е казахски
Актуализирани раздели	Съхранение и стабилност

Редактирана версия	AY
Редактирана дата	Май 2024
Актуализирани преводи	**Клинична значимост:**
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Редактирана версия	AZ
Редактирана дата	Юли 2024
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Легенда на символите

Речник на символите е наличен на beckman.com/techdocs (номер на документа B60062)

	規格
專一性	CD34
轉殖	581
融合瘤	NS0 x balb/c
免疫原	Human CD34+ leukaemic cells
免疫球蛋白	IgG1
物種	小鼠
純化	親和力層析法
螢光染料	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
莫耳比率	PC5/Ig： 0.5-1.5
λ 激發	488 nm
發射峰	670 nm
緩衝劑	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 及 0.1% NaN_3

IOTest
結合抗體
CD34-PC5

REF A07777 100 次檢測；1 mL, 10 µL/檢測

***體外*診斷使用**

預期用途

使用此螢光染料結合的抗體，能夠以流式細胞分析儀器對人體生物檢體中出現的表現 CD34 抗原之細胞群進行非自動化定性鑑別（請參閱下列「檢體」部分）。

原理

本測試的基礎在於特異性單株抗體結合由白血球表現之抗原決定簇的能力。

以 IOTest 試劑與檢體反應，對白血球進行特異性染色。然後以溶解作用去除紅血球，而白血球不受此程序影響，並可透過流式細胞分析儀器進行分析。

流式細胞分析儀器可測量細胞的光漫射和螢光。這樣可以界定直方圖上定義的電子窗口內的目標群體，直方圖可以關聯光的正交漫射（側向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。細胞分析儀器上可用之結合兩個不同參數的其他直方圖，可用於支持圈選階段，這取決於使用者所選的應用。

為了區分陽性染色事件和未染色事件，對劃定細胞的螢光進行了分析。結果表示為陽性事件相對於圈選所得全部事件的百分比。

預期使用者

本產品應當用於實驗室內的專業用途。

臨床相關性

CD34-PC5 是一種 CD34 抗體，以流式細胞分析儀器使用此抗體庫可辨認表達 CD34 抗原的細胞並鑑別其特徵。單獨使用此程序並不足以診斷出任何結果。

本產品搭配其他標誌物使用時，可用於以下一或多個功能：

- 可輔助疑似罹患血液疾病之血液異常患者的鑑別診斷，以及監測罹患已知血液疾病的患者。
- 有助於罹患造血組織腫瘤之患者的預後情況。
- 監測移植過程或結果。

請參閱下列參考資料：

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

檢體

靜脈血必須使用無菌試管抽取，此無菌試管中含有 EDTA 鹽作為抗凝劑。

檢體應存放在室溫 (18~25°C)，且不得搖晃。取用測試檢體前，應將檢體輕輕攪動，使之均勻化。

檢體必須在靜脈穿刺後 24 小時內進行分析。

濃度

請參閱 www.beckman.com 參閱各批次專屬的分析證書。

警告和預防措施

1. 請勿使用過期試劑。
2. 切勿冷凍。
3. 使用前，請將其恢復至室溫 (18~25°C)。
4. 儘量避免陽光直射。
5. 請避免試劑受到微生物污染，否則可能會出現錯誤結果。
6. 含有疊氮化鈉 (NaN_3) 的抗體溶液應謹慎處理。請勿內服，並避免接觸皮膚、黏膜和眼睛。

   此外，在酸性介質中，疊氮化鈉可形成具有潛在危害的疊氮酸。若需要對其進行處置，建議在試劑倒入排水系統前以大量清水稀釋，避免疊氮化鈉在金屬管道中累積並預防爆炸。
7. 所有血液檢體必須視為具有潛在傳染性，且必須小心處理（務必穿戴防護手套、防護衣和護目鏡）。

8. 切勿用嘴吸液，並避免檢體接觸皮膚、黏膜和眼睛。
9. 用於處理的血液試管和一次性材料應放入焚化專用的特殊容器中處置。
10. 應根據當地要求清除試劑和廢棄物。

GHS 危害分類

未歸類為危險物質

SDS 安全性資料表載於 beckmancoulter.com/techdocs

存儲和穩定性

在打開試劑瓶前後，試劑必須避光保存於 2~8°C。

穩定性研究的封閉式藥瓶有效期限：1095 天。

開瓶後穩定性：試劑穩定性可維持 180 天。

變質的證據

試劑外觀的任何變化表示可能發生變質，因此不應使用該試劑。

如需瞭解其他資訊，或如果收到已損壞的產品，請撥打 800-742-2345（美國或加拿大）聯絡貝克曼庫爾特客戶服務部，或聯絡您當地的貝克曼庫爾特代表。

內容物

疊氮化鈉防腐劑可能會在金屬排水管道中形成爆炸性化合物。 請參閱 NIOSH Bulletin： Explosive Azide Hazard（爆炸性疊氮化物危害）(76/8/16)。為防止疊氮化合物可能累積，丟棄未稀釋的試劑後請用水沖洗污水管。必須依照相關當地法規丟棄疊氮化鈉。

試劑盒未提供但卻需要的材料：

- 採樣時需要採樣試管和材料。
- 帶有可吸取 10、100 和 500 µL 一次性吸頭的自動移液器。
- 塑膠溶血試管。
- 用於溶解後洗滌階段的紅血球溶解試劑。舉例：VersaLyse (參考 A09777)。
- 白血球固定試劑。舉例：IOTest 3 固定液 (參考 A07800)。
- 同型品管劑 PC5：IOTest 試劑 (參考 A07798)。
- 緩衝劑 (PBS：0.01 M 磷酸鈉；0.145 M 氯化鈉；pH 7.2）。
- 離心機。
- 自動攪拌器（漩渦型）。
- 流式細胞分析儀器。

使用 VERSALYSE 試劑的程序

對於已分析的每項檢體，除使用測試試管外，可再增加一個品管劑試管，以在其中混合細胞與同型品管劑 (參考 A07798)。

1. 向每個測試試管添加 10 µL 特異性 IOTest 結合抗體，如果需要，向每個質控試管添加 10 µL 同型質控品。
2. 向每個試管中添加 100 µL 測試檢體。輕輕漩渦振盪試管。
3. 在室溫 (18~25°C) 下避光反應 15~20 分鐘。
4. 然後將紅血球溶解。請參閱 VersaLyse (參考 A09777) 的手冊，最好按照名為「共伴固定」的程序操作，其包含添加臨時製備的 1 mL「固定加溶解」混合物。立即震盪 1 秒後，在室溫下避光反應 10 分鐘。
5. 在室溫下以 150 x g 離心 5 分鐘。
6. 吸除上清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新懸浮細胞團塊。
8. 重複第 5 步。
9. 吸除上清液並按照以下方式重新懸浮細胞團塊：

- 若製劑存放時間不超過 24 小時，則以 0.5 mL 或 1 mL PBS 加 0.1% 甲醛。（可在 1 mL PBS 中稀釋 10X 濃度的 12.5 µL IOTest 3 固定液 (參考 A07800)，得到含有 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 若製劑將在 2 小時內分析，使用 0.5 mL 或 1 mL PBS（無甲醛）。

註：在所有情況下，將製劑在 2~8°C 避光保存。

預期值

本產品無相關的預期值。

性能

對於之前採集在無菌試管（含有 EDTA 鹽作為抗凝劑）中短於 24 小時的血液檢體，使用上面描述的程序獲取了性能資料。在免疫染色後的 2 小時內進行分析。

專一性

CD34 為單體、高度醣基化、第 I 型跨膜蛋白的 116 KDa 蛋白質 (13)。CD34 有兩種分子形式，一種是 385 個氨基序列的全長形式，具有細胞內域，內含蛋白質激酶 C、絲胺酸和蘇胺酸磷酸化的同源序列，另一種截斷體形式則缺乏大部分的細胞內域。CD34 的兩種形式都存在細胞外形式。根據對於神經胺苷酸酶和醣蛋白酶的鑑別靈敏度，目前已辨識出三種類型的 CD34 表位。第 I 類表位 (BEC Immu133. My10、BI-3C5、12.8、ICH3) 對於所有蛋白水解酶

均有靈敏度。第 II 類表位 (QBEnd10) 對於神經胺苷酸酶具有抗性，但對於醣蛋白酶則有靈敏度。殖株 581 可辨識第 III 類表位，對於所有蛋白水解酶均無靈敏度，而劇烈結合至 CD34 的所有醣化形式 (14)。

第 5 屆 HLDA 會議（1993 年，波士頓）已核准依據鑑別靈敏度所區分的三種 CD34 表位類型。

準確度

使用添加了陽性細胞的全血測定陽性百分比。每項檢體皆使用 2 個批次的 CD34-PC5 單株抗體試劑，以 2 台儀器 1 天運行 2 次，共運行了 4 次。使用 Navios 流式細胞分析儀器檢測結果（陽性 %）。根據 CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：評估定量檢測方法的準確度性能）進行分析。

我們的接受標準視各族群所檢測的陽性事件數量而定：

- 若陽性事件數量 < 1,500，則 CV < 15%
- 若陽性事件數量 > 1,500，則 CV < 10%

添加了 KG1a 細胞株的全血							
陽性事件數量（平均值）= 5355							
	各操作者間	各台細胞分析儀器間	批內	批間	各次執行間	各次執行內	總計
CV (%)	0.68	0.54	2.16	0.79	0.66	1.94	2.36
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

準確性

評估 CD34-PC5 準確性的方式，是比較它與參考試劑同時用於添加了陽性細胞的一組全血細胞檢體，在 Navios 流式細胞分析儀器上進行化驗時，其結果有何差異。根據測試結果間的差異，測定了測試與參考試劑之間的偏差。如果此偏倚在允許的誤差範圍內或 P 值並未顯示顯著差異 (> 0.05)，則兩種試劑的測試結果視為相當。

所得結果總結於下表：

捐贈者數量 = 25				
陽性目標	平均值差	細胞標準 Δ %	P 值	結果
添加了 KG1a 細胞株的全血	1.31	<3	5.01E-04	PASS

空白檢體的偵測極限與偵測極限

按照 CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2，臨床實驗室測定程序的偵測能力評估）開展了一項試驗。偵測極限 (LOD) 是指可始終被偵測出的最低分析物濃度。所得結果總結於下表：

Positive Target	空白檢體的偵測極限（細胞數/µL）	偵測極限（細胞數/µL）
KG1a細胞株	1	2

限制條件

1. 流式細胞分析儀器在下列情況下可能產生錯誤結果：細胞分析儀器未正確校正、螢光洩漏未正確補償、相關區域並未仔細定位。
2. 最好採用帶洗滌步驟的 RBC 溶解方法，因該試劑不能在「無洗滌」溶解方法中取得最佳效果。
3. 按照技術手冊採用相關流程並遵循優良實驗室操作規範，便可得到準確且可重複的結果。
4. 此試劑的結合抗體已經過校正，以提供最佳的特異性訊號/非特異性訊號比率。因此，在每次測試中遵守試劑體積/檢體體積比率很重要。
5. 如果白血球過多，請在 PBS 中稀釋血液，使白血球濃度約為 5 x 10^9 顆/L (15)。
6. 在嚴重腎衰竭、血色素病變等特定疾病狀態中，紅血球溶解可能會變得緩慢、不完全，甚至無法溶解。在這種情況下，建議在染色前使用密度梯度（例如聚蔗糖）分離單核球 (16)。
7. 因螢光染料為串聯結構，PC5 也可以在 575 nm 下發光。次級發射峰會因 PC5 批次不同而不同。因此，對於多色分析，更改結合 -PC5 的批次時應仔細檢查補償矩陣。
8. 使用抗人單株抗體療法治療患者時，由於治療抗體的部分或完全阻斷，偵測到的特定目標抗原可能會減少或完全偵測不到。
9. CD34-PC5 結果的判讀應結合患者的整體臨床表徵，包括：症狀、臨床病史、其他測試的資料以及其他相關資訊。

請參閱附錄以閱讀舉例和參考文獻。

商標

Beckman Coulter、徽標以及本文述及的貝克曼庫爾特公司產品和服務標記是美國貝克曼庫爾特有限公司在美國和其他國家的商標或註冊商標。

其他資訊

對於患者/使用者/第三方（在歐盟和有相同監管制度（體外診斷醫療裝置法規，2017/746/EU）的國家）；如果在使用中或由於使用而導致嚴重事件，請將情況回報製造商和/或授權代表，以及貴國主管機關。

Summary of Safety and Performance（安全與性能）的摘要請參見 EUDAMED 資料庫：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修訂歷程記錄

修訂版 AD：	發佈日期：2020 年 10 月

修訂	**發行日期**
AW	2022 年 5 月

更新以遵守貝克曼庫爾特公司全球標籤政策以及 IVD-R (EU)2017/746 規定：	
已新增部分	BSI 2797 編號、預期使用者、臨床相關性、濃度、精密度、準確性、空白檢體的偵測極限和偵測極限、其他資訊、修訂記錄。
已新增資訊	請參閱「限制」部分
修辭或印刷更新	請參閱「程序」、「性能」、「限制」、「警告和預防措施」、「存儲和穩定性」等部分。
已移除的部分	臨床應用範例、試劑、實驗室內再現性、線性
已更新部分	預期用途、GHS 危害分類、變質的證據、程序、附錄。

修訂	**發行日期**
AX	4 月 2023
已更新部分	新增哈薩克語
已更新部分	存儲和穩定性

修訂版本	AY
修訂日期	5 月 2024
已更新的譯文	**臨床關聯性**：
已更新部分	修訂歷史

修訂版本	AZ
修訂日期	7 月 2024
已更新部分	修訂歷史

符號釋義

符號術語表請參見網站：beckman.com/techdocs（文件編號 B60062）

	Specificații
Specificitate	CD34
Clonă	581
Hibridom	NS0 x balb/c
Imunogen	Human CD34+ leukaemic cells
Imunoglobulină	IgG1
Specie	Șoarece
Purificare	Cromatografia de afinitate
Fluorocrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Raport molar	PC5/Ig: 0,5-1,5
Excitare λ	488 nm
Vârful de emisie	670 nm
Soluție tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA și 0,1% NaN_3

IOTest
Anticorp conjugat
CD34-PC5

REF A07777 100 de teste; 1 ml, 10 µl/test

Pentru diagnosticare *in vitro*

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

Acest anticorp conjugat cu fluorocrom permite identificarea calitativă și non-automată a populațiilor celulare care exprimă antigenul CD34 prezent în probele biologice umane prin citometrie în flux (consultați secțiunea „probe” de mai jos).

PRINCIPIU

Acest test se bazează pe abilitatea anticorpilor monoclonali specifici de a se lega de determinanții antigenici exprimați de leucocite.

Colorarea specifică a leucocitelor este efectuată prin incubarea probei cu reactivul IOTest. Eritrocitele sunt ulterior îndepărtate prin liză, iar leucocitele, care nu sunt afectate de acest proces, sunt analizate prin citometrie în flux.

Citometrul în flux măsoară difuzia luminii și fluorescența celulelor. Acesta face posibilă delimitarea populațiilor de interes în fereastra electronică definită pe o histogramă, care corelează difuzia ortogonală a luminii (Dispersia perpendiculară sau SS – Side Scatter) și difuzia luminii sub un unghi ascuțit (Dispersia pe direcția înainte sau FS – Forward Scatter). Alte histograme care combină doi dintre parametrii diferiți disponibili pe citometru pot fi utilizate ca suporturi în faza de stabilire a porților (gating) în funcție de aplicația aleasă de către utilizator.

Fluorescența celulelor delimitate se analizează pentru distingerea evenimentelor colorate pozitiv de cele necolorate. Rezultatele sunt exprimate ca procentaj de evenimente pozitive în raport cu toate evenimentele obținute de gating.

UTILIZATOR PRECONIZAT

Acest produs este destinat utilizării profesionale în laborator.

RELEVANȚĂ CLINICĂ

CD34-PC5 este un anticorp CD34 utilizat pentru a identifica și caracteriza celulele care exprimă antigenul CD34 prin citometrie în flux. Acest produs în sine nu poate și nu este conceput pentru a genera concluzii cu rol de diagnostic.

Atunci când este utilizat în combinație cu alți markeri, acest produs poate fi utilizat pentru una sau mai multe dintre următoarele funcții:

- Pentru a ajuta la obținerea unui diagnostic diferențial pentru pacienții cu anormalități hematologice suspecți de afecțiuni hematologice și la monitorizarea pacienților cu afecțiuni hematologice diagnosticate.
- Pentru a ajuta la obținerea unui prognostic pentru pacienții cu neoplasm hematopoietic.
- Pentru a monitoriza procesul de transplant sau rezultatele.

Consultați următoarele referințe:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

PROBE

Sângele venos trebuie recoltat utilizând eprubete sterile care conțin o sare de EDTA drept anticoagulant.

Se recomandă păstrarea probelor la temperatura camerei (18–25°C). Acestea nu se vor scutura. Se recomandă omogenizarea probelor prin agitare ușoară înainte de recoltarea probei de test.

Proba trebuie analizată în decurs de 24 de ore de la puncția venoasă.

CONCENTRAȚIE

Consultați certificatul de analiză specific lotului la adresa www.beckman.com.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Nu utilizați reactivul după data expirării.
2. Nu congelați.
3. Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei (18–25°C).
4. Reduceți la minimum expunerea la lumină.
5. Evitați contaminarea microbiană a reactivilor. În caz contrar, se pot obține rezultate false.
6. Soluțiile de anticorpi care conțin azidă de sodiu (NaN_3) trebuie manipulate cu atenție. A nu se ingera și a se evita contactul cu pielea, mucoasele și ochii.

În plus, într-un mediu acid, azida de sodiu poate forma acid hidrazoic, un compus potențial periculos. Dacă este necesară eliminarea reactivului, se recomandă ca acesta să fie diluat într-un volum mare de apă înainte de a fi vărsat în sistemul de canalizare pentru a evita acumularea de azidă de sodiu în conductele metalice și pentru a preveni riscul de explozie.

7. Toate probele de sânge trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie manipulate cu grijă (în special: purtarea de mănuși de protecție, halate și ochelari de protecție).
8. Nu pipetați niciodată cu gura și evitați contactul probelor cu pielea, mucoasele și ochii.
9. Eprubetele pentru sânge și materialele de unică folosință utilizate pentru manipulare trebuie eliminate în recipiente ad-hoc destinate incinerării.
10. Reactivii și deșeurile trebuie eliminați în conformitate cu cerințele locale.

CLASIFICAREA RISCURILOR ÎN SISTEMUL GHS

Nu este clasificat ca periculos

SDS Fișa tehnică de securitate este disponibilă la beckmancoulter.com/techdocs

DEPOZITAREA ȘI STABILITATEA

Înainte și după desigilarea fiolei, acest reactiv trebuie păstrat la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C într-un loc ferit de lumină.

Perioada de valabilitate în fiolă închisă în conformitate cu studiul de stabilitate: 1095 zile.

Stabilitatea fiolei desigilate: reactivul este stabil timp de 180 (de) zile.

DOVADĂ DE DETERIORARE

Orice modificare a aspectului fizic al reactivilor poate indica degradarea. În acest caz, nu se recomandă utilizarea reactivului.

Pentru informații suplimentare sau dacă s-a primit un produs deteriorat, sunați la Serviciul Clienți Beckman Coulter la 800-742-2345 (SUA sau Canada) sau contactați-vă reprezentantul Beckman Coulter local.

CONȚINUT

Azida de sodiu folosită drept conservant poate forma compuși cu risc de explozie în conductele de drenaj metalice. Consultați buletinul informativ al NIOSH: Explosive Azide Hazard (Azidă cu risc de explozie) (08/16/76).
Pentru a evita posibila acumulare de compuși de azidă, spălați cu apă conductele pentru evacuarea deșeurilor după eliminarea reactivului nediluat. Eliminarea azidei de sodiu trebuie realizată în conformitate cu reglementările locale aplicabile.

MATERIALE NECESARE, DAR NEFURNIZATE CU SETUL:

- Eprubete pentru probe și materiale necesare pentru prelevarea probelor.
- Pipete automate cu vârfuri de unică folosință pentru 10, 100 și 500 µl.
- Eprubete din plastic pentru hemoliză.
- Reactiv de liză a eritrocitelor cu faza de spălare după liză. De exemplu: VersaLyse (ref. A09777).
- Reactiv de fixare a leucocitelor. De exemplu: Soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800).
- Ser de control izotipic PC5: Reactiv IOTest (ref. A07798).
- Soluție tampon (PBS: 0,01 mol de fosfat de sodiu; 0,145 mol de clorură de sodiu; pH 7,2).
- Centrifugați.
- Agitator automat (tip Vortex).
- Citometru de flux.

PROCEDURA CU REACTIVUL VERSALYSE

Pentru fiecare probă analizată, în afară de eprubeta de testare, poate fi adăugată o eprubetă de ser de control în care celulele sunt amestecate în prezența serurilor de control izotipic (ref. A07798).

1. Adăugați 10 µl de anticorp conjugat IOTest specific în fiecare eprubetă de test și, dacă este necesar, 10 µl de ser de control izotipic în fiecare eprubetă cu ser de control.
2. Adăugați 100 µl de probă de test în fiecare eprubetă. Amestecați cu grijă eprubetele în agitatorul vortex.
3. Incubați timp de 15–20 de minute la temperatura camerei (18–25°C) într-un loc ferit de lumină.
4. Apoi efectuați liza eritrocitelor. Consultați prospectul VersaLyse (ref. A09777) și urmați, de preferat, procedura denumită „cu fixare concomitentă”, care constă în adăugarea a 1 ml de amestec „Fixare și liză” preparat extemporaneu. Amestecați imediat în agitatorul vortex timp de o secundă și incubați timp de 10 minute la temperatura camerei, într-un loc ferit de lumină.
5. Centrifugați timp de 5 minute la 150 x g la temperatura camerei.
6. Îndepărtați supernatantul prin aspirare.
7. Resuspendați peleta de celule utilizând 3 ml de PBS.
8. Repetați pasul 5.
9. Îndepărtați supernatantul prin aspirare și resuspendați peleta de celule utilizând:

- 0,5 ml sau 1 ml de PBS plus 0,1% formaldehidă dacă preparatele trebuie păstrate mai puțin de 24 (de) ore. (O soluție PBS cu 0,1% formaldehidă poate fi obținută prin diluarea unei cantități de 12,5 µl de soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800) la concentrația sa de 10X în 1 ml de PBS).
- 0,5 ml sau 1 ml de PBS fără formaldehidă, dacă preparatele trebuie analizate în decurs de 2 (de) ore.

Observație: În toate cazurile, păstrați preparatele la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C, în locuri ferite de lumină.

VALORI PRECONIZATE

Nu există nicio valoare preconizată relevantă pentru acest produs.

PERFORMANȚĂ

Datele de performanță se obțin folosindu-se procedeul descris mai sus pe probe de sânge cu o vechime mai mică de 24 de ore recoltate anterior în eprubete sterile cu sare EDTA ca anticoagulant. Analiza se efectuează în decurs de 2 ore de la imunocolorare.

SPECIFICITATE

CD34 este o proteină transmembranară monomerică puternic glicozilată de tip I, cu greutatea moleculară de 116 KDa (13). Există două forme moleculare de CD34; forma completă cu 385 de secvențe amino are un domeniu intracelular care conține consensusul de proteină kinază C, serină și fosforilare treonină. Formei trunchiate îi lipsește cea mai mare parte din domeniul intracelular. Forma extracelulară este prezentă în ambele forme de CD34. Pentru CD34 au fost descoperiți trei tipuri de epitopi pe baza unei sensibilități diferite la epitopii de neuramidază și glicoprotează Clasa I (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) sunt sensibili la toate enzimele proteolitice. Epitopii Clasa II (QBEnd10) sunt rezistenți la neuraminidază, dar sunt sensibili la glicoprotează. Clona 581 recunoaște un epitop de clasă tip III și este insensibilă la toate enzimele proteolitice și se combină avid cu toate glicoformele de CD34 (14).

Al 5th HLDA workshop (5-lea congres HLDA) (Boston 1993) a aprobat cele trei tipuri de epitopi ai CD34 pe baza diferențelor în sensibilitate.

PRECIZIE

Valorile procentuale pozitive au fost stabilite folosind sânge integral îmbogățit cu celule pozitive. Fiecare probă a fost analizată de 4 ori, de două ori pe zi timp de 1 zi, pe 2 instrumente, folosind 2 loturi de reactivi cu anticorp monoclonal CD34-PC5. Măsurătorile (% pozitive) au fost efectuate pe un citometru în flux Navios. Analiza a fost efectuată în conformitate cu metoda CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluarea performanței de precizie a metodelor de măsurare cantitativă).

Criteriile noastre de acceptare depind de numărul de evenimente pozitive măsurate pentru fiecare populație:

- Dacă evenimentul pozitiv < 1500, CV < 15%
- Dacă evenimentul pozitiv > 1500, CV < 10%

Sânge integral îmbogățit cu KG1a linie celulară							
Număr de evenimente pozitive (medie) = 5355							
	Inter-operator	Inter-citometru	Intra-lot	Inter-lot	Inter-ciclu	Intra-testare	Total
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
REZULTATE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACURATEȚE

Acuratețea CD34-PC5 a fost evaluată prin compararea rezultatelor cu un reactiv de referință ca predicat pe un set de probe de sânge integral îmbogățite cu celule pozitive și analizate cu un citometru în flux Navios. Eroarea sistematică dintre test și reactivul de referință a fost determinată în funcție de diferența dintre rezultatele testului. Dacă eroarea sistematică se încadrează în intervalul de eroare permis sau dacă valoarea p nu indică o diferență semnificativă (> 0,05), rezultatele testului pentru cei doi reactivi sunt considerate ca fiind echivalente.

Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul de mai jos:

Număr de donatori = 25				
Ținta pozitivă	Medie Δ	Criterii celulă Δ%	Valoarea p	REZULTATE
Sânge integral îmbogățit cu KG1a linie celulară	1,31	<3	5,01E-04	PASS

LIMITA DE BLANC ȘI LIMITA DE DETECȚIE

A fost realizat un studiu în conformitate cu documentul CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluarea capacității de detecție în cazul procedurilor de măsurare din laborator). Limita de detecție (LOD) este cea mai redusă concentrație de analit care poate fi detectată în mod constant. Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul următor:

Positive Target	Limită de blanc (celulă/µl)	Limită de detecție (celulă/µl)
KG1a Linie celulară	1	2

LIMITĂRI

1. Citometria în flux poate furniza rezultate false dacă citometrul nu a fost aliniat perfect, dacă scurgerile de fluorescență nu au fost compensate corect și dacă regiunile nu au fost poziționate corect.
2. Este de preferat să se utilizeze o tehnică de liză a eritrocitelor (RBC) cu o etapă de spălare, deoarece acest reactiv nu a fost optimizat pentru tehnici de liză „fără spălare”.
3. Se vor obține rezultate corecte și reproductibile dacă procedurile utilizate respectă prospectul tehnic și bunele practici de laborator.
4. Anticorpul conjugat din acest reactiv este calibrat astfel încât să ofere cel mai bun raport semnal specific/semnal nespecific. Prin urmare, este important ca la fiecare test să se respecte raportul volum de reactiv/volum de probă.
5. În cazul unei hiperleucocitoze, diluați sângele în PBS astfel încât să obțineți o valoare de aproximativ 5 x 10^9 leucocite/l (15).
6. În anumite stări patologice, cum ar fi insuficiența renală severă sau hemoglobinopatiile, liza eritrocitelor poate fi lentă, incompletă sau chiar imposibilă. În acest caz, se recomandă izolarea celulelor mononucleare cu ajutorul unui gradient de densitate (de exemplu, Ficoll), înainte de colorare (16).
7. Din cauza structurii în tandem a fluorocromului, și PC5 emită lumină la 575 nm. Acest al doilea vârf de emisie diferă de la un lot de PC5 la altul. Prin urmare, pentru analiza multicolorimetrică, matricea de compensare trebuie verificată atent la schimbarea lotului de conjugat cu PC5.
8. În cazul pacienților tratați cu terapii cu anticorp monoclonal anti-uman, detecția antigenilor specifici țintiți poate fi diminuată sau absentă din cauza blocării parțiale sau complete asigurată de anticorpul terapeutic.
9. Rezultatele CD34-PC5 trebuie interpretate în lumina prezentării clinice integrale a pacientului, inclusiv: simptome, istoric clinic, date din teste suplimentare și alte informații corespunzătoare.

Consultați Anexa pentru exemple și referințe.

MĂRCI COMERCIALE

Beckman Coulter, logoul stilizat și mărcile de produse și servicii Beckman Coulter menționate aici sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Beckman Coulter, Inc. în Statele Unite și în alte țări.

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

În cazul unui pacient/utilizator/terț aflat în Uniunea Europeană sau în țări cu un regim de reglementare identic (Regulamentul 2017/746/UE privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro); dacă, în timpul utilizării acestui dispozitiv sau în urma utilizării acestuia, are loc un incident grav, raportați acest incident către producător și/sau reprezentantul său autorizat și către autoritatea națională din țara dvs.

Rezumatul secțiunilor Siguranță și Performanță este disponibil din baza de date EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORICUL REVIZUIRILOR

REVIZIA AD:	Data publicării: Octombrie 2020

REVIZIE	**Data publicării**
AW	Mai 2022
Se actualizează pentru a respecta politica globală de etichetare Beckman Coulter și cerințele regulamentului IVD-R (UE) 2017/746:	
Secțiuni adăugate	Număr BSI 2797, Utilizator propus, Relevanță clinică, Concentrație, Precizie, Acuratețe, Limita de blanc și limita de detecție, Informații suplimentare, Istoric revizuiri.
Informații adăugate	Consultați secțiunile Limitări
Actualizări referitoare la frazare și tipografice	Consultați secțiunile Procedură, Performanță, Limitări, Avertizări și măsuri de precauție, Depozitare și stabilitate.
Secțiuni eliminate	Exemplu de utilizări clinice, Reactivi, Reproductibilitate intralaborator, Liniaritate
Secțiuni actualizate	Utilizare propusă, Clasificarea riscurilor în sistemul GHS, Dovadă de deteriorare, Procedură, Anexă.

REVIZIE	**Data publicării**
AX	Aprilie 2023
Secțiuni actualizate	A fost adăugată limba kazahă
Secțiuni actualizate	Depozitare și stabilitate

Versiunea revizuită	AY
Data revizuirii	Mai 2024
Au fost actualizate traducerile	**Relevanță clinică:**
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Versiunea revizuită	AZ
Data revizuirii	Iulie 2024
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Cheie simboluri

Glosarul de simboluri este disponibil la beckman.com/techdocs (număr document B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD34
Klon	581
Hibridom	NS0 x balb/c
Imunogen	Human CD34+ leukaemic cells
Imunoglobulin	IgG1
Vrsta	Miš
Prečiščevanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molarno razmerje	PC5/Ig: 0,5-1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisij	670 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA in 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano protitelo CD34-PC5

REF A07777 100 testov; 1 ml, 10 µl/test

Za diagnostično uporabo *in vitro*

NAMEN UPORABE

To protitelo, konjugirano s fluorokromi, omogoča kvalitativno in neavtomatizirano identifikacijo celičnih populacij, ki izražajo antigen CD34, prisoten v človeških bioloških vzorcih, z uporabo pretočne citometrije (oglejte si poglavje »Vzorci« spodaj).

NAČELO

Ta test temelji na sposobnosti specifičnih monoklonskih protiteles, da se vežejo na antigenske determinante, ki jih izražajo levkociti.

Specifično barvanje levkocitov izvedemo z inkubacijo vzorca z reagentom IOTest. Rdeče krvničke nato odstranimo z lizo, levkocite, na katere ta proces ne vpliva, pa analiziramo s pretočno citometrijo.

Pretočni citometer meri difuzijo svetlobe in fluorescenco celic. Omogoča razmejitev opazovane populacije v elektronskem oknu, opredeljenem v histogramu, ki je povezan z ortogonalno difuzijo svetlobe (stransko sipanje ali SS) in difuzijo svetlobe pri majhnemu kotu (sipanje naprej ali FS). Glede na uporabo, ki jo izbere uporabnik, lahko druge histograme, ki uporabljajo kombinacijo dveh različnih parametrov, ki so na voljo na citometru, uporabimo kot nosilce v fazi uokvirjanja.

Fluorescenco razmejenih celic analiziramo z namenom razlikovanja med pozitivno obarvanimi dogodki in tistimi, ki niso obarvani. Rezultati so izraženi kot odstotek pozitivnih dogodkov glede na vse dogodke, pridobljene z uokviranjem.

PREDVIDENI UPORABNIK

Izdelek je namenjen profesionalni laboratorijski uporabi.

KLINIČNI POMEN

CD34-PC5 je protitelo CD34, ki se uporablja za identifikacijo in karakterizacijo celic, ki izražajo antigen CD34 s pomočjo pretočne citometrije. Ta izdelek sam ne more ustvariti in ni namenjen za ustvarjanje kakršnih koli diagnostičnih zaključkov.

Če se izdelek uporablja v kombinaciji z drugimi označevalci, se lahko uporablja pri eni ali več naslednjih funkcij:

- Uporablja se kot pripomoček pri diferencialnem diagnosticiranju hematološko neobičajnih bolnikov, pri katerih obstaja sum hematološke motnje, ali za spremljanje bolnikov z znano hematološko motnjo.
- Za pomoč pri napovedi stanja bolnikov s hematopoetsko neoplazmo.
- Za spremljanje procesa ali rezultatov presaditve.

Oglejte si naslednje reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

VZORCI

Pri jemanju venske krvi je treba uporabiti sterilne epruvete, ki vsebujejo sol EDTA kot antikoagulant.

Vzorce je treba hraniti pri sobni temperaturi (18–25 °C) in jih ni dovoljeno pretresati. Vzorce je treba homogenizirati z rahlim stresanjem pred odvzemom testnega vzorca.

Vzorce je treba analizirati v 24 urah po venepunkciji.

KONCENTRACIJA

Oglejte si ustrezen certifikat o analizi za izbrano serijo na spletni strani www.beckman.com.

OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI

1. Ne uporabljajte reagenta po izteku roka uporabnosti.
2. Ne zamrzujte.
3. Pred uporabo počakajte, da se ogrejejo na sobno temperaturo (18–25 °C).
4. Čim manj izpostavljajte svetlobi.
5. Preprečite mikrobno kontaminacijo reagentov, sicer lahko pride do napačnih rezultatov.

6. Z raztopinami protiteles, ki vsebujejo natrijev azid (NaN_3), je treba ravnati previdno. Ne zaužijte in se izogibajte vsakršnemu stiku s kožo, sluznico in očmi.

   Poleg tega lahko natrijev azid v kislem mediju tvori potencialno nevaren vodikov azid. Če ga je treba odstraniti, je reagent priporočljivo razredčiti z veliko količino vode pred izlivanjem v kanalizacijo, da bi se izognili kopičenju natrijevega azida v kovinskih ceveh in preprečili nevarnost eksplozije.
7. Vse vzorce krvi je treba obravnavati kot potencialno kužne in je treba z njimi ravnati previdno (predvsem je treba nositi zaščitne rokavice, halje in očala).
8. Nikoli ne pipetirajte z usti in se izogibajte vsakršnemu stiku vzorcev s kožo, sluznico in očmi.
9. Epruvete za kri in material za enkratno uporabo je treba odstraniti v zabojnike na licu mesta, namenjene sežigu.
10. Reagente in odpadke je treba odstraniti skladno z lokalnimi predpisi.

KLASIFIKACIJA NEVARNOSTI PO GHS

Ni razvrščeno kot nevarno

SDS Varnostni list je na voljo na povezavi beckmancoulter.com/techdocs

SHRANJEVANJE IN OBSTOJNOST

Ta reagent je treba shranjevati pri temperaturi od 2 do 8 °C in zaščiteno pred svetlobo pred odprtjem vial in po njem.

Rok uporabnosti zaprte viale po študiji stabilnosti: 1095 dni.

Stabilnost odprte stekleničke: reagent je stabilen 180 dni.

DOKAZ O POSLABŠANJU STANJA

Vsaka sprememba fizičnega videza reagentov lahko kaže na poslabšanje stanja in reagenta ni dovoljeno uporabljati.

Za dodatne informacije ali ob prejemu poškodovanega izdelka pokličite službo za pomoč strankam družbe Beckman Coulter na številko 800-742-2345 (ZDA ali Kanada) ali se obrnite na lokalnega predstavnika podjetja Beckman Coulter.

VSEBINA

Konzervans iz natrijevega azida lahko tvori eksplozivne spojine v kovinskih odvodnih ceveh. Oglejte si NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16. 8. 76) (Nevarnost eksplozivnih azidov).
Da bi se izognili morebitnemu kopičenju azidnih spojin, po odstranjevanju nerazredčenega reagenta sperite odtočne cevi z vodo. Odstranjevanje natrijevega azida mora biti skladno z ustreznimi lokalnimi predpisi.

POTREBEN MATERIAL, KI NI PRILOŽEN V KOMPLETU:

- Epruvete za vzorčenje in material, potreben za vzorčenje.
- Samodejne pipete s konicami za enkratno uporabo za 10, 100 in 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizo.
- Reagent za lizo rdečih krvničk z izpiranjem po lizi. Na primer: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagent za fiksacijo levkocitov. Na primer: fiksirna raztopina IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotipska kontrola PC5: Reagent IOTest (Ref. A07798).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijev fosfat; 0,145 M natrijev klorid; pH 7,2).
- Centrifugirajte.
- Samodejni stresalnik (za stresanje).
- Pretočni citometer.

POSTOPEK Z REAGENTOM VERSALYSE

Za vsak analizirani vzorec lahko poleg testne epruvete dodamo še kontrolno epruveto, v kateri so celice pomešane v prisotnosti izotipskih kontrol (Ref. A07798).

1. V vsako testno epruveto dodajte 10 µl konjugiranih protiteles IOTest, po potrebi pa 10 µl izotipske kontrole v vsako kontrolno epruveto.
2. V vsako epruveto dodajte 100 µl testnega vzorca. Epruvete nežno stresajte.
3. Inkubirajte ga 15 do 20 minut pri sobni temperaturi (18–25 °C), zaščitenega pred svetlobo.
4. Nato izvedite lizo rdečih celic. Oglejte si brošuro VersaLyse (Ref. A09777) in po možnosti upoštevajte postopek, imenovan »s hkratno fiksacijo«, po katerem je treba dodati 1 ml mešanice »Fix-and-Lyse«, pripravljene sprotno. Takoj stresajte eno sekundo in inkubirajte 10 minut pri sobni temperaturi, zaščiteno pred svetlobo.
5. Centrifugirajte 5 minut pri 150 x g na sobni temperaturi.
6. Supernatant odstranite z aspiracijo.
7. Celično usedlino znova suspendirajte z uporabo 3 ml PBS.
8. Ponovite 5. korak.
9. Supernatant odstranite z aspiracijo in znova suspendirajte celično usedlino z uporabo:

- 0,5 ml ali 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehida, če je pripravke treba hraniti manj kot 24 ur. (0,1-% formaldehid PBS lahko dobimo z redčenjem 12,5 µl fiksirne raztopine IOTest 3 (Ref. A07800) pri njeni 10X koncentraciji v 1 ml PBS).
- 0,5 ml ali 1 ml PBS brez formaldehida, če je pripravke treba analizirati v 2 urah.

Opomba: v vseh primerih pripravke hranite na temperaturi od 2 do 8 °C in zaščitite pred svetlobo.

PRIČAKOVANE VREDNOSTI

Za ta izdelek ni pričakovane vrednosti.

USPEŠNOST

Podatke o zmogljivosti pridobimo z zgoraj opisanim postopkom na vzorcih krvi, starih manj kot 24 ur, ki so bili predhodno zbrani v sterilnih epruvetah s soljo EDTA kot antikoagulantom. Analizo se izvede v 2 urah po imunohistokemičnem barvanju.

SPECIFIČNOST

CD34 je monomerna, močno glikozilirana transmembranska beljakovina z molekulsko maso 116 KDa vrste I (13). Obstajata dve molekularni obliki CD34; oblika celotne dolžine 385 amino zaporedja, ki ima intracelično domeno, ki vsebuje konsenz protein kinaze C, serin in treonin fosforilacijo. V okrnjeni obliki manjka večina intracelične domene. Ekstracelična oblika je prisotna v obeh oblikah CD34. Za CD34 so bili prepoznani trije tipi epitopov na osnovi diferencialne občutljivosti na epitope nevramidaze in glikolproteaze I. razreda (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3), ki so občutljivi na vse proteolitične encime. Epitopi II. razreda so odporni proti (QBEnd10) na nevraminidazo, so pa občutljivi na glikoproteazo. Klon 581 prepozna epitop III. razreda in ni občutljiv na vse proteolitične encime ter se raje veže na vse glikooblike CD34 (14).

Na 5. delavnici HLDA (Boston, 1993) so odobrili tri vrste epitopov CD34 na osnovi diferencialne občutljivosti.

NATANČNOST

Odstotke pozitivnih vrednosti smo določili z uporabo polne krvi, obogatene s pozitivnimi celicami. Vsak vzorec je bil obravnavan 4-krat, dvakrat dnevno 1 dan na 2 napravah z uporabo 2 serij reagentov z monoklonskimi protitelesi CD34-PC5. Meritve (% pozitivnih) so bile opravljene na pretočnem citometru Navios. Analiza je bila izvedena na podlagi metode CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vrednotenje natančnosti kvantitativnih merilnih metod).

Naša merila sprejemljivosti so odvisna od števila pozitivnih dogodkov, izmerjenih za vsako populacijo:

- Če je pozitiven dogodek < 1.500, je CV < 15 %
- Če je pozitiven dogodek > 1.500, je CV < 10 %

Polna kri, obogatena s KG1a celično linijo							
Število pozitivnih dogodkov (povprečje) = 5355							
	Med upravljavci	Med citometri	Znotraj serije	Med serijami	Med postopki	Znotraj postopka	Skupaj
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost CD34-PC5 smo ocenili s primerjavo rezultatov z referenčnim reagentom kot reagentom s potrjeno skladnostjo na nizu vzorcev polne krvi, obogatene s pozitivnimi celicami, obdelane na pretočnem citometru Navios. Odstopanje med testnim in referenčnim reagentom je bilo določeno na podlagi razlike med rezultati testa. Če je odstopanje znotraj dovoljenega območja napake ali vrednost p ne kaže pomembne razlike (> 0,05), se rezultati testov za oba reagenta štejejo za enakovredne.

Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Število darovalcev = 25				
Pozitivna tarča	Povprečje Δ	Δ % celičnega kriterija	vrednost p	REZULTATI
Polna kri, obogatena s KG1a celično linijo	1,31	<3	5,01E-04	PASS

MEJA SLEPEGA VZORCA IN MEJA ZAZNAVANJA

Študija je bila izvedena skladno z metodo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zmogljivosti zaznavanja za merilne postopke v kliničnih laboratorijih). Meja zaznavanja (LOD) je najnižja koncentracija analita, ki jo je mogoče dosledno zaznati. Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Positive Target	Meja slepega vzorca (celic/µl)	Meja zaznavanja (celic/µl)
KG1a Celična linija	1	2

OMEJITVE

1. S pretočno citometrijo lahko pride do napačnih rezultatov, če citometer ni bil točno nameščen, če puščanje fluorescence ni bilo ustrezno izravnano in če območja niso bila natančno pozicionirana.
2. Priporočljivo je uporabiti tehniko liziranja RBC s korakom pranja, saj ta reagent ni optimiziran za tehnike liziranja »brez pranja«.
3. Točne in ponovljive rezultate se bo doseglo, če se bo uporabilo postopke, ki so skladni s priloženim tehničnim listom in z načeli dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugirano protitelo tega reagenta je umerjeno, tako da zagotavlja najboljše razmerje med specifičnim/nespecifičnim signalnim razmerjem. Zato je pomembno, da pri vsakem testu upoštevamo razmerje med količino reagenta/količino vzorca.
5. V primeru hiperlevkocitoze razredčite kri v PBS, da se tako dobi vrednost približno 5 x 10^9 levkocitov/l (15).
6. Pri nekaterih bolezenskih stanjih, kot je huda ledvična odpoved ali hemoglobinopatije, je lahko liza rdečih krvničk počasna, nepopolna ali celo nemogoča. V tem primeru je priporočljivo izolirati mononuklearne celice z uporabo gradienta gostote (na primer Ficoll) pred barvanjem (16).
7. Zaradi tandemske strukture fluorokroma PC5 prav tako oddaja svetlobo z valovno dolžino 575 nm. Te sekundarne vršne emisije se razlikujejo med serijami PC5. Zato je treba za večbarvno analizo pri zamenjavi serije konjugata -PC5 skrbno preveriti kompenzacijsko matriko.
8. Pri bolnikih, ki se zdravijo s terapijo z antihumanimi monoklonskimi protitelesi, je lahko odkrivanje specifičnih ciljnih antigenov zmanjšano ali pa ga sploh ni zaradi delnega ali popolnega blokiranja s strani terapevtskega protitelesa.

9. Rezultate CD34-PC5 je treba razlagati v luči celotne klinične slike bolnika, vključno s: simptomi, anamnezo, podatki dodatnih testov in drugimi ustreznimi podatki.

Primere in reference si oglejte v prilogi.

BLAGOVNE ZNAMKE

Beckman Coulter, stiliziran logotip ter znamke izdelkov in storitev podjetja Beckman Coulter, omenjene v tem dokumentu, so blagovne znamke ali registrirane blagovne znamke podjetja Beckman Coulter, Inc. v Združenih državah Amerike in drugih državah.

DRUGI PODATKI

Za bolnike/uporabnike/tretje osebe v Evropski uniji in v državah z enakim regulativnim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskih pripomočkih za in vitro diagnostiko): če med uporabo tega pripomočka ali kot rezultat njegove uporabe pride do resnega incidenta, o tem poročajte proizvajalcu in/ali njegovemu pooblaščenemu predstavniku in svojemu nacionalnemu organu.

Summary of Safety and Performance (Povzetek o varnosti in zmogljivosti) je na voljo v bazi podatkov EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ZGODOVINA REVIZIJ

REVIDIRANA IZDAJA AD:	Datum izdaje: Oktober 2020

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AW	Maj 2022
Posodobitve za skladnost z globalno politiko označevanja Beckman Coulter in v skladu z zahtevami IVD-R (EU) 2017/746:	
Dodana poglavja	Številka BSI 2797, predvideni uporabnik, klinični pomen, koncentracija, točnost, natančnost, meja slepega vzorca in meja zaznavanja, dodatne informacije, zgodovina revizij.
Dodatne informacije	Oglejte si poglavja Omejitve
Izrazne ali tipografske posodobitve	Oglejte si poglavja Postopek, Zmogljivost, Omejitve, Opozorila in previdnostni ukrepi, Shranjevanje in stabilnost.
Odstranjena poglavja	Primer klinične uporabe, reagenti, ponovljivost znotraj laboratorija, linearnost
Posodobljena poglavja	Predvidena uporaba, Klasifikacija nevarnosti po GHS, Dokaz o poslabšanju stanja, Postopek, Priloga.

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AX	April 2023
Posodobljena poglavja	Dodaj kazaščino
Posodobljena poglavja	Shranjevanje in stabilnost

Revidirana različica	AY
Revidiran datum	Maj 2024
Posodobljeni prevodi	**Klinični pomen:**
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Revidirana različica	AZ
Revidiran datum	Julij 2024
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Seznam simbolov

Glosar simbolov je na voljo na beckman.com/techdocs (številka dokumenta B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD34
Klon	581
Hibridom	NS0 x balb/c
Imunogen	Human CD34+ leukaemic cells
Imunoglobulin	IgG1
Vrste	Miš
Prečišćavanje	Afinitetna hromatografija
Fluorohrom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molarni odnos	PC5/Ig: 0,5-1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisije	670 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Konjugovano antitelo CD34-PC5

REF A07777 100 testovi; 1 ml, 10 µl / test

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu

NAMENA

Ovo fluorohromno-konjugovano antitelo omogućava kvalitativnu i neautomatizovanu identifikaciju ćelijskih populacija koje eksprimiraju CD34 antigen prisutnih u humanim biološkim uzorcima pomoću protočne citometrije (pogledati odeljak „Uzorci“ u nastavku).

PRINCIP

Ovaj test se zasniva na sposobnosti određenih monoklonskih antitela da se vežu za antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično bojenje leukocita se obavlja inkubiranjem uzorka sa reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utiče, analiziraju se protočnom citometrijom.

Protočni citometar meri difuziju svetlosti i fluorescenciju ćelija. On omogućava razgraničenje populacije od interesa u okviru elektronskog prozora definisanog na histogramu, što je u korelaciji sa ortogonalnom difuzijom svetlosti (bočno rasejanje ili SS) i difuzijom uskougaone svetlosti (prednje rasejanje ili FS). Drugi histogrami koji kombinuju dva različita parametra koja postoje na citometru mogu se koristiti kao podrška u fazi regulacije, u zavisnosti od primene koju je korisnik odabrao.

Fluorescencija ograničenih ćelija se analizira kako bi se razlikovali pozitivno obojeni događaji od neobojenih događaja. Rezultati su prikazani kao procenat pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobijene regulacijom.

PREDVIĐENI KORISNIK

Ovaj proizvod je namenjen za upotrebu od strane laboratorijskih stručnjaka.

KLINIČKI ZNAČAJ

CD34-PC5 predstavlja CD34 antitelo korišćeno za identifikovanje i karakterizaciju ćelija koje eksprimiraju CD34 antigen pomoću protočne citometrije. Ovaj proizvod sam po sebi ne može da se koristi i nije namenjen za donošenje bilo kog dijagnostičkog zaključka.

Kada se koristi u kombinaciji sa drugim markerima, ovaj proizvod može da se koristi kod jedne ili više od sledećih funkcija:

- Kao pomoć u diferencijalnoj dijagnozi hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematološki poremećaj i za nadgledanje pacijenata sa poznatim hematološkim poremećajem.
- Kao pomoć u prognozi za pacijente koji imaju hematopoetsku neoplazmu.
- Za nadgledanje procesa ili rezultata transplantacije.

Pogledajte sledeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

UZORCI

Uzorci iz venske krvi moraju se uzimati sterilnim epruvetama koje sadrže EDTA so kao antikoagulans.

Uzorke treba čuvati na sobnoj temperaturi (18–25°C) i ne tresti. Uzorke treba pre uzimanja uzorka za testiranje homogenizovati blagim mešanjem.

Uzorci se moraju analizirati u roku od 24 sati od venepunkcije.

KONCENTRACIJA

Pogledajte dokument „Certificate of Analysis“ (Sertifikat analize) za određeni lot na veb-sajtu www.beckman.com.

UPOZORENJE I MERE OPREZA

1. Ne koristite reagense nakon isteka roka trajanja.
2. Ne zamrzavajte.
3. Pre upotrebe sačekajte da se približi sobnoj temperaturi (18–25°C).
4. Izbegavati izloženost svetlosti.
5. Sprečite mikrobsku kontaminaciju reagenasa ili se mogu javiti netačni rezultati.
6. Rastvorima antitela koji sadrže natrijum azid (NaN_3) treba pažljivo rukovati. Ne uzimajte interno i izbegavajte svaki dodir sa kožom, sluzokožom i očima.

Pored toga, u kiseloj sredini, natrijum azid može formirati potencijalno opasnu hidrazoinsku kiselinu. Ako je potrebno da se odloži u otpad, preporučuje se da se reagens razblaži u velikoj zapremini vode pre sipanja u sistem kanalizacije kako bi se izbeglo taloženje natrijum azida u metalnim cevima i sprečila opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno infektivnim i njima se mora pažljivo rukovati (posebno: nošenje zaštitnih rukavica, odeće i zaštitnih naočara).
8. Nikada ne pipetirajte ustima i izbegavajte svaki kontakt uzoraka sa kožom, sluzokožom i očima.
9. Epruvete za uzorak krvi i potrošni materijal koji je korišćen za rukovanje treba odložiti u ad hoc kontejnere predviđene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad treba ukloniti prema lokalnim zahtevima.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno

SDS Dokument „Bezbednosni list“ dostupan je na internet stranici beckmancoulter.com/techdocs

SKLADIŠTENJE I STABILNOST

Ovaj reagens se mora čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C i zaštićen od svetlosti, pre i posle otvaranja bočice.

Ispitivanje roka trajanja zatvorene bočice u odnosu na stabilnost: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dan(a).

DOKAZI POGORŠANJA

Bilo koja promena u fizičkom izgledu reagensa može ukazivati na pogoršanje i reagens ne treba koristiti.

Za dodatne informacije ili ako dobijete oštećen proizvod, pozovite korisnički servis kompanije Beckman Coulter na broj 800-742-2345 (SAD ili Kanada) ili pozovite svog lokalnog predstavnika kompanije Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans sa natrijum azidom može formirati eksplozivna jedinjenja u metalnim odvodnim vodovima. Pogledajte „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (16.8.76.) (Bilten Nacionalnog instituta za bezbednost i zdravlje na radu: Opasnost od eksplozivnih azida).
Da biste sprečili moguće taloženje jedinjenja azida, isperite cevi za otpad vodom nakon odlaganja u otpad nerazblaženog reagensa. Odlaganje u otpad natrijum azida mora biti u skladu sa odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI SE NE ISPORUČUJU UZ KOMPLET:

- Epruvete za uzorkovanje i materijal potreban za uzorkovanje.
- Automatske pipete sa nastavcima za jednokratnu upotrebu za 10 100 µl i 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizu.
- Reagens za liziranje eritrocita sa fazom ispiranja nakon liziranja. Na primer: VersaLyse (referentni broj A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primer: IOTest 3 fiksativni rastvor (referentni broj A07800).
- Izotipska kontrola PC5: IOTest reagens (referentni broj A07798).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijum-fosfat; 0,145 M natrijum-hlorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska mešalica (vrtložnog tipa).
- Protočni citometar.

POSTUPAK SA VERSALYSE REAGENSOM

Za svaki analiziran uzorak je pored epruvete za uzorak moguće dodati i jednu kontrolnu epruvetu u kojoj se ćelije mešaju u prisustvu izotipske kontrole (referentni broj A07798).

1. Dodajte 10 µl specifičnog IOTest konjugovanog antitela u svaku epruvetu za uzorak i, ako je to potrebno, 10 µl kontrole izotipa u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µl uzorka za testiranje u svaku epruvetu za uzorak. Pažljivo izmešajte epruvete u vrtložnoj mešalici.
3. Inkubirajte 15 do 20 minuta na sobnoj temperaturi (18–25°C), zaštićeno od svetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje crvenih ćelija. Pogledajte VersaLyse (referentni broj A09777) letak i poželjno pratite postupak pod nazivom „sa istovremenom fiksacijom“, koji se sastoji od dodavanja 1 ml nezavisno pripremljene smeše za fiksiranje i liziranje („Fix-and-Lyse“). Odmah izmešajte u vrtložnoj mešalici jednu sekundu i inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi, zaštićeno od svetlosti.
5. Centrifugirajte 5 minuta na 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Ponovo suspendujte talog ćelija u 3 ml PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Aspiracijom uklonite supernatant i ponovo suspendujte talog ćelija u:

- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a plus 0,1% formaldehida ako će se preparati čuvati kraće od ovog broja sati: 24. (PBS sa 0,1% formaldehida može se dobiti razblaživanjem 12,5 µl IOTest 3 rastvora za fiksiranje (referentni broj A07800) u 10X koncentraciji u 1 ml PBS-a).
- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a bez formaldehida ako će se preparati analizirati u roku od ovog broja sati – 2.

Napomena: U svim slučajevima preparate čuvajte na temperaturi između 2°C i 8°C i zaštićene od svetlosti.

OČEKIVANE VREDNOSTI

Ne postoji očekivana vrednost relevantna za ovaj proizvod.

PERFORMANSE

Podaci o delovanju dobijeni su pomoću prethodno opisanog postupka na manje od 24 sata starim uzorcima krvi koji su prethodno prikupljeni sterilnim epruvetama za uzorke sa EDTA solju kao antikoagulansom. Analiza se vrši u roku od 2 sata od imunobojenja.

SPECIFIČNOST

CD34 je monomerni jako glikolizovani transmembranski protein tipa I od 116 KDa (13). Postoje dve molekularne forme CD34; forma pune dužine od 385 amino sekvenci ima međućelijski domen koji sadrži konsenzus fosforilacije protein-kinaze C, serina i treonina. Skraćena forma ne sadrži veći deo međućelijskog domena. Vanćelijska forma postoji u obe forme CD34. U slučaju CD34, prepoznata su tri tipa epitopa na osnovu diferencijalne osetljivosti na epitope Klase I neuramidaze i glikolproteaze (BEC Immu133 My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) osetljivi su na sve proteolitske enzime. Epitopi Klase II su (QBEnd10) otporni na neuraminidazu ali osetljivi na glikoproteazu. Klon 581 prepoznaje epitope klase III, neosetljiv je na sve proteolitske enzime i snažno se vezuje za sve glikoforme CD34 (14).

Na radionici „5th HLDA workshop“ (Peta HLDA konferencija) (održanoj u Bostonu 1993.) odobrena su tri tipa epitopa CD34 na osnovu diferencijalne osetljivosti.

PRECIZNOST

Procenat pozitivnih vrednosti utvrđen je pomoću pune krvi obogaćene pozitivnim ćelijama. Svaki uzorak je analiziran 4 puta, dva puta dnevno tokom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagenasa monoklonskog antitela CD34-PC5. Merenja (% pozitivnog) su izvršena na Navios protočnom citometru. Analiza je obavljena na osnovu CLSI metoda EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procena preciznosti učinka kvantitativnih metoda merenja).

Naši kriterijumi prihvatljivosti zavise od broja pozitivnih događaja izmerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivan događaj <1.500, CV <15%
- Ako je pozitivan događaj >1.500, CV <10%

Puna krv obogaćena KG1a ćelijskom linijom							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrednost) = 5355							
	Između više operatera	Između više citometara	Unutar jednog lota	Između više lotova	Između više analiziranja	Unutar jednog analiziranja	Ukupno
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TAČNOST

Tačnost testa CD34-PC5 procenjena je poređenjem rezultata sa referentnim reagensom kao osnovom na kompletu uzoraka pune krvi obogaćene pozitivnim ćelijama analiziranim na Navios protočnom citometru. Odstupanje između testa i referentnog reagensa određeno je na osnovu razlike između rezultata testova. Ako je odstupanje u okviru dozvoljenog opsega greške ili p-vrednost ne ukazuje na značajnu razliku (>0,05), rezultati testova za ova dva reagensa se smatraju ekvivalentnim.

Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivan cilj	Srednja vrednost Δ	Δ % ćelijskih kriterijuma	p-vrednost	REZULTATI
Puna krv obogaćena KG1a ćelijskom linijom	1,31	<3	5,01E-04	PASS

LIMIT SLEPE PROBE I LIMIT DETEKCIJE

Izvršeno je ispitivanje u skladu s protokolom CLSI EP17-A2, „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Procena sposobnosti detekcije za postupke merenja u kliničkoj laboratoriji). Limit detekcije (LoD) je najniža koncentracija analita koja se može dosledno detektovati. Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli:

Positive Target	Limit slepe probe (ćelija/µl)	Limit detekcije (ćelija/µl)
KG1a Ćelijska linija	1	2

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti netačne rezultate ako citometar nije pravilno postavljen, ako fluorescentna curenja nisu ispravno kompenzirana ili ako regioni nisu pažljivo postavljeni.
2. Poželjno je koristiti tehniku liziranja RBC sa korakom ispiranja jer ovaj reagens nije optimizovan za tehnike liziranja „bez pranja“.
3. Tačni i ponovljivi rezultati će se dobijati sve dok su korišćeni postupci u skladu sa listom sa tehničkim podacima i postupci kompatibilni sa smernicama dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugovano antitelo ovog reagensa je kalibrisano tako da ponudi najbolji odnos specifičnog i nespecifičnog signala. Prema tome, važno je u svakom testu koristiti utvrđeni odnos zapremine reagensa i zapremine uzorka.
5. U slučaju hiperleukocitoze, razredite krv u PBS-u kako biste dobili vrednost od približno 5 x 10^9 leukocita/l (15).
6. U određenim stanjima bolesti, kao što su teška bubrežna insuficijencija ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak nemoguće. U tom slučaju se pre bojenja preporučuje izoliranje mononuklearnih ćelija upotrebom gradijenta gustine (na primer, fikol) (16).
7. Usled tandem strukture fluorohroma, PC5 takođe emituje svetlo na 575 nm. Ova sekundarna vršna vrednost emisije se razlikuje od lota do lota PC5. Prema tome, u slučaju analize sa više boja, matriks kompenzacije treba pažljivo proveriti pri promeni lota PC5 konjugata.

8. Kod pacijenata lečenih terapijama antihumanim monoklonskim antitelima, detekcija specifičnih ciljanih antigena može biti umanjena ili odsutna usled delimične ili potpune blokade od strane terapijskog antitela.
9. Rezultate CD34-PC5 testa treba tumačiti u svetlu celokupne kliničke slike pacijenta, uključujući: simptome, kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i druge prikladne informacije.

Za primere i referentne materijale pogledati Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizovani logotip i Beckman Coulter robni i servisni žigovi koji se navode u ovom dokumentu jesu žigovi ili registrovani žigovi kompanije Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim zemljama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta/korisnika/treću stranu u Evropskoj uniji i zemljama sa identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o in vitro dijagnostičkim medicinskim sredstvima); ako je tokom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe došlo do ozbiljnog incidenta, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlašćenom predstavniku i svom nacionalnom organu.

Dokument Summary of Safety and Performance (Sažetak informacija o bezbednosti i učinku) dostupan je u EUDAMED bazi podataka: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORIJA REVIZIJA

REVIZIJA AD:	Datum izdavanja: Oktobar, 2020.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AW	Maj 2022.
Ažurirano radi usklađenosti sa smernicama za globalno obeležavanje kompanije Beckman Coulter u skladu sa zahtevima IVD-R (EU)2017/746:	
Dodati odeljci	BSI 2797 broj, Predviđeni korisnik, Klinički značaj, Koncentracija, Preciznost, Tačnost, Limit slepe probe i limit detekcije, Dodatne informacije, Istorija revizija.
Dodate informacije	Pogledati odeljke Ograničenja
Ažuriranje formulacija ili tipografije	Pogledati odeljke Postupak, Učinak, Ograničenja, Upozorenja i mere opreza, Čuvanje i stabilnost.
Uklonjeni odeljci	Primeri kliničkih primena, Reagensi, Intralaboratorijska reproducibilnost, Linearnost
Dopunjeni odeljci	Namena, GHS klasifikacija opasnosti, Dokaz propadanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AX	April 2023
Dopunjeni odeljci	Dodajte kazaški
Dopunjeni odeljci	Skladištenje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Maj 2024
Ažurirani prevodi	**Klinički značaj:**
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Jul 2024
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Ključ za simbole

Rečnik simbola je dostupan na adresi beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Specifikācijas
Specifika	CD34
Klons	581
Hibridoma	NS0 x balb/c
Imunogēns	Human CD34+ leukaemic cells
Imūnglobulīns	IgG1
Suga	Pele
Attīrīšana	Afinitātes hromatogrāfija
Fluorohroms	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molārā attiecība	PC5/Ig: 0,5-1,5
λ ierosme	488 nm
Izstarojuma lielākā vērtība	670 nm
Buferšķīdums	PBS pH 7,2 ar 2 mg/ml BSA un 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugētā antiviela
CD34-PC5

REF A07777 100 testi; 1 ml, 10 µl/testā

***In vitro* diagnostikas lietošanai**

PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

Ar fluorohromu konjugētā antiviela nodrošina tādu šūnu populāciju kvalitatīvo un neautomatizēto noteikšanu, kam ir CD34 antigēna ekspresija un kas ir cilvēka bioloģiskajos paraugos, izmantojot plūsmas citometriju (skatīt tālāk sadaļu „Paraugi").

PRINCIPS

Šī testa pamatā ir specifisku monoklonālu antivielu spēja saistīties ar leikocītu izdalītām antigēnu determinantēm.

Leikocītu specifiskā iekrāsošana tiek veikta, inkubējot paraugu ar IOTest reaģentu. Pēc tam eritrocīti tiek atdalīti lizēšanas procesā, un leikocīti, ko šis process neietekmē, tiek analizēti, izmantojot plūsmas citometriju.

Plūsmas citometrs mēra gaismas difūziju un šūnu fluorescenci. Tādēļ ir iespējama interesējošās populācijas ierobežošana elektroniskajā logā, kas definēts histogrammā, kas korelē ar gaismas ortogonālo difūziju (sānu izkliede jeb SS) un šaurleņķa gaismas difūziju (priekšējā izkliede jeb FS). Kā papildu metodes sinhronizācijas procesā iespējams izmantot citas histogrammas, kurās iespējams kombinēt divus dažādus citometrā pieejamos parametrus atkarībā no lietotāja izvēlētā izmantojuma.

Tiek analizēta atdalīto šūnu fluorescence, lai atšķirtu pozitīvi iekrāsotos notikumus no neiekrāsotajiem. Rezultāti tiek izteikti kā procentuālais lielums no pozitīviem notikumiem attiecībā pret visiem notikumiem, kas iegūti selekcijā.

PAREDZĒTAIS LIETOTĀJS

Šis produkts ir paredzēts profesionālai lietošanai laboratorijā.

KLĪNISKAIS NOZĪMĪGUMS

CD34-PC5 ir CD34 antiviela, ko izmanto, lai ar plūsmas citometriju noteiktu un raksturotu šūnas, kas ekspresē CD34 antigēnu. Ar vienu pašu šo izstrādājumu nevar iegūt nekādu diagnostisku secinājumu, un tas nav tam paredzēts.

Izmantojot kopā ar citiem marķieriem, šo izstrādājumu var lietot vienai vai vairākām tālāk norādītajām funkcijām.

- Lai palīdzētu tādu pacientu ar hematoloģiskām patoloģijām diferenciāldiagnostikā, kuriem, iespējams, ir hematoloģiska slimība, un lai uzraudzītu pacientus ar zināmu hematoloģisku slimību.
- Lai palīdzētu noteikt prognozi pacientiem ar asinsrades neoplazmu.
- Lai uzraudzītu transplantācijas gaitu vai rezultātus.

Skatiet tālāk sniegtās atsauces.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

PARAUGI

Venozās asinis jāņem, izmantojot sterilas mēģenes, kurās kā antikoagulants ir izmantots EDTA sāls.

Paraugi ir jāuzglabā istabas temperatūrā (18–25 °C), un tos nedrīkst sakratīt. Pirms testa parauga ņemšanas ir jāveic paraugu homogenizācija, viegli saskalojot paraugus.

Paraugu analīze ir jāveic 24 stundu laikā pēc vēnas punkcijas.

KONCENTRĀCIJA

Konkrētai partijai atbilstošo analīzes sertifikātu skatiet vietnē www.beckman.com.

BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

1. Neizmantojiet reaģentu pēc derīguma termiņa beigām.
2. Nedrīkst sasaldēt.
3. Pirms izmantošanas ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai (18–25 °C).
4. Minimizējiet ekspozīciju gaismas iedarbībai.
5. Izvairieties no reaģentu bakteriālas kontaminācijas, jo iespējami viltus rezultāti.
6. Strādājot ar antivielu šķīdumiem, kuru sastāvā ir nātrija azīds (NaN_3), jāievēro piesardzība. Neizmantojiet iekšķīgi un nepieļaujiet saskari ar ādu, gļotādu un acīm.

Turklāt skābā vidē nātrija azīds var radīt potenciāli bīstamo hidrazoīdskābi. Ja to nepieciešams izmest, reaģentu ieteicams šķīdināt lielā daudzumā ūdens un izliet to kanalizācijas sistēmā, lai novērstu nātrija azīda uzkrāšanos metāla caurulēs un novērstu sprādziena risku.

7. Visi asins paraugi ir jāuzskata par potenciāli infekcioziem, un ar tiem jārīkojas, ievērojot piesardzību (respektīvi, jāvalkā aizsargcimdi, aizsargtērpi un brilles).
8. Nekādā gadījumā neizmantojiet muti, lai darbotos ar pipeti. Paraugi nekādā gadījumā nedrīkst saskarties ar ādu, gļotādu un acīm.
9. Darbā izmantotās asiņu mēģenes un vienreizlietojamie materiāli ir jāizmet ad hoc konteineros, kas paredzēti sadedzināšanai.
10. Ir jāveic reaģentu un atkritumu utilizācija atbilstoši vietējām prasībām.

ĶĪMISKO VIELU KLASIFICĒŠANAS UN MARĶĒŠANAS VISPĀRĒJI SASKAŅOTĀS SISTĒMAS BĪSTAMĪBAS KLASIFIKĀCIJA

Nav klasificēts kā bīstams

SDS Drošības datu lapa ir pieejama vietnē beckmancoulter.com/techdocs

GLABĀŠANA UN STABILITĀTE

Reaģents ir jāuzglabā 2–8 °C temperatūrā un jāsargā no gaismas pirms un pēc flakona atvēršanas.

Aizvērta flakona glabāšanas laiks saskaņā ar stabilitātes pētījumu: 1095 dienas.

Atvērta flakona stabilitāte: reaģents ir stabils 180 dienas.

SADALĪŠANĀS PAZĪMES

Jebkuras reaģentu pazīmju izmaiņas var norādīt, ka reaģents sadalās un to nedrīkst izmantot.

Lai iegūtu papildu informāciju vai arī ja saņemtais izstrādājums ir bojāts, zvaniet Beckman Coulter klientu servisam pa tālruni 800-742-2345 (ASV vai Kanāda) vai sazinieties ar vietējo Beckman Coulter pārstāvi.

SATURS

Nātrija azīda konservants var izveidot sprādzienbīstamus savienojumus metāla notekcaurulēs. Skatīt NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (NIOSH biļetens: Azīdu sprādzienbīstamība) (16.8.76.).
Lai nepieļautu iespējamo azīda savienojumu uzkrāšanos, pēc neatšķaidītā reaģenta izmešanas izskalojiet kanalizācijas caurules ar ūdeni. Nātrija azīda izmešana ir jāveic saskaņā ar atbilstošajiem vietējiem noteikumiem.

NEPIECIEŠAMIE MATERIĀLI, KAS NEIETILPST KOMPLEKTĀ

- Paraugu ņemšanai nepieciešamās mēģenes un materiāli.
- Automātiskās pipetes ar vienreizlietojamiem uzgaļiem, kas paredzētas 10, 100 un 500 µl.
- Plastmasas hemolīzes mēģenes.
- Eritrocītu lizēšanas reaģents ar mazgāšanas fāzi pēc lizēšanas. Piemērs: VersaLyse (ats. A09777).
- Leikocītu fiksācijas reaģents. Piemērs: IOTest 3 fiksatīvais šķīdums (ats. A07800).
- Izotipa kontrole PC5: IOTest reaģents (ats. A07798).
- Buferšķīdums (PBS: 0,01 M nātrija fosfāta; 0,145 M nātrija hlorīda; pH 7,2).
- Centrifugējiet.
- Automātisks maisītājs (samaisīšanas tipa).
- Plūsmas citometrs.

PROCEDŪRA AR REAĢENTU VERSALYSE

Katram analizētajam paraugam papildus testa mēģenei var izmantot vienu kontroles mēģeni, kurā šūnas tiek sajauktas izotipu kontroles klātbūtnē (ats. A07798).

1. Katrai testa mēģenei pievienojiet 10 µl specifiskas IOTest konjugētas antivielas un, ja nepieciešams, katrai kontroles mēģenei pievienojiet 10 µl izotipa kontroles.
2. Pievienojiet 100 µl testa parauga katrai mēģenei. Saudzīgi samaisiet mēģenes.
3. Inkubējiet 15–20 minūtes istabas temperatūrā (18–25 °C), sargājot no gaismas.
4. Pēc tam veiciet eritrocītu lizēšanu. Skatiet VersaLyse (ats. A09777) lietošanas instrukciju, un ir vēlams izmantot procedūru ar nosaukumu „ar vienlaicīgu fiksāciju", kas tiek veikta, pievienojot 1 ml ekstemporāli izgatavota „Fix-and-Lyse" maisījuma. Nekavējoties samaisiet uz vienu sekundi un inkubējiet mēģeni 10 minūtes istabas temperatūrā, sargājot to no gaismas iedarbības.
5. Centrifugējiet 5 minūtes istabas temperatūrā, izmantojot 150 x g.
6. Aspirējot noņemiet virsējo slāni.
7. Atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu ar 3 ml PBS.
8. Atkārtojiet 5. darbību.
9. Aspirējot noņemiet virsējo slāni un atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu, izmantojot:

- 0,5 ml vai 1 ml PBS ar 0,1 % formaldehīda, ja preparātus ir paredzēts uzglabāt mazāk nekā 24 stundas. (0,1 % formaldehīda PBS var iegūt, atšķaidot 12,5 µl IOTest 3 fiksācijas šķīduma (ats. A07800) 10X koncentrācijā ar 1 ml PBS).
- 0,5 ml vai 1 ml PBS bez formaldehīda, ja ir paredzēts analizēt sagataves 2 stundu laikā.

Piezīme. Sagatavotos maisījums vienmēr uzglabājiet 2–8 °C temperatūrā un sargājiet no gaismas.

PAREDZAMĀS VĒRTĪBAS

Šim izstrādājumam nav saistītas paredzamās vērtības.

VEIKTSPĒJA

Veiktspējas dati tiek iegūti, izmantojot iepriekš aprakstīto procedūru mazāk nekā 24 stundu veciem asins paraugiem, kas iepriekš paņemti sterilās mēģenēs ar EDTA sāli kā antikoagulantu. Analīze tiek veikta 2 stundu laikā pēc imūnkrāsošanas metodes izmantošanas.

SPECIFIKA

CD34 ir monomērs, lielos apmēros glikolizēts I tipa transmembrānu 116 KDa proteīns (13). CD34 ir divas molekulārās formas. 385 aminoskābju secību pilna garuma formā ir intracelulārs domēns, kas satur proteīna kināzes C, serīna un treonīna fosforilēšanās konsensu. Saīsinātajā formā trūkst intracelulārā domēna lielākās daļas. Ekstracelulārā forma ir atrodama abās CD34 formās. CD34 ir atpazīti trīs epitopu tipi, balstoties uz diferencēto jutību pret neiramidāzi un glikolproteāzi; I klases epitopi (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12,8, ICH3) ir jutīgi pret visiem proteolītiskajiem enzīmiem. II klases epitopi ir (QBEnd10) izturīgi pret neiraminidāzi, bet jutīgi pret glikoproteāzi. Klons 581 atpazīst III klases tipa epitopu, ir nejutīgs pret visiem proteolītiskajiem enzīmiem un cieši saistīts ar visām CD34 glikoformām (14)

5. HLDA seminārā (Bostonā, 1993. gadā) apstiprināja trīs CD34 epitopu tipus, balstoties uz diferencēto jutību.

PRECIZITĀTE

Procentuāli pozitīvās vērtības tika noteiktas, izmantojot pilnasinis, kam pievienotas pozitīvas šūnas. Katru paraugu analizēja 4 reizes: divreiz dienā 1 dienu 2 instrumentos, izmantojot 2 partijas CD34-PC5 monoklonālu antivielu reaģentu. Mērījumus (% pozitīvs) veica Navios plūsmas citometrā. Analīzi veica, pamatojoties uz CLSI metodi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatīvo mērīšanas metožu precizitātes veiktspējas novērtēšana).

Mūsu pieņemšanas kritēriji ir atkarīgi no katrai populācijai noteikto pozitīvo notikumu skaita.

- Ja pozitīvs notikums < 1500, variācijas koeficients < 15 %
- Ja pozitīvs notikums > 1500, variācijas koeficients < 10 %

Pilnasins, kam pievienota KG1a šūnu līnija							
Pozitīvo notikumu skaits (aritmētiskais vidējais) = 5355							
	Starp operatoriem	Starp citometriem	Partijā	Starp partijām	Starp analīzēm	Analīzē	Kopā
Variācijas koeficients (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
REZULTĀTI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRECIZITĀTE

CD34-PC5 precizitāti novērtēja, pilnasins paraugu kopas, kuriem pievienotas pozitīvas šūnas un kas analizēti Navios plūsmas citometrā, rezultātus salīdzinot ar atsauces reaģentu kā predikātu. Novirzi starp testa un atsauces reaģentu noteica, pamatojoties uz testu rezultātu atšķirību. Ja novirze atbilst pieļaujamajam kļūdas diapazonam vai p vērtība neliecina par nozīmīgu atšķirību (> 0,05), tad abu reaģentu testu rezultāti uzskatāmi par līdzvērtīgiem.

Iegūtie rezultāti ir apkopoti nākamajā tabulā.

Donoru skaits = 25				
Pozitīvais mērķis	Aritmētiskais vidējais Δ	Δ % šūnu kritēriji	p vērtība	REZULTĀTI
Pilnasins, kam pievienota KG1a šūnu līnija	1,31	<3	5,01E-04	PASS

TUKŠO PARAUGU ROBEŽVĒRTĪBA UN NOTEIKŠANAS ROBEŽVERTĪBA

Pētījums tika veikts saskaņā ar CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klīniskās laboratorijas mērījumu procedūru noteikšanas spēju izvērtējums). Noteikšanas robežvērtība (NR) ir zemākā analīta koncentrācija, ko iespējams konsekventi noteikt. Iegūtie rezultāti ir apkopoti tālāk tabulā.

Positive Target	Tukšo paraugu robežvērtība (šūnas/µl)	Noteikšanas robežvērtība (šūnas/µl)
KG1a Šūnu līnija	1	2

IEROBEŽOJUMI

1. Ja citometrs nav novietots precīzi līdzeni, ja nav pareizi kompensētas fluorescences noplūdes un ja reģioni nav uzmanīgi novietoti, plūsmas citometrija var radīt viltus rezultātus.
2. Ir ieteicams izmantot RBC lizēšanas paņēmienu ar mazgāšanas darbību, jo šis reaģents nav optimizēts izmantošanai lizēšanas paņēmienā „bez mazgāšanas".
3. Iegūtie rezultāti ir precīzi un reproducējami, ja visas izmantotās procedūras tiek izpildītas atbilstoši tehniskajai lietošanas instrukcijai un ir saskaņā ar labu laboratorijas praksi.
4. Šī reaģenta konjugētā antiviela ir kalibrēta tā, lai nodrošinātu labāko specifiska signāla/nespecifiska signāla attiecību. Tāpēc ir ļoti svarīgi ievērot reaģenta tilpuma/parauga tilpuma attiecību katrā testā.
5. Hiperleikocitozes gadījumā atšķaidiet asinis ar PBS, lai iegūtā vērtība būtu apmēram 5 x 10^9 leikocīti/l (15).
6. Dažos slimību stāvokļos, piemēram, izteiktas nieru mazspējas vai hemoglobinopātijas gadījumā, eritrocītu lizēšana var būt lēna, nepilnīga vai pat neiespējama. Šajā gadījumā pirms iekrāsošanas ir ieteicams izolēt mononukleārās šūnas, izmantojot blīvuma gradientu (piemēram, Ficoll) (16).
7. Fluorohroma tandēma struktūras dēļ PC5 arī izstaro gaismu ar viļņa garumu 575 nm. Šī sekundārā izstarojuma maksimālā vērtība atšķiras dažādām PC5 partijām. Tāpēc, ja maina -PC5 konjugāta partiju, lai veiktu daudzkrāsu analīzi, ir rūpīgi jāpārbauda kompensēšanas matrice.
8. Pacientiem, ko ārstē ar anti-cilvēka monoklonālas antivielas līdzekļiem, specifisku mērķa antigēnu noteikšana var būt pasliktināta vai tās var nebūt, jo to daļēji vai pilnībā bloķē terapeitiskā antiviela.
9. CD34-PC5 rezultāti jāinterpretē, ņemot vērā pacienta kopējo klīnisko prezentāciju, tajā skaitā simptomus, slimības vēsturi, papildu testu rādītājus un citu atbilstošu informāciju.

Pielikumā skatiet piemērus un atsauces.

PREČU ZĪMES

Beckman Coulter, stilizētais logotips un Beckman Coulter preču un pakalpojumu zīmes, kas minētas šeit, ir Beckman Coulter, Inc. preču zīmes vai reģistrētas preču zīmes Amerikas Savienotajās Valstīs un citās valstīs.

PAPILDINFORMĀCIJA

Attiecībā uz pacientiem/lietotājiem/trešajām personām Eiropas Savienībā vai valstīs ar identisku regulatīvo režīmu (Regula (ES) 2017/746 par in vitro diagnostikas medicīniskām ierīcēm); ja ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā rodas nopietns negadījums, informējiet par to ražotāju un/vai tā pilnvaroto pārstāvi, kā arī valsts iestādi.

Summary of Safety and Performance (Drošuma un veiktspējas kopsavilkums) ir pieejams EUDAMED datubāzē: ec.europa.eu/tools/eudamed.

PĀRSKATĪŠANAS VĒSTURE

AD VERSIJA:	Laidiena datums: 2020. gada oktobris

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AW	2022. gada maijs
Atjauninājumi atbilst Beckman Coulter vispārējai marķēšanas politikai un IVD-R (ES)2017/746 prasībām:	
Pievienotas iedaļas	BSI 2797 numurs, Paredzētais lietotājs, Klīniskais nozīmīgums, Koncentrācija, Precizitāte, Precizitāte, Tukšo paraugu robežvērtība un noteikšanas robežvērtība, Papildinformācija, Pārskatīšanas vēsture.
Pievienota informācija	Skatīt iedaļas Ierobežojumi.
Formulējuma vai tipogrāfiski atjauninājumi	Skatīt iedaļas Procedūra, Veiktspēja, Ierobežojumi, Brīdinājumi un piesardzības pasākumi, Glabāšana un Stabilitāte.
Izņemtās iedaļas	Klīniskā lietojuma piemērs, reaģenti, reproducējamība laboratorijā, linearitāte.
Atjauninātās sadaļas	Paredzētā lietošana, Ķīmisko vielu klasificēšanas un marķēšanas vispārēji saskaņotās sistēmas bīstamības klasifikācija, Sadalīšanās pazīmes, Procedūra, Pielikums.

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AX	Aprīlis 2023
Atjauninātās sadaļas	Pievienot kazahu valodu
Atjauninātās sadaļas	Glabāšana un stabilitāte

Pārskatītā versija	AY
Pārskatītā izdevuma datums	Maijs 2024
Atjauninātie tulkojumi	**Klīniskais nozīmīgums:**
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Pārskatītā versija	AZ
Pārskatītā izdevuma datums	Jūlijs 2024
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Simbolu skaidrojumi

Simbolu glosārijs ir pieejams vietnē beckman.com/techdocs (dokumenta numurs B60062)

	Специфікації
Специфічність	CD34
Клон	581
Гібридома	NS0 x balb/c
Імуноген	Human CD34+ leukaemic cells
Імуноглобулін	IgG1
Вид	Миша
Очищення	Афінна хроматографія
Флуорохром	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Молярне співвідношення	PC5/Ig: 0,5-1,5
λ-збудження	488 нм
Пік випромінювання	670 нм
Буфер	Розчин ФСБ pH 7,2 плюс бичачий сироватковий альбумін (БСА) 2 мг/мл та 0,1% NaN_3

Кон'юговане антитіло IOTest CD34-PC5

REF A07777 100 тестів; 1 мл, 10 мкл/тест

Для діагностики *in vitro*.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Ці антитіла, кон'юговані з флуорохромом, забезпечують якісну та неавтоматизовану ідентифікацію популяцій клітин, що експресують антиген CD34, присутніх у біологічних пробах людини, за допомогою проточної цитометрії (див. розділ «Проби» нижче).

ПРИНЦИП

Цей тест базується на здатності специфічних моноклональних антитіл зв'язуватися з антигенними детермінантами, які експресуються лейкоцитами.

Специфічне забарвлення лейкоцитів здійснюється через інкубацію проби з реагентом IOTest. Еритроцити далі видаляють за допомогою лізису, а лейкоцити, на які не впливає цей процес, досліджують методом проточної цитометрії.

Проточний цитометр вимірює розсіювання світла та флуоресценцію клітин. Це робить можливим розмежування досліджуваної популяції всередині електронного вікна, що визначається на гістограмі, яка співвідносить ортогональне розсіювання світла (бічне розсіювання або Side Scatter — SS) і вузькокутове розсіювання світла (пряме розсіювання або Forward Scatter — FS). Інші гістограми, що поєднують два різні параметри, доступні на цитометрі, можна використовувати для допомоги на етапі гейтингу залежно від програми, вибраної користувачем.

Флуоресценція обмеженої популяції клітин аналізується, щоб розрізнити події з позитивно забарвленими клітинами й незабарвленими. Результати виражаються як відсоток позитивних подій відносно всіх подій, зареєстрованих за допомогою гейтингу.

ПЕРЕДБАЧУВАНИЙ КОРИСТУВАЧ

Цей продукт призначений для професійного використання в лабораторії.

КЛІНІЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ

CD34-PC5 — це антитіло CD34, яке використовується для ідентифікації та характеристики клітин, що експресують антиген CD34, методом проточної цитометрії. Цей виріб за ізольованого використання не може застосовуватись для генерації жодних діагностичних висновків, він не призначений для цього.

Під час використання разом з іншими маркерами цей продукт можна використовувати в одному або декількох з нижченаведених застосувань.

- Як допоміжний засіб під час прогнозування диференціальної діагностики в пацієнтів з відхиленнями в результатах гематологічних досліджень з підозрою на гематологічний розлад і для моніторингу пацієнтів з відомим гематологічним розладом.
- У якості допоміжного засобу при прогнозуванні подальшого перебігу хвороби у пацієнтів з гематопоетичним новоутворенням.
- Для моніторингу процесу або результатів трансплантації.

Див. такі посилання:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

ПРОБИ

Венозну кров потрібно брати в стерильні пробірки, що містять ангикоагулянт — сіль ЕДТА.

Проби слід зберігати за кімнатної температури (18–25°C), і їх не слід струшувати. Перш ніж узяти пробу для тестування, проби потрібно гомогенізувати за допомогою обережного перемішування.

Проби потрібно проаналізувати не пізніше ніж через 24 години після венепункції.

КОНЦЕНТРАЦІЯ

Див. сертифікат аналізу для серії на вебсайті www.beckman.com.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.
2. Не заморожуйте.
3. Доведіть до кімнатної температури (18–25°C) перед використанням.
4. Зведіть до мінімуму вплив світла.
5. Уникайте мікробної контамінації реагентів, інакше можуть бути отримані помилкові результати.

6. Розчини антитіл, які містять азид натрію (NaN_3), треба обробляти обережно. Не приймайте внутрішньо й уникайте будь-якого контакту зі шкірою, слизовими оболонками та очима.

   Крім того, у кислому середовищі азид натрію може утворити потенційно небезпечну азотистоводневу кислоту. Якщо його потрібно утилізувати, рекомендується розвести реагент у великій кількості води перед зливанням у водостічну систему, щоб уникнути накопичення азиду натрію на поверхні металевих труб і запобігти небезпеці вибуху.

7. Усі проби крові слід розглядати як потенційно інфекційні та поводитися з ними обережно (зокрема, використовуючи захисні рукавички, халати й окуляри).
8. У жодному разі не піпетуйте ротом та уникайте потрапляння проб на шкіру, слизові оболонки та в очі.
9. Пробірки для крові та одноразові матеріали, які використовуються для оброблення, слід викидати в спеціальні контейнери, вміст яких призначений для спалювання.
10. Реагенти та відходи потрібно утилізувати відповідно до місцевих вимог.

КЛАСИФІКАЦІЯ НЕБЕЗПЕКИ ЗА СИСТЕМОЮ GHS

Не класифікуються як небезпечні

SDS Паспорт безпеки доступний на сторінці beckmancoulter.com/techdocs

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Цей реагент потрібно зберігати за температури від 2 до 8°C у захищеному від світла місці, як до, так і після відкриття флакона.

Термін придатності вмісту закритого флакону відповідно до дослідження стабільності: 1095 день.

Стабільність після відкриття флакона: реагент стабільний 180 діб.

ОЗНАКИ ПСУВАННЯ

Будь-яка зміна зовнішнього вигляду реагентів може вказувати на псування, і реагент не слід використовувати.

Щоб отримати додаткову інформацію або повідомити про отримання пошкодженого продукту, зателефонуйте до Служби обслуговування клієнтів Beckman Coulter за номером 800-742-2345 (США або Канада) чи зверніться до місцевого представника компанії Beckman Coulter.

ЗМІСТ

Консервант азид натрію може утворювати вибухонебезпечні сполуки в металевих зливних трубопроводах. Див. Бюлетень Національного інституту з охорони праці та промислової гігієни (NIOSH) Explosive Azide Hazard (Вибухонебезпечні азиди) (16.8.76).
Щоб уникнути можливого утворення сполук азиду, промийте зливні труби водою відразу після утилізації нерозведеного реагенту. Реагенти, що містять азид натрію, треба утилізувати з дотриманням відповідних місцевих норм.

ПОТРІБНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ У КОМПЛЕКТ

- Пробірки для проб і матеріали, потрібні для забору проб.
- Автоматичні піпетки з одноразовими наконечниками на 10, 100 і 500 мкл.
- Пластикові пробірки для гемолізу.
- Реагент для лізису еритроцитів з етапом промивання після лізису. Наприклад: VersaLyse (Ref. A09777).
- Реагент для фіксації лейкоцитів. Наприклад: розчин для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ізотипічний контроль PC5: реагент IOTest (Ref. A07798).
- Буфер (ФСБ: 0,01 моль фосфату натрію; 0,145 моль хлориду натрію; pH 7,2).
- Центрифугування.
- Автоматичний змішувач (типу вортекс).
- Проточний цитометр.

ПРОЦЕДУРА З РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для кожної аналізованої проби на додачу до тест-пробірки може бути використана одна контрольна пробірка, у якій клітини змішано в присутності ізотипічного контролю (Ref. A07798).

1. Додайте до кожної тестової пробірки 10 мкл специфічних кон'югованих антитіл IOTest, і, якщо потрібно, 10 мкл ізотипічного контролю до кожної контрольної пробірки.
2. Додайте 100 мкл проби для тестування в кожну пробірку. Обережно змішайте вміст пробірок вихровим способом.
3. Витримайте протягом 15–20 хвилин за кімнатної температури (18–25°C) у захищеному від світла місці.
4. Потім виконують лізис еритроцитів. Перегляньте вкладний листок VersaLyse (Ref. A09777) і за можливості дотримуйтеся процедури з одночасною фіксацією, яка полягає в додаванні 1 мл суміші Fix-and-Lyse, приготованої безпосередньо перед використанням. Відразу змішайте вихровим способом упродовж однієї секунди й витримайте протягом 10 хвилин за кімнатної температури в захищеному від світла місці.
5. Центрифугуйте за кімнатної температури протягом 5 хвилин зі швидкістю 150 g.
6. Видаліть надосадову рідину аспіратором.
7. Ресуспендуйте осад клітин у 3 мл ФСБ.
8. Повторіть крок 5.
9. Видаліть надосадову рідину аспіратором і ресуспендуйте осад клітин, використовуючи наведене далі.

- 0,5 мл або 1 мл ФСБ плюс 0,1% формальдегіду, якщо препарати передбачається зберігати менше ніж 24 годин. (Розчин ФСБ, що містить 0,1% формальдегіду, можна отримати за допомогою розведення 12,5 мкл розчину для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800) за його 10-кратної концентрації в 1 мл ФСБ).
- 0,5 мл або 1 мл ФСБ без формальдегіду, якщо препарати будуть аналізувати впродовж наступних 2 годин.

Примітка. У всіх випадках препарати слід зберігати в захищеному від світла місці за температури 2–8°C.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Очікувані значення, значущі для цього продукту, відсутні.

ЕФЕКТИВНІСТЬ

Робочі показники ефективності отримуються з використанням процедури, описаної вище, на пробах крові, які були відібрані в стерильні пробірки із сіллю ЕДТА як антикоагулянтом, а також зберігалися менше ніж 24 години. Аналіз проводиться впродовж 2 годин після імунного фарбування.

СПЕЦИФІЧНІСТЬ

CD34 являє собою одновимірний сильно глікозильований трансмембранний білок типу I, що має масу 116 кДа (13). Існує дві молекулярні форми CD34; повнорозмірна форма, що складається з 385 амінокислотних послідовностей, має внутрішньоклітинний домен, що містить консенсусну послідовність з протеїнкінази C, серину та треоніну. Скорочена форма не містить більшої частини внутрішньоклітинного домену. Позаклітинна форма присутня в обох формах CD34. На основі диференціальної чутливості до нейрамінідази та глікопротеази були визначені три типи епітопів CD34. Епітопи класу I (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) чутливі до всіх протеолітичних ферментів. Епітопи класу II (QBEnd10) стійкі до нейрамінідази, але чутливі до глікопротеази. Клон 581 розпізнає епітопи типу класу III, нечутливий до всіх протеолітичних ферментів і сильно зв'язується з усіма глікоформами CD34 (14).

На п'ятому Семінарі HLDA (Бостон 1993) було схвалено три типи епітопів CD34 на основі диференціальної чутливості.

ПРЕЦИЗІЙНІСТЬ

Процент позитивних значень визначали за допомогою цільної крові з унесенням позитивних клітин. Кожну пробу обробляли 4 рази, двічі на добу впродовж 1 доби на 2 приладах, використовуючи 2 серії реагентів моноклональних антитіл CD34-PC5. Вимірювання (% позитивних значень) виконували на проточному цитометрі Navios. Аналіз проводили на основі методу CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оцінювання прецизійності кількісних методів вимірювання).

Наші критерії прийнятності залежать від кількості позитивних подій, виміряних для кожної популяції.

- Якщо кількість позитивних подій < 1500, КВ < 15%
- Якщо кількість позитивних подій > 1500, КВ < 10%

Цільна кров з додаванням KG1a клітинної лінії							
Кількість позитивних подій (середнє значення) = 5355							
	Між операторами	Між цитометрами	У межах однієї серії	Між серіями	Між серіями вимірювань	У межах однієї серії вимірювань	Усього
КВ (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
РЕЗУЛЬТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНІСТЬ

Точність CD34-PC5 оцінювали через порівняння результатів з еталонним реагентом як контролем якості для набору проб цільної крові з унесенням позитивних клітин на проточному цитометрі Navios. Систематичну помилку між тестовим та еталонним реагентами визначали на основі різниці між результатами тесту. Якщо систематична помилка знаходиться в межах діапазону допустимої похибки або p-значення вказує на відсутність значущої різниці (> 0,05), тоді результати тесту для двох реагентів вважаються еквівалентними.

Отримані результати підсумовано в таблиці, наведеній нижче.

Кількість донорів = 25				
Цільова позитивна популяція	Середня Δ	Критерії Δ % клітин	p-значення	РЕЗУЛЬТАТИ
Цільна кров з додаванням KG1a клітинної лінії	1,31	<3	5,01E-04	PASS

МЕЖА ХОЛОСТОЇ ПРОБИ Й МЕЖА ВИЯВЛЕННЯ

Дослідження проводилося відповідно до рекомендацій CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оцінювання можливості виявлення для методик клінічних лабораторних вимірювань). Межа виявлення (LOD) — це найнижча концентрація аналіту, яку стабільно можна виявити. Отримані результати підсумовано в наведеній нижче таблиці.

Positive Target	Межа холостої проби (клітин/мкл)	Межа виявлення (клітин/мкл)
KG1a Клітинна лінія	1	2

ОБМЕЖЕННЯ

1. Результати проточної цитометрії можуть бути помилковими, якщо вказане нижче не було виконано належним чином: вирівняно цитометр, скомпенсовано витік флуоресценції, здійснено позиціонування ділянок.
2. Бажано використовувати метод лізису еритроцитів з етапом промивання, оскільки цей реагент не оптимізовано для методів лізису «без промивання».
3. Буде отримано точні й відтворювані результати, якщо процедури застосовуються відповідно до технічної інструкції, що додається, і стандартів належної лабораторної практики.

4. Кон'юговані антитіла цього реагенту відкалібровано таким чином, щоб забезпечити краще співвідношення специфічного сигналу та неспецифічного сигналу. Тому важливо дотримуватися співвідношення об'єму реагенту та об'єму проби в кожному тесті.
5. У разі гіперлейкоцитозу кров слід розводити у ФСБ так, щоб отримати концентрацію приблизно 5×10^9 лейкоцитів/л (15).
6. У разі деяких захворювань або станів, як-от тяжка ниркова недостатність або гемоглобінопатії, лізис еритроцитів може бути повільним, неповним або навіть неможливим. У цьому разі рекомендується виділяти мононуклеарні клітини за градієнтом щільності (наприклад, з використанням фіколу) перед фарбуванням (16).
7. Завдяки тандемній структурі флуорохрому PC5 також випромінює світло з довжиною хвилі 575 нм. Цей вторинний пік випромінювання різниться залежно від серії PC5. Тому для багатоколірного аналізу матрицю компенсації потрібно ретельно перевіряти, коли змінюється серія кон'югованого -PC5.
8. У пацієнтів, які отримують лікування антилюдськими моноклональними антитілами, виявлення специфічних цільових антигенів може бути зниженим або відсутнім через часткове або повне блокування терапевтичним антитілом.
9. Результати CD34-PC5 слід інтерпретувати у світлі загальної клінічної картини пацієнта, включно із симптомами, клінічним анамнезом, даними додаткових тестів та іншою відповідною інформацією.

Див. приклади й посилання в додатку.

ТОРГОВЕЛЬНІ МАРКИ

Beckman Coulter, стилізований логотип, товарні знаки й сервісні марки Beckman Coulter, вказані тут, є торговельними марками або зареєстрованими торговельними марками компанії Beckman Coulter, Inc. у Сполучених Штатах Америки й інших країнах.

ДОДАТКОВА ІНФОРМАЦІЯ

Для пацієнта / користувача / третьої сторони в Європейському Союзі та в країнах з ідентичною системою нормативного регулювання (Регламент 2017/746/ЄС про медичні вироби для діагностики in vitro); якщо під час використання цього пристрою або в результаті його використання стався серйозний інцидент, повідомте про це виробнику й (або) його уповноваженому представнику та місцевому національному органу.

The Summary of Safety and Performance (Огляд безпеки та основних характеристик) доступний у базі даних EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ІСТОРІЯ ЗМІН

РЕДАКЦІЯ AD	Дата випуску: Жовтень 2020 р.

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AW	Травень 2022 р.
Оновлення мають відповідати Глобальній політиці щодо маркування компанії Beckman Coulter і вимогам IVD-R (ЄС)2017/746:	
Додані розділи	«Номер BSI 2797», «Цільовий користувач», «Клінічна значущість», «Концентрація», «Прецизійність», «Точність», «Межа холостої проби й межа виявлення», «Додаткова інформація», «Історія змін».
Додана інформація	Див. розділ «Обмеження»
Оновлення формулювання або типографічні оновлення	Див. розділи «Процедура», «Робочі показники», «Обмеження», «Попередження та застереження», «Зберігання та стабільність».
Видалені розділи	«Приклад клінічного застосування», «Реагенти», «Міжлабораторна відтворюваність», «Лінійність»
Оновлені розділи	«Призначення», «Класифікація небезпек GHS», «Ознаки погіршення характеристик», «Процедура», «Додаток».

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AX	Квітень 2023
Оновлені розділи	Додано казахську мову
Оновлені розділи	Зберігання й стабільність

Переглянута версія	AY
Дата перегляду	Травень 2024
Оновлені переклади	**Клінічна значущість:**
Оновлені розділи	Історія змін

Переглянута версія	AZ
Дата перегляду	Липень 2024
Оновлені розділи	Історія змін

Список символів

Глосарій символів доступний на сайті beckman.com/techdocs (документ № B60062)

	Especificações
Especificidade	CD34
Clone	581
Hibridoma	NS0 x balb/c
Imunógeno	Human CD34+ leukaemic cells
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Camundongo
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Razão molar	PC5/Ig: 0,5-1,5
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	670 nm
Tampão	PBS com pH de 7,2 mais 2 mg/mL de BSA e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado CD34-PC5

REF A07777 100 testes; 1 mL, 10 µL/teste

Para uso em diagnóstico *in vitro*

USO PREVISTO

Esse anticorpo conjugado com fluorocromo permite a identificação qualitativa e não automatizada das populações de células que expressam o antígeno CD34 presente em amostras biológicas humanas utilizando a citometria de fluxo (consulte a seção “Amostras” a seguir).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade que os anticorpos monoclonais específicos têm de se ligarem aos determinantes antigênicos expressos por leucócitos.

A coloração específica de leucócitos é realizada incubando-se a amostra com o reagente IOTest. As hemácias são então removidas por lise e os leucócitos, que não são afetados por esse processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citômetro de fluxo mede a difusão da luz e a fluorescência das células. Ele possibilita a delimitação da população de interesse na janela eletrônica definida por um histograma, que correlaciona a difusão ortogonal da luz (dispersão lateral ou SS) e a difusão da luz em ângulo estreito (dispersão frontal ou FS). Outros histogramas que combinam dois dos diferentes parâmetros disponíveis no citômetro podem ser utilizados como auxílio no estágio de delimitação, dependendo da aplicação escolhida pelo usuário.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são expressos como uma porcentagem dos eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos pela delimitação.

USUÁRIO PREVISTO

Este produto destina-se ao uso laboratorial profissional.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD34-PC5 é um anticorpo para CD34 usado para identificar e caracterizar, por citometria de fluxo, as células que expressam o antígeno CD34. Este produto por si só não pode e não se destina a originar qualquer conclusão diagnóstica.

Quando usado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser usado com uma ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com anormalidades hematológicas com suspeita de terem uma doença hematológica e para monitorar pacientes com doenças hematológicas conhecidas.
- Para auxiliar no prognóstico de pacientes que possuem neoplasia hematopoiética.
- Para monitorar o processo ou os resultados do transplante.

Consulte as referências a seguir:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

AMOSTRAS

Sangue venoso deve ser coletado usando tubos estéreis contendo um sal de EDTA como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas em temperatura ambiente (18-25°C) e não devem ser agitadas. A amostra deve ser homogeneizada por agitação suave antes que a amostra para teste seja retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a coleta.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não use o reagente após o prazo de validade.
2. Não congele.
3. Deixe atingir a temperatura ambiente antes de usar (18-25°C).
4. Minimize a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, pois isso pode gerar falsos resultados.

6. As soluções de anticorpos contendo azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não utilize internamente e evite o contato com a pele, mucosas e olhos.

   Além disso, em um meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazoico potencialmente perigoso. Se precisar descartar essa substância, recomenda-se que o reagente seja diluído em um grande volume de água antes de despejá-lo no sistema de drenagem para evitar o acúmulo de azida sódica nos canos de metal e o risco de explosão.
7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas como potencialmente infecciosas e devem ser manipuladas com cuidado (em particular: uso de luvas, jalecos e óculos de proteção).
8. Nunca coloque a pipeta na boca e evite qualquer contato das amostras com a pele, mucosas e olhos.
9. Os tubos de sangue e o material descartável utilizado para manuseio deve ser descartado em recipientes ad hoc destinados à incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO DO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Folha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido entre 2 e 8°C e protegido da luz, antes e depois do frasco ter sido aberto.

Validade do frasco fechado de acordo com o estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente é estável por 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DETERIORAÇÃO

Qualquer alteração no aspecto físico dos reagentes poderá indicar deterioração e o reagente não deverá ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, entre em contato com o serviço de atendimento ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou entre em contato com o representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em canos de escoamento metálicos. Consulte o Boletim do NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health [Instituto de segurança e saúde ocupacional dos EUA]): Explosive Azide Hazard (Perigos de explosão de azida) (16/8/76).
Para evitar o possível acúmulo de compostos de azida, enxágue os canos de escoamento com água após o descarte do reagente não diluído. O descarte da azida sódica deve ser efetuado de acordo com as normas locais apropriadas.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostra e material necessário para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 10, 100 e 500 µL.
- Tubos plásticos de hemólise.
- Reagente de lise de hemácias com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: Reagente VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: Solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controle do isótipo PC5: reagente IOTest (Ref. A07798).
- Tampão (PBS: fosfato de sódio a 0,01 M; cloreto de sódio a 0,145 M; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citômetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM O REAGENTE VERSALYSE

Para cada amostra analisada, além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controle no qual as células são misturadas na presença do controle de isótipo (Ref. A07798).

1. Adicione 10 µL de anticorpo conjugado IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 10 µL do controle do isótipo a cada tubo de controle.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos em temperatura ambiente (18-25°C), protegido da luz.
4. Em seguida, faça a lise das hemácias. Consulte o folheto da VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento chamado “with concomitant fixation (com fixação concomitante)”, que consiste em adicionar 1 mL da mistura de fixação e lise preparada extemporaneamente. Agite em vórtex imediatamente durante um segundo e incube durante 10 minutos em temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue por 5 minutos a 150 x g em temperatura ambiente.
6. Retire o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita a etapa 5.
9. Retire o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular usando:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído, se as preparações forem mantidas por um prazo inferior a 24 horas. (É possível obter uma solução PBS com 0,1% de formaldeído diluindo-se 12,5 µL de Solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na concentração de 10X em 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído, se as preparações forem analisadas dentro de 2 horas.

Nota: Em qualquer dos casos, mantenha as preparações entre 2 e 8°C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Não há nenhum valor esperado relevante para este produto.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos usando o procedimento descrito anteriormente em amostras de sangue com menos de 24 horas, coletadas previamente em tubos estéreis com sal de EDTA como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

O CD34 é uma proteína de 116 KDa transmembranar de tipo I monomérica significativamente glicosada (13). Existem duas formas moleculares de CD34. A forma completa de 385 sequências de aminas tem um domínio intracelular que contém um consenso de proteína quinase C, serina e fosforilação de treonina. A forma truncada não possui a maior parte do domínio intracelular. A forma extracelular está presente nas duas formas de CD34. Para o CD34, foram reconhecidos três tipos de epítopos com base na sensibilidade diferencial à neuraminidase e protease de glicol. Os epítopos de Classe I (BEC Immu133, My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) são sensíveis a todas as enzimas proteolíticas. Os epítopos de Classe II (QBEnd10) são resistentes à neuraminidase mas sensíveis à protease de glicol. O clone 581 reconhece um epítopo da classe tipo III e é insensível a todas as enzimas proteolíticas, ligando-se avidamente a todas as formas de glicol do CD34 (14).

O 5th HLDA workshop (5º Workshop de HLDA) realizado em Boston em 1993 aprovou os três tipos de epítopos de CD34 com base na sensibilidade diferencial.

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados usando-se sangue total enriquecido com células positivas. Cada amostra foi processada 4 vezes, duas vezes por dia durante 1 dia em 2 instrumentos, usando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD34-PC5. As medições (% de positivos) foram realizadas no citômetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação de desempenho de precisão de métodos de medição quantitativos).

Nossos critérios de aceitação dependem do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Se eventos positivos <1.500, CV <15%
- Se eventos positivos >1.500, CV <10%

Sangue total enriquecido com a linhagem celular KG1a							
Número de eventos positivos (média) = 5355							
	Entre operadores	Entre citômetros	Dentro do lote	Entre lotes	Entre processamentos	Dentro do processamento	Total
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD34-PC5 foi avaliada comparando-se os resultados com um reagente de referência como o predicado em um conjunto de amostras de sangue total enriquecidas com células positivas processadas em um citômetro de fluxo Navios. A tendência entre o reagente de teste e o de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados dos testes. Se a tendência estiver dentro da faixa de erro aceitável ou o valor p não indicar diferenças significativas (>0,05), então os resultados dos testes para os dois reagentes são considerados como equivalentes.

Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Número de doadores = 25				
Alvo positivo	Δ média	Critérios de Δ % de células	valor p	RESULTADOS
Sangue total enriquecido com a linhagem celular KG1a	1,31	<3	5,01E-04	PASS

LIMITE DE BRANCO E LIMITE DE DETECÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com a diretriz EP17-A2 do CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de detecção para procedimentos de medição de laboratório clínico). O Limite de detecção (LOD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detectada consistentemente. Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite de branco (células/µL)	Limite de detecção (células/µL)
Linhagem celular KG1a	1	2

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo pode produzir resultados falsos se o citômetro não for alinhado perfeitamente, se os vazamentos de fluorescência não forem corretamente compensados e se as regiões não forem cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível usar uma técnica de lise de RBC com uma etapa de lavagem, já que esse reagente não foi otimizado para técnicas de lise “sem lavagem”.
3. Serão obtidos resultados exatos e reproduzíveis desde que os procedimentos utilizados estejam em conformidade com o folheto técnico e sejam compatíveis com as boas práticas de laboratório.
4. O anticorpo conjugado desse reagente é calibrado para oferecer a melhor razão entre sinal específico e sinal não específico. Por isso, é importante manter a razão entre volume do reagente e volume da amostra em cada teste.
5. No caso de hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (15).
6. Em certos estados da doença, como insuficiência renal grave e hemoglobinopatias, a lise das hemácias pode ser lenta, incompleta ou até mesmo impossível. Nesse caso, recomenda-se isolar as células mononucleadas usando um gradiente de densidade (Ficoll, por exemplo) antes da coloração (16).

7. Por conta da estrutura em tandem do fluorocromo, PC5 também emite luz a 575 nm. Esse pico de emissão secundário varia conforme o lote de PC5. Portanto, para análises multicoloridas, a matriz de compensação deve ser cuidadosamente verificada ao alterar o lote de um conjugado com PC5.
8. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a detecção dos antígenos-alvo específicos pode ser diminuída ou não ocorrer devido ao bloqueio parcial ou total pelo anticorpo terapêutico.
9. Os resultados de CD34-PC5 devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, histórico clínico, dados de testes adicionais e outras informações apropriadas.

Consulte o anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logotipo estilizado e as marcas dos produtos e serviços da Beckman Coulter mencionados neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registradas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e em outros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/usuário/terceiro na União Europeia e em países com regime regulatório idêntico (Regulamentação 2017/746/UE sobre In vitro Diagnostic Medical Devices [Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro]), se, durante o uso deste dispositivo ou como resultado de seu uso, ocorrer um incidente grave, relate-o ao fabricante e/ou ao seu representante autorizado e à sua autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível no banco de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO AD:	Data de publicação: outubro de 2020

REVISÃO	**Data de publicação**
AW	Maio de 2022
Atualizações para o cumprimento da Global labelling Policy (Política de rotulagem global) da Beckman Coulter e de acordo com os requisitos da IVD-R (UE)2017/746:	
Seções adicionadas	Número BSI 2797, Usuário previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite de branco e limite de detecção, Informações adicionais, Histórico de revisão.
Informações adicionadas	Consulte as seções: Limitações
Atualizações tipográficas ou de fraseado	Consulte as seções Procedimento, Desempenho, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Seções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Seções atualizadas	Uso previsto, Classificação de perigo do GHS, Evidência de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de publicação**
AX	Abril 2023
Seções atualizadas	Adicionar cazaque
Seções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revisada	AY
Data da revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Versão revisada	AZ
Data da revisão	Julho 2024
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (documento número B60062)

	Specificaties
Specificiteit	CD34
Kloon	581
Hybridoom	NS0 x balb/c
Immunogeen	Human CD34+ leukaemic cells
Immunoglobuline	IgG1
Soort	Muis
Purificatie	Affiniteit chromatografie
Fluorochroom	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molaire verhouding	PC5/Ig: 0,5-1,5
λ excitatie	488 nm
Emissiepiek	670 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA en 0,1% NaN_3

IOTest

Geconjugeerd antilichaam CD34-PC5

REF A07777 100 tests; 1 mL, 10 µL / test

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik

BEOOGD GEBRUIK

Met dit fluorochroom-geconjugeerde antilichaam kunnen celpopulaties die het CD34-antigeen tot expressie brengen, kwalitatief en niet-geautomatiseerd worden geïdentificeerd in menselijke biologische monsters met behulp van flowcytometrie (zie het gedeelte 'Monsters' hieronder).

PRINCIPE

Deze test is gebaseerd op het vermogen van specifieke monoklonale antilichamen om zich te binden aan de antigene determinanten die tot expressie worden gebracht door leukocyten.

Specifieke kleuring van de leukocyten wordt uitgevoerd door het monster te incuberen met het IOTest -reagens. De rode cellen worden vervolgens via lysering verwijderd en de leukocyten (die ongevoelig zijn voor dit proces) worden geanalyseerd voor middel van flowcytometrie.

De flowcytometer meet de lichtdiffusie en de fluorescentie van cellen. Het maakt de afbakening van de betrokken populatie mogelijk binnen het elektronische venster gedefinieerd op een histogram, wat de orthogonale verspreiding van licht (zijwaartse verstrooiing of ZV) in verband brengt met de verspreiding van smalhoekig licht (voorwaartse verstrooiing of VV). Andere histogrammen die twee van de verschillende beschikbare parameters op de cytometer combineren, kunnen worden gebruikt als ondersteuning bij de gating-fase, afhankelijk van de door de gebruiker gekozen toepassing.

De fluorescentie van de afgeperkte cellen wordt geanalyseerd om de positief-gekleurde gebeurtenissen te onderscheiden van de niet-gekleurde. De resultaten worden uitgedrukt als een percentage van positieve gebeurtenissen ten opzichte van alle gebeurtenissen verzameld door de gating.

BEOOGDE GEBRUIKER

Dit product is bedoeld voor professioneel gebruik in het laboratorium.

KLINISCHE RELEVANTIE

Het CD34-PC5 is een CD34-antilichaam dat wordt gebruikt om door middel van flowcytometrie cellen te identificeren en te karakteriseren die het CD34-antigeen tot expressie brengen. Dit product alleen kan niet worden gebruikt voor en is niet bedoeld voor de totstandbrenging van diagnostische conclusies.

Bij gebruik in combinatie met andere markers kan dit product worden gebruikt voor een of meer van de volgende functies:

- Ter ondersteuning bij de differentiële diagnose van patiënten met hematologische afwijkingen die vermoedelijk een hematologische aandoening hebben en voor het bewaken van patiënten met een bekende hematologische aandoening.
- Ter ondersteuning van de prognose van patiënten met hematopoiëtisch neoplasma.
- Ter bewaking van transplantatieproces of -resultaten.

Zie de volgende referenties:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

MONSTERS

Veneus bloed moet worden afgenomen met steriele buisjes die EDTA-zout bevatten als anticoagulans.

De monsters moeten op kamertemperatuur (18-25 °C) worden gehouden en mogen niet worden geschud. De monsters moeten gehomogeniseerd worden door licht te schudden voordat het testmonster wordt afgenomen.

De monsters moeten worden geanalyseerd binnen 24 uur van venapunctie.

CONCENTRATIE

Zie batch-specifiek analysecertificaat op www.beckman.com.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Gebruik het reagens niet na de uiterste houdbaarheidsdatum.
2. Niet invriezen.
3. Laat het op kamertemperatuur (18-25 °C) komen voor gebruik.
4. Beperk de blootstelling aan licht.

5. Vermijd microbiële verontreiniging van de reagentia, anders kunnen verkeerde resultaten optreden.
6. Antilichaamoplossingen die natriumazide (NaN_3) bevatten moeten voorzichtig gehanteerd worden. Niet innemen en elk contact met huid, slijmvliezen en ogen vermijden.

   In een zuur medium kan natriumazide bovendien de potentieel gevaarlijke waterstofazide vormen. Indien verwijdering nodig is, wordt het aanbevolen om het reagens te verdunnen in een groot volume water voordat het in het afvoersysteem wordt gegoten, om de accumulatie van natriumazide in metalen buizen en explosiegevaar te vermijden.
7. Alle bloedmonsters moeten worden beschouwd als mogelijk besmettelijk en moeten voorzichtig worden gehanteerd (met name: veiligheidshandschoenen, -jas en -bril dragen).
8. Pipetteer nooit met de mond en vermijd elk contact van de monster met huid, slijmvliezen en ogen.
9. Bloedbuisjes en wegwerpmateriaal die gebruikt zijn, moeten verwijderd worden in afvalcontainers bestemd voor verbranding.
10. Reagentia en afval moeten verwijderd worden volgens de plaatselijke voorschriften.

GHS GEVARENCLASSIFICATIE

Niet geclassificeerd als gevaarlijk

SDS Het veiligheidsinformatieblad is beschikbaar op beckmancoulter.com/techdocs

OPSLAG EN STABILITEIT

Dit reagens moet tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht worden bewaard, voor- en nadat het buisje wordt geopend.

Houdbaarheidsdatum van ongeopend buisje volgens stabiliteitsstudie: 1095 dagen.

Stabiliteit van geopend buisje: het reagens is stabiel gedurende 180 dagen.

BEWIJS VAN BEDERF

Elke wijziging in de fysieke verschijning van de reagentia kan wijzen op aantasting; het reagens mag dan niet langer gebruikt worden.

Bel voor meer informatie, of als het product beschadigd is, met de klantenservice van Beckman Coulter op 800-742-2345 (VS of Canada) of neem contact op met uw plaatselijke vertegenwoordiger van Beckman Coulter.

INHOUD

Een conserveringsmiddel van natriumazide kan explosieve verbindingen vormen in metalen afvoerleidingen. Zie NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (Explosiegevaar van azide, 16-08-1976).
Om de ophoping van azideverbindingen te vermijden, spoelt u de afvoerbuizen met water na verwijdering van onverdund reagens. Natriumazide moet worden verwijderd volgens de toepasselijke plaatselijke voorschriften.

BENODIGD MATERIAAL DAT NIET IS MEEGELEVERD IN DE KIT:

- Monsterbuisjes en materiaal vereist voor monsterneming.
- Automatische pipetten met wegwerppunten voor 10, 100 en 500 µL.
- Plastic hemolysebuisjes.
- Ontbindingsreagens voor rode cellen met spoelfase na de lysis. Bijvoorbeeld: VersaLyse (ref. A09777).
- Fixatiereagens voor leukocyten. Bijvoorbeeld: IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800).
- Isotypecontrole PC5: IOTest-reagens (ref. A07798).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfaat; 0,145 M natriumchloride; pH 7,2).
- Centrifugeer.
- Automatische schudder (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MET VERSALYSE-REAGENS

Voor elk geanalyseerd monster kan, naast het testbuisje, één controlebuisje worden toegevoegd waarin de cellen worden gemengd in aanwezigheid van de isotypecontrole (ref. A07798).

1. Voeg 10 µL specifiek IOTest-geconjugeerd antilichaam toe aan elk testbuisje en, indien nodig, 10 µL isotypecontrole aan elk controlebuisje.
2. Voeg 100 µL van het testmonster toe aan elk buisje. Wervel de buisjes voorzichtig.
3. Incubeer 15 tot 20 minuten op kamertemperatuur (18-25 °C), beschermd tegen licht.
4. Lyseer vervolgens de rode cellen. Raadpleeg de VersaLyse-bijsluiter (ref. A09777) en volg bij voorkeur de procedure genaamd 'met gelijktijdige fixatie', die bestaat uit het toevoegen van 1 mL 'fixeer-en-lyseer'-oplossing die ex tempore wordt bereid. Wervel onmiddellijk gedurende één seconde en incubeer 10 minuten op kamertemperatuur, beschermd tegen licht.
5. Centrifugeer gedurende 5 minuten bij 150 x g op kamertemperatuur.
6. Verwijder het supernatant door opzuiging.
7. Suspendeer de celpellet opnieuw met 3 mL van PBS.
8. Herhaal stap 5.
9. Verwijder het supernatant door opzuiging en suspendeer de celpellet opnieuw met:

- 0,5 mL of 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyde, indien de bereidingen minder dan 24 uur worden bewaard. (Een PBS met 0,1% formaldehyde kan worden verkregen door 12,5 µL IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800) bij de 10X-concentratie te verdunnen in 1 mL PBS).
- 0,5 mL of 1 mL PBS zonder formaldehyde, indien de bereidingen moeten worden geanalyseerd binnen 2 uur.

Opmerking: houd de bereidingen in alle gevallen tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht.

VERWACHTE WAARDEN

Er is geen verwachte waarde die relevant is voor dit product.

PRESTATIES

Prestatiegegevens worden verkregen met de hierboven beschreven procedure op minder dan 24 uur oude bloedmonsters die eerder zijn verzameld in steriele buisjes met EDTA-zout als anticoagulans. De analyse wordt uitgevoerd binnen 2 uur na immunokleuring.

SPECIFICITEIT

Het CD34 is een monomeer, sterk geglycolyseerd type I transmembraaneiwit van 116 kDa (13). Er zijn twee moleculaire vormen van CD34; de vorm met de volledige lengte van 385 aminosequenties heeft een intracellulair domein dat een consensus bevat van proteïnekinase C, serine, en threonine fosforylatie. De ingekorte vorm mist het grootste deel van het intracellulaire domein. De extracellulaire vorm is aanwezig in beide vormen van CD34. Voor CD34 worden er drie typen epitopen herkend op basis van de verschillende gevoeligheid voor neuramidase en glycolprotease. Klasse I epitopen (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12,8, ICH3) zijn gevoelig voor alle proteolytische enzymen. Klasse II epitopen zijn (QBEnd10) resistent tegen neuraminidase maar gevoelig voor glycoprotease. Kloon 581 herkent een klasse III epitoop en is ongevoelig voor alle proteolytische enzymen en bindt gretig met alle glycovormen van CD34 (14).

Tijdens de 5e HLDA-workshop (Boston, 1993) werden de drie epitooptypen van CD34 op basis van differentiële gevoeligheid goedgekeurd.

PRECISIE

De procentuele positieve waarden werden bepaald met behulp van volbloed verrijkt met positieve cellen. Elk monster werd 4 maal getest, tweemaal per dag gedurende 1 dag op 2 instrumenten, waarbij gebruik werd gemaakt van 2 batches CD34-PC5 monoklonale antilichaamreagentia. Metingen (% positief) werden uitgevoerd op de Navios-flowcytometer. Analyse werd uitgevoerd op basis van de CLSI-methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluatie van de precisie van kwantitatieve meetmethoden).

Onze acceptatiecriteria zijn afhankelijk van het aantal positieve gebeurtenissen dat voor elke populatie wordt gemeten:

- In het geval van een positieve gebeurtenis <1500, VC <15%
- In het geval van een positieve gebeurtenis >1500, VC <10%

Volbloed verrijkt met KG1a cellijn							
Aantal positieve gebeurtenissen (gemiddelde) = 5355							
	Tussen gebruikers	Tussen cytometers	Van dezelfde batch	Tussen batches	Tussen runs	Tijdens run	Totaal
VC (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
RESULTATEN	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NAUWKEURIGHEID

De nauwkeurigheid van CD34-PC5 werd beoordeeld door de resultaten te vergelijken met een referentiereagens als het vergelijkbare hulpmiddel op een reeks volbloedmonsters verrijkt met positieve cellen die op een Navios-flowcytometer werden uitgevoerd. De afwijking tussen test- en referentiereagens werd bepaald op basis van het verschil tussen de testresultaten. Als de afwijking binnen het toegestane foutbereik ligt of de p-waarde geen significant verschil (>0,05) aangeeft, worden de testresultaten voor de twee reagentia als gelijkwaardig beschouwd.

De resultaten worden samengevat in de onderstaande tabel:

Aantal donoren = 25				
Positieve target	Gemiddelde Δ	Δ % Celcriteria	p-waarde	RESULTATEN
Volbloed verrijkt met KG1a cellijn	1,31	<3	5,01E-04	PASS

BLANCOLIMIET EN DETECTIELIMIET

Een studie is uitgevoerd in overeenstemming met CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluatie van detectiecapaciteit voor meetprocedures in klinische laboratoria). Het detectielimiet (LOD) is de laagste concentratie analiet die consistent kan worden gedetecteerd. De verkregen resultaten worden samengevat in de volgende tabel:

Positive Target	Blancolimiet (cel/µL)	Detectielimiet (cel/µL)
KG1a Cellijn	1	2

BEPERKINGEN

1. Flowcytometrie kan leiden tot verkeerde resultaten indien de cytometer niet perfect is uitgelijnd, indien fluorescentielekken niet juist zijn gecompenseerd en indien de gebieden niet zorgvuldig zijn gepositioneerd.
2. Gebruik bij voorkeur een RBC-lyseertechniek met een wasstap, aangezien dit reagens niet is geoptimaliseerd voor lyseertechnieken zonder wassen.
3. Nauwkeurige en reproduceerbare resultaten worden verkregen zolang de gebruikte procedures in overeenstemming zijn met de technische brochure en compatibel met goede laboratoriumpraktijken.
4. Het geconjugeerde antilichaam van dit reagens wordt gekalibreerd om de beste verhouding van specifiek signaal/niet-specifiek signaal te bieden. Daarom is het belangrijk dat de verhouding van reagensvolume/monstervolume in acht wordt genomen bij elke test.
5. In het geval van een hyperleukocytose verdunt u het bloed in PBS om een waarde van ongeveer 5 x 10^9 leukocyten/L te verkrijgen (15).
6. In sommige stadia van een aandoening, zoals ernstig nierfalen of hemoglobinopathieën, kan de ontbinding van rode cellen traag verlopen, onvolledig of zelfs onmogelijk zijn. In dit geval wordt het aanbevolen om cellen met één kern te isoleren met een dichtheidsgradiënt (bijvoorbeeld Ficoll) voorafgaand aan de kleuring (16).

7. Door de tandemstructuur van het fluorochroom verzendt PC5 ook licht bij 575 nm. Deze secundaire emissiepiek varieert van batch tot batch PC5. Daarom moet bij meerkleurige analyses de compensatiematrix zorgvuldig worden gecontroleerd bij het wijzigen van de batch van een PC5-conjugaat.
8. Bij patiënten die worden behandeld met anti-humane monoklonale antilichaamtherapieën kan de detectie van de specifieke doelantigenen verminderd of afwezig zijn als gevolg van een gedeeltelijke of volledige blokkering door het therapeutische antilichaam.
9. De CD34-PC5-resultaten moeten worden geïnterpreteerd in het licht van het totale klinische beeld van de patiënt, met onder meer: symptomen, klinische anamnese, gegevens van aanvullende tests en andere relevante informatie.

Zie de bijlage voor voorbeelden en referenties.

Handelsmerken

Beckman Coulter, het gestileerde logo en de merken van Beckman Coulter-producten en -services in dit document zijn handelsmerken of gedeponeerde handelsmerken van Beckman Coulter, Inc. in de Verenigde Staten en andere landen.

AANVULLENDE INFORMATIE

Voor patiënten/gebruikers/derden in de EU en in landen met soortgelijke regelgeving (Verordening 2017/746/EU inzake in-vitro diagnostische medische apparaten); als er zich tijdens of als gevolg van het gebruik van dit apparaat een ernstig incident voordoet, dient u dit te melden bij de fabrikant en/of diens bevoegde vertegenwoordiger en bij uw nationale autoriteiten.

Het overzicht van de veiligheid en prestaties is beschikbaar in de database EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed

REVISIEGESCHIEDENIS

REVISIE AD:	Uitgiftedatum: Oktober 2020

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AW	Mei 2022
Bijgewerkt om te voldoen aan het wereldwijde etiketteringsbeleid van Beckman Coulter en volgens de vereisten van IVD-R (EU)2017/746:	
Toegevoegde paragrafen	BSI 2797-nummer, Beoogde gebruiker, Klinische relevantie, Concentratie, Precisie, Nauwkeurigheid, Blancolimiet en detectiegrens, Aanvullende informatie, Revisiegeschiedenis.
Toegevoegde informatie	Zie paragraaf Beperkingen
Bijgewerkte formulering of typografie	Zie paragrafen Procedure, Prestaties, Beperkingen, Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen, Opslag en Stabiliteit.
Verwijderde paragrafen	Voorbeeld van klinische toepassingen, Reagentia, Reproduceerbaarheid intra-laboratoria, Lineariteit
Bijgewerkte paragrafen	Beoogd gebruik, GHS-gevarenclassificatie, Bewijs van bederf, Procedure, Bijlage.

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AX	April 2023
Bijgewerkte paragrafen	Toevoegen Kazachs
Bijgewerkte paragrafen	Opslag en stabiliteit

Bijgewerkte versie	AY
Herzieningsdatum	Mei 2024
Bijgewerkte vertalingen	**Klinische relevantie:**
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Bijgewerkte versie	AZ
Herzieningsdatum	Juli 2024
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Verklaring van symbolen

Overzicht met verklaring van symbolen is beschikbaar op beckman.com/techdocs (documentnummer B60062)

	Thông số kỹ thuật
Độ đặc hiệu	CD34
Dòng vô tính	581
Tế bào lai	NS0 x balb/c
Chất sinh miễn dịch	Human CD34+ leukaemic cells
Globulin miễn dịch	IgG1
Các loài	Chuột
Tinh chế	Sắc ký ái lực
Chất nhuộm huỳnh quang	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Tỷ lệ mol	PC5/Ig: 0,5-1,5
Kích thích λ	488 nM
Đỉnh phát xạ	670 nM
Dung dịch đệm	PBS pH 7,2 cộng với 2 mg/mL BSA và 0,1% NaN_3

Kháng thể cộng hợp IOTest CD34-PC5

REF A07777 100 xét nghiệm; 1 mL,
10 µL/xét nghiệm

Dùng để chẩn đoán *In Vitro*

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Kháng thể cộng hợp chất nhuộm huỳnh quang này cho phép xác định theo phương thức định tính và không tự động các quần thể tế bào biểu hiện kháng nguyên CD34 có trong mẫu sinh học của người bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy (xem phần “Mẫu” bên dưới).

NGUYÊN TẮC

Xét nghiệm này dựa trên khả năng liên kết của kháng thể đơn dòng đặc hiệu với yếu tố quyết định kháng nguyên biểu hiện bởi bạch cầu.

Nhuộm đặc hiệu bạch cầu bằng cách ủ mẫu với thuốc thử IOTest. Sau đó, loại bỏ tế bào hồng cầu bằng cách ly giải và tế bào bạch cầu không bị ảnh hưởng bởi quá trình này sẽ được phân tích bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy.

Máy đếm tế bào dòng chảy đo mức khuếch tán ánh sáng và phát huỳnh quang của các tế bào. Điều này giúp phân định được quần thể quan tâm trong cửa sổ điện tử được xác định trên biểu đồ, tương quan với sự khuếch tán trực giao ánh sáng (Tán xạ góc bên hay SS) và khuếch tán ánh sáng góc hẹp (Tán xạ góc thẳng hay FS). Có thể dùng các biểu đồ khác (kết hợp hai trong các thông số có sẵn trên máy đếm tế bào) để hỗ trợ trong giai đoạn khoanh vùng tùy thuộc vào ứng dụng mà người dùng chọn.

Huỳnh quang của các tế bào đã phân định được phân tích để phân biệt các sự kiện nhuộm dương tính với các sự kiện không nhuộm. Kết quả được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm số sự kiện dương tính so với tất cả sự kiện thu được từ việc khoanh vùng.

ĐỐI TƯỢNG SỬ DỤNG

Sản phẩm này chỉ dùng cho mục đích chuyên môn trong phòng xét nghiệm.

TÍNH THÍCH HỢP VỀ LÂM SÀNG

CD34-PC5 là một kháng thể CD34 dùng để nhận dạng và xác định đặc điểm của các tế bào biểu thị kháng nguyên CD34 bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy. Chỉ riêng sản phẩm này không thể và không nhằm tạo ra bất kỳ kết luận chẩn đoán nào.

Khi kết hợp với các chỉ dấu khác, có thể dùng sản phẩm này trong một hoặc nhiều chức năng sau:

- Để hỗ trợ chẩn đoán phân biệt bệnh nhân có bất thường về máu nghi ngờ bị rối loạn máu và để theo dõi bệnh nhân đã xác định là bị rối loạn máu.
- Để hỗ trợ tiên lượng những bệnh nhân bị ung thư máu.
- Để theo dõi quá trình cấy ghép hoặc kết quả.

Xem tài liệu tham khảo sau đây:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

MẪU

Phải lấy mẫu máu tĩnh mạch vào ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA.

Phải bảo quản mẫu ở nhiệt độ phòng (18–25°C) và không lắc mẫu. Phải khuấy nhẹ mẫu trước khi lấy mẫu xét nghiệm để mẫu có trạng thái đồng nhất.

Phải phân tích các mẫu trong vòng 24 giờ sau khi lấy từ tĩnh mạch.

NỒNG ĐỘ

Xem Giấy chứng nhận phân tích theo lô cụ thể tại www.beckman.com.

CẢNH BÁO VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG NGỪA

1. Không dùng thuốc thử đã hết hạn sử dụng.
2. Không làm đông lạnh.
3. Để dung dịch trở về nhiệt độ phòng (18–25°C) trước khi sử dụng.
4. Giảm thiểu tiếp xúc với ánh sáng.
5. Tránh làm thuốc thử bị nhiễm khuẩn, nếu không, có thể dẫn đến kết quả sai.
6. Phải xử lý cẩn thận dung dịch kháng thể chứa natri azit (NaN_3). Không được uống và tránh mọi tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.

Ngoài ra, trong môi trường axit, natri azit có thể tạo thành axit hydrazoic nguy hiểm. Nếu cần phải thải bỏ, bạn nên pha loãng thuốc thử trong nhiều nước trước khi thải vào hệ thống thoát nước để tránh tích tụ natri azide trong ống kim loại và để tránh nguy cơ nổ.

7. Phải coi tất cả mẫu máu là có nguy cơ lây nhiễm và xử lý cẩn thận (cụ thể: đeo găng tay, mặc áo choàng và đeo kính bảo vệ).
8. Tuyệt đối không dùng pipet bằng miệng và tránh để mẫu tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.
9. Phải bỏ ống máu và vật liệu dùng một lần đã dùng để xử lý trong thùng chứa đặc biệt cho mục đích thiêu hủy.
10. Phải thải bỏ thuốc thử và chất thải theo yêu cầu của địa phương.

PHÂN LOẠI MỐI NGUY HIỂM THEO GHS

Không được phân loại là chất nguy hiểm

SDS Phiếu dữ liệu an toàn có sẵn tại beckmancoulter.com/techdocs

BẢO QUẢN VÀ ĐỘ ỔN ĐỊNH

Phải bảo quản thuốc thử này ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng, trước và sau khi mở ống.

Hạn sử dụng của ống khi chưa mở nắp theo nghiên cứu về độ ổn định: 1095 ngày.

Độ ổn định của ống đã mở: thuốc thử ổn định trong 180 ngày.

BẰNG CHỨNG BIẾN CHẤT

Mọi sự biến đổi về vẻ ngoài của thuốc thử có thể là dấu hiệu suy giảm chất lượng và bạn không nên dùng thuốc thử đó.

Để biết thêm thông tin hoặc nếu bạn nhận được sản phẩm bị hỏng, hãy gọi điện cho Dịch vụ khách hàng của Beckman Coulter theo số 8007422345 (Hoa Kỳ hoặc Canada) hoặc liên hệ với Đại diện của Beckman Coulter tại địa phương bạn.

HÀM LƯỢNG

Chất bảo quản natri azit có thể hình thành hợp chất nổ trong ống dẫn bằng kim loại. Xem Thông Báo của Viện quốc gia về an toàn và sức khỏe nghề nghiệp (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Nguy cơ nổ azit) (16/8/76).
Để tránh khả năng tích tụ hợp chất azit, hãy xả sạch các ống thải bằng nước sau khi xử lý vứt bỏ thuốc thử chưa pha loãng. Phải xử lý vứt bỏ natri azit theo đúng quy định sở tại.

VẬT LIỆU CẦN DÙNG (KHÔNG KÈM THEO BỘ THUỐC THỬ):

- Ống lấy mẫu và vật liệu cần dùng để lấy mẫu.
- Pipet tự động có đầu hút dùng một lần để lấy mẫu có thể tích 10, 100 và 500 µL.
- Ống chứa mẫu tan huyết bằng nhựa.
- Thuốc thử ly giải hồng cầu với bước rửa sau khi ly giải. Ví dụ: VersaLyse (Số tham chiếu A09777).
- Thuốc thử cố định Leucocyte. Ví dụ: Dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800).
- Mẫu chứng âm PC5: Thuốc thử IOTest (Số tham chiếu: A07798).
- Dung dịch đệm (PBS: 0,01 Mol natri photphat; 0,145 Mol natri clorua; pH 7,2).
- Máy ly tâm.
- Máy trộn tự động (loại khuấy).
- Máy đếm tế bào dòng chảy.

QUY TRÌNH VỚI THUỐC THỬ VERSALYSE

Đối với mỗi mẫu phân tích, ngoài ống xét nghiệm, có thể thêm một ống kiểm chuẩn, trong đó tế bào được trộn với mẫu chứng âm (Số tham chiếu A07798).

1. Thêm 10 µL kháng thể cộng hợp IOTest đặc hiệu vào mỗi ống xét nghiệm và nếu cần, 10 µL mẫu chứng âm vào từng ống kiểm chuẩn.
2. Thêm 100 µL mẫu xét nghiệm vào từng ống. Lắc nhẹ các ống.
3. Ủ trong 15 đến 20 phút ở nhiệt độ phòng (18–25°C), tránh ánh sáng.
4. Sau đó, ly giải hồng cầu. Tham khảo tờ hướng dẫn về VersaLyse (Số tham chiếu A09777) và tốt nhất là làm theo quy trình tên là “có cố định đồng thời”, bao gồm thêm 1 mL hỗn hợp “Cố định và ly giải” được chuẩn bị tùy ứng. Lắc ngay trong một giây và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.
5. Quay ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 150 x g tại nhiệt độ phòng.
6. Hút bỏ dịch nổi.
7. Tái huyền phù viên tế bào bằng 3 mL PBS.
8. Lặp lại bước 5.
9. Hút bỏ dịch nổi và tái huyền phù viên tế bào bằng:

- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS cộng với 0,1% formaldehyde nếu sử dụng chế phẩm trong vòng chưa đến 24 giờ. (Có thể thu được PBS chứa 0,1% formaldehyde bằng cách pha loãng 12,5 µL dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800) ở nồng độ 10X trong 1 mL PBS).
- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS không có formaldehyde, nếu phân tích các chế phẩm trong vòng 2 giờ.

Ghi chú: Trong mọi trường hợp, phải bảo quản chế phẩm ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng.

GIÁ TRỊ DỰ KIẾN

Không có giá trị dự kiến liên quan đối với sản phẩm này.

HIỆU SUẤT

Dữ liệu hiệu suất thu được bằng cách sử dụng quy trình mô tả ở trên với các mẫu máu được thu thập dưới 24 giờ trong các ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA. Phân tích trong vòng 2 giờ sau khi nhuộm hóa mô miễn dịch.

ĐỘ ĐẶC HIỆU

CD34 là một protein 116 KDa xuyên màng glyco hóa loại I nặng đơn thể (13). CD34 có hai dạng phân tử: dạng đầy đủ gồm 385 chuỗi amin có miền nội bào chứa protein kinase C, serine và threonine phosphoryl hóa đồng thuận với nhau. Dạng rút gọn thiếu hầu hết các miền nội bào. Dạng ngoại bào có mặt trong cả hai dạng CD34. Đối với CD34, ba loại yếu tố quyết định kháng nguyên đã được nhận diện dựa trên độ nhạy vi sai với các yếu tố quyết định kháng nguyên loại I neuramidase và glycolprotease (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) nhạy cảm với tất cả enzym protein phân giải. Các yếu tố quyết định kháng nguyên loại II (QBEnd10) có khả năng đề kháng với neuraminidase nhưng nhạy cảm với glycoprotease. Dòng vô tính 581 nhận diện một yếu tố quyết định kháng nguyên loại III và không nhạy cảm với tất cả enzym protein phân giải, đồng thời liên kết chặt chẽ với tất cả các dạng glyco của CD34 (14).

HLDA Workshop (Hội thảo HLDA) lần thứ 5 (Boston, 1993) đã phê duyệt ba loại yếu tố quyết định kháng nguyên của CD34 trên cơ sở độ nhạy vi sai.

ĐỘ CHỤM

Tỷ lệ phần trăm của các giá trị dương tính được xác định bằng cách sử dụng máu toàn phần pha với tế bào dương tính. Mỗi mẫu được chạy 4 lần, hai lần một ngày trong 1 ngày trên 2 thiết bị sử dụng 2 lô thuốc thử kháng thể đơn dòng CD34-PC5. Các phép đo (% dương tính) được thực hiện trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Phân tích được tiến hành theo phương pháp EP5-A2 của CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Đánh giá hiệu suất độ chụm của phương pháp đo định lượng).

Tiêu chí chấp nhận của chúng tôi phụ thuộc vào số lượng sự kiện dương tính đo được cho mỗi quần thể:

- Nếu sự kiện dương tính <1.500, CV <15%
- Nếu sự kiện dương tính >1.500, CV <10%

Máu toàn phần pha với dòng tế bào KG1a							
Số sự kiện dương tính (Giá trị trung bình) = 5355							
	Giữa những người thao tác	Giữa các máy đếm tế bào	Trong lô	Giữa các lô	Giữa các lần chạy	Trong lần chạy	Toàn phần
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
KẾT QUẢ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ĐỘ CHÍNH XÁC

Độ chính xác của CD34-PC5 được đánh giá bằng cách so sánh kết quả với thuốc thử tham chiếu để khẳng định trên một tập hợp các mẫu máu toàn phần pha với tế bào dương tính chạy trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Độ lệch giữa xét nghiệm và thuốc thử tham chiếu được xác định dựa trên sự chênh lệch giữa các kết quả xét nghiệm. Nếu độ lệch nằm trong phạm vi sai số cho phép hoặc giá trị p cho thấy không có sự khác biệt đáng kể (> 0,05), thì kết quả xét nghiệm cho hai thuốc thử được coi là tương đương.

Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Số người hiến = 25				
Mục tiêu dương tính	Giá trị trung bình Δ	Tiêu chí tế bào Δ %	giá trị p	KẾT QUẢ
Máu toàn phần pha với dòng tế bào KG1a	1,31	<3	5,01E-04	PASS

GIỚI HẠN TRỐNG VÀ GIỚI HẠN PHÁT HIỆN

Một nghiên cứu đã được thực hiện theo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Đánh giá khả năng phát hiện cho các quy trình đo lường trong phòng xét nghiệm lâm sàng). Giới hạn phát hiện (LOD) là nồng độ thấp nhất của chất phân tích có thể phát hiện một cách nhất quán. Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Positive Target	Giới hạn trống (tế bào/µL)	Giới hạn phát hiện (tế bào/µL)
Dòng tế bào KG1a	1	2

GIỚI HẠN

1. Phương pháp đếm tế bào dòng chảy có thể cho kết quả sai nếu điều chỉnh máy đếm tế bào không phù hợp, nếu mức bù huỳnh quang rò rỉ không phù hợp và nếu định vị các vùng không cẩn thận.
2. Tốt nhất là sử dụng kỹ thuật ly giải RBC có bước rửa vì thuốc thử này chưa được tối ưu hóa cho các kỹ thuật ly giải "không rửa".
3. Sẽ thu được kết quả chính xác và có thể tái lặp nếu sử dụng quy trình theo tờ hướng dẫn kỹ thuật và phù hợp với biện pháp xét nghiệm hợp lý.
4. Kháng thể cộng hợp của thuốc thử này được hiệu chuẩn để đưa ra tỷ lệ tín hiệu đặc hiệu/tín hiệu không đặc hiệu tốt nhất. Do đó, điều quan trọng là phải tuân thủ tỷ lệ thể tích thuốc thử/thể tích mẫu trong mỗi xét nghiệm.
5. Trong trường hợp tăng bạch cầu, hãy pha loãng máu trong PBS để thu được giá trị xấp xỉ 5 x 10^9 bạch cầu/L (15).
6. Trong một số tình trạng bệnh, chẳng hạn như suy thận nặng hoặc bệnh rối loạn máu, hồng cầu có thể ly giải chậm, ly giải không hoàn toàn, hoặc thậm chí là không thể ly giải. Trong trường hợp này, bạn nên phân lập tế bào đơn nhân bằng phương pháp ly tâm phân lớp theo tỷ trọng (ví dụ: Ficoll) trước khi nhuộm (16).
7. Do cấu trúc nối tiếp của chất nhuộm huỳnh quang, PC5 cũng phát ánh sáng tại 575 nm. Đỉnh phát xạ thứ cấp này giữa các lô PC5 sẽ không giống nhau. Do đó, đối với phân tích nhiều màu, cần kiểm tra cẩn thận chất nền bù trừ khi thay đổi lô của một cộng hợp PC5.
8. Ở những bệnh nhân được điều trị bằng các liệu pháp kháng thể đơn dòng kháng người, khả năng phát hiện các kháng nguyên mục tiêu đặc hiệu có thể giảm đi hoặc không xảy ra do bị kháng thể điều trị chặn một phần hoặc toàn bộ.
9. Phải diễn giải kết quả CD34-PC5 dựa trên toàn bộ các dấu hiệu lâm sàng của bệnh nhân, bao gồm: triệu chứng, tiền sử lâm sàng, dữ liệu từ các xét nghiệm khác và thông tin thích hợp khác.

Xem Phụ lục để biết ví dụ và tài liệu tham khảo.

NHÃN HIỆU

Beckman Coulter, logo cách điệu và các nhãn hiệu sản phẩm cũng như dịch vụ của Beckman Coulter nêu trong tài liệu này là nhãn hiệu hoặc nhãn hiệu đã đăng ký của Beckman Coulter, Inc. ở Hoa Kỳ và các quốc gia khác.

THÔNG TIN BỔ SUNG

Đối với bệnh nhân/người dùng/bên thứ ba tại Liên minh Châu Âu và ở các quốc gia có chế độ quản lý giống nhau (Quy định 2017/746/EU về Thiết bị y tế chẩn đoán In vitro); nếu xảy ra sự cố nghiêm trọng trong quá trình sử dụng thiết bị này hoặc do sử dụng thiết bị này, vui lòng báo cáo cho nhà sản xuất và/hoặc đại diện ủy quyền của nhà sản xuất cũng như cơ quan có thẩm quyền tại quốc gia của bạn.

Summary of Safety and Performance (Tóm tắt về an toàn và hiệu suất) có trong cơ sở dữ liệu EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

LỊCH SỬ SỬA ĐỔI

PHIÊN BẢN AD:	Ngày phát hành: Tháng 10 năm 2020

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AW	Tháng 05 năm 2022
Cập nhật để tuân thủ Chính sách ghi nhãn toàn cầu của Beckman Coulter và theo các yêu cầu IVD-R (EU) 2017/746:	
Bổ sung các phần	Số BSI 2797, Đối tượng sử dụng, Tính thích hợp về lâm sàng, Nồng độ, Độ chụm, Độ chính xác, Giới hạn trống và giới hạn phát hiện, Thông tin bổ sung, Lịch sử sửa đổi.
Bổ sung thông tin	Xem các phần Giới hạn
Cập nhật cách diễn đạt hoặc câu chữ	Xem các phần Quy trình, Hiệu suất, Giới hạn, Cảnh báo và Biện pháp phòng ngừa, Bảo quản và Độ ổn định.
Các phần bị xóa	Ví dụ về các ứng dụng lâm sàng, Thuốc thử, Khả năng tái lập trong phòng xét nghiệm, Độ tuyến tính
Các phần cập nhật	Mục đích sử dụng, Phân loại mối nguy hiểm theo GHS, Bằng chứng biến chất, Quy trình, Phụ lục.

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AX	Tháng 4 2023
Các phần cập nhật	Thêm tiếng Kazakh
Các phần cập nhật	Bảo quản và độ ổn định

Phiên bản sửa đổi	AY
Ngày sửa đổi	Tháng 5 2024
Đã cập nhật bản dịch	**Tính thích hợp về lâm sàng:**
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Phiên bản sửa đổi	AZ
Ngày sửa đổi	Tháng 7 2024
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Bảng chú giải các ký hiệu

Danh mục thuật ngữ ký hiệu có sẵn tại beckman.com/techdocs (số tài liệu B60062)

	Сипаттамалары
Ерекшелік	CD34
Клон	581
Гибридома	NS0 x balb/c
Иммуноген	Human CD34+ leukaemic cells
Иммунды глобулин	IgG1
Түрлері	Тышқан
Тазарту	Үйірлік хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Молярлық қатынасы	PC5 / Ig: 0,5-1,5
λ қозу	488 нм
Эмиссияның жоғарғы шегі	670 нм
Буфер	PBS pH 7,2 + 2 мг / мл BSA және 0,1% NaN_3

Конъюгацияланған
IOTest антиденесі
CD34-PC5

REF A07777 100 сынақ; 1 мл, 10 мкл / сынақ

***In Vitro* диагностикасында пайдалануға арналған**

ПАЙДАЛАНУ МАҚСАТЫ

Бұл флуорохроммен конъюгацияланған антидене адамның биологиялық үлгілерінде CD34 антигеннің болуын көрсететін жасуша популяциясын ағын цитометриясы көмегімен сапалы және автоматтандырылмаған анықтауға мүмкіндік береді (төмендегі «Үлгілер» бөлімін қараңыз).

ҚАҒИДА

Бұл сынақ нақты моноклоналды антиденелердің лейкоциттер айқындайтын антигендік детерминанттармен байланысу қабілетіне негізделген.

Лейкоциттердің арнайы бояуы үлгіні IOTest реагентімен инкубациялау арқылы жүзеге асады. Сол кезде эритроциттер лизис арқылы шығарылады, ал осы процесс әсер етпейтін лейкоциттерге ағын цитометриясы арқылы талдау жасалады.

Ағын цитометрі жарық диффузиясы мен жасушалардың флуоресценттенуін өлшейді. Бұл гистограммада анықталған электронды терезеде қызығушылық популяциясын ажыратуға мүмкіндік береді, ол жарықтың ортогональды диффузиясын (бүйірлік шашырау немесе SS) және тар бұрышты жарықтың диффузиясын (тікелей шашырау немесе FS) байланыстырады. Цитометрде қолжетімді екі түрлі параметрді біріктіретін басқа гистограммаларды пайдаланушы таңдаған қолданбаға байланысты гейтинг кезеңінде тірек ретінде пайдалануға болады.

Оң боялған оқиғаларды боялмаған оқиғалардан ажырату үшін шектеулі жасушалардың флуоресценттенуіне талдау жүргізілді. Оның нәтижесі оң оқиғалардың гейтинг арқылы алынған барлық оқиғаларға қатынасының пайыздық көрсеткіші ретінде көрсетіледі.

МАҚСАТТЫ ПАЙДАЛАНУШЫ

Бұл өнім зертханалық жағдайда кәсіби пайдалануға арналған.

КЛИНИКАЛЫҚ МАҢЫЗЫ

CD34-PC5 – ағын цитометриясы арқылы CD34 антигенін экспрессиялайтын жасушаларды сәйкестендіру және сипаттау үшін пайдаланылатын CD34 антиденесі. Бұл өнімді жалғыз өзін пайдаланып қандай да бір диагностикалық қорытынды жасау мүмкін емес және жасауға арналмаған.

Басқа маркерлермен бірлесіп пайдаланылғанда, бұл өнімді келесі функциялардың біреуінде немесе бірнешеуінде пайдалануға болады:

- Гематологиялық ауруға күдікті гематологиялық ауытқулары бар емделушілерді дифференциалды диагностикалауға көмектесу және белгілі гематологиялық ауруы бар емделушілерді бақылау үшін.
- Гемопоэтикалық жаңа ісігі бар пациенттерге болжау жасауға көмектесу.
- Трансплантация процесін немесе нәтижелерін бақылау.

Келесі анықтамаларды қараңыз:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

ҮЛГІЛЕР

Көктамыр қанын антикоагулянт ретінде EDTA тұзы бар стерильді түтіктердің көмегімен алу керек.

Үлгілерді бөлме температурасында (18–25°C) сақтау керек және оларды шайқауға болмайды. Үлгілерді сынақ үлгісін алмастан бұрын жеңіл араластыру жолымен гомогендеу керек.

Үлгілерді көк тамырды тескен соң 24 сағат ішінде талдау қажет.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Нақты топтама бойынша талдау сертификатын мына сайттан қараңыз www.beckman.com.

ЕСКЕРТУ ЖӘНЕ САҚТЫҚ ШАРАЛАРЫ

1. Жарамдылық мерзімі өткеннен кейін реагентті қолдануға болмайды.
2. Қатыруға болмайды.
3. Оны пайдаланбас бұрын, температурасының бөлме температурасына (18–25°C) жетуін күтіңіз.
4. Жарық әсерін азайтыңыз.

5. Реагенттердің микробтармен ластануына жол бермеңіз немесе жалған нәтижелер орын алуы мүмкін.
6. Құрамында натрий азиды бар антидене ерітінділермен (NaN_3) жұмыс істегенде абай болу керек. Ішке қабылдамаңыз. Теріге, шырышты қабыққа және көзге тиігізбеңіз.

   Оған қоса, қышқылды ортада натрий азиды ықтимал қауіпті азотты сутек қышқылын түзуі мүмкін. Оны жою қажет болған жағдайда реагентті алдымен судың көп мөлшерінде сұйылтып, артынан кәріз жүйесіне төгуге кеңес беріледі. Осылайша, натрий азидының металл құбырларда жиналуын болдырмай, жарылыс қаупінің алдын алуға болады.
7. Қанның барлық үлгілері ықтимал жұқпалы деп есептелуі және сақтықпен өңделуі (атап айтқанда: қорғаныс қолғабын, халат және көзілдірік кию) керек.
8. Ешқашан оны аузыңызға құймаңыз және үлгілерді теріге, шырышты қабыққа және көзге тигізбеңіз.
9. Өңдеу үшін пайдаланылатын қан түтіктері мен бір реттік материалдарды өртеуге арналған арнайы контейнерлерге тастау керек.
10. Реагенттер мен қалдықтар жергілікті талаптарға сәйкес жойылуы тиіс.

GHS ҚАУІПТЕР КЛАССИФИКАЦИЯСЫ

Қауіпті деп жіктелмейді

SDS Қауіпсіздік парағы beckmancoulter.com/techdocs мекенжайы бойынша қолжетімді

САҚТАУ ЖӘНЕ ТҰРАҚТЫЛЫҚ

Құтыны ашпай тұрып және оны ашқаннан кейін, бұл реагентті 2–8°C температурада жарықтан қорғалған жерде сақтау керек.

Тұрақтылық зерттеуіне сәйкес жабық күйіндегі сауыт сөресінің жарамдылық мерзімі: 1095 күндер.

Ашық құтының тұрақтылығы: реагент 180 күн бойы тұрақты болады.

ЗАҚЫМДАЛУ БЕЛГІЛЕРІ

Реагенттердің сыртқы түрінің кез келген өзгерісі олардың зақымдалғандығын көрсетуі мүмкін және реагентті пайдаланбаған жөн.

Қосымша ақпарат алу үшін немесе зақымдалған өнімді алған жағдайда 800-742-2345 (АҚШ немесе Канада) арқылы Beckman Coulter тұтынушыларға қызмет көрсету орталығына қоңырау шалыңыз немесе жергілікті Beckman Coulter компаниясының өкіліне хабарласыңыз.

МАЗМҰНЫ

Натрий азиді консерванты металдан жасалған құбыр желілерінде жарылғыш қосылыстар түзуі мүмкін. NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76) (NIOSH бюллетенін қараңыз: азидтердің жарылу қаупі (16.08.1976)).
Азид қосылыстарының ықтимал түзілуін болдырмау үшін сұйылтылмаған реагентті жойғаннан кейін су құбырларын шайыңыз. Натрий азидін жою тиісті жергілікті ережелерге сәйкес жүзеге асырылуы тиіс.

ҚАЖЕТТІ, БІРАҚ ЖИНАҚПЕН БІРГЕ ЖЕТКІЗІЛМЕГЕН МАТЕРИАЛДАР

- Үлгі алу түтіктері және үлгі алу үшін қажетті материал.
- 10, 100 және 500 мкл ерітінділерге арналған бір реттік ұшы бар автоматты тамызғыштар.
- Эритроциттер гемолизіне арналған пластикалық түтіктер.
- Лизистен кейін жуу әдісі пайдаланылатын эритроцит лизисінің реагенті. Мысалы: VersaLyse (Сілт A09777).
- Лейкоцит фиксация реагенті. Мысалы: IOTest 3 бекіту ерітіндісі (A07800 қараңыз).
- Изотиптік бақылау PC5: IOTest реагенті (анық. A07798).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрий фосфаты; 0,145 M натрий хлориді; pH 7,2).
- Центрифугалау
- Автоматты араластырғыш (араластырғыш түрі).
- Ағын цитометрі.

VERSALYSE РЕАГЕНТІ КӨМЕГІМЕН ОРЫНДАЛАТЫН ПРОЦЕДУРА

Әрбір талданатын үлгі үшін сынақ түтігіне қосымша, жасушалар изотиптік бақылаудың қатысуымен араласатын бір бақылау түтігін пайдалану ұсынылады (анық. A07798).

1. Әрбір түтікке 10 мкл арнайы конъюгацияланған IOTest антиденесін және, қажет болса, әрбір сынақ түтігіне 10 мкл изотиптік бақылауды қосыңыз.
2. Әр түтікке сынақ үлгісінің 100 мкл қосыңыз. Түтіктерді абайлап араластырыңыз.
3. Жарықтан қорғалған бөлме температурасында (18–25°C) 15–20 минут инкубациялаңыз.
4. Содан соң қызыл жасушалардың лизисін орындаңыз. VersaLyse (анық. A09777) парақшасын қарап, жоспардан тыс дайындалған 1 мл «Бекіту және еріту» қоспасын қосудан тұратын «ілеспе бекітумен» деп аталатын процедураны орындаңыз. Бір секунд дереу араластырыңыз және жарықтан қорғалған бөлме температурасында 10 минут бойы инкубациялаңыз.
5. 150 x г шамасында 5 минут бойы бөлме температурасында центрифугалаңыз.
6. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастаңыз.
7. 3 мл PBS ерітіндісін пайдаланып, жасуша массасын қайта ерітіңіз.
8. 5-қадамды қайталаңыз.
9. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастап, жасуша массасын төмендегіні қолдану арқылы қайта ерітіңіз:

- Егер препараттар 24 сағаттан аз сақталатын болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне 0,1% формальдегид қосылады. (0,1% формальдегидті PBS ерітіндісі 12,5 мкл IOTest 3 бекіту ерітіндісін (анық. A07800) 10 еселік концентрациясында 1 мл PBS ерітіндісін сұйылту арқылы алуға болады).
- Егер 2 сағат ішінде талдануы керек болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне формальдегид қосылмайды.

Ескертпе: барлық жағдайда препараттарды 2–8°C температурада, күн көзінен алыс жерде сақтау керек.

КҮТІЛЕТІН МӘНДЕР

Бұл өнім үшін тиісті күтілетін мән жоқ.

ӨНІМДІЛІК

Өнімділік жөніндегі деректер 24 сағаттық үлгілерді пайдаланып, жоғарыда сипатталған процедура арқылы алынады. Бұл үлгілер алдын ала антикоагулянт ретінде EDTA тұзы арқылы стерильді түтіктерге жиналады. Талдау иммундық бояудан соң 2 сағат ішінде жасалады.

ЕРЕКШЕЛІГІ

CD34 күшті гликозирленген, молекулалық салмағы 116 кДа құрайтын, I типті мономерлі трансмембраналық протеин болып табылады (13). CD34 антигенінің екі молекулалық түрі болады; оның 385 амин қышқылдар тізбегінен тұратын толық өлшемді түрінде С протеинкиназасы, серин мен треонин фосфорлауы бойынша консенсусты қамтитын жасушаішілік домен болады. Қысқартылған түрінде жасушаішілік домендердің көпшілігі болмайды. Жасушадан тыс түрі CD34 антигенінің екі түрінде де бар. CD34 үшін нейремидазаға қатысты дифференциалды сезімталдылыққа негізделе отырып, эпитоптардың үш түрі анықталды, ал I типті гликолпротеаза эпитоптары (BEC Immu133. My10, BI-3C5, 12.8, ICH3) барлық протеолиттік ферменттерге сезімтал келеді. II санатты эпитоптар (QBEnd10) нейраминидазаға төзімді, бірақ гликопротеазаға сезімтал болады. 581-клон III санатты эпитоптарды таниды және барлық протеолиттік ферменттерге төзімді, сондай-ақ CD34 антигенінің барлық гликоформаларымен құшырлана байланысады (14).

5-ші HLDA семинарында (Бостон, 1993 ж.) дифференциалды сезімталдылық негізінде CD34 эпитопының үш түрі мақұлданды.

ДӘЛДІК

Оң мәндердің пайызы оң жасушаларды қосу арқылы жаңа алынған қанды қолдану арқылы анықталды. Әрбір үлгі CD34-PC5 моноклоналды антидене реагентінің 2 топтамасын пайдаланып 2 аспапта 1 күн бойы күніне екі рет 4 рет талданды. Өлшемдер (% оң) Navios ағын цитометрінде жүргізілді. Талдау CLSI EP5-A2 әдісі негізінде жүргізілді: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Сандық өлшеу әдістерінің дәлдік өнімділігін бағалау).

Біздің қабылдау критерийлері әрбір популяция үшін өлшенген оң оқиғалардың санына байланысты:

- Оң оқиға болса <1500, CV <15%
- Оң оқиға болса >1500, CV <10%

Жаңа алынған қанKG1ажасуша сызығы бар							
Оң оқиғалар саны (Орташа мән) = 5355							
	Аралық оператор	Цитометраралық	Топтама ішілік	Топтама аралық	Жүгіру арасында	Жүгіру ішінде	Жалпы
CV (%)	0,68	0,54	2,16	0,79	0,66	1,94	2,36
НӘТИЖЕЛЕР	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ДҰРЫСТЫҚ

CD34-PC5 дұрыстығы Navios ағын цитометрінде өңделген оң жасушаларды қосу арқылы жаңа алынған қан үлгілерінің жинағындағы, предикат ретінде анықтамалық реагентпен нәтижелерді салыстыру арқылы бағаланған. Сынақ пен анықтамалық реагент арасындағы ауытқу, сынақ нәтижелері арасындағы айырмашылық негізінде анықталған. Егер қателік рұқсат етілген қателер ауқымында болса немесе p-мәні айтарлықтай айырмашылықты көрсетпесе (>0,05), онда екі реагенттің сынау нәтижелері баламалы болып саналады.

Алынған нәтижелер келесі кестеде толық көрсетілген:

Донорлар саны = 25				
Оңтайлы нысана	Орташа мән Δ	Δ % Жасуша критерийлері	p-мәні	НӘТИЖЕЛЕР
Жаңа алынған қанKG1ажасуша сызығы бар	1,31	<3	5,01E-04	PASS

БОС СЫНАМА ШЕГІ ЖӘНЕ АНЫҚТАУ ШЕГІ

Зерттеу CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, клиникалық зертханалық өлшеу процедураларын анықтау мүмкіндігін бағалау) нұсқауына сәйкес жүргізілді. Анықтау шегі (LOD) – бұл рет-ретімен анықтауға болатын аналиттің ең төмен концентрациясы. Алынған нәтижелер келесі кестеде жинақталған:

Positive Target	Бос сынама шегі (жасуша/мкл)	Анықтау шегі (жасуша/мкл)
KG1a Жасушалық сызық	1	2

ШЕКТЕУЛЕР

1. Цитометр дұрыс бапталмаған, флуоресценттенудің ағып кетуі дұрыс өтелмеген және аймақтар мұқият орналастырмаған жағдайда, ағын цитометриясы қате нәтижелер беруі мүмкін.
2. RBC лизис әдісін жуу қадамымен пайдаланған жөн, себебі бұл реагент «жуусыз» лизис әдістері үшін оңтайландырылмаған.
3. Жүргізілген процедуралар техникалық нұсқау брошюрасына сәйкес және тиісті зертханалық тәжірибемен үйлесімді болған жағдайда ғана дұрыс, әрі жаңғыртылуы мүмкін нәтижелерді алуға болады.
4. Осы реагенттің конъюгацияланған антиденесі арнайы сигнал мен арнайы емес сигналдың ең жақсы қатынасын қамтамасыз ететіндей калибрленген. Сондықтан әрбір сынақты жүргізгенде реагент көлемінің үлгі көлеміне қатынасын сақтау маңызды.

5. гиперлейкоцитоз жағдайында шамамен 5 x 10^9 лейкоцит/л (15) мәнін алу үшін PBS ерітіндісінде қанды сұйылтыңыз.
6. Кейбір жіті бүйрек жеткіліксіздігі немесе гемоглобинопатия сияқты аурулар жағдайында, эритроциттер лизисі баяу, толық емес немесе тіпті мүмкін емес болуы мүмкін. Бұл жағдайда бояудан бұрын тығыздық градиентін (мысалы, Ficoll) пайдаланып мононуклеарлы жасушаларды оқшаулап алу ұсынылады (16).
7. Сондай-ақ флуорохромның тандем құрылымының әсерінен PC5 575 нм жарық шығарады. Екінші реттік эмиссияның бұл шыңы PC5 бір топтамадан екінші топтамаға дейін өзгереді. Сондықтан көп түсті талдау үшін компенсация матрицасын -PC5 конъюгат топтамасын өзгерту кезінде мұқият тексеру керек.
8. Адамға қарсы моноклоналды антиденелер терапиясымен емделген пациенттерде арнайы мақсатты антигендерді анықтау емдік антиденеңің ішінара немесе толық бұғатталуына байланысты төмендеуі немесе болмауы мүмкін.
9. Нәтижелер CD34-PC5 пациенттің жалпы клиникалық деректері тұрғысынан түсіндірілуге тиіс, соның ішінде: симптомдар, клиникалық анамнез, қосымша сынақтардың деректері және басқа тиісті ақпарат.

Мысалдар мен анықтамалар алу үшін қосымшаны қараңыз.

САУДА БЕЛГІЛЕРІ

Beckman Coulter, стильденген логотип, сонымен қатар Beckman Coulter өнім мен қызмет көрсету белгілері –– бұл АҚШ және басқа елдердегі Beckman Coulter, Inc. сауда белгілері немесе тіркелген сауда белгілері.

ҚОСЫМША АҚПАРАТ

Еуропалық Одақтағы және бірдей реттеу режимі (зертханалық жағдайдағы медициналық диагностикалық құрылғылар туралы 2017/746/ЕО қаулысы) бар елдердегі пациент/пайдаланушы/үшінші тарап үшін; егер осы құрылғыны пайдалану кезінде немесе оны пайдалану нәтижесінде елеулі оқиға орын алса, өндірушіге және/немесе оның уәкілетті өкіліне және ұлттық органыңызға хабарлаңыз.

Қауіпсіздік пен өнімділік бойынша қорытынды мәліметтер EUDAMED дерекқорында қолжетімді: ec.europa.eu/tools/eudamed.

Өзгерту тарихы

AD ҚАЙТА ҚАРАУ:	Шығарылған күні: Қазан 2020 ж.

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AW	Мамыр 2022 ж.
Beckman Coulter ғаламдық таңбалау саясатына және IVD-R (ЕО) 2017/746 талаптарына сәйкес жасалған жаңартулар:	
Қосылған бөлімдер	«BSI 2797 нөмірі», «Мақсатты пайдаланушы», «Клиникалық маңызы», «Концентрациясы», «Анықтық», «Дұрыстық», «Бос сынама шегі және анықтау шегі», «Қосымша ақпарат», «Өзгерту тарихы».
Қосылған ақпарат	«Шектеулер» бөлімінен қараңыз
Фразалар және типографиялық жаңартулар	«Процедура», «Өнімділік», «Шектеулер», «Ескерту және сақтық шаралары» «Сақтау және тұрақтылық» бөлімдерін қараңыз.
Жойылған бөлімдер	«Клиникалық қолдану мысалы», «Реагенттер», «Зертханаішілік жаңғыртылу», «Сызықтық»
Жаңартылған бөлімдер	«Пайдалану мақсаты», «GHS қауіптер классификациясы», «Зақымдалу белгілері», «Процедура», «Қосымша».

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AX	Сәуір 2023
Жаңартылған бөлімдер	Қазақ тілін қосу
Жаңартылған бөлімдер	Сақтау және тұрақтылық

Қайта қаралған нұсқасы	AY
Қайта қаралған күні	Мамыр 2024
Жаңартылған аудармалар	**Клиникалық маңызы:**
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Қайта қаралған нұсқасы	AZ
Қайта қаралған күні	Шілде 2024
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Таңбалар пернесі

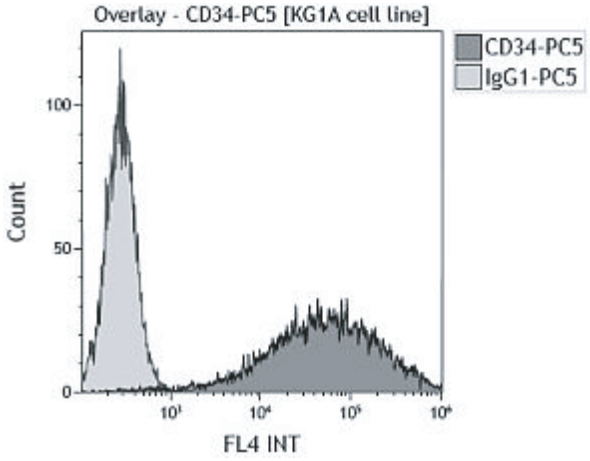
Таңбалар глоссарийі beckman.com/techdocs сайтында (құжат нөмірі: B60062) қолжетімді

APPENDIX

- EXAMPLES

KG1a Cell line stained with IOTest CD34-PC5 Conjugated Antibody.

Acquisition is performed with a Beckman Coulter Navios flow cytometer equipped with the Navios analysis software.



REFERENCES

1. F. Vergez, A. S. Green, J. Tamburini, J.-E. Sarry, B. Gaillard, P. Cornillet-Lefebvre, M. Pannetier, A. Neyret, N. Chapuis, N. Ifrah, F. Dreyfus, S. Manenti, C. Demur, E. Delabesse, C. Lacombe, P. Mayeux, D. Bouscary, C. Recher, V. Bardet, "High levels of CD34+CD38low/-CD123+ blasts are predictive of an adverse outcome in acute myeloid leukemia: a Groupe Ouest-Est des Leucemies Aigues et Maladies du Sang (GOELAMS) study." Haematologica. 96, 1792–1798 (2011).
2. F. Ren, N. Zhang, Z. Xu, J. Xu, Y. Zhang, X. Chen, Y. Tan, J. Chang, H. Wang, "The CD9+ CD11b- HLA-DR- immunophenotype can be used to diagnose acute promyelocytic leukemia.", Int J Lab Hematol. 41, 168–175 (2019).
3. V. Bardet, O. Wagner-Ballon, J. Guy, C. Morvan, C. Debord, F. Trimoreau, E. Benayoun, N. Chapuis, N. Freynet, C. Rossi, S. Mathis, M.-P. Gourin, A. Toma, M. C. Béné, J. Feuillard, E. Guérin, Groupe Francophone des Myélodysplasies (GFM), Groupe d'Etude Immunologique des Leucémies (GEIL), "Multicentric study underlining the interest of adding CD5, CD7 and CD56 expression assessment to the flow cytometric Ogata score in myelodysplastic syndromes and myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms." Haematologica. 100, 472–478 (2015).
4. K. Ogata, K. Kakumoto, A. Matsuda, K. Tohyama, H. Tamura, Y. Ueda, M. Kurokawa, J. Takeuchi, H. Shibayama, N. Emi, T. Motoji, Y. Miyazaki, H. Tamaki, K. Mitani, T. Naoe, H. Sugiyama, F. Takaku, "Differences in blast immunophenotypes among disease types in myelodysplastic syndromes: a multicenter validation study." Leuk. Res. 36, 1229–1236 (2012).
5. M. G. Della Porta, C. Picone, C. Pascutto, L. Malcovati, H. Tamura, H. Handa, M. Czader, S. Freeman, P. Vyas, A. Porwit, L. Saft, T. M. Westers, C. Alhan, C. Cali, A. A. van de Loosdrecht, K. Ogata, "Multicenter validation of a reproducible flow cytometric score for the diagnosis of low-grade myelodysplastic syndromes: results of a European LeukemiaNET study." Haematologica. 97, 1209–1217 (2012).
6. F. Lacombe, L. Campos, K. Allou, C. Arnoulet, A. Delabarthe, F. Dumezy, J. Feuillard, F. Geneviève, E. Guérin, J. Guy, H. Jouault, P. Lepelley, M. Maynadié, F. Solly, O. W. Ballon, C. Preudhomme, A. Baruchel, H. Dombret, N. Ifrah, M. C. Béné, Groupe d'Etude Immunologique des Leucémies (GEIL), "Prognostic value of multicenter flow cytometry harmonized assessment of minimal residual disease in acute myeloblastic leukemia." Hematol Oncol. 36, 422–428 (2018).
7. N. H. Collins, A. P. Gee, A. G. Durett, F. Kan, M.-J. Zhang, R. E. Champlin, D. Confer, M. Eapen, A. Howard, R. King, M. J. Laughlin, R. J. Plante, M. Setterholm, S. Spellman, C. Keever-Taylor, J. E. Wagner, D. J. Weisdorf, "The effect of the composition of unrelated donor bone marrow and peripheral blood progenitor cell grafts on transplantation outcomes." Biol. Blood Marrow Transplant. 16, 253–262 (2010).
8. Y. Kong, Y. -t Wang, Y. Hu, W. Han, "The bone marrow microenvironment is similarly impaired in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation patients with early and late poor graft function." Bone Marrow Transplantation. 51, 249 (2016).
9. Y. Ishida, K. Murai, K. Yamaguchi, T. Miyagishima, M. Shindo, K. Ogawa, T. Nagashima, S. Sato, R. Watanabe, S. Yamamoto, T. Hirose, S. Saitou, M. Yonezumi, T. Kondo, Y. Kato, N. Mochizuki, K. Ohno, S. Kishino, K. Kubo, T. Oyake, S. Ito, Inter-Michinoku Dasatinib Study Group (IMIDAS), "Pharmacokinetics and pharmacodynamics of dasatinib in the chronic phase of newly diagnosed chronic myeloid leukemia." Eur. J. Clin. Pharmacol. 72, 185–193 (2016).
10. A. Baraka, L. M. Sherief, N. M. Kamal, S. E. Shorbagy, "Detection of minimal residual disease in childhood B-acute lymphoblastic leukemia by 4-color flowcytometry." Int. J. Hematol. 105, 784–791 (2017).
11. Z. Huang, H. Tong, Y. Li, H. Zhou, "Post-therapeutic recovery of serum interleukin-35 level might predict positive response to immunosuppressive therapy in pediatric aplastic anemia." Hematology. 22, 430–436 (2017).
12. B. H. Davis, J.T. Holden, M. C. Bene, et al. "2006 Bethesda International Consensus Recommendations on the Flow Cytometric Immunophenotypic Analysis of Hematolymphoid Neoplasia: Medical Indications." Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 72B:S5-S13 (2007).
13. Lin CS, Ning H, Lin G et al. Is CD34 truly a negative marker for mesenchymal stromal cells? Cytotherapy 2012;14:1159–1163.
14. Akala OO1, Clarke MF. Hematopoietic stem cell self-renewal. Curr Opin Genet Dev. 2006 Oct;16(5):496-501.
15. H42-A2 Vol.27 No. 16. P30. Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry; Approved Guideline - Second Edition.
16. Ibrahim FF, Ghannam MM, Ali FM., "Effect of dialysis on erythrocyte membrane of chronically hemodialyzed patients"., 2002. Ren Fail., Nov;24(6):779-90.

IMMUNOTECH SAS 是贝克曼库尔特公司的旗下公司，地址：130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France，电话：+(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda
Alameda Rio Negro, 500, 15 andar, Torre B Alphaville Industrial
CEP 06.454-000 Barueri, São Paulo, Brasil
CNPJ: 42.160.812/0001-44 Telefone: 0800-771-8818

製造販売業者: ベックマン·コールター株式会社
〒135-0063
東京都江東区有明三丁目5 番7号
TOC有明ウエストタワー

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

 IMMUNOTECH SAS A Beckman Coulter Company, 130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France, +(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

BECKMAN COULTER
MADE IN France

CE 2797

IOTest
Conjugated Antibody
CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

TABLE OF CONTENTS

English . . . 2
Français (France) (fr-fr) . . . 6
Deutsche (de-de) . . . 10
Italiano (it-it) . . . 14
Español (es-es) . . . 18
Português (Portugal) (pt-pt) . . . 22
Dansk (da-dk) . . . 26
Svenska (sv-se) . . . 30
Norsk (nb-no) . . . 34
Suomi (fi-fi) . . . 38
Ελληνικά (el-gr) . . . 42
日本語 (ja-jp) . . . 46
中文（中国）(zh-cn) . . . 50
Lietuvių (lt-lt) . . . 54
Magyar (hu-hu) . . . 58
Polski (pl-pl) . . . 62
Čeština (cs-cz) . . . 66
Slovák (sk-sk) . . . 70
한국어 (ko-kr) . . . 74
Türkçe (tr-tr) . . . 78
Русский (ru-ru) . . . 82
Eestlane (et-ee) . . . 86
Hrvatski (hr-hr) . . . 90
Български (bg-bg) . . . 94
中文（台灣）(zh-tw) . . . 98
Română (ro-ro) . . . 102
Slovenščina (sl-si) . . . 106
Srpski (sr-rs) . . . 110
Latviešu (lv-lv) . . . 114
Українська (uk-ua) . . . 118
Português (Brasil) (pt-br) . . . 122
Nederlands (nl-nl) . . . 126
Tiếng Việt (vi-vn) . . . 130
Қазақша (kk-kz) . . . 134
APPENDIX . . . 138
REFERENCES . . . 139

© 2024 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

	Specifications
Specificity	CD56
Clone	N901 (NKH-1)
Hybridoma	NS1 x balb/c
Immunogen	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Immunoglobulin	IgG1
Species	Mouse
Purification	Affinity Chromatography
Fluorochrome	R Phycoerythrin (PE)
Molar ratio	PE / Ig: 0.5 - 1.5
λ excitation	488 nm
Emission Peak	575 nm
Buffer	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA and 0.1% NaN_3

IOTest
Conjugated Antibody
CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

For *In Vitro* Diagnostic Use

INTENDED USE

This fluorochrome-conjugated antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the CD56 antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

PRINCIPLE

This test is based on the ability of specific monoclonal antibodies to bind to the antigenic determinants expressed by leucocytes.

Specific staining of the leucocytes is performed by incubating the sample with the IOTest reagent. The red cells are then removed by lysis and the leucocytes, which are unaffected by this process, are analyzed by flow cytometry.

The flow cytometer measures light diffusion and the fluorescence of cells. It makes possible the delimitation of the population of interest within the electronic window defined on a histogram, which correlates the orthogonal diffusion of light (Side Scatter or SS) and the diffusion of narrow-angle light (Forward Scatter or FS). Other histograms combining two of the different parameters available on the cytometer can be used as supports in the gating stage depending on the application chosen by the user.

The fluorescence of the delimited cells is analyzed in order to distinguish the positively-stained events from the unstained ones. The results are expressed as a percentage of positive events in relation to all the events acquired by the gating.

INTENDED USER

This product is intended for laboratory professional use.

CLINICAL RELEVANCE

The CD56-PE is a CD56 antibody used to identify and characterize cells expressing the CD56 antigen by flow cytometry. This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.

When used in combination with other markers, this product can be used in one or more of the following functions:

- To aid in the differential diagnosis of hematologically abnormal patients suspected of having hematopoietic neoplasm and to monitor patients with known hematopoietic neoplasm.
- To aid in diagnosis of patients with suspected immunodeficiency and monitor patients with known immunodeficiency.
- To aid in the prognosis of patients having hematopoietic neoplasm.
- To monitor transplantation process or results.

See following references :

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

SAMPLES

Venous blood must be taken using sterile tubes containing an EDTA salt as the anticoagulant.

The samples should be kept at room temperature (18 – 25°C) and not shaken. The samples should be homogenized by gentle agitation prior to taking the test sample.

The samples must be analyzed within 24 hours of venipuncture.

CONCENTRATION

See lot specific Certificate of Analysis at www.beckman.com.

WARNING AND PRECAUTIONS

1. Do not use the reagent beyond the expiry date.
2. Do not freeze.
3. Let it come to room temperature (18 – 25°C) before use.

4. Minimize exposure to light.
5. Avoid microbial contamination of the reagents, or false results may occur.
6. Antibody solutions containing sodium azide (NaN_3) should be handled with care. Do not take internally and avoid all contact with the skin, mucosa and eyes.

   Moreover, in an acid medium, sodium azide can form the potentially dangerous hydrazoic acid. If it needs to be disposed of, it is recommended that the reagent be diluted in a large volume of water before pouring it into the drainage system so as to avoid the accumulation of sodium azide in metal pipes and to prevent the risk of explosion.
7. All blood samples must be considered as potentially infectious and must be handled with care (in particular: the wearing of protective gloves, gowns and goggles).
8. Never pipet by mouth, and avoid all contact of the samples with the skin, mucosa and eyes.
9. Blood tubes and disposable material used for handling should be disposed of in ad hoc containers intended for incineration.
10. Reagents and waste should be eliminated according to local requirements.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

SDS Safety Data Sheet is available at beckmancoulter.com/techdocs

STORAGE AND STABILITY

This reagent must be kept at between 2 and 8°C and protected from light, before and after the vial has been opened.

Closed vial shelf life per stability study: 1095 days.

Stability of opened vial: the reagent is stable for 180 days.

EVIDENCE OF DETERIORATION

Any change in the physical appearance of the reagents may indicate deterioration and the reagent should not be used.

For additional information, or if damaged product is received, call Beckman Coulter Customer Service at 800-742-2345 (USA or Canada) or contact your local Beckman Coulter Representative.

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).
To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

MATERIALS NEEDED BUT NOT SUPPLIED WITH KIT:

- Sampling tubes and material necessary for sampling.
- Automatic pipettes with disposable tips for 20, 100 and 500 µL.
- Plastic haemolysis tubes.
- Red cell lysis reagent with washing stage after lysis. For example: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leucocyte fixation reagent. For example : IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800).
- Isotype control PE : IOTest reagent (Ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0.01 M sodium phosphate; 0.145 M sodium chloride; pH 7.2).
- Centrifuge.
- Automatic agitator (Vortex type).
- Flow cytometer.

PROCEDURE WITH VERSALYSE REAGENT

For each sample analyzed, in addition to the test tube, one control tube can be added in which the cells are mixed in the presence of the isotype control (Ref. A07796).

1. Add 20 µL of specific IOTest conjugated antibody to each test tube and if necessary, 20 µL of the isotype control to each control tube.
2. Add 100 µL of the test sample to each tube. Vortex the tubes gently.
3. Incubate for 15 to 20 minutes at room temperature (18 – 25°C), protected from light.
4. Then perform lysis of the red cells. Refer to VersaLyse (Ref. A09777) leaflet and follow preferably the procedure called “with concomitant fixation”, which consists of adding 1 mL of the “Fix-and-Lyse” mixture prepared extemporaneously. Vortex immediately for one second and incubate for 10 minutes at room temperature, protected from light.
5. Centrifuge for 5 minutes at 150 x g at room temperature.
6. Remove the supernatant by aspiration.
7. Resuspend the cell pellet using 3 mL of PBS.
8. Repeat step 5.
9. Remove the supernatant by aspiration and resuspend the cell pellet using:

- 0.5 mL or 1 mL of PBS plus 0.1% of formaldehyde if the preparations are to be kept less than 24 hours. (A 0.1% formaldehyde PBS can be obtained by diluting 12.5 µL of the IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800) at its 10X concentration in 1 mL of PBS).

- 0.5 mL or 1 mL of PBS without formaldehyde, if the preparations are to be analyzed within 2 hours.

Note: In all cases, keep the preparations between 2 and 8°C and protected from light.

EXPECTED VALUES

In our laboratories, the whole blood samples of 25 apparently healthy donors were treated using the reagent described above. The results obtained for the count of the positive events of interest with this reagent are given in the table below :

Positive Target	Number	Mean (%)	SD	CV (%)
Lymphocytes	25	18.74	6.02	32.10

These values are intended to be representative only. Each laboratory should establish its own expected values from the local population of normal donors.

PERFORMANCE

Performance data are obtained using the procedure described above on less than 24 hour-old blood samples previously collected in sterile tubes with EDTA salt as anticoagulant. Analysis is performed within 2 hours following immunostaining.

SPECIFICITY

The molecular weight of the CD56 heavily glycosylated protein (NKH1 molecule) is 200 – 220 kDa (10,11). It is expressed on a subpopulation of peripheral blood lymphocytes that demonstrate non-major histocompatibility complex restricted cytotoxicity (10,12). The N901 (NKH-1) monoclonal antibody reacts with the majority of NK cells (10,11). It also reacts with a minor subpopulation of CD3 positive T cells that mediates reduced cytotoxic activity (12). This antibody does not react with monocytes, granulocytes, erythrocytes or B lymphocytes. The N901 (NKH-1) antibody has been assigned to the CD56 cluster of differentiation during the 4th International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens in Vienna, Austria, in 1989 (13).

PRECISION

The percent positive values were determined using Whole Blood. Each sample was run 4 times, twice a day for 1 day on 2 instruments using 2 lots of CD56-PE Monoclonal Antibody Reagents. Measurements (% positive) were made on Navios flow cytometer. Analysis was conducted based on the CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.

Our acceptance criteria is dependent on the number of positive events measured for each population:

- If positive event <1500, CV <15%
- If positive event >1500, CV <10%

Lymphocytes							
Number of positive events (Mean) = 1083							
	Inter-Operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-run	Intra-run	Total
CV (%)	1.52	0.67	2.98	0.69	0.67	2.48	3.14
RESULTS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURACY

The accuracy of CD56-PE was assessed by comparing the results with a reference reagent as the predicate on a set of whole blood samples run on a Navios flow cytometer. The bias between test and reference reagent was determined based on the difference between test results. If the bias is within the allowable error range or the p-value indicates no significant difference (> 0.05), then test results for the two reagents are considered as equivalent.

The results obtained are summarized in the following table below:

Number of donors = 25				
Positive Target	Mean Δ	Δ % Cell criteria	p-value	RESULTS
Lymphocytes	-0.25	<5	0.262	PASS

LIMIT OF BLANK AND LIMIT OF DETECTION

A study was conducted in accordance with CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures. The Limit of Detection (LOD) is the lowest concentration of analyte that can be consistently detected. Results obtained are summarized in the following table:

Positive Target	Limit of Blank (cell/µL)	Limit of Detection (cell/µL)
Lymphocytes	4	6

LIMITATIONS

1. Flow cytometry may produce false results if the cytometer has not been aligned perfectly, if fluorescence leaks have not been correctly compensated for and if the regions have not been carefully positioned.
2. It is preferable to use a RBC lysis technique with a washing step, as this reagent has not been optimized for "no wash" lysis techniques.
3. Accurate and reproducible results will be obtained as long as the procedures used are in accordance with the technical insert leaflet and compatible with good laboratory practices.
4. The conjugated antibody of this reagent is calibrated so as to offer the best specific signal/non-specific signal ratio. Therefore, it is important to adhere to the reagent volume/sample volume ratio in every test.
5. In the case of a hyperleucocytosis, dilute the blood in PBS so as to obtain a value of approximately 5 x 10^9 leucocytes/L (14).
6. In certain disease states, such as severe renal failure or haemoglobinopathies, lysis of red cells may be slow, incomplete or even impossible. In this case, it is recommended to isolate mononucleated cells using a density gradient (Ficoll, for example) prior to staining (15).
7. In patients treated with anti-human monoclonal antibody therapies, detection of the specific targeted antigens may be diminished or absent due to partial or complete blocking by the therapeutic antibody.
8. The CD56-PE results should be interpreted in light of the total clinical presentation of the patient, including: symptoms, clinical history, data from additional tests, and other appropriate information.

See the Appendix for examples and references.

TRADEMARKS

Beckman Coulter, the stylized logo, and the Beckman Coulter product and service marks mentioned herein are trademarks or registered trademarks of Beckman Coulter, Inc. in the United States and other countries.

ADDITIONAL INFORMATION

For a patient/user/third party in the European Union and in countries with identical regulatory regime (Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices); if, during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorized representative and to your national authority.

The Summary of Safety and Performance is available from the EUDAMED database: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISION HISTORY

REVISION AD:	Release date : September 2019

REVISION	**Release Date**
AW	February 2022
Updates to comply with the Beckman Coulter Global labelling Policy and according to IVD-R (EU)2017/746 requirements:	
Added sections	BSI 2797 Number, Intended User, Clinical Relevance, Concentration, Precision, Accuracy, Limit of blank and limit of detection, Additional Information, Revision History.
Added information	See sections Limitations
Phrasing or typographic updates	See sections Procedure, Performance, Limitations, Warning and Precautions, Storage and Stability.
Removed sections	Example of clinical applications, Reagents, Intra-laboratory reproducibilty, Linearity
Updated sections	Intended Use, GHS Hazard Classification, Evidence of deterioration, Procedure, Appendix.

REVISION	**Release Date**
AX	April 2023
Updated sections	Add Kazakh
Updated sections	Storage and stability

Revised Version	AY
Revised Date	May 2024
Updated Translations	**Clinical relevance :**
Updated sections	Revision History

Revised Version	AZ
Revised Date	July 2024
Updated sections	Revision History

Symbols Key

Glossary of Symbols is available at beckman.com/techdocs (document number B60062)

	Spécifications
Spécificité	CD56
Clone	N901 (NKH-1)
Hybridome	NS1 x balb/c
Immunogène	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Immunoglobuline	IgG1
Espèce	Souris
Purification	Chromatographie d'affinité
Fluorochrome	R Phycoerythrin (PE)
Rapport molaire	PE/Ig : 0,5 - 1,5
Excitation λ	488 nm
Pic d'émission	575 nm
Solution tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA et 0,1 % NaN_3

IOTest
Anticorps conjugué CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Pour une utilisation en Diagnostic *In Vitro*

UTILISATION

Cet anticorps conjugué-fluorochrome permet l'identification qualitative non automatisée des populations de cellules exprimant l'antigène CD56 présent dans les échantillons biologiques humains à l'aide d'une cytométrie en flux (voir la section « Échantillons » ci-dessous).

PRINCIPE

Ce test est fondé sur la capacité d'anticorps monoclonaux spécifiques de se lier à des déterminants antigéniques exprimés par les leucocytes.

Une coloration spécifique des leucocytes est effectuée en incubant l'échantillon avec le réactif IOTest. Les globules rouges sont ensuite supprimés par lyses et les leucocytes, qui ne sont pas affectés par cette procédure, sont analysés par cytométrie en flux.

Le cytomètre en flux mesure la diffusion de la lumière et la fluorescence des cellules. Il rend possible la délimitation de la population d'intérêt au sein de la fenêtre électronique définie sur un histogramme, qui met en corrélation la diffusion orthogonale de la lumière (diffusion latérale ou SS) et la diffusion de la lumière en angle étroit (dispersion avant ou FS). D'autres histogrammes combinant deux des différents paramètres disponibles sur le cytomètre peuvent être utilisés comme supports dans la phase de gating en fonction de l'application choisie par l'utilisateur.

La fluorescence des cellules délimitées est analysée de manière à distinguer les événements colorés positifs de ceux qui ne le sont pas. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'événements positifs par rapport à tous les événements acquis grâce à la méthode de gating.

UTILISATEUR PRÉVU

Ce produit est destiné à un usage professionnel en laboratoire.

PERTINENCE CLINIQUE

Le CD56-PE est un anticorps CD56 utilisé pour identifier et caractériser les cellules exprimant l'antigène CD56 par cytométrie en flux. Ce produit seul ne peut pas et n'est pas destiné à générer une quelconque conclusion diagnostique.

Lorsqu'il est utilisé conjointement avec d'autres marqueurs, ce produit peut être utilisé pour l'une ou plusieurs des fonctions suivantes :

- Aider au diagnostic différentiel des patients ayant une hématologie anormale et suspectés d'être atteints d'un néoplasme hématopoïétique et surveiller les patients atteints d'un néoplasme hématopoïétique connu.
- Aider au diagnostic des patients suspectés d'immunodéficience et surveiller les patients avec une immunodéficience connue.
- Faciliter le prognostic des patients ayant un néoplasme hématopoïétique.
- Surveiller la procédure de greffe ou les résultats.

Voir les références suivantes :

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

ÉCHANTILLONS

Le sang veineux doit être prélevé avec des tubes stériles contenant un sel EDTA comme anticoagulant.

Les échantillons doivent être conservés à température ambiante (18–25 °C) et ne doivent pas être agités. Les échantillons doivent être homogénéisés par agitation douce avant de prélever l'échantillon de test.

Les échantillons doivent être analysés dans les 24 heures qui suivent la ponction veineuse.

CONCENTRATION

Voir le certificat d'analyse du lot spécifique sur www.beckman.com.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Ne pas utiliser le réactif au-delà de la date de péremption.
2. Ne pas congeler.
3. Laisser le réactif passer à la température ambiante (18–25 °C) avant de l'utiliser.
4. Minimiser l'exposition à la lumière.

5. Éviter la contamination microbienne des réactifs, ou des résultats erronés peuvent se produire.
6. Les solutions d'anticorps contenant de l'azide de sodium (NaN_3) doivent être manipulées avec précautions. Ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau, les muqueuses et les yeux.

   En outre, dans un milieu acide, l'azide de sodium peut former le potentiellement dangereux acide hydrazoïque. S'il doit être éliminé, il est recommandé de diluer le réactif dans un grand volume d'eau avant de le verser dans le système de drainage afin d'éviter l'accumulation d'azide de sodium dans les tubes métalliques et de prévenir le risque d'explosion.
7. Tous les échantillons de sang doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés avec soin (en particulier : port de gants, de blouses et de lunettes de protection).
8. Ne jamais pipetter avec la bouche et éviter tout contact des échantillons avec la peau, les muqueuses et les yeux.
9. Les tubes de prélèvement sanguin et les matériaux jetables utilisés pour la manipulation doivent être éliminés dans des conteneurs appropriés prévus pour incinération.
10. Les réactifs et les déchets doivent être éliminés conformément aux exigences locales.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux

SDS La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVATION ET STABILITÉ

Ce réactif doit être conservé entre 2 et 8 °C, à l'abri de la lumière, avant et après l'ouverture du flacon.

Durée de conservation du flacon fermé selon l'étude de stabilité : 1095 jours.

Stabilité du flacon ouvert : le réactif est stable pendant 180 jours.

PREUVE DE DÉTÉRIORATION

Tout changement de l'apparence physique des réactifs peut indiquer une détérioration et le réactif ne doit pas être utilisé.

Pour plus de renseignements ou si un produit défectueux est livré, appeler le service client de Beckman Coulter au 800-742-2345 (USA ou Canada), ou votre représentant de Beckman Coulter local.

CONTENU

Les agents de conservation à base d'azide de sodium peuvent former des composés explosifs dans les conduites d'évacuation métalliques. Voir le bulletin NIOSH : Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Dangers d'explosion de l'azide).
Pour éviter l'accumulation potentielle des composés d'azide, rincer les tuyaux d'évacuation à l'eau après l'élimination de réactifs non dilués. L'élimination de l'azide de sodium doit se faire conformément aux réglementations locales en vigueur.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI AVEC CE COFFRET:

- Les tubes d'échantillonnage et le matériel nécessaires pour l'échantillonnage.
- Pipettes automatiques aux embouts jetables pour 20, 100 et 500 µL.
- Tubes d'hémolyse en plastique.
- Réactif de lyse des érythrocytes avec étape de lavage post-lyse. Par exemple : VersaLyse (Réf. A09777).
- Réactif de fixation de leucocyte. Par exemple : Solution fixative IOTest 3 (Réf. A07800).
- Contrôle d'isotype PE : Réactif IOTest (Réf. A07796).
- Tampon (PBS : 0,01 M phosphate de sodium ; 0,145 M chlorure de sodium ; pH 7,2).
- Centrifugeuse.
- Agitateur automatique (type vortex).
- Cytomètre en flux.

PROCÉDURE AVEC RÉACTIF VERSALYSE

Pour chaque échantillon analysé, en plus du tube de test, un tube de contrôle peut être ajouté dans lequel les cellules sont mélangées en présence du contrôle isotypique (Réf. A07796).

1. Ajouter 20 µL d'anticorps conjugué spécifique IOTest à chaque tube de test et si nécessaire,20 µL de contrôle isotypique dans chaque tube de contrôle.
2. Ajouter 100 µL de l'échantillon à tester dans chaque tube. Vortexer doucement les tubes.
3. Incuber pendant 15 à 20 minutes à température ambiante (18–25 °C), à l'abri de la lumière.
4. Puis effectuer la lyse des globules rouges. Consulter la notice VersaLyse (Réf. A09777) et suivre de préférence la procédure appelée « with concomitant fixation » (avec fixation concomitante), qui consiste à ajouter 1 mL du mélange « Fixer et Lyser » préparé à n'importe quel moment. Vortexer immédiatement pendant une seconde et incuber pendant 10 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière.
5. Centrifuger pendant 5 minutes à 150 x g à température ambiante.
6. Retirer le surnageant par aspiration.
7. Remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant 3 mL de PBS.
8. Répéter l'étape 5.
9. Éliminer le liquide surnageant par aspiration et remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant :

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS plus 0,1 % de formaldéhyde si les préparations doivent être conservées moins de 24 heures. (Un PBS à 0,1 % de formaldéhyde peut être obtenu en diluant 12,5 µL de solution de fixation IOTest 3 (Réf. A07800) à 10 fois sa concentration dans 1 mL de PBS).

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sans formaldéhyde, si les préparations doivent être analysées dans les 2 heures.

Remarque : dans tous les cas, conserver les préparations entre 2 et 8 °C et à l'abri de la lumière.

VALEURS ATTENDUES

Dans nos laboratoires, les échantillons de sang total de 25 donneurs apparemment sains ont été traités à l'aide du réactif décrit ci-dessus. Les résultats obtenus pour le compte des événements positifs d'intérêt pour ce réactif sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Cible positive	Nombre	Moyenne (%)	ET (Écart type)	CV (%)
Lymphocytes	25	18,74	6,02	32,10

Ces valeurs sont censées être uniquement représentatives. Chaque laboratoire doit établir ses valeurs attendues à partir d'une population locale de donneurs normaux.

PERFORMANCE

Les données de performance sont obtenues à l'aide de la procédure décrite ci-dessus sur des échantillons de sang de moins de 24 heures préalablement collectés dans des tubes stériles contenant du sel EDTA comme anticoagulant. L'analyse est effectuée dans les 2 heures suivant l'immunocoloration.

SPÉCIFICITÉ

La masse moléculaire du CD56, une protéine fortement glycosylée (molécule NKH1), est de 200–220 kDa (10,11). Il est exprimé dans une sous-population de lymphocytes du sang périphérique qui montrent une cytotoxicité non majeure restreinte au complexe d'histocompatibilité (10,12). L'anticorps monoclonal N901 (NKH-1) réagit avec la majorité des cellules NK (10,11). Il réagit également avec une sous-population mineure de lymphocytes T CD3+ qui assure la médiation d'une réduction de l'activité cytotoxique (12). Cet anticorps ne réagit pas avec les monocytes, les granulocytes, les érythrocytes ou les lymphocytes B. L'anticorps N901 (NKH-1) a été assigné à la classe de différenciation 56 (CD56) lors du 4ème Atelier International sur les antigènes de différenciation des leucocytes humains, à Vienne, en Autriche, en 1989 (13).

PRÉCISION

Les valeurs de percentile positives ont été déterminées à l'aide de sang total. Chaque échantillon a été analysé 4 fois, deux fois par jour pendant 1 jour sur 2 instruments à l'aide de 2 lots de réactifs d'anticorps monoclonal CD56-PE. Les mesures (% positif) ont été effectuées sur le cytomètre en flux Navios. L'analyse a été conduite conformément au document CLSI Méthode EP5-A2 : Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Évaluation de la performance de précision des méthodes de mesures quantitatives).

Notre critère d'acceptation est dépendant du nombre d'événements positifs mesurés pour chaque population :

- Si événement positif < 1 500, CV < 15 %
- Si événement positif > 1 500, CV < 10 %

Lymphocytes							
Nombre d'événements positifs (Moyenne) = 1083							
	Inter-opérateur	Inter-cytomètre	Intra-lot	Inter-lot	Inter-analyse	Intra-analyse	Total
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
RÉSULTATS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUDE

L'exactitude de CD56-PE a été évaluée en comparant les résultats avec un réactif de référence comme prédicat sur un ensemble d'échantillons de sang total analysé sur un cytomètre en flux Navios. L'écart systématique entre le test et le réactif de référence a été déterminé en fonction de la différence entre les résultats du test. Si l'écart systématique se situe dans la plage d'erreurs autorisée ou que la valeur p n'indique aucune différence significative (> 0,05), alors les résultats du test pour les deux réactifs sont considérés comme équivalent.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Nombre de donneurs = 25				
Cible positive	Moyenne Δ	Critères de cellules Δ %	Valeur-p	RÉSULTATS
Lymphocytes	-0,25	<5	0,262	PASS

LIMITE DU BLANC ET LIMITE DE DÉTECTION

Une étude a été conduite conformément au document CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Évaluation des capacités de détection des procédures de mesures biologiques cliniques). La limite de détection (LOD) est la concentration la plus basse d'analyte qui peut être systématiquement détectée. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Positive Target	Limite du blanc (cellules/µL)	Limite de détection (cellules/µL)
Lymphocytes	4	6

LIMITES

1. La cytométrie en flux peut produire des résultats erronés si le cytomètre n'a pas été parfaitement aligné, si les fuites de fluorescence n'ont pas été correctement compensées et si les régions n'ont pas été soigneusement positionnées.
2. Il est préférable d'utiliser une technique de lyse des GR comprenant une étape de lavage, comme ce réactif n'a pas été optimisé pour les techniques de lyse « sans lavage ».
3. Des résultats précis et reproductibles seront obtenus tant que les procédures utilisées sont en conformité avec la notice technique et compatibles avec les bonnes pratiques de laboratoire.
4. L'anticorps conjugué de ce réactif est étalonné de manière à offrir le meilleur ratio de signal spécifique/signal non spécifique. Par conséquent, il est important de respecter le ratio de volume de réactif/volume d'échantillon à chaque test.
5. En cas d'hyperleucocytose, diluer le sang dans du PBS de façon à obtenir une valeur d'approximativement 5 x 10^9 leucocytes/L (14).

6. Dans certains états pathologiques, tels qu'une grave insuffisance rénale ou une hémoglobinopathie, la lyse des globules rouges peut être lente, incomplète ou même impossible. Dans ce cas, il est recommandé d'isoler les cellules mononucléées à l'aide d'un gradient de densité (Ficoll, par exemple) avant la coloration (15).
7. Chez les patients traités par thérapie d'anticorps monoclonal anti-humain, la détection d'antigènes ciblés spécifiques peut être diminuée ou absente en raison d'un blocage partiel ou total par l'anticorps thérapeutique.
8. Les résultats de CD56-PE doivent être interprétés à la lumière du tableau clinique complet du patient, y compris : les symptômes, l'anamnèse, les résultats de tests supplémentaires et toute autre information appropriée.

Voir l'annexe pour des exemples et des références.

MARQUES

Beckman Coulter, le logo stylisé et les marques des produits et des services Beckman Coulter mentionnées ici sont des marques ou des marques déposées de Beckman Coulter, Inc. aux États-Unis et dans d'autres pays.

INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES

Pour un patient/utilisateur/tiers de l'Union européenne et des pays ayant le même régime réglementaire (Règlement 2017/746/UE relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro) ; si, lors de l'utilisation de ce dispositif ou suite à son utilisation, un incident important se produit, veuillez le rapporter au fabricant et/ou à son représentant autorisé et à l'autorité nationale de votre pays.

Le Summary of Safety and Performance (Résumé de sécurité et de performance) est disponible sur la base de données EUDAMED : ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

RÉVISION AD :	Date de publication : Septembre 2019

RÉVISION	**Date de publication**
AW	Février 2022
Mises à jour pour se conformer aux exigences de la politique d'étiquetage générale de Beckman Coulter et aux exigences IVD-R (UE)2017/746 :	
Ajout de sections	Numéro BSI 2797, Utilisateur prévu, Pertinence clinique, Concentration, Exactitude, Précision, Limite du blanc et limite de détection, Informations supplémentaires, Historique de révisions.
Ajout d'informations	Voir les sections Limites
Mises à jour typographiques et de formulations	Voir les sections Procédure, Performance, Limites, Avertissement et précautions, Conservation et stabilité.
Suppression de sections	Exemple d'applications cliniques, réactifs, reproductibilité intra-laboratoire, linéarité
Sections mises à jour	Utilisation, Classification des risques SGH, Preuve de détérioration, Procédure, Annexe.

RÉVISION	**Date de publication**
AX	Avril 2023
Sections mises à jour	Ajouter le kazakh
Sections mises à jour	Conservation et stabilité

Version révisée	AY
Date de révision	Mai 2024
Traductions mises à jour	**Pertinence clinique :**
Sections mises à jour	Historique des révisions

Version révisée	AZ
Date de révision	Juillet 2024
Sections mises à jour	Historique des révisions

Légende des symboles

Un glossaire des symboles est disponible sur beckmancoulter.com/techdocs (document numéro B60062)

	Spezifikationen
Spezifität	CD56
Klon	N901 (NKH-1)
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Immunglobulin	IgG1
Spezies	Maus
Aufreinigung	Affinitätschromatografie
Fluorochrom	R Phycoerythrin (PE)
Molverhältnis	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-Anregung	488 nm
Emissionspeak	575 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA und 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugierter Antikörper CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20 µL/Test

Zur Verwendung als *In vitro*-Diagnostikum

VERWENDUNGSZWECK

Dieser mit einem Fluorochrom konjugierte Antikörper ermöglicht mithilfe der Durchflusszytometrie eine qualitative und nicht automatisierte Identifikation von Zellpopulationen, die das CD56-Antigen exprimieren, das in biologischen Proben menschlicher Herkunft vorhanden ist (siehe den Abschnitt „Proben“ unten).

PRINZIP

Dieser Test basiert auf der Fähigkeit bestimmter monoklonaler Antikörper, an die durch Leukozyten exprimierten antigenen Determinanten zu binden.

Die spezifische Färbung der Leukozyten erfolgt durch Inkubation der Probe mit dem IOTest-Reagenz. Die Erythrozyten können dann mittels Lyse entfernt werden. Die von diesem Vorgang unberührten Leukozyten werden mittels Durchflusszytometrie analysiert.

Das Durchflusszytometer misst die Lichtstreuung und die Fluoreszenz der Zellen. Es ermöglicht die Abgrenzung der gewünschten Population innerhalb des auf einem Histogramm definierten elektronischen Fensters, welches die orthogonale Lichtstreuung (Seitwärtsstreuung, SW) und die Streuung des Lichts im flachen Winkel (Vorwärtsstreuung, VW) in Beziehung zueinander setzt. Andere Histogramme, die zwei der auf dem Zytometer verfügbaren Parameter kombinieren, können zur Unterstützung beim Gating eingesetzt werden, je nachdem welche Anwendung der Benutzer ausgewählt hat.

Die Fluoreszenz der einzelnen Zellen wird analysiert, um die positiv angefärbten Ereignisse von den nicht angefärbten zu unterscheiden. Die Ergebnisse werden als Prozentsatz positiver Ereignisse relativ zu allen durch das Gating erfassten Ereignissen angegeben.

VORGESEHENER BENUTZER

Dieses Produkt ist für den Einsatz durch Laborfachkräfte vorgesehen.

KLINISCHE RELEVANZ

CD56-PE ist ein CD56-Antikörper zur durchflusszytometrischen Identifikation und Charakterisierung von Zellen, die das CD56-Antigen exprimieren. Es ist weder möglich noch vorgesehen, alleine anhand dieses Produkts zu einer diagnostischen Schlussfolgerung zu kommen.

Bei Verwendung in Verbindung mit anderen Markern kann dieses Produkt für einen oder mehrere der folgenden Zwecke eingesetzt werden:

- Als Hilfsmittel zur Differenzialdiagnose von hämatologisch anormalen Patienten mit Verdacht auf ein hämatopoetisches Neoplasma und zur Überwachung von Patienten mit bestätigtem hämatopoetischem Neoplasma.
- Als Hilfsmittel zur Diagnose von Patienten mit Verdacht auf Immundefizienz und zur Überwachung von Patienten mit bestätigter Immundefizienz.
- Als Hilfsmittel bei der Prognose für Patienten mit hämatopoetischem Neoplasma.
- Zur Überwachung von Transplantationsverfahren bzw. -ergebnissen.

Siehe die nachstehenden Literaturhinweise:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

PROBEN

Venöses Blut muss mit sterilen Röhrchen entnommen werden, die ein EDTA-Salz als Antikoagulanz enthalten.

Die Proben bei Raumtemperatur (18–25 °C) aufbewahren und nicht schütteln. Die Proben vor Entnahme der Testprobe durch vorsichtiges Schütteln homogenisieren.

Die Proben müssen innerhalb von 24 Stunden analysiert werden.

KONZENTRATION

Siehe das chargenspezifische Analysezertifikat unter www.beckman.com.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Das Reagenz nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden.
2. Nicht einfrieren.
3. Vor der Verwendung auf Raumtemperatur (18–25 °C) bringen.
4. Vor Licht schützen.

5. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien muss vermieden werden, damit kein falsches Ergebnis erzielt wird.
6. Antikörperlösungen, die Natriumazid (NaN_3) enthalten, vorsichtig handhaben. Nicht einnehmen und Berührungen mit Haut, Schleimhäuten und Augen vermeiden.

   Zudem kann Natriumazid in einem sauren Medium zur Bildung potenziell gefährlicher Stickstoffwasserstoffsäure führen. Zur Entsorgung des Reagenzes wird empfohlen, das Reagenz mit viel Wasser zu verdünnen, bevor es in das Abwassersystem gegossen wird, um einer Ansammlung von Natriumazid in den Metallrohren und dem Risiko einer Explosion vorzubeugen.
7. Blutproben sind als potenziell infektiös zu betrachten und müssen mit Vorsicht gehandhabt werden (insbesondere durch Tragen von Schutzhandschuhen, -kittel und -brille).
8. Niemals mit dem Mund pipettieren und jeglichen Kontakt der Proben mit Haut, Schleimhaut und Augen vermeiden.
9. Blutröhrchen und Einwegmaterial, das zur Handhabung verwendet wird, müssen in dafür vorgesehenen, für die Verbrennung bestimmten Behältern entsorgt werden.
10. Reagenzien und Abfälle sind entsprechend den örtlichen Anforderungen zu entsorgen.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft

SDS Das Sicherheitsdatenblatt ist auf beckmancoulter.com/techdocs verfügbar.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Dieses Reagenz muss vor und nach dem Öffnen des Fläschchens lichtgeschützt zwischen 2 und 8 °C gelagert werden.

Haltbarkeit der geschlossenen Durchstechflasche gemäß Stabilitätsstudie: 1095 Tage.

Stabilität geöffneter Fläschchen: Das Reagenz ist 180 Tage lang stabil.

VERFALLSANZEICHEN

Ein verändertes Aussehen der Reagenzien kann ein Verfallsanzeichen sein. Entsprechende Reagenzien dürfen nicht verwendet werden.

Wenn Sie weitere Informationen wünschen oder falls das Produkt beschädigt bei Ihnen eintrifft, setzen Sie sich (innerhalb der USA und Kanada) unter der Rufnummer 800-742-2345 mit dem Kundendienst von Beckman Coulter bzw. außerhalb dieser Länder mit dem für Sie zuständigen Beckman Coulter-Mitarbeiter in Verbindung.

INHALT

Natriumazid als Konservierungsmittel kann in metallischen Abflussleitungen explosive Verbindungen bilden. Siehe NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (NIOSH-Bulletin: Gefahr durch explosive Azide).
Um eine mögliche Akkumulation von Azidverbindungen zu vermeiden, die Abwasserrohre nach der Entsorgung von unverdünntem Reagenz mit Wasser spülen. Natriumazid muss entsprechend den örtlichen behördlichen Vorschriften entsorgt werden.

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT IM KIT ENTHALTENE ARTIKEL:

- Probenahmeröhrchen und für die Probenahme benötigte Materialien.
- Automatische Pipetten mit Einwegspritzen für 20, 100 und 500 µL.
- Hämolyseröhrchen aus Kunststoff.
- Reagenz zur Lyse der Erythrozyten mit Waschstufe nach der Lyse. Beispiel: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagenz zur Leukozytenfixierung. Beispiel: IOTest 3-Fixierungslösung (Ref. A07800).
- Isotypkontrolle PE: IOTest-Reagenz (Ref. A07796).
- Puffer (PBS: 0,01 M Natriumphosphat; 0,145 M Natriumchlorid; pH 7,2).
- Zentrifuge.
- Automatisches Mischgerät (Typ Vortex-Mischer).
- Durchflusszytometer.

VERFAHREN MIT VERSALYSE-REAGENZ

Für jede analysierte Probe kann zusätzlich zum Teströhrchen noch ein Kontrollröhrchen verwendet werden, in dem die Zellen in Gegenwart der Isotypkontrolle (Ref. A07796) gemischt werden.

1. 20 µL des spezifischen konjugierten IOTest-Antikörpers in jedes Teströhrchen und bei Bedarf 20 µL der Isotypkontrolle in jedes Kontrollröhrchen geben.
2. 100 µL der Testprobe in jedes Röhrchen geben. Die Röhrchen sachte mittels Vortex-Mischer mischen.
3. Bei Raumtemperatur (18–25 °C) 15 bis 20 Minuten lang lichtgeschützt inkubieren.
4. Im Anschluss die Erythrozyten lysieren. Das Merkblatt für VersaLyse (Ref. A09777) beachten und vorzugsweise das Verfahren mit dem Titel „with concomitant fixation“ (mit gleichzeitiger Fixierung) befolgen, das eine Zugabe von 1 mL des spontan zubereiteten „Fix-and-Lyse“(Fixierung und Lyse)-Gemisches vorsieht. Sofort eine Sekunde lang auf dem Vortex-Mischer mischen und 10 Minuten lang lichtgeschützt bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Bei 150 x g 5 Minuten lang bei Raumtemperatur zentrifugieren.
6. Den Überstand absaugen.
7. Das Zellpellet in 3 mL PBS resuspendieren.
8. Schritt 5 wiederholen.
9. Den Überstand absaugen und das Zellpellet resuspendieren mit:

- 0,5 mL oder 1 mL PBS plus 0,1 % Formaldehyd, wenn die Präparate weniger als 24 Stunden aufbewahrt werden sollen. (Ein 0,1%iges Formaldehyd-PBS-Gemisch kann hergestellt werden, indem 12,5 µL der IOTest 3-Fixierlösung (Ref. A07800) bei 10-facher Konzentration in 1 mL PBS verdünnt werden.)
- 0,5 mL oder 1 mL PBS ohne Formaldehyd, wenn die Präparate innerhalb von weniger als 2 Stunden analysiert werden sollen.

Hinweis: Die Präparate in jedem Fall zwischen 2 und 8 °C und vor Licht geschützt aufbewahren.

ERWARTETE WERTE

In unseren Laboren wurden die Vollblutproben von 25 scheinbar gesunden Spendern unter Verwendung des oben beschriebenen Reagenzes behandelt. Die Ergebnisse für die Anzahl der positiven Ereignisse von Interesse, die mit diesem Reagenz erzielt wurden, sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt:

Positives Ziel	Nummer	Mittelwert (%)	SD	VK (%)
Lymphozyten	25	18,74	6,02	32,10

Die Werte dienen nur zu Veranschaulichungszwecken. Jedes Labor muss anhand der örtlichen Population normaler Spender eigene erwartete Werte festlegen.

LEISTUNG

Leistungsdaten werden unter Anwendung des oben beschriebenen Verfahrens mit weniger als 24 Stunden alten Blutproben ermittelt, die zuvor in sterile Röhrchen mit EDTA-Salz als Antikoagulanz entnommen wurden. Die Analyse erfolgt innerhalb von 2 Stunden nach der Immunfärbung.

SPEZIFITÄT

Das Molekulargewicht des stark glykosilierten Proteins CD56 (NKH1-Molekül) beträgt 200–220 kDa (10,11). Es wird in einer Unterpopulation von perhiphären Blutlymphozyten exprimiert, die einen durch eine Nicht-Haupthistokompatibilitätskomplex-beschränkte Zytotoxizität aufweist (10,12). Der monoklonale Antikörper N901 (NKH-1) reagiert mit dem Großteil der NK-Zellen (10,11). Er reagiert zudem mit einer kleinen Subpopulation an positiven CD3-T-Zellen, wodurch die zytotoxische Aktivität reduziert wird (12). Dieser Antikörper reagiert nicht mit Monozyten, Granulozyten, Erythrozyten oder B-Lymphozyten. Der Antikörper N901 (NKH-1) wurde beim vierten internationalen Workshop zu menschlichen Leukozyten-Differenzierungsantigenen in Wien, Österreich im Jahr 1989 der CD56-Unterscheidungsgruppe zugeordnet (13).

PRÄZISION

Die prozentualen positiven Werte wurden unter Verwendung von Vollblut bestimmt. Jede Probe wurde zweimal täglich 1 Tag lang unter Verwendung von 2 Chargen der Reagenzien mit dem monoklonalen Antikörper CD56-PE 4 Mal auf 2 Instrumenten analysiert. Messungen (% positiv) wurden mit dem Navios-Durchflusszytometer vorgenommen. Die Analyse folgte den Vorgaben der CLSI-Methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Beurteilung der Präzisionsleistung von quantitativen Messmethoden).

Unsere Akzeptanzkriterien sind abhängig von der Anzahl an positiven Ereignissen, die für jede Population gemessen werden:

- Wenn positives Ereignis < 1 500, VK < 15 %
- Wenn positives Ereignis > 1 500, VK < 10 %

Lymphozyten							
Anzahl der positiven Ereignisse (Mittelwert) = 1083							
	Zwischen Bedienern	Zwischen Durchflusszytometern	Innerhalb einer Charge	Zwischen Chargen	Zwischen Läufen	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
VK (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
ERGEBNISSE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit von CD56-PE wurde anhand eines Vergleichs der Ergebnisse mit einem Referenzreagenz als Prädikat für einen Satz aus Vollblutproben bewertet, die auf einem Navios-Durchflusszytometer analysiert wurden. Die Abweichung zwischen Test- und Referenzreagenz wurde auf der Grundlage der Differenz zwischen Testergebnissen bestimmt. Sollte die Abweichung innerhalb des zulässigen Fehlerbereichs liegen oder der p-Wert keine signifikante Differenz (> 0,05) nahelegen, gelten die Testergebnisse für die beiden Reagenzien als gleichwertig.

Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Anzahl der Spender = 25				
Positives Ziel	Mittelwert Δ	Δ % Zellkriterien	p-Wert	ERGEBNISSE
Lymphozyten	-0,25	<5	0,262	PASS

GRENZWERT FÜR LEERWERT UND NACHWEISGRENZE

Es wurde eine Studie gemäß CLSI-Dokument EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluierung des Detektionsvermögens von klinischen Labormessverfahren), durchgeführt. Die Nachweisgrenze (LOD) ist die niedrigste Konzentration des Analyten, die durchweg nachgewiesen werden kann. Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Positive Target	Grenzwert für Leerwert (Zelle/µL)	Nachweisgrenze (Zelle/µL)
Lymphozyten	4	6

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Die Durchflusszytometrie kann falsche Ergebnisse liefern, wenn das Zytometer nicht perfekt ausgerichtet wurde, wenn Fluoreszenzlecks nicht korrekt kompensiert wurden und wenn die Bereiche nicht sorgfältig positioniert wurden.
2. Vorzugsweise sollte eine ERY-Lysetechnik mit einem Waschschritt angewandt werden, da dieses Reagenz nicht für Lysetechniken ohne Waschen optimiert wurde.
3. Genaue und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, sofern die verwendeten Verfahren der technischen Packungsbeilage entsprechen und mit der guten Laborpraxis kompatibel sind.

4. Der konjugierte Antikörper dieses Reagenzes ist so kalibriert, dass er das beste Verhältnis von spezifischem zu unspezifischem Signal bietet. Daher ist es wichtig, das Verhältnis Reagenzvolumen/Probenvolumen bei jedem Test einzuhalten.
5. Im Falle einer Hyperleukozytose das Blut in PBS verdünnen, um einen Wert von ungefähr 5 x 10^9 Leukozyten/L zu erhalten(14).
6. Bei bestimmten Krankheitszuständen, beispielsweise einem schweren Nierenversagen oder Hämoglobinopathien, kann die Lyse der Erythrozyten möglicherweise nur langsam oder unvollständig erfolgen oder sogar unmöglich sein. In diesem Fall empfiehlt es sich, vor dem Färben einkernige Zellen mittels eines Dichtegradienten (beispielsweise Ficoll) zu isolieren (15).
7. Bei Patienten, die sich Therapien mit anti-humanen monoklonalen Antikörpern unterziehen, kann das Nachweisvermögen für die spezifischen anvisierten Antigene aufgrund einer teilweisen oder vollständigen Blockierung durch die therapeutischen Antikörper vermindert sein oder gänzlich ausbleiben.
8. Die Ergebnisse für CD56-PE müssen unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde für den Patienten interpretiert werden, einschließlich Symptomen, klinischer Vorgeschichte, Daten zusätzlicher Tests sowie sonstiger relevanter Informationen.

Beispiele und Literaturhinweise siehe Anhang.

MARKEN

Beckman Coulter, das stilisierte Logo und die in diesem Dokument erwähnten Beckman Coulter-Produkt- und Dienstleistungsmarken sind in den USA und anderen Ländern Marken oder eingetragene Marken von Beckman Coulter, Inc.

WEITERE INFORMATIONEN

Für einen Patienten/Benutzer/Dritten in der Europäischen Union und in Ländern mit identischer Regulierungspraxis (Verordnung 2017/746/EU über In-vitro-Diagnostika) gilt Folgendes: Sollte es im Rahmen der Verwendung dieses Produktes oder infolge der Verwendung dieses Produktes zu einem schwerwiegenden Zwischenfall gekommen sein, ist dieser dem Hersteller und/oder dessen Bevollmächtigten sowie der nationalen Behörde zu melden.

Die „Summary of Safety and Performance“ (Bericht über Sicherheit und Leistung) kann aus der EUDAMED-Datenbank abgerufen werden: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSVERLAUF

REVISION AD:	Freigabedatum: September 2019

REVISION	**Freigabedatum**
AW	Februar 2022
Aktualisierungen vorgenommen, um den Vorgaben der globalen Etikettierungsrichtlinie von Beckman Coulter und den Vorgaben nach IVD-R (EU) 2017/746 zu entsprechen:	
Abschnitte hinzugefügt	Nummer nach BSI 2797; Vorgesehener Benutzer; Klinische Anwendung; Konzentration; Präzision; Genauigkeit; Grenzwert für Leerwert und Nachweisgrenze; Weitere Informationen; Revisionsübersicht.
Informationen hinzugefügt	Siehe Abschnitt Einschränkungen
Formulierung oder Typografie aktualisiert	Siehe die Abschnitte Verfahren; Leistung; Einschränkungen; Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen; Lagerung und Stabilität.
Abschnitte gestrichen	Beispiel für klinische Anwendungen; Reagenzien; Reproduzierbarkeit innerhalb des Labors; Linearität
Aktualisierte Abschnitte	Verwendungszweck; GHS-Gefahrstoffklassifizierung; Verfallsanzeichen; Verfahren; Anhang.

REVISION	**Freigabedatum**
AX	April 2023
Aktualisierte Abschnitte	Kasachisch hinzufügen
Aktualisierte Abschnitte	Lagerung und Stabilität

Überarbeitete Version	AY
Überarbeitungsdatum	Mai 2024
Aktualisierte Übersetzungen	**Klinische Relevanz:**
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Überarbeitete Version	AZ
Überarbeitungsdatum	Juli 2024
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Liste der Symbole

Das Glossar der Symbole ist auf beckman.com/techdocs (Dokumentnummer B60062) verfügbar.

	Specifiche
Specificità	CD56
Clone	N901 (NKH-1)
Ibridoma	NS1 x balb/c
Immunogeno	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Immunoglobulina	IgG1
Specie	Topo
Purificazione	Cromatografia di affinità
Fluorocromo	R Phycoerythrin (PE)
Rapporto molare	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Eccitazione λ	488 nm
Picco di emissione	575 nm
Tampone	PBS pH 7,2 più 2 mg/mL di BSA e NaN_3 0,1%

IOTest

Anticorpo coniugato CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Per uso diagnostico *in vitro*

USO PREVISTO

Questo anticorpo coniugato con fluorocromo consente l'identificazione qualitativa e non automatizzata di popolazioni cellulari che esprimono l'antigene CD56 presente nei campioni biologici umani mediante citometria a flusso (vedere la sezione "Campioni" di seguito).

PRINCIPIO

Questo test si basa sulla capacità di specifici anticorpi monoclonali di legarsi ai determinanti antigenici espressi dai leucociti.

La colorazione specifica dei leucociti viene eseguita incubando il campione con il reagente IOTest. Gli eritrociti vengono quindi rimossi tramite lisi e i leucociti, non interessati da questo processo, vengono analizzati tramite citometria a flusso.

Il citometro a flusso misura la diffusione di luce e la fluorescenza delle cellule. Ciò consente la delimitazione della popolazione di interesse con la finestra elettronica definita in un istogramma, che correla la diffusione ortogonale della luce (scattering laterale o SS) e la diffusione della luce ad angolo stretto (scattering frontale o FS). Altri istogrammi che combinano due dei diversi parametri disponibili sul citometro possono essere usati come supporti nella fase di determinazione del gate in base alle applicazioni scelte dall'utente.

La fluorescenza delle cellule delimitate viene analizzata per distinguere gli eventi colorati in modo positivo e quelli non colorati. I risultati sono espressi come percentuale di eventi positivi in relazione a tutti gli eventi acquisiti mediante determinazione del gate.

UTENTE PREVISTO

Questo prodotto è destinato all'uso professionale in laboratorio.

RILEVANZA CLINICA

CD56-PE è un anticorpo CD56 utilizzato per identificare e caratterizzare le cellule che esprimono l'antigene CD56 mediante citometria a flusso. Questo prodotto da solo non può e non intende generare alcuna conclusione diagnostica.

Se impiegato in combinazione con altri marcatori, questo prodotto può essere utilizzato con una o più delle seguenti funzioni:

- Come supporto nella diagnosi differenziale di pazienti con anomalie ematologiche e sospetta neoplasia ematopoietica e nel monitoraggio di pazienti con neoplasia ematopoietica nota.
- Come supporto nella diagnosi di pazienti con sospetta immunodeficienza e nel monitoraggio di pazienti con immunodeficienza nota.
- Come supporto nella prognosi di pazienti con neoplasia ematopoietica.
- Per monitorare una procedura o i risultati di un trapianto.

Vedere i riferimenti seguenti:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

CAMPIONI

I campioni di sangue venoso devono essere prelevati utilizzando provette sterili contenenti un sale EDTA come anticoagulante.

I campioni devono essere conservati a temperatura ambiente (18-25 °C) e non devono essere agitati. I campioni devono essere omogeneizzati agitandoli con delicatezza prima di prelevare il campione per il test.

I campioni devono essere analizzati entro 24 ore dalla venipuntura.

CONCENTRAZIONE

Vedere il Certificato di analisi specifico del lotto sul sito www.beckman.com.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza.
2. Non congelare.
3. Prima dell'uso, portare a temperatura ambiente (18-25 °C).
4. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce.

5. Evitare la contaminazione microbica dei reagenti, poiché potrebbe falsare i risultati.
6. Le soluzioni di anticorpi che contengono sodio azide (NaN_3) devono essere maneggiate con cura. Non ingerire ed evitare qualsiasi contatto con cute, mucose e occhi.

   Inoltre, in un mezzo acido, il sodio azide può formare acido idrazoico, che è potenzialmente pericoloso. Per lo smaltimento, si consiglia di diluire il reagente in un grande volume di acqua prima di versarlo nell'impianto di scarico, in modo da evitare l'accumulo di sodio azide nelle tubazioni metalliche ed evitare il rischio di esplosione.
7. Tutti i campioni di sangue devono essere considerati potenzialmente infetti e devono essere maneggiati con cura (in particolare, indossando guanti, camici e occhiali protettivi).
8. Non pipettare mai usando la bocca ed evitare il contatto dei campioni con la pelle, le mucose e gli occhi.
9. Le provette per il sangue e i materiali monouso usati per la manipolazione devono essere smaltiti in appositi contenitori destinati all'inceneritore.
10. I reagenti e i rifiuti devono essere smaltiti conformemente alla normative locali.

CLASSIFICAZIONE DEI PERICOLI GHS

Classificato come non pericoloso

SDS La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile all'indirizzo beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Questo reagente deve essere mantenuto a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce, prima e dopo l'apertura della fiala.

Durata di conservazione della fiala chiusa secondo studi di stabilità: 1095 giorni.

Stabilità di una fiala aperta: il reagente è stabile per 180 giorni.

INDICI DI DETERIORAMENTO

Qualsiasi cambiamento dell'aspetto fisico dei reagenti può indicare un deterioramento. In tale caso, non utilizzare il reagente.

Per ulteriori informazioni, o nel caso in cui il prodotto ricevuto risulti danneggiato, rivolgersi all'assistenza clienti Beckman Coulter al numero 800-742-2345 (USA o Canada) o mettersi in contatto con il rappresentante locale Beckman Coulter.

SOMMARIO

Il conservante sodio azide può formare composti esplosivi nelle tubazioni metalliche di scarico. Vedere il bollettino NIOSH: Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Bollettino dell'Istituto Nazionale per la Sicurezza e la Salute sul Lavoro: Rischio di esplosione del sodio azide).
Per evitare il possibile accumulo di azidi, lavare i tubi di scarico con acqua dopo lo smaltimento del reagente puro. Il sodio azide deve essere eliminato conformemente alle normative locali applicabili.

COMPONENTI NECESSARI MA NON FORNITI CON IL KIT:

- Provette per campioni e materiale necessario per il campionamento.
- Pipette automatiche con punte monouso per 20, 100 e 500 µL.
- Provette per emolisi in plastica.
- Reagente per lisi degli eritrociti con fase di lavaggio successiva alla lisi. Ad esempio: VersaLyse (Rif. A09777).
- Reagente di fissaggio dei leucociti. Ad esempio: Soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800).
- Controllo di isotipo PE: reagente IOTest (Rif. A07796).
- Tampone (PBS: 0,01 M di fosfato di sodio, 0,145 M di cloruro di sodio, pH 7,2).
- Centrifugare.
- Agitatore automatico (tipo Vortex).
- Citometro a flusso.

PROCEDURA CON REAGENTE VERSALYSE

Per ogni campione analizzato, oltre alla provetta del test, si può aggiungere una provetta di controllo in cui miscelare le cellule in presenza di controllo di isotipo (Rif. A07796).

1. Aggiungere 20 µL di anticorpo coniugato IOTest specifico in ogni provetta del test e, se necessario, 20 µL di controllo di isotipo in ogni provetta di controllo.
2. Aggiungere 100 µL di campione del test in ogni provetta. Agitare delicatamente le provette con Vortex.
3. Incubare a temperatura ambiente (18-25 °C) per 15-20 minuti, al riparo dalla luce.
4. Quindi eseguire la lisi degli eritrociti. Consultare il foglietto illustrativo di VersaLyse (Rif. A09777) e seguire preferibilmente la procedura denominata "with concomitant fixation" (con fissazione concomitante), che consiste nell'aggiungere 1 mL della miscela fissante e lisante preparata estemporaneamente. Miscelare immediatamente con Vortex per un secondo e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente, al riparo dalla luce.
5. Centrifugare per 5 minuti a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Rimuovere il surnatante mediante aspirazione.
7. Risospendere il pellet cellulare utilizzando 3 mL di PBS.
8. Ripetere il passaggio 5.
9. Eliminare il surnatante tramite aspirazione e risospendere il pellet cellulare tramite:

- 0,5 mL o 1 mL di PBS più 0,1% di formaldeide, se i preparati devono essere conservati per meno di 24 ore. È possibile ottenere PBS con formaldeide allo 0,1% diluendo 12,5 µL di soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800) alla sua concentrazione di 10X in 1 mL di PBS.

- 0,5 mL o 1 mL di PBS senza formaldeide, se i preparati devono essere analizzati entro 2 ore.

Nota: in tutti i casi, mantenere i preparati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce.

VALORI ATTESI

Nei nostri laboratori, i campioni di sangue intero di donatori apparentemente sani 25 sono stati trattati utilizzando il reagente descritto sopra. I risultati ottenuti dal conteggio degli eventi positivi pertinenti a questo reagente sono riportati nella tabella di seguito:

Target positivo	Numero	Media (%)	SD	CV (%)
Linfociti	25	18,74	6,02	32,10

Tali valori sono forniti unicamente a scopo indicativo. Ogni laboratorio deve definire i propri valori attesi a partire dalla popolazione locale di donatori normali.

PRESTAZIONI

I dati delle prestazioni si ottengono adottando la procedura descritta in precedenza su campioni di sangue raccolti da meno di 24 ore in provette sterili con anticoagulante EDTA. L'analisi viene eseguita entro 2 ore dall'immunocolorazione.

SPECIFICITÀ

Il peso molecolare della proteina pesantemente glicosilata CD56 (molecola NKH1) è compreso tra 200 e 220 kDa (10,11). Viene espresso in una sottopopolazione di linfociti del sangue periferico che dimostra una citotossicità non limitata dal complesso di istocompatibilità maggiore (10,12). L'anticorpo monoclonale N901 (NKH-1) reagisce con la maggior parte delle cellule NK (10,11). Reagisce anche con una sottopopolazione minore di linfociti T positivi a CD3 che media l'attività citotossica ridotta (12). Questo anticorpo non reagisce con i monociti, i granulociti, gli eritrociti o i linfociti B. L'anticorpo N901 (NKH-1) è stato assegnato al cluster CD56 di differenziazione durante il IV Workshop internazionale sugli antigeni di differenziazione dei leucociti umani, tenutosi a Vienna, in Austria nel 1989 (13).

PRECISIONE

I valori percentuali positivi sono stati determinati utilizzando sangue intero. Ogni campione è stato analizzato 4 volte, due volte al giorno per 1 giorno su 2 strumenti utilizzando 2 lotti di reagenti per anticorpi monoclonali CD56-PE. Le misurazioni (% positive) sono state eseguite sul citometro a flusso Navios. L'analisi è stata condotta secondo il metodo EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Valutazione delle prestazioni di precisione dei metodi di misurazione quantitativa).

I nostri criteri di accettazione dipendono dal numero di eventi positivi misurati per ogni popolazione:

- Se evento positivo < 1.500, CV < 15%
- Se evento positivo > 1.500, CV < 10%

Linfociti							
Numero di eventi positivi (media) = 1083							
	Inter-operatore	Inter-citometro	Intra-lotto	Inter-lotto	Inter-analisi	Intra-analisi	Totale
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
RISULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURATEZZA

L'accuratezza di CD56-PE è stata valutata confrontando i risultati con un reagente di riferimento come predicato su una serie di campioni di sangue intero eseguiti su un citometro a flusso Navios. La distorsione tra il reagente in esame e quello di riferimento è stata determinata in base alla differenza tra i risultati del test. Se la distorsione rientra nell'intervallo di errore consentito o il valore p indica che non vi è una differenza significativa (> 0,05), allora i risultati dei test per i due reagenti sono considerati equivalenti.

I risultati ottenuti sono riepilogati nella tabella seguente:

Numero di donatori = 25				
Target positivo	Δ medio	Criteri cellulari Δ %	Valore p	RISULTATI
Linfociti	-0,25	<5	0,262	PASS

LIMITE DEL BIANCO E LIMITE DI RILEVAZIONE

È stato effettuato uno studio in conformità al documento EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Valutazione delle capacità di rilevamento delle procedure di misurazione del laboratorio clinico). Il limite di rilevazione (LoD) è la più bassa concentrazione di analita che può essere costantemente rilevata. I risultati ottenuti sono riepilogati nella seguente tabella:

Positive Target	Limite del bianco (cellula/µL)	Limite di rilevazione (cellula/µL)
Linfociti	4	6

LIMITAZIONI

1. La citometria a flusso può produrre falsi risultati se il citometro non viene allineato perfettamente, le perdite di fluorescenza non vengono correttamente compensate e le regioni non vengono posizionate attentamente.
2. È preferibile utilizzare una tecnica di lisi RBC con una fase di lavaggio, in quanto il reagente non è stato ottimizzato per tecniche di lisi "senza lavaggio".
3. Seguendo le procedure descritte nel foglietto illustrativo con le informazioni tecniche, compatibili con le buone pratiche di laboratorio, è possibile ottenere risultati accurati e riproducibili.
4. L'anticorpo coniugato di questo reagente è calibrato in modo da offrire un rapporto segnale specifico/segnale non specifico ottimale. Di conseguenza, è importante rispettare il rapporto fra volume di reagente e volume di campione in tutti i test.
5. In caso di iperleucocitosi, diluire il sangue in PBS in modo da ottenere un valore di circa 5 x 10^9 leucociti/L (14).
6. In alcuni stati patologici, come insufficienza renale grave o emoglobinopatie, la lisi degli eritrociti può risultare lenta, incompleta o persino impossibile. In questo caso, è consigliabile isolare le cellule mononucleate usando un gradiente di densità (ad esempio, Ficoll) prima della colorazione (15).

7. In pazienti trattati con terapie a base di anticorpi monoclonali anti-umani, il rilevamento di antigeni specifici può essere minore o assente a causa del blocco parziale o completo da parte dell'anticorpo terapeutico.
8. I risultati CD56-PE devono essere interpretati alla luce del quadro clinico completo del paziente che comprende: sintomatologia, anamnesi clinica, risultati di altri test e altre informazioni appropriate.

Per esempi e riferimenti, vedere l'appendice.

MARCHI COMMERCIALI

Beckman Coulter, il logo stilizzato ed i marchi commerciali dei prodotti e servizi di Beckman Coulter menzionati qui, sono marchi commerciali o marchi commerciali registrati di Beckman Coulter, Inc., negli Stati Uniti e in altri paesi.

INFORMAZIONI AGGIUNTIVE

Per un paziente/utente/terza parte nell'Unione Europea e in paesi con identico regime normativo (Regolamento 2017/746/UE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro): se, durante l'utilizzo di questo dispositivo o in seguito al suo utilizzo, si fosse verificato un incidente grave, si prega di segnalarlo al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e all'autorità nazionale competente.

Il Summary of Safety and Performance (Sintesi relativa alla sicurezza e alle prestazioni) è disponibile nel database EUDAMED all'indirizzo: ec.europa.eu/tools/eudamed.

CRONOLOGIA REVISIONI

REVISIONE AD:	Data di pubblicazione: settembre 2019

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AW	Febbraio 2022
Aggiornamenti conformi alla politica sull'etichettatura globale di Beckman Coulter e ai requisiti IVD-R (UE)2017/746:	
Sezioni aggiunte	Numero BSI 2797, Utente previsto, Rilevanza clinica, Concentrazione, Precisione, Accuratezza, Limite del bianco e limite di rilevazione, Informazioni aggiuntive, Cronologia revisioni.
Aggiunta di informazioni	Vedere le sezioni Limitazioni
Aggiornamenti testuali o tipografici	Vedere le sezioni Procedura, Prestazioni, Limitazioni, Avvertenze e precauzioni, Conservazione e stabilità.
Sezioni rimosse	Esempio di applicazioni cliniche, Reagenti, Riproducibilità intra-laboratorio, Linearità
Sezioni aggiornate	Uso previsto, Classificazione pericoli GHS, Indici di deterioramento, Procedura, Appendice.

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AX	Aprile 2023
Sezioni aggiornate	Aggiungere la lingua kazaka
Sezioni aggiornate	Conservazione e stabilità

Versione revisionata	AY
Data di revisione	Maggio 2024
Traduzioni aggiornate	**Rilevanza clinica:**
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Versione revisionata	AZ
Data di revisione	Luglio 2024
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Legenda dei simboli

Il Glossario dei simboli è disponibile all'indirizzo beckman.com/techdocs (documento numero B60062)

	Especificaciones
Especificidad	CD56
Clon	N901 (NKH-1)
Hibridoma	NS1 x balb/c
Inmunógeno	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Inmunoglobulina	IgG1
Especie	Ratón
Purificación	Cromatografía de afinidad
Fluorocromo	R Phycoerythrin (PE)
Proporción molar	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Excitación λ	488 nm
Pico de emisión	575 nm
Tampón	PBS pH 7,2 más 2 mg/mL BSA y 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticuerpo conjugado CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20 µL/prueba

Para uso diagnóstico *in vitro*

USO PREVISTO

Este anticuerpo conjugado con un fluorocromo permite la identificación cualitativa y no automatizada de poblaciones de células que expresan el antígeno CD56 presente en muestras biológicas humanas mediante citometría de flujo (véase la sección «Muestras» más adelante).

PRINCIPIO

Esta prueba se basa en la capacidad de anticuerpos monoclonales específicos para unirse a los determinantes antigénicos expresados por leucocitos.

La tinción específica de los leucocitos se realiza incubando la muestra con el reactivo IOTest. A continuación, se eliminan los eritrocitos mediante lisis y los leucocitos, que no se ven afectados por este proceso, se analizan mediante citometría de flujo.

El citómetro de flujo mide la dispersión de la luz y la fluorescencia de las células. Permite acotar la población de interés dentro de una ventana electrónica, definida en un histograma que correlaciona la dispersión lateral de luz (Side Scatter o SS) con la dispersión frontal de la luz (Forward Scatter o FS). Se pueden utilizar otros histogramas que combinen dos de los distintos parámetros disponibles en el citómetro como apoyo para la fase de selección en función de la aplicación utilizada por el usuario.

La fluorescencia de las células acotadas se analiza para distinguir los eventos con tinción positiva de los eventos sin teñir. Los resultados se expresan como un porcentaje de eventos positivos en relación con todos los eventos adquiridos mediante la selección.

USUARIO PREVISTO

Este producto está diseñado para su uso en un laboratorio profesional.

IMPORTANCIA CLÍNICA

El reactivo CD56-PE es un anticuerpo frente a CD56 utilizado para identificar y caracterizar células que expresan el antígeno CD56 mediante citometría de flujo. Este producto por sí solo no puede y no está diseñado para generar una conclusión diagnóstica.

Cuando se usa en combinación con otros marcadores, este producto puede utilizarse en una o más de las siguientes funciones:

- Ayudar al diagnóstico diferencial de pacientes con anomalías hematológicas en los que se sospecha la presencia de una neoplasia hematopoyética y realizar el seguimiento de pacientes con una neoplasia hematopoyética conocida.
- Ayudar en el diagnóstico de pacientes con sospecha de inmunodeficiencia y realizar el seguimiento de pacientes con una inmunodeficiencia conocida.
- Ayudar en el pronóstico de pacientes que padecen una neoplasia hematopoyética.
- Realizar el seguimiento del proceso o los resultados de un trasplante.

Consulte las siguientes referencias:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

MUESTRAS

La sangre venosa debe recogerse en tubos de muestra estériles que contengan una sal de EDTA como anticoagulante.

Las muestras deben mantenerse a temperatura ambiente (18-25 °C) y no agitarse. Antes de tomar la muestra de prueba, es necesario homogeneizarla mediante una agitación suave.

Las muestras deben analizarse en el plazo de 24 horas tras la venopunción.

CONCENTRACIÓN

Consulte el certificado de análisis específico del lote en www.beckman.com.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. No use el reactivo después de la fecha de caducidad.
2. No lo congele.
3. Déjelo a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su utilización.
4. Minimice el tiempo de exposición a la luz.

5. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, ya que esto puede provocar resultados falsos.
6. Las soluciones de anticuerpo que contienen azida sódica (NaN_3) deben manipularse con precaución. No ingerir y evitar todo contacto con la piel, la mucosa y los ojos.

   Asimismo, en un medio ácido, la azida sódica puede formar ácido hidrazoico potencialmente peligroso. Cuando se vaya a desechar, se recomienda diluir el reactivo en abundante agua antes de verterlo en el sistema de drenaje para evitar la acumulación de azida sódica en tubos metálicos y el riesgo de explosión.
7. Todas las muestras sanguíneas deben considerarse posiblemente infecciosas y deben manipularse con cuidado (en especial, hay que llevar guantes, bata y gafas de protección).
8. No pipetee nunca con la boca y evite todo contacto de las muestras con la piel, las mucosas y los ojos.
9. Los tubos para sangre y el material desechable utilizados para la manipulación deben eliminarse en recipientes especiales previstos para la incineración.
10. Los reactivos y los desechos deben eliminarse de acuerdo con los requisitos locales.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico

SDS La ficha de datos de seguridad está disponible en beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Este reactivo debe conservarse entre 2 y 8 °C en un lugar protegido de la luz, antes y después de abrir el vial.

Vida útil del vial cerrado según estudio de estabilidad: 1095 días.

Estabilidad del vial abierto: el reactivo es estable durante 180 días.

SIGNOS DE DETERIORO

Cualquier cambio en el aspecto físico de los reactivos puede indicar un deterioro, por lo que no debe utilizarse el reactivo.

Para obtener información adicional o si el producto está dañado, llame al servicio de atención al cliente de Beckman Coulter en el 800-742-2345 (EE. UU. o Canadá) o póngase en contacto con su representante local de Beckman Coulter.

CONTENIDO

El conservante de azida sódica puede formar compuestos explosivos en las tuberías metálicas del desagüe. Véase el NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Boletín de NIOSH: Peligro de explosión con la azida) (16/8/76).
Para evitar la posible acumulación de compuestos de azida, limpie con agua los tubos de desagüe tras la eliminación del reactivo sin diluir. Para desechar la azida sódica deben seguirse las normativas locales adecuadas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS CON EL KIT:

- Tubos y material de muestras necesarios para el muestreo.
- Pipetas automáticas para puntas desechables de 20, 100 y 500 µL.
- Tubos de hemólisis de plástico.
- Reactivo de lisis de glóbulos rojos con estado de lavado después de la lisis. Por ejemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reactivo de fijación de leucocitos. Por ejemplo: Solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800).
- Control de isotipo PE: Reactivo IOTest (Ref. A07796).
- Tampón (PBS: 0,01 M de fosfato de sodio; 0,145 M de cloruro sódico; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de flujo.

PROCEDIMIENTO CON EL REACTIVO VERSALYSE

Para cada muestra analizada, además del tubo de ensayo, se puede añadir un tubo de control en el que se mezclan las células en presencia de los controles de isotipo (Ref. A07796).

1. Añadir 20 µL de anticuerpos conjugados específicos IOTest a cada tubo de muestra problema y, si es necesario, 20 µL del control de isotipo a cada tubo de control.
2. Añadir 100 µL de la muestra problema a cada tubo. Mezclar suavemente los tubos en el Vórtex.
3. Incube entre 15 y 20 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C) y protegido de la luz.
4. A continuación, lleve a cabo la lisis de los eritrocitos. Consulte la ficha técnica VersaLyse (Ref. A09777) y siga preferiblemente el procedimiento denominado «with conconmitant fixation» (con fijación concomitante), que consiste en añadir 1 mL de la mezcla «Fijar y lisar» preparada extemporáneamente. Agite inmediatamente con vórtex durante un segundo e incube durante 10 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Elimine el sobrenadante mediante aspiración.
7. Vuelva a suspender el sedimento celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita el paso 5.
9. Retire el sobrenadante mediante aspiración y vuelva a suspender el sedimento celular con:

- 0,5 mL o 1 mL de PBS más el 0,1 % de formaldehído si las preparaciones deben conservarse menos de 24 horas. (Se puede obtener un 0,1 % de PBS de formaldehído mediante la dilución de 12,5 µL de la solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800) a su concentración de 10x en 1 mL de PBS).
- 0,5 mL o 1 mL de PBS sin formaldehído si las preparaciones deben analizarse en un plazo de 2 horas.

Nota: En todos los casos, mantenga las preparaciones protegidas de la luz entre 2 y 8 °C.

VALORES ESPERADOS

Se trataron en nuestros laboratorios las muestras de sangre total de 25 donantes aparentemente sanos utilizando el reactivo descrito. Los resultados obtenidos del recuento de eventos de interés positivos con este reactivo se proporcionan en la siguiente tabla:

Objetivo positivo	Cantidad	Media (%)	DE	CV (%)
Linfocitos	25	18,74	6,02	32,10

Estos valores tienen carácter meramente ilustrativo. Cada laboratorio deberá establecer sus valores esperados según la población local de donantes normales.

RENDIMIENTO

Los datos de rendimiento se obtuvieron utilizando el procedimiento descrito anteriormente en muestras de sangre con menos de 24 horas desde su extracción en tubos estériles con sal de EDTA como anticoagulante. El análisis se realizó en el plazo de 2 horas desde su inmunotinción.

ESPECIFICIDAD

El peso molecular de la proteína altamente glucosilada CD56 (molécula NKH1) está entre 200 kDa–220 kDa (10,11). Se expresa en una subpoblación de linfocitos de la sangre periférica que ponen de manifiesto citotoxicidad limitada a un complejo no mayor de histocompatibilidad (10,12). El anticuerpo monoclonal N901 (NKH-1) reacciona con más de la mitad de las células NK (10,11). También reacciona con una subpoblación menor de células T CD3 positivas que media la reducción de la actividad citotóxica (12). Este anticuerpo no reacciona con monocitos, granulocitos, eritrocitos ni linfocitos B. Se asignó el N901 (NKH-1) al grupo de diferenciación CD56 durante el 4.º Taller internacional sobre los antígenos de diferenciación de los leucocitos humanos, celebrado en Viena, Austria, en 1989 (13).

PRECISIÓN

Los valores porcentuales positivos se determinaron utilizando sangre total. Cada muestra se procesó 4 veces, dos veces al día durante 1 día en 2 instrumentos utilizando 2 lotes de reactivos de anticuerpo monoclonal CD56-PE. Las mediciones (% de positivos) se realizaron en un citómetro de flujo Navios. El análisis se realizó según el método EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluación del rendimiento de la precisión de los métodos de medición cuantitativos).

Nuestro criterio de aceptación depende del número de eventos positivos determinado en cada población:

- Si el número de eventos positivos es < 1500, CV < 15 %
- Si el número de eventos positivos es > 1500, CV < 10 %

Linfocitos							
Número de eventos positivos (media) = 1083							
	Entre operadores	Entre citómetros	Intralote	Entre lotes	Entre análisis	Intraanálisis	Total
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUD

La exactitud de CD56-PE se evaluó comparando los resultados con un reactivo de referencia como valor previsto en un conjunto de muestras de sangre total procesadas en un citómetro de flujo Navios. El sesgo entre la muestra problema y el reactivo de referencia se determinó en función de la diferencia entre los resultados de la prueba. Si el sesgo está dentro del rango de error permitido o el valor p indica una diferencia no significativa (> 0,05), entonces los resultados de la prueba de los dos reactivos se consideran equivalentes.

Los resultados obtenidos se resumen en la tabla que se muestra a continuación:

Número de donantes = 25				
Objetivo positivo	Δ medio	Criterios de Δ % de células	Valor p	RESULTADOS
Linfocitos	-0,25	<5	0,262	PASS

LÍMITE DE BLANCO Y LÍMITE DE DETECCIÓN

Se realizó un estudio conforme a la norma EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluación de la capacidad de detección para procedimientos de medición en laboratorios clínicos). El límite de detección (LD) es la concentración de analito más baja que se puede detectar sistemáticamente. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla siguiente:

Positive Target	Límite de Blanco (células/µL)	Límite de Detección (células/µL)
Linfocitos	4	6

LIMITACIONES

1. La citometría de flujo puede producir resultados falsos si el citómetro no se ha alineado a la perfección, si las fugas de fluorescencia no se han compensado correctamente y si las regiones no se han colocado con atención.
2. Es preferible utilizar una técnica de lisis de ERIT con un paso de lavado, ya que este reactivo no se ha optimizado para técnicas de lisis «sin lavado».
3. Se obtendrán resultados exactos y reproducibles siempre que los procedimientos utilizados sean conformes al folleto técnico y compatibles con las prácticas correctas de laboratorio.
4. El anticuerpo conjugado de este reactivo se calibra para ofrecer la mejor relación de señal específica/señal no específica. Por lo tanto, es importante cumplir la relación de volumen del reactivo/volumen de la muestra en cada prueba.

5. En caso de hiperleucocitosis, diluya la sangre en PBS para obtener un valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucocitos/L (14).
6. En algunos estados de la enfermedad, como el fallo renal grave o las hemoglobinopatías, la lisis de los eritrocitos puede ser lenta, incompleta o incluso imposible. En este caso, se recomienda aislar las células mononucleares por gradiente de densidad (por ejemplo, Ficoll) antes de la tinción (15).
7. En pacientes tratados con terapias con anticuerpos monoclonales anti-humanos, la detección de los antígenos diana específicos puede estar disminuida o ausente debido al bloqueo parcial o completo por el anticuerpo terapéutico.
8. Los resultados de CD56-PE deben interpretarse a la luz del cuadro clínico total del paciente, incluidos: síntomas, historial clínico, datos de pruebas adicionales y demás información pertinente.

Consulte el anexo para ver ejemplos y referencias.

MARCAS COMERCIALES

Beckman Coulter, el logotipo estilizado y las marcas de productos y servicios de Beckman Coulter aquí mencionadas son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de Beckman Coulter, Inc. en Estados Unidos y otros países.

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para pacientes/usuarios/terceros de la Unión Europea y países con el mismo régimen normativo (Reglamento 2017/746/UE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro); si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produjese un incidente grave, informe al fabricante y/o a su representante autorizado y a la autoridad nacional.

El Summary of Safety and Performance (Resumen de seguridad y rendimiento) está disponible en la base de datos EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIAL DE REVISIONES

REVISIÓN AD:	Fecha de publicación: Septiembre de 2019

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AW	Febrero de 2022
Actualizaciones para cumplir con la política de etiquetado global de Beckman Coulter y conforme a los requisitos del Reglamento (UE)2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro:	
Se han añadido secciones	Número BSI 2797, Usuario previsto, Rendimiento clínico, Concentración, Precisión, Exactitud, Límite de blanco y límite de detección, Información adicional, Historial de revisiones.
Información añadida	Véase la sección Limitaciones
Actualizaciones de redacción y tipográficas	Véanse las secciones Procedimiento, Rendimiento, Limitaciones, Advertencias y precauciones, Conservación y Estabilidad.
Se han eliminado secciones	Ejemplo de aplicaciones clínicas, Reactivos, Reproducibilidad intralaboratorio, Linealidad
Se han actualizado las secciones	Uso previsto, Clasificación de material peligroso según el SGA, Signos de deterioro, Procedimiento, Anexo.

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AX	Abril 2023
Se han actualizado las secciones	Añadir kazajo
Se han actualizado las secciones	Conservación y Estabilidad

Versión revisada	AY
Fecha de revisión	Mayo 2024
Traducciones actualizadas	**Relevancia clínica:**
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Versión revisada	AZ
Fecha de revisión	Julio 2024
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Lista de símbolos

El glosario de símbolos está disponible en beckman.com/techdocs (número de documento B60062)

	Especificações
Especificidade	CD56
Clone	N901 (NKH-1)
Hibridoma	NS1 x balb/c
Imunogénio	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Rato
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	R Phycoerythrin (PE)
Razão molar	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	575 nm
Tampão	PBS com pH 7,2 mais 2 mg/mL de ASB e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20 µL/teste

Para fins de diagnóstico *in vitro*

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Este anticorpo conjugado com fluorocromos permite a identificação qualitativa e não automatizada de populações de células que expressam o antigénio CD56 presente em amostras biológicas humanas utilizando citometria de fluxo (consulte a secção «Amostras» abaixo).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade de os anticorpos monoclonais específicos se ligarem aos determinantes antigénicos expressados por leucócitos.

A coloração específica dos leucócitos é realizada incubando a amostra com o reagente IOTest. Em seguida, os glóbulos vermelhos são removidos por lise e os leucócitos, que não são afetados por este processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citómetro de fluxo mede a difusão de luz e a fluorescência das células. Permite delimitar a população de interesse dentro da janela eletrónica definida num histograma que correlaciona a difusão ortogonal de luz (dispersão lateral ou DL) e a difusão de luz em ângulos estreitos (dispersão frontal ou DF). É possível utilizar outros histogramas que combinam dois dos vários parâmetros disponíveis no citómetro como suporte na fase de delimitação, consoante a aplicação escolhida pelo utilizador.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são apresentados como uma percentagem de eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos por meio da delimitação.

UTILIZADOR PREVISTO

Este produto destina-se a ser utilizado por profissionais de laboratório.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD56-PE é um anticorpo de CD56 utilizado para identificar e caracterizar células que expressam o antigénio CD56 por citometria de fluxo. Este produto, por si só, não pode e não se destina a gerar qualquer conclusão de diagnóstico.

Quando utilizado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser utilizado numa ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com alterações hematológicas, suspeitos de padecerem de neoplasia hematopoiética, e para monitorizar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.
- Para auxiliar no diagnóstico de pacientes com suspeita de imunodeficiência e monitorizar pacientes com imunodeficiência conhecida.
- Para auxiliar no prognóstico de pacientes com neoplasia hematopoiética.
- Para monitorizar os resultados ou o processo de transplante.

Consulte as seguintes referências:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

AMOSTRAS

O sangue venoso deve ser recolhido utilizando tubos estéreis que contenham um sal de AEDT como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas à temperatura ambiente (18–25 °C) e não devem ser agitadas. As amostras devem ser homogeneizadas, agitando-as levemente, antes de a amostra de teste ser retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a punção venosa.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o Certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não utilize o reagente depois da data de validade.
2. Não congele.
3. Aguarde que fique à temperatura ambiente (18–25 °C) antes da utilização.
4. Evite a exposição à luz.

5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, caso contrário, poderão ocorrer falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos que contêm azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não ingira e evite qualquer contacto com a pele, as mucosas e os olhos.

   Adicionalmente, num meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazóico potencialmente perigoso. Se a sua eliminação for necessária, é recomendável que o reagente seja diluído num grande volume de água antes de ser vertido no sistema de drenagem, para evitar a acumulação de azida sódica em tubos metálicos e prevenir o risco de explosão.
7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas potencialmente infeciosas e manuseadas com cuidado (em especial, devem ser usados óculos, batas e luvas de proteção).
8. Nunca pipete com a boca e evite qualquer contacto das amostras com a pele, as mucosas e os olhos.
9. Os tubos de sangue e os materiais descartáveis utilizados para manuseamento devem ser eliminados em recipientes específicos destinados a incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Ficha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido a uma temperatura entre 2 e 8 °C e protegido da luz, antes e após a abertura do frasco.

Vida útil em frasco fechado para estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente permanece estável durante 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DEGRADAÇÃO

Uma alteração no aspeto físico dos reagentes poderá indicar deterioração, pelo que o reagente não deve ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, contacte a assistência ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou contacte o seu representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em sistemas de canalizações metálicas. Consulte o boletim do NIOSH: Explosive Azide Hazards (Perigos de explosão da azida) (16-8-76).
Para evitar a possível acumulação de compostos de azida, enxague as condutas de resíduos com água após a eliminação do reagente não diluído. A eliminação de azida sódica deve ser efetuada de acordo com os regulamentos locais adequados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostras e materiais necessários para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 20, 100 e 500 µL.
- Tubos de plástico para hemólise.
- Reagente de lise de glóbulos vermelhos com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controlo de isotipo PE de : reagente IOTest (Ref. A07796).
- Tampão (PBS: 0,01 M de fosfato de sódio; 0,145 M de cloreto de sódio; pH 7,2).
- Centrifugue.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM REAGENTE VERSALYSE

Além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controlo a cada amostra analisada, no qual as células são misturadas na presença do controlo de isotipo (Ref. A07796).

1. Adicione 20 µL de anticorpo conjugado com IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 20 µL dos controlos de isotipo a cada tubo de controlo.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos à temperatura ambiente (18–25 °C), protegido da luz.
4. Em seguida, realize a lise dos glóbulos vermelhos. Consulte o folheto VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento denominado «with concomitant fixation» (com fixação concomitante) que consiste em adicionar 1 mL da mistura de «Fixação e lise» preparada extemporaneamente. Agite imediatamente em vórtex durante um segundo e incube durante 10 minutos à temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g à temperatura ambiente.
6. Remova o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular com 3 mL de PBS.
8. Repita o passo 5.
9. Remova o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular com o seguinte:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído se as preparações se destinarem a ser mantidas por menos de 24 horas. (É possível obter PBS com 0,1% de formaldeído diluindo 12,5 µL de solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na respetiva concentração de 10X em 1 mL de SSTF).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído se as preparações se destinarem a ser analisadas no prazo de 2 horas.

Nota: Mantenha sempre as preparações entre 2 e 8 °C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Nos nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 dadores aparentemente saudáveis foram tratadas utilizando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos de interesse positivos com este reagente são fornecidos na tabela abaixo:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP	CV (%)
Linfócitos	25	18,74	6,02	32,10

Estes valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores esperados a partir da população local de dadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos utilizando o procedimento descrito acima em amostras de sangue colhidas há menos de 24 horas em tubos de amostra estéreis com sal de AEDT como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

O peso molecular da proteína CD56 significativamente glicosilada (molécula NKH1) é de 200–220 kDa (10,11). Está expressa numa subpopulação de linfócitos de sangue periférico que demonstram citotoxicidade não restrita por complexo principal de histocompatibilidade (10,12). O anticorpo monoclonal N901 (NKH-1) reage com a maioria das células NK (10,11). Reage também com uma pequena população de células T CD3 positivas que media a reduzida atividade citotóxica (12). Este anticorpo não reage com monócitos, granulócitos, eritrócitos ou linfócitos B. O anticorpo N901 (NKH-1) foi atribuído ao aglomerado de diferenciação de CD56 em 1989, durante o 4.º Workshop Internacional sobre Antigénios de Diferenciação de Leucócitos Humanos em Viena, Áustria (13).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados utilizando sangue total. Cada amostra foi executada 4 vezes, duas vezes por dia para 1 dia em 2 instrumentos, utilizando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD56-PE. As medições (% de positivos) foram realizadas no citómetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação do desempenho de precisão dos métodos de medição quantitativos).

Os nossos critérios de aceitação estão dependentes do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Em caso de eventos positivos <1500, CV <15%
- Em caso de eventos positivos >1500, CV <10%

Linfócitos							
Número de eventos positivos (média) = 1083							
	Interoperador	Intercitómetro	Intralote	Interlote	Interprocessamento	Intraprocessamento	Total
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD56-PE foi avaliada através da comparação dos resultados com um reagente de referência como equivalente, num conjunto de amostras de sangue total executadas num citómetro de fluxo Navios. A tendência entre o teste e o reagente de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados do teste. Se a tendência se encontrar dentro do intervalo de erro permitido ou o valor p não indicar uma diferença significativa (>0,05), os resultados do teste de ambos os reagentes são considerados equivalentes.

Os resultados obtidos encontram-se resumidos na tabela abaixo:

Número de dadores = 25				
Alvo positivo	Δ médio	Critérios celulares de % Δ	Valor p	RESULTADOS
Linfócitos	-0,25	<5	0,262	PASS

LIMITE DO BRANCO E LIMITE DE DETEÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com o CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de deteção para procedimentos de medição em laboratórios clínicos). O Limite de deteção (LD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detetada consistentemente. Os resultados obtidos são resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite do branco (célula/µL)	Limite de deteção (célula/µL)
Linfócitos	4	6

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo poderá produzir falsos resultados se o citómetro não tiver sido perfeitamente alinhado, se as fugas de fluorescência não tiverem sido compensadas corretamente e se as regiões não tiverem sido cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível utilizar uma técnica de lise de RBC com um passo de lavagem, uma vez que este reagente não foi otimizado para técnicas de lise «sem lavagem».
3. Serão obtidos resultados exatos e reprodutíveis desde que os procedimentos utilizados estejam de acordo com o folheto técnico e cumpram as boas práticas laboratoriais.
4. O anticorpo conjugado deste reagente é calibrado para proporcionar a melhor relação entre sinal específico/sinal não específico. Por conseguinte, é importante respeitar a relação entre volume do reagente/volume da amostra em todos os testes.

5. No caso de uma hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (14).
6. Em determinados estados de doença, como insuficiência renal grave ou hemoglobinopatias, a lise de glóbulos vermelhos poderá ser lenta, incompleta ou até impossível. Neste caso, recomenda-se isolar células mononucleadas utilizando um gradiente de densidade (por exemplo, Ficoll) antes da coloração (15).
7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a deteção dos antigénios específicos visados pode ser reduzida ou inexistente devido ao bloqueio parcial ou total causado pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de CD56-PE devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, historial clínico, dados de testes adicionais e outras informações relevantes.

Consulte o Anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logótipo estilizado e as marcas de produtos e serviços da Beckman Coulter mencionadas neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e noutros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/utilizador/terceiro na União Europeia e em países com um regime regulamentar idêntico (Regulamento 2017/746/UE relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico in vitro): se, durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, ocorrer um incidente grave, comunique-o ao fabricante e/ou ao respetivo representante autorizado e à autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível a partir da base de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÕES

REVISÃO AD:	Data de lançamento: Setembro de 2019

REVISÃO	**Data de lançamento**
AW	Fevereiro de 2022
Atualizações no sentido de cumprir a política de rotulagem da Beckman Coulter Global e os requisitos do regulamento IVD-R (UE)2017/746:	
Secções adicionadas	Número BSI 2797, Utilizador previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite do branco e limite de deteção, Informações adicionais, Histórico de revisões.
Informações adicionadas	Consulte as secções Limitações
Atualizações à fraseologia ou tipografia	Consulte as secções Procedimento, Realização, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Secções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Secções atualizadas	Utilização prevista, Classificação de perigo GHS, Indícios de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de lançamento**
AX	Abril 2023
Secções atualizadas	Adicionar cazaque
Secções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revista	AY
Data de revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Versão revista	AZ
Data de revisão	Julho 2024
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (número do documento B60062)

	Specifikationer
Specificitet	CD56
Klon	N901 (NKH-1)
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Immunoglobulin	IgG1
Arter	Mus
Oprensning	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molarforhold	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-magnetisering	488 nm
Emissionsspids	575 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA og 0,1% NaN_3

IOTest

Konjugeret antistof CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Til *in vitro*-diagnostisk brug

TILSIGTET BRUG

Dette fluorokromkonjugerede antistof muliggør, ved hjælp af flowcytometri, kvalitativ og ikke-automatiseret identifikation af cellepopulationer, der udtrykker CD56-antigenet, som findes i humane biologiske prøver (se afsnittet ”Prøver” forneden).

PRINCIP

Denne test er baseret på specifikke monoklonale antistoffers evne til at binde sig til de antigene determinanter, der udtrykkes af leukocytter.

Den specifikke farvning af leukocytterne udføres ved inkubation af prøven med IOTest-reagenset. Erytrocytterne fjernes derefter med lysering, og leukocytterne, som ikke påvirkes af denne proces, analyseres ved flowcytometri.

Flowcytometeret måler lysets diffusion og cellernes fluorescens. Dette gør det muligt at afgrænse interessepopulationen inden for det elektroniske vindue, der defineres på et histogram, som korrelerer den ortogonale diffusion af lys (Side Scatter (sidespredning) eller SS) og diffusionen af lys med en snæver vinkel (Forward Scatter (forlæns spredning) eller FS). Andre histogrammer, der kombinerer to af de forskellige parametre, der er til rådighed på cytometret, kan benyttes som støtte under gating-trinnet, afhængig af den af brugeren valgte applikation.

De afgrænsede cellers fluorescens analyseres med henblik på at kunne skelne de positive farvningshændelser fra de ufarvede. Resultaterne udtrykkes som en procentdel af positive hændelser i relation til alle de hændelser, som erhverves ved gatingen.

TILSIGTET BRUGER

Dette produkt er beregnet til professionel brug i laboratoriet.

KLINISK RELEVANS

CD56-PE er et CD56-antistof, der anvendes til at identificere og karakterisere celler, der udtrykker CD56-antigenet ved flowcytometri. Dette produkt, anvendt alene, kan ikke og er ikke beregnet til at generere nogen diagnostisk konklusion.

Anvendt i kombination med andre markører kan dette produkt benyttes i en eller flere af følgende funktioner:

- Til hjælp ved differentialdiagnosticering af hæmatologisk unormale patienter ved formodning om hæmatopoietisk neoplasme, samt til overvågning af patienter med kendt hæmatopoietisk neoplasme.
- Til hjælp ved diagnosticering af patienter med formodede immundefekter samt til overvågning af patienter med kendte immundefekter.
- Til hjælp ved prognosticering af patienter med hæmatologisk neoplasi.
- Til overvågning af transplantationsprocessen eller -resultater.

Se følgende referencer:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

PRØVER

Prøver af venøst blod skal udtages i sterile prøverør, der indeholder et EDTA-salt som antikoagulant.

Prøverne skal opbevares ved stuetemperatur (18-25 °C) og må ikke rystes. Prøverne skal homogeniseres ved forsigtig omrysten før udtagning af analyseprøven.

Prøverne skal behandles inden for 24 timer efter venepunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analysecertifikat på www.beckman.com.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Brug ikke reagenset efter udløbsdatoen.
2. Må ikke nedfryses.
3. Bring det til stuetemperatur (18-25 °C) før brug.
4. Minimér eksponering for lys.

5. Undgå mikrobiel kontaminering reagenserne, idet det kan føre til fejlagtige resultater.
6. Antistofopløsninger, der indeholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsigtighed. Må ikke indtages, og undgå enhver kontakt med hud, slimhinder og øjne.

   I syremedier kan natriumazid desuden danne den potentielt farlige hydrogenazid. Hvis det skal bortskaffes, anbefales det, at reagenset fortyndes i en stor mængde vand, inden det hældes i kloakken, for at undgå ophobning af natriumazid i metalrør og dermed forebygge risikoen for eksplosioner.
7. Alle blodprøver skal anses som potentielt smittefarlige og skal behandles forsigtigt (husk især at bruge beskyttelseshandsker, forklæde og beskyttelsesbriller).
8. Sug aldrig med munden, og undgå at prøverne kommer i kontakt med hud, slimhinde og øjne.
9. Blodprøvetagningsrør og engangsmateriale, der bruges i forbindelse med håndteringen, skal bortskaffes i ad hoc-beholdere, der er beregnet til bortskaffelse.
10. Reagenser og affald skal bortskaffes i henhold til gældende lokale krav.

GHS FAREKLASSIFIKATION

Ikke klassificeret som farlig

SDS Sikkerhedsdatablad er tilgængelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Dette reagens skal opbevares ved mellem 2 og 8 °C og beskyttes mod lys før og efter, at hætteglasset er åbnet.

Stabilitet i lukket hætteglas: 1095 dage.

Stabilitet i åbent hætteglas: Reagenset er stabilt i 180 dage.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Ændringer i den måde, reagenset ser ud på, kan være tegn på forringelse, og reagenset må ikke anvendes.

Ring til Beckman Coulters kundeservice på 800-742-2345 (USA eller Canada), eller kontakt den lokale Beckman Coulter-repræsentant for at få flere oplysninger, eller hvis du modtager et beskadiget produkt.

INDHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive forbindelser i drænledninger af metal. Se NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (Fare for eksplosiv azid). For at undgå en eventuel akkumulering af azidforbindelser, skylles afløbsrør med vand efter bortskaffelse af ufortyndet reagens. Natriumazid skal bortskaffes i overensstemmelse med relevante lokale forskrifter.

PÅKRÆVEDE MATERIALER, SOM IKKE LEVERES MED SÆT:

- Prøvetagningsrør og materiale, der er påkrævet til prøvetagning.
- Automatiske pipetter med engangsspidser til 20, 100 og 500 µL.
- Plasthæmolyserør.
- Reagens til lysering af erytrocytter med vaskefase efter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens til leukocytfiksering. For eksempel: IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800).
- IsotypekontrolPE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumphosphat; 0,145 M natriumchlorid; pH 7,2).
- Centrifuge
- Automatisk omrører (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MED VERSALYSE-REAGENS

Der kan tilføjes et kontrolrør for hvert prøverør, der analyseres, hvormed cellerne blandes under isotype-kontrollerne (ref. A07796).

1. Tilføj 20 µL specifikt IOTest-konjugeret antistof til hvert prøverør og, om nødvendigt, 20 µL negativ kontrol til hvert kontrolprøverør.
2. Tilføj 100 µL af prøven til hvert prøverør. Vortex rørene forsigtigt.
3. Inkubér i 15 til 20 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C), beskyttet mod lys.
4. Udfør derefter analyse af de røde celler. Se brochure fra VersaLyse (ref. A09777) og følg den foretrukne procedure kaldet “med sideløbende fiksering”, som består i at tilsætte 1 mL af blandingen “Fix-and-Lyse”, der fremstilles samtidig. Vortex øjeblikkeligt i et sekund, og inkubér i 10 minutter ved stuetemperatur, beskyttet imod lys.
5. Centrifugér i 5 minutter ved 150 x g ved stuetemperatur.
6. Fjern supernatanten via aspiration.
7. Resuspender cellepelleten med 3 mL PBS.
8. Gentag trin 5.
9. Fjern supernatanten vha. aspiration, og resuspender cellepelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyd, hvis præparaterne skal opbevares mindre end 24 timer. (En formaldehyd-PBS på 0,1% kan opnås ved fortynding af 12,5 µL af IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800) ved dets 10X koncentration i 1 mL af PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uden formaldehyd, hvis præparaterne skal analyseres inden for 2 timer.

Bemærk: Præparaterne skal under alle omstændigheder beskyttes mod lys og opbevares ved 2-8 °C.

FORVENTEDE VÆRDIER

I vores laboratorier blev fuldblodsprøver, fra 25 umiddelbart raske donorer, behandlet med det ovenfor beskrevne reagens. De opnåede resultater for optælling af relevante positive hændelser med dette reagens er angivet i nedenstående tabel:

Positivt mål	Antal	Middelværdi (%)	SD	CV (%)
Lymfocytter	25	18,74	6,02	32,10

Disse værdier er beregnet til kun at være repræsentative. Hvert laboratorium bør fastlægge deres egne forventede værdier fra den lokale population af raske donorer.

YDEEVNE

Præstationsdata opnås, når proceduren beskrevet foroven, anvendes på mindre end 24 timer gamle blodprøver, tidligere indsamlet i sterile prøverør med EDTA-salt som antikoagulant. Analyse skal foretages senest 2 timer efter immunfarvning.

SPECIFICITET

Molekylvægten på det kraftigt glykosylerede CD56-protein (NKH1-molekyle) er 200 – 220 kDa (10,11). Det udtrykkes på en subpopulation af perifere blodlymfocytter, der udviser ikke-primær histokompatibilitetskompleksbegrænset cytotoksicitet (10,12). Det monoklonale N901 (NKH-1)-antistof reagerer med de fleste NK-celler (10,11). Det reagerer også med en mindre subpopulation af CD3-positive T-celler, som medierer reduceret cytotoksisk aktivitet (12). Dette antistof reagerer ikke med monocytter, granulocytter, erytrocytter eller B-lymfocytter. N901 (NKH-1)-antistoffet er blevet tildelt til CD56-differentieringsklyngen ved den 4. internationale workshop om humane leukocytdifferentieringsantigener i Wien, Østrig i 1989 (13).

PRÆCISION

De procentvise positive værdier blev bestemt ved anvendelse af fuldblod. Hver prøve blev kørt 4 gange, to gange dagligt i 1 dag, på 2 instrumenter med CD56-PE monoklonale antistofreagenser fra 2 lots. Målingerne (% positiv) blev foretaget på Navios-flowcytometer. Analysen blev udført i henhold til CLSI-protokollen EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering af kvantitative målemetoders præcisionsevne).

Vores acceptkriterier afhænger af antallet af positive hændelser målt for hver population:

- Hvis positiv hændelse < 1500, CV < 15%
- Hvis positiv hændelse > 1500, CV < 10%

Lymfocytter							
Antal positive hændelser (middelværdi) = 1083							
	Inter-operatør	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-kørsel	Intra-kørsel	I alt
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØJAGTIGHED

Nøjagtigheden af CD56-PE blev vurderet ved sammenligning af resultaterne med et referencereagens som prædikat på et sæt fuldblodsprøver, kørt på et Navios-flowcytometer. Bias mellem test- og referencereagens blev bestemt på basis af forskellen mellem testresultaterne. Hvis bias er inden for det tilladte fejlområde, eller hvis p-værdien ikke indikerer nogen signifikant forskel (> 0,05), anses testresultaterne for de to reagenser for at være ækvivalente.

De opnåede resultater opsummeres i nedenstående tabel:

Antal donorer = 25				
Positivt mål	Middelværdi Δ	Δ % cellekriterie	p-værdi	RESULTATER
Lymfocytter	-0,25	<5	0,262	PASS

GRÆNSE FOR BLANK OG DETEKTIONSGRÆNSE

En undersøgelse blev gennemført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering af detektionsevne for kliniske laboratoriemåleprocedurer). Detektionsgrænsen (LOD) er den laveste koncentration af analyt, der kan detekteres konsekvent. De opnåede resultater er opsummeret i nedenstående tabel:

Positive Target	Grænse for blank (celle/µL)	Detektionsgrænse (celle/µL)
Lymfocytter	4	6

BEGRÆNSNINGER

1. Flowcytometri kan give forkerte resultater, hvis cytometeret ikke er perfekt justeret, hvis der ikke er blevet kompenseret korrekt for fluorescenslækager, eller hvis områderne ikke er blevet placeret omhyggeligt.
2. Det anbefales at anvende en RBC-lyseringsteknik med et vasketrin, da dette reagens ikke er blevet optimeret til ”no wash”-lyseringsteknikker.
3. Der genereres nøjagtige og reproducerbare resultater, så længe de anvendte procedurer er i overensstemmelse med de tekniske anvisninger på indlæsgssedlen og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerede antistof for dette reagens kalibreres for at kunne tilbyde det bedste specifikke forhold mellem signal/ikke-specifikt signal. Det er derfor vigtigt at overholde forholdet mellem reagensvolumen og prøvevolumen i hver enkelt test.
5. I tilfælde af en hyperleukocytose skal blodet fortyndes i PBS for at opnå en værdi på ca. 5×10^9 leukocytter/L (14).
6. I visse sygdomstilstande, f.eks. alvorligt nyresvigt eller hæmoglobinopatier, kan lysering af røde celler være langsom, ufuldstændig eller endog umulig. I dette tilfælde anbefales det at isolere enkernede celler ved hjælp af en densitetsgradient (f.eks. Ficoll) forud for farvningen (15).
7. Hos patienter behandlet med anti-humane monoklonale antistofterapier, kan påvisning af de respektive specifikke antigener være formindsket eller fraværende, på grund af delvis eller fuldstændig blokering af det terapeutiske antistof.
8. CD56-PE-resultaterne bør fortolkes i lyset af patientens samlede kliniske præsentation, herunder symptomer, sygehistorie, data fra andre tests samt anden relevant information.

Se Tillæg for eksempler og referencer.

VAREMÆRKER

Beckman Coulter, det stiliserede logo og de Beckman Coulter produkt- og servicemærker, der er omtalt heri, er varemærker eller registrerede varemærker tilhørende Beckman Coulter, Inc. i USA og andre lande.

YDERLIGERE OPLYSNINGER

For en patient/bruger/tredjepart i Den Europæiske Union og i lande med identisk lovgivningsmæssig reguleringsordning (forordning 2017/746/EU om medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik); hvis der er sket en alvorlig hændelse under brugen af dette apparat eller som et resultat af dens anvendelse, skal du rapportere den til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og til din nationale myndighed.

Summary of Safety and Performance (Sammenfatning af Sikkerhed og Ydeevne) er tilgængeligt fra EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVISION AD:	Frigivelsesdato: september 2019

REVISION	**Udgivelsesdato**
AW	Februar 2022
Opdateringer for at sikre overholdelse af Beckman Coulters globale mærkningspolitik og overensstemmelse med IVD-R (EU)2017/746:	
Tilføjede afsnit	BSI 2797-nummer, Tilsigtet bruger, Klinisk relevans, Koncentration, Præcision, Nøjagtighed, Grænse for blank og detektionsgrænse, Yderligere oplysninger, Revisionshistorik.
Tilføjet information	Se afsnittet Begrænsninger
Opdatering af formulering eller typografi	Se afsnittene Procedure, Præstation, Begrænsninger, Advarsel og forholdsregler, Opbevaring og Holdbarhed.
Fjernede afsnit	Eksempel på klinisk anvendelse, Reagenser, Intra-laboratorie reproducerbarhed, Linearitet
Opdaterede afsnit	Tilsigtet brug, GHS-fareklassifikation, Tegn på forringelse, Procedure, Tillæg.

REVISION	**Udgivelsesdato**
AX	April 2023
Opdaterede afsnit	Kasakhisk er blevet tilføjet
Opdaterede afsnit	Opbevaring og holdbarhed

Revideret version	AY
Revisionsdato	Maj 2024
Opdaterede oversættelser	**Klinisk relevans:**
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Revideret version	AZ
Revisionsdato	Juli 2024
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Symbolnøgle

En ordliste over symboler findes på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Specifikationer
Specificitet	CD56
Klon	N901 (NKH-1)
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Immunglobulin	IgG1
Arter	Mus
Rening	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molförhållande	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ excitering	488 nm
Emissionstopp	575 nm
Buffert	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA och 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugerad antikropp CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

För *in vitro*-diagnostik

AVSEDD ANVÄNDNING

Denna fluorokromkonjugerade antikropp möjliggör kvalitativ och ej automatiserad identifiering av cellpopulationer som uttrycker CD56-antigenet som förekommer i humana biologiska prover med användning av flödescytometri (se avsnittet ”Prov” nedan).

PRINCIP

Detta test är baserat på förmågan hos specifika monoklonala antikroppar att bindas till de antigena determinanter som uttrycks av leukocyter.

Specifik färgning av leukocyterna utförs genom att inkubera provet med IOTest-reagenset. De röda cellerna avlägsnas sedan via lysering och leukocyterna, som inte påverkas av denna process, analyseras med flödescytometri.

Flödescytometern mäter ljusdiffusion och fluorescens av celler. Det möjliggör avgränsningen av populationen av intresse i det elektroniska fönstret definierat i ett histogram, som korrelerar den rätvinkliga ljusspridningen (sidospridning eller SS) och spridningen av snävt ljus (framåtspridning eller FS). Andra histogram som kombinerar två av de tillgängliga parametrarna på cytometern, kan användas som stöd i gating-skedet beroende på tillämpningen som användaren har valt.

Fluorescensen av de begränsade cellerna analyseras för att skilja ut positivt färgade händelser från ofärgade händelser. Resultaten uttrycks som en procentandel av positiva händelser i relation till alla händelser som samlats in med hjälp av gating.

AVSEDD ANVÄNDARE

Denna produkt är avsedd för yrkesmässig laboratorieanvändning.

KLINISK RELEVANS

CD56-PE är en CD56-antikropp som används för att identifiera och egenskapsbestämma celler som uttrycker CD56-antigenen med hjälp av flödescytometri. Denna produkt kan inte och är inte avsedd för att ta fram en diagnostisk slutsats.

Vid användning i kombination med andra markörer kan denna produkt användas i en eller flera av följande funktioner:

- Som hjälp vid differentialdiagnostisering av hematologiskt onormala patienter som misstänks ha en hematopoetisk tumör eller för övervakning av patienter med känd hematopoetisk tumör.
- Som hjälp vid diagnos av patienter med misstänkt immunbrist och övervakning av patienter med känd immunbrist.
- Som hjälp vid prognostisering av patienter med blodsjukdomar.
- För att övervaka transplantationsprocess eller -resultat.

Se följande referenser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

PROV

Venblod måste tas i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant.

Proverna bör förvaras i rumstemperatur (18–25 °C) och inte skakas. Prover bör vara homogeniserade genom försiktig omrörning innan provet tas.

Proverna måste analyseras inom 24 timmar efter venpunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analyscertifikat på www.beckman.com.

VARNING OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Använd inte reagenset efter utgångsdatumet.
2. Får ej frysas.
3. Låt den komma till rumstemperatur (18–25 °C) före användning.
4. Minimera exponering för ljus.
5. Undvik mikrobiell kontaminering av reagens. Det kan leda till felaktiga resultat.

6. Antikroppslösningar som innehåller natriumazid (NaN_3) bör hanteras med försiktighet. Inta inte internt och undvik all kontakt med hud, slemhinnor och ögon.

   I syramedium kan natriumazid dessutom bilda potentiellt farlig hydrazinsyra. Om reagensen måste kasseras rekommenderar vi att den späds ut med en stor volym vatten innan den hälls ut i avloppssystemet för att undvika explosionsrisk och att natriumazid ackumuleras i metallrören.
7. Alla blodprover måste betraktas som potentiellt smittsamma och ska hanteras med försiktighet (i synnerhet vad gäller användande av skyddshandskar, rockar och skyddsglasögon).
8. Pipettera aldrig med munnen och se till att proverna inte kommer i kontakt med hud, slemhinnor och ögon.
9. Blodprovsrör och engångsmaterial som används för hantering ska kasseras i särskilda behållare avsedda för förbränning.
10. Reagens och avfall ska kasseras i enlighet med lokala krav.

RISKKLASSIFICERING ENLIGT GHS

Ej klassat som farligt

SDS Säkerhetsdatablad finns tillgängligt på beckmancoulter.com/techdocs

FÖRVARING OCH STABILITET

Detta reagens måste hållas mellan 2 och 8 °C och skyddas mot ljus, före och efter att ampullen öppnats.

Hållbarhet för sluten ampull per stabilitetsstudie: 1095 dagar.

Stabilitet i öppen ampull: reagenset är stabilt i 180 dagar.

TECKEN PÅ FÖRSÄMRING

Alla förändringar i reagensens fysiska utseende kan indikera försämring och att reagenset inte ska användas.

För mer information eller om en skadad produkt tas emot, ring Beckman Coulter kundtjänst på 800-742-2345 (USA eller Kanada) eller kontakta din lokala Beckman Coulter-representant.

INNEHÅLL

Konserveringsmedlet natriumazid kan bilda explosiva föreningar i avloppsledningar av metall. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (76-8-16) (Bulletin från den amerikanska motsvarigheten till arbetsmiljöverket: Fara för azidexplosion).
För att undvika risken för ansamling av azidföreningar ska avloppsrören spolas igenom med vatten efter att outspädda reagenser har kasserats. Kassering av natriumazid måste ske i enlighet med tillämpliga lokala regler.

MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE FÖLJER MED KITET:

- Provrör och nödvändigt material för provtagning.
- Automatiska pipetter med engångsspetsar för 20, 100 och 500 µL.
- Hemolysrör av plast.
- Lyseringsreagens för röda blodceller med tvätt efter lyseringen. Till exempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens för leukocytfixering. Till exempel: IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800).
- Isotyp-kontroll PE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffert (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Centrifugera.
- Automatisk omrörare (Vortex-typ).
- Flödescytometer.

PROCEDUR MED VERSALYSE-REAGENS

För varje analyserat prov kan förutom provröret ett kontrollprovrör läggas till i vilket cellerna blandas i närvaro av isotypkontrollerna (ref. A07796).

1. Tillsätt 20 µL av specifik IOTest-konjugerad antikropp till varje provrör och vid behov 20 µL av isotypkontroll till varje kontrollprovrör.
2. Tillsätt 100 µL av testprovet i varje provrör. Vortexblanda provrören försiktigt.
3. Inkubera i 15 till 20 minuter vid rumstemperatur (18–25 °C) och skyddat mot ljus.
4. Utför sedan lysering av de röda blodkropparna. Se bladet VersaLyse (ref. A09777) och följ företrädesvis proceduren som benämns ”med samtidig fixering”, som består av att tillsätta 1 mL av ”Fixera-och-lysera”-blandningen som beretts strax innan. Vortexblanda omedelbart i en sekund och inkubera i 10 minuter vid rumstemperatur och skyddat mot ljus.
5. Centrifugera i 5 minuter vid 150 x g vid rumstemperatur.
6. Avlägsna ytskiktet genom aspiration.
7. Återsuspendera cellpelleten med 3 mL PBS.
8. Upprepa steg 5.
9. Avlägsna ytskiktet genom aspiration och återsuspendera cellpelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL av PBS plus 0,1 % formaldehyd om preparaten är avsedda att förvaras mindre än 24 timmar. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan erhållas genom spädning av 12,5 µL av IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800) i dess 10X-koncentration i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS utan formaldehyd, om preparaten är avsedda att analyseras inom 2 timmar.

Anmärkning: Behåll i samtliga fall beredningarna vid 2 till 8 °C och skyddade från ljus.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

I våra laboratorier behandlades helblodsprov från 25 till synes friska donatorer med den reagens som beskrivs ovan. Erhållna resultat för antalet positiva händelser av intresse med denna reagens anges i tabellen nedan:

Positivt mål	Nummer	Medelvärde (%)	SD	CV (%)
Lymfocyter	25	18,74	6,02	32,10

Dessa värden är endast avsedda att vara representativa. Varje laboratorium ska fastställa sina egna förväntade värden utifrån den lokala populationen med normala donatorer.

PRESTANDA

Prestandadata erhålls med proceduren som beskrivs ovan på blodprov som är färskare än 24 timmar som tagits i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant. Analys utförs inom 2 timmar efter immunfärgning.

SPECIFICITET

Molekylvikten av CD56 starkt glykosylerat protein (NKH1-molekyl) är 200–220 kDa (10,11). Den uttrycks på en subpopulation av perifera blodlymfocyter som uppvisar inte viktiga histokompatibilitetskomplex med begränsad cytotoxicitet (10,12). N901 (NKH-1) monoklonal antikropp reagerar med majoriteten av NK-celler (10,11). Den reagerar också med en mindre underpopulation av CD3-positiva T-celler som förmedlar minskad cytotoxisk aktivitet (12). Denna antikropp reagerar inte med monocyter, granulocyter, erytrocyter eller B-lymfocyter. N901 (NKH-1)-antikroppen tilldelades CD56-differentieringsklustret under den fjärde internationella studiegruppen om mänskliga leucocytdifferentieringsantigener i Vienna, Österrike, år 1989 (13).

PRECISION

Procentvärdet för positiva värden bestämdes med helblod. Varje prov kördes 4 gånger, två gånger om dagen under 1 dag på 2 instrument med 2 loter CD56-PE monoklonala antikroppsreagens. Mätningar (% positiva) utfördes på Navios flödescytometer. Analys utfördes baserat på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Utvärdering av precisionsprestanda för kvantitativa mätmetoder).

Våra acceptanskriterier beror på antalet positiva händelser som uppmäts för varje population:

- Om positiv händelse < 1 500, CV < 15 %
- Om positiv händelse > 1 500, CV < 10 %

Lymfocyter							
Antal positiva händelse (medelvärde) = 1083							
	Mellan operatörer	Mellan cytometrar	Inom lot	Mellan loter	Mellan körningar	Inom körning	Totalt
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
RESULTAT	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NOGGRANNHET

Noggrannheten hos CD56-PE bedömdes genom att jämföra resultaten med en referensreagens som predikat på en uppsättning helblodsprov körda på en Navios flödescytometer. Bias mellan test- och referensreagens bestämdes baserat på skillnaden mellan testresultat. Om bias ligger inom tillåtet felintervall eller p-värdet anger att det inte finns någon signifikant skillnad (> 0,05), så anses testresultaten för de två reagenserna vara likvärdiga.

Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell nedan:

Antal donatorer = 25				
Positivt mål	Medelvärde Δ	Δ % cellkriterier	p-värde	RESULTAT
Lymfocyter	-0,25	<5	0,262	PASS

BLANKGRÄNS OCH DETEKTIONSGRÄNS

En studie genomfördes i enlighet med CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Utvärdering av detekteringsförmåga för kliniska laboratoriemätningsprocedurer). Detektionsgräns (LoD) är den lägsta analytkoncentrationen som konsekvent kan detekteras. Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell:

Positive Target	Blankgräns (cell/µL)	Detektionsgräns (cell/µL)
Lymfocyter	4	6

BEGRÄNSNINGAR

1. Flödescytometri kan ge falska resultat om cytometern inte har justerats perfekt, om fluorescensläckor inte har kompenserats korrekt och om regionerna inte har placerats noggrant.
2. Det är bäst att använda en RBC-lyseringsteknik med ett tvättsteg, eftersom denna reagens inte optimerats för lyseringstekniker ”utan tvätt”.
3. Noggranna och reproducerbara resultat kommer att erhållas så länge de förfaranden som används är i enlighet med den tekniska bipacksedeln och förenliga med god laboratoriepraxis.
4. Den konjugerade antikroppen för detta reagens är kalibrerad för att erbjuda det bästa specifik signal/icke-specifik signal-förhållandet. Därför är det viktigt att följa reagensvolym/provvolym-förhållandet i varje test.
5. Vid hyperleukocytos, späd blodet i PBS för att erhålla ett värde på cirka 5 x 10^9 leukocyter/L (14).
6. Vid vissa sjukdomstillstånd, såsom vid mycket svår njursvikt eller hemoglobinopatier, kan lysering av röda celler vara långsam, ofullständig eller till och med omöjlig. I detta fall är det rekommenderat att isolera mononukleära celler med användning av en densitetsgradient (till exempel Ficoll) innan färgningen (15).
7. Hos patienter som behandlas med anti-human monoklonala antikroppar kan detektering av de specifika eftersökta antigenerna minska eller utebli på grund av delvis eller fullständig blockering från behandlingens antikropp.

8. Resultat för CD56-PE bör tolkas med tanke på patientens totala kliniska bild, inklusive: symptom, anamnes, information från övriga test och annan lämplig information.

Se bilagan för exempel och referenser.

VARUMÄRKEN

Beckman Coulter, den stiliserade logotypen och Beckman Coulters produkt- och tjänstmärken som nämns häri är varumärken eller registrerade varumärken som tillhör Beckman Coulter, Inc. i USA eller andra länder.

YTTERLIGARE INFORMATION

För en patient/användare/tredje part inom EU och i länder med identiskt regelsystem (förordning 2017/746/EU om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik); om, vid användning av denna enhet eller som ett resultat av dess användning, en allvarlig incident inträffat ska den rapporteras till tillverkaren och/eller till dess auktoriserade representant och till den nationella myndigheten.

Summary of Safety and Performance (Sammanfattning av säkerhet och prestanda) finns tillgänglig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVIDERING AD:	Publiceringsdatum: September 2019

REVISION	**Publiceringsdatum**
AW	Februari 2022
Uppdateringar för att uppfylla Beckman Coulter globala etiketteringspolicy och kraven i IVD-R (EU)2017/746:	
Tillagda avsnitt	BSI 2797 Nummer, Avsedd användare, Klinisk relevans, Koncentration, Precision, Noggrannhet, Blankgräns och detektionsgräns, Ytterligare information, Revisionshistorik.
Tillagd information	Se avsnittet Begränsningar
Ordval eller typografiska uppdateringar	Se avsnitten Procedur, Prestanda, Begränsningar, Varningar och försiktighetsåtgärder, Förvaring och stabilitet.
Borttagna avsnitt	Exempel på kliniska tillämpningar, Reagens, Reproducerbarhet inom laboratorium, Linearitet
Uppdaterade avsnitt	Avsedd användning, Faroklassificering enligt GHS, Tecken på försämring, Procedur, Bilaga.

REVISION	**Publiceringsdatum**
AX	April 2023
Uppdaterade avsnitt	Lägg till kazakiska
Uppdaterade avsnitt	Förvaring och hållbarhet

Reviderad version	AY
Datum för revidering	Maj 2024
Uppdaterade översättningar	**Klinisk relevans:**
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Reviderad version	AZ
Datum för revidering	Juli 2024
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Teckenförklaring för symboler

Ordlista för symboler finns på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Spesifikasjoner
Spesifisitet	CD56
Klon	N901 (NKH-1)
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Immunoglobulin	IgG1
Art	Mus
Rensing	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molart forhold	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-eksitasjon	488 nm
Strålingstopp	575 nm
Buffer	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/mL BSA og 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugert antistoff CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

For *in vitro*-diagnostisk bruk

TILTENKT BRUK

Dette fluorokromkonjugerte antistoffet muliggjør kvalitativ og ikke-automatisert identifisering av cellepopulasjoner som uttrykker CD56-antigenet som finnes i humane biologiske prøver, ved hjelp av flowcytometri (se avsnittet «Prøver» nedenfor).

PRINSIPP

Denne testen er basert på evnen spesifikke monoklonale antistoffer har til å binde seg til antigendeterminantene uttrykt av leukocytter.

Spesifikk farging av leukocyttene utføres ved inkubering av prøven med IOTest-reagenset. De røde cellene fjernes deretter ved lysering, og leukocyttene, som er uberørt av denne prosessen, analyseres ved flowcytometri.

Flytcytometeret måler lysdiffusjon og cellenes fluorescens. Det gjør det mulig å avgrense populasjonen som skal undersøkes innenfor det elektroniske vinduet som er definert på et histogram, og som korrelerer den ortogonale lysspredningen (sidespredning eller SS) og spredningen av trangvinklet lys (foroverpredning eller FS). Andre histogrammer som kombinerer to av de ulike parametrene på cytometeret kan brukes som støtte ved gatingstadiet, avhengig av programmet som velges av brukeren.

Fluorescensen i de avgrensede cellene analyseres for å skille de positivt fargede hendelsene fra de ufargede. Resultatene er uttrykt som en prosentandel positive hendelser i forhold til alle hendelser innhentet ved gatingen.

TILTENKT BRUKER

Dette produktet skal brukes av profesjonelle brukere på laboratorier.

KLINISK RELEVANS

CD56-PE er et CD56-antistoff som brukes til å identifisere og karakterisere celler som uttrykker CD56-antigenet, ved hjelp av flowcytometri. Dette produktet alene kan ikke og er ikke ment å generere en diagnostisk konklusjon.

Når dette produktet brukes i kombinasjon med andre markører, kan det brukes i én eller flere av følgende funksjoner:

- For å bistå ved differensialdiagnostisering av hematologisk unormale pasienter med mistenkt hematopoietisk neoplasi og følge opp pasienter med kjent hematopoietisk neoplasi.
- Bistå ved diagnostisering av pasienter med mistenkt immunsvikt og overvåke pasienter med kjent immunsvikt.
- For å bidra ved prognostisering av pasienter med hematopoietisk neoplasi.
- Overvåke transplantasjonsprosess eller resultater.

Se følgende referanser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

PRØVER

Veneblod må tas ved bruk av sterile rør som inneholder EDTA-salt som antikoagulant.

Prøvene skal oppbevares i romtemperatur (18–25 °C) og ikke ristes. Prøvene skal homogeniseres ved forsiktig risting før du tar testprøven.

Prøvene må analyseres innen 24 timer etter venepunksjon.

KONSENTRASJON

Se lot-spesifikt analysesertifikat på www.beckman.com.

ADVARSEL OG FORHOLDSREGLER

1. Reagenset må ikke brukes etter utløpsdatoen.
2. Må ikke fryses.
3. La det nå romtemperatur (18–25 °C) før bruk.
4. Bør ikke utsettes for lys.
5. Unngå mikrobiell kontaminering av reagensene, ellers kan det gi feil resultater.

6. Antistoffløsninger som inneholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsiktighet. Ikke til innvortes bruk. Unngå all kontakt med hud, slimhinner og øyne.

   Videre kan natriumazid i et syremedium danne potensielt farlig hydrogenazid. Hvis reagenset må kasseres, anbefales det at det fortynnes i store mengder vann før det tømmes i avløpssystemet, slik at man unngår opphopning av natriumazid i metallrør, og for å hindre eksplosjonsfare.
7. Alle blodprøver må betraktes som potensielt smittefarlige og må håndteres med forsiktighet (gjelder spesielt: bruk av vernehansker, laboratoriefrakk og vernebriller).
8. Pipetter aldri med munnen, og unngå at prøvene kommer i kontakt med huden, slimhinnene og øynene.
9. Blodprøverør og engangsmateriale som brukes til håndtering, skal kastes i beholdere beregnet for forbrenning.
10. Reagenser og avfall skal kastes i henhold til lokale krav.

GHS-FAREKLASSIFISERING

Ikke klassifisert som farlig

SDS Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPPBEVARING OG STABILITET

Dette reagenset må oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttes mot lys før og etter at flasken er åpnet.

Holdbarhet i lukket flaske ifølge stabilitetsstudie: 1095 dager.

Stabilitet for åpnet flaske: reagenset er stabilt i 180 dager.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Endringer i reagensenes fysiske utseende kan være tegn på redusert kvalitet, og slike reagenser skal ikke brukes.

For ytterligere informasjon eller hvis produktet mottas skadet, kan Beckman Coulter kundeservice 800-742-2345 (USA og Canada) eller den lokale Beckman Coulter-representanten kontaktes.

INNHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive blandinger i metalliske avløpsrør. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Fare for eksplosive azider) (16.8.76). For å unngå mulig opphopning av azidforbindelser må avløpsrør skylles med vann etter avhending av ufortynnet reagens. Avfallshåndtering av natriumazid må skje i samsvar med relevante lokale forskrifter.

NØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE FØLGER MED SETTET:

- Prøvetakingsrør og materiale nødvendig for prøvetaking.
- Automatiske pipetter med engangsspisser til 20, 100 og 500 µL.
- Hemolyserør av plast.
- Rød cellelyseringsreagens med vasketrinn etter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Leukocytt-fikseringsreagens. For eksempel: IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800).
- -isotypekontroll PE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Sentrifuger.
- Automatisk omrører (vortekstype).
- Flytcytometer.

PROSEDYRE MED VERSALYSE-REAGENS

For hver prøve som analyseres, kan det i tillegg til testrøret legges til ett kontrollrør hvor cellene er blandet med tilstedeværelse av isotypekontrollen (ref. A07796).

1. Tilsett 20 µL spesifikt IOTest-konjugert antistoff i hvert testrør og ved behov 20 µL av isotypekontrollen i hvert kontrollrør.
2. Tilsett 100 µL av testprøven i hvert rør. Vorteks rørene forsiktig.
3. Inkuber i 15 til 20 minutter ved romtemperatur (18–25 °C), beskyttet mot lys.
4. Utfør deretter lysering av de røde blodcellene. Les brosjyren VersaLyse (ref. A09777), og prøv å følge prosedyren kalt «with concomitant fixation» (med samtidig fiksering) som består av å tilsette 1 mL av «fikserings- og lyseringsblandingen» som klargjøres prompte. Bland på vorteksmikser umiddelbart i ett sekund, og inkuber i 10 minutter ved romtemperatur, beskyttet mot lys.
5. Sentrifugeres i 5 minutter ved 150 x g ved romtemperatur.
6. Fjern supernatanten ved aspirasjon.
7. Resuspender cellepelleten i 3 mL PBS.
8. Gjenta trinn 5.
9. Fjern supernatanten ved aspirasjon, og resuspender cellepelleten ved hjelp av:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS pluss 0,1 % formaldehyd hvis preparatene skal oppbevares i mindre enn 24 timer. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan oppnås ved å fortynne 12,5 µL IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800) ved 10X konsentrasjon i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uten formaldehyd hvis preparatene skal analyseres innen 2 timer.

Merk: I alle tilfeller skal preparatene oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttet mot lys.

FORVENTEDE VERDIER

I våre laboratorier ble fullblodsprøvene fra 25 tilsynelatende friske donorer behandlet med reagenset beskrevet over. Resultatene som ble oppnådd for telling av de aktuelle positive hendelsene med dette reagenset, er angitt i tabellen nedenfor:

Positivt mål	Nummer	Gjennomsnitt (%)	SD	VK (%)
Lymfocytter	25	18,74	6,02	32,10

Disse verdiene er bare representative. Hvert enkelt laboratorium bør fastsette egne forventede verdier ut fra den lokale populasjon av normaldonorer.

YTELSE

Ytelsesdata er fremskaffet ved bruk av prosedyren som er beskrevet ovenfor på mindre enn 24 timer gamle blodprøver som tidligere er samlet i sterile rør med EDTA-salt som antikoagulant. Analysen utføres innen 2 timer etter immunfarging.

SPESIFISITET

Molekylvekten av tungt glykosylert CD56-protein (NKH1-molekyl) er 200–220 kDa (10,11). Den uttrykkes på en subpopulasjon av lymfocytter fra perifert blod som demonstrerer begrenset cytotoksisitet med ikke-vesentlig histokompatibilitetskompleks (10,12). N901 (NKH-1) monoklonalt antistoff reagerer med de fleste NK-celler (10,11). Det reagerer også med en liten subpopulasjon av CD3-positive T-celler som medierer redusert cytotoksisk aktivitet (12). Dette antistoffet reagerer ikke med monocytter, granulocytter, erytrocytter eller B-lymfocytter. Antistoffet N901 (NKH-1) ble tilordnet CD56-klyngen for differensiering under 4. HLDA-workshop om humane leukocyttdifferensieringsantigener i Wien i Østerrike i 1989 (13).

PRESISJON

Prosentandelen positive verdier ble bestemt med fullblod. Hver prøve ble kjørt 4 ganger, to ganger om dagen i 1 dag på 2 instrumenter med 2 partier CD56-PE monoklonale antistoffreagenser. Målinger (% positiv) ble foretatt på et Navios-flytcytometer. Analysen ble utført basert på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering av presisjonsytelse ved kvantitative målemetoder).

Våre godkjenningskriterier er avhengige av antall positive hendelser som måles for hver populasjon:

- Hvis positiv hendelse < 1 500, VK < 15 %
- Hvis positiv hendelse > 1 500, VK < 10 %

Lymfocytter							
Antall positive hendelser (gjennomsnitt) = 1083							
	Mellom operatører	Mellom cytometere	Innenfor samme lot	Mellom loter	Mellom kjøringer	Innenfor samme kjøring	Total
VK (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØYAKTIGHET

Nøyaktigheten til CD56-PE ble vurdert ved å sammenligne resultatene med et referansereagens som predikatet på et sett med fullblodsprøver kjørt på et Navios-flytcytometer. Skjevheten mellom test- og referansereagens ble bestemt basert på forskjellen mellom testresultater. Hvis skjevheten er innenfor det tillatte feilområdet eller p-verdien angir ingen vesentlig forskjell (> 0,05), anses testresultatene for de to reagensene som tilsvarende.

De oppnådde resultatene er oppsummert i den følgende tabellen:

Antall donorer = 25				
Positivt mål	Gjennomsnittlig Δ	Δ % cellekriterier	p-verdi	RESULTATER
Lymfocytter	-0,25	<5	0,262	PASS

GRENSE FOR BLANKPRØVE OG DETEKSJONSGRENSE

En studie ble gjennomført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering av deteksjonsevne for måleprosedyrer på kliniske laboratorier). Deteksjonsgrensen (LOD) er den laveste analyttkonsentrasjonen som kan detekteres konsekvent. Resultatene som ble oppnådd, er oppsummert i tabellen nedenfor:

Positive Target	Grense for blankprøve (celle/µL)	Deteksjonsgrense (celle/µL)
Lymfocytter	4	6

BEGRENSNINGER

1. Flowcytometri kan gi falske resultater hvis cytometeret ikke har blitt justert nøyaktig, hvis fluorescenslekkasjer ikke er kompensert riktig, og hvis regionene ikke er nøye plassert.
2. Det er best å bruke en RBC-lyseringsteknikk med et vasketrinn, ettersom dette reagenset ikke er optimert for lyseringsteknikker uten vask.
3. Nøyaktige og reproduserbare resultater vil oppnås så lenge de anvendte prosedyrene er i samsvar med det tekniske pakningsvedlegget og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerte antistoffet til dette reagenset er kalibrert for å oppnå best mulig forhold mellom spesifikt signal og ikke-spesifikt signal. Derfor er det viktig å overholde forholdet mellom reagensvolum og prøvevolum i hver test.
5. Ved hyperleukocytose fortynnes blodet i PBS for å oppnå en verdi på omtrent 5 x 10^9 leukocytter/L (14).
6. Ved visse sykdomstilstander, for eksempel alvorlig nyresvikt eller hemoglobinopatier, kan lyseringen av røde celler være langsom, ufullstendig eller til og med umulig. I dette tilfellet anbefales det å isolere mononukleærerte celler ved hjelp av en densitetsgradient (for eksempel Ficoll) før farging (15).
7. Hos pasienter som behandles med antihumane, monoklonale antistoffbehandlinger, kan deteksjon av bestemte målantigener reduseres eller være fraværende på grunn av delvis eller fullstendig blokkering av det terapeutiske antistoffet.
8. CD56-PE-resultatene skal tolkes i lys av den totale kliniske vurderingen av pasienten, inkludert: symptomer, klinisk historie, data fra flere tester og annen aktuell informasjon.

Se vedlegget for eksempler og referanser.

VAREMERKER

Beckman Coulter, den stiliserte logoen og vare- og servicemerkene til Beckman Coulter som er omtalt her, er varemerker eller registrerte varemerker som tilhører Beckman Coulter, Inc. i USA og andre land.

TILLEGGSINFORMASJON

For pasient/bruker/tredjepart i EU og land med identisk regelverk (EUs forordning nr. 2017/746 om in vitro-diagnostisk medisinsk utstyr); hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av dette utstyret, eller som et resultat av bruken, skal dette rapporteres til produsenten og/eller den autoriserte representanten samt til nasjonal myndighet.

Summary of Safety and Performance (Sammendrag av sikkerhet og ytelse) er tilgjengelig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISJONSHISTORIE

REVISJON AD:	Utgivelsesdato: September 2019

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AW	Februar 2022
Oppdateringer skal overholde de globale merkingsreglene til Beckman Coulter og være i samsvar med krav iht. IVD-R (EU)2017/746:	
Innsatte avsnitt	BSI 2797-nummer, Tiltenkt bruker, Klinisk relevans, Konsentrasjon, Presisjon, Nøyaktighet, Grense for blankprøve og deteksjonsgrense, Tilleggsinformasjon, Revisjonshistorie.
Innsatt informasjon	Se avsnittet Begrensninger
Oppdatering av formulering eller typografi	Se avsnittene Prosedyre, Ytelse, Begrensninger, Advarsler og forholdsregler, Oppbevaring og stabilitet.
Fjernede avsnitt	Eksempel på kliniske bruksområder, Reagenser, Reproduserbarhet innenfor samme laboratorium, Linearitet
Oppdaterte avsnitt	Tiltenkt bruk, GHS-fareklassifisering, Tegn på nedbryting, Prosedyre, Vedlegg.

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AX	april 2023
Oppdaterte avsnitt	Lagt til kasakhisk
Oppdaterte avsnitt	Oppbevaring og stabilitet

Revidert versjon	AY
Revisjonsdato	mai 2024
Oppdatert oversettelser	**Klinisk relevans:**
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Revidert versjon	AZ
Revisjonsdato	juli 2024
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Symbolforklaring

Symbolordliste er tilgjengelig på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Tekniset tiedot
Spesifisyys	CD56
Klooni	N901 (NKH-1)
Hybridooma	NS1 x balb/c
Immunogeeni	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Immunoglobuliini	IgG1
Lajit	Hiiri
Puhdistus	Affiniteettikromatografia
Fluorokromi	R Phycoerythrin (PE)
Moolisuhde	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-viritys	488 nm
Säteilyhuippu	575 nm
Puskuri	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA:ta ja 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugoitunut vasta-aine CD56-PE

REF A07788 100 testiä; 2 ml, 20 µl / testi

Diagnostiseen *In Vitro* -käyttöön

KÄYTTÖTARKOITUS

Tämän fluorokromikonjugoidun vasta-aineen avulla voidaan kvalitatiivisesti ja muilla kuin automaattisilla tavoilla tunnistaa solupopulaatioita, jotka ilmentävät ihmisen biologisissa näytteissä esiintyvää CD56-antigeeniä virtaussytometriaa käyttämällä (katso jäljempää kohta Näytteet).

PERIAATE

Testi perustuu tiettyjen monoklonaalisten vasta-aineiden kykyyn sitoutua leukosyyttien ilmentämiin antigeenideterminantteihin.

Leukosyyttien spesifinen värjäys tehdään inkuboimalla näyte IOTest-reagenssilla. Punasolut poistetaan sen jälkeen lyysaamalla, ja leukosyytit, joihin tämä prosessi ei vaikuta, analysoidaan virtaussytometrialla.

Virtaussytometri mittaa valonhajontaa ja solujen fluoresenssia. Sen avulla on mahdollista rajata kiinnostuksen kohteena olevan populaatio pylväskaavioon määritetyssä elektronisessa ikkunassa, jossa ortogonaalinen valonhajonta (sivusironta eli SS) vastaa kapean kulman valonhajontaa (eteenpäinsironta eli FS). Muita sytometrin kahta eri parametria yhdistäviä pylväskaavioita voidaan käyttää rajaamisvaiheen tukena käyttäjän valitseman sovelluksen mukaan.

Rajattujen solujen fluoresenssi analysoidaan, jotta positiivisesti värjäytyneet tapahtumat voidaan erottaa värjäytymättömistä tapahtumista. Tulokset ilmaistaan positiivisten tapahtumien prosenttimääränä suhteessa kaikkiin rajauksella kerättyihin tapahtumiin.

AIOTTU KÄYTTÄJÄ

Tämä tuote on tarkoitettu ammattimaiseen laboratoriokäyttöön.

KLIININEN RELEVANSSI

CD56-PE on CD56-vasta-aine, jonka avulla tunnistetaan ja karakterisoidaan CD56-antigeenia ilmentävät solut virtaussytometrialla. Tämä tuote yksinään ei voi eikä sen ole tarkoitus tuottaa mitään diagnostisia johtopäätöksiä.

Kun sitä käytetään yhdessä muiden merkkiaineiden kanssa, tuotetta voidaan käyttää yhteen tai useaan seuraavista toiminnoista:

- Erotusdiagnostiikan tueksi hematologisesti poikkeavilla potilailla, joilla epäillään olevan hematopoieettisia kasvaimia, ja sellaisten potilaiden seurantaan, joilla tiedetään olevan hematopoieettisia kasvaimia.
- Sellaisten potilaiden diagnosoinnin tueksi, joilla epäillään immuunipuutostilaa, ja sellaisten potilaiden seurantaan, joilla tiedetään olevan immuunipuutostila.
- Avuksi ennusteen tekemiseen potilaista, joilla on hematopoieettinen neoplasma.
- Transplantaatioprosessin tai sen tulosten seurantaan.

Katso seuraavat viitteet:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

NÄYTTEET

Laskimoverinäytteet on otettava käyttäen steriilejä putkia, joissa on antikoagulanttina EDTA-suolaa.

Näytteet on säilytettävä huoneenlämmössä (18–25 °C), eikä niitä saa ravistaa. Näytteet on homogenoitava sekoittamalla hellävaraisesti ennen testinäytteen ottamista.

Näytteet on analysoitava 24 tunnin sisällä laskimopunktiosta.

PITOISUUS

Katso eräkohtainen analyysitodistus osoitteesta www.beckman.com.

VAROITUS JA VAROTOIMET

1. Älä käytä reagenssia viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
2. Ei saa jäätyä.
3. Anna sen lämmetä huoneenlämpöiseksi (18–25 °C) ennen käyttöä.
4. Minimoi altistuminen valolle.

5. Vältä reagenssien mikrobikontaminaatiota, muutoin vaarana ovat virheelliset tulokset.
6. Natriumatsidia (NaN_3) sisältäviä vasta-aineliuoksia tulee käsitellä varoen. Sitä ei saa niellä, ja sen joutumista iholle, limakalvoille ja silmiin on vältettävä.

   Lisäksi happamassa liuoksessa natriumatsidi voi muodostaa mahdollisesti vaarallista hydratsoehappoa. Jos reagenssi on hävitettävä, se on suositeltavaa laimentaa suureen vesimäärään ennen sen kaatamista viemäriin, jotta natriumatsidia ei pääse kertymään metalliputkiin ja vältetään räjähdysvaara.
7. Kaikkia verinäytteitä on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina, ja niitä on käsiteltävä varovaisesti (erityisesti on muistettava suojakäsineiden, -pukujen ja -lasien käyttö).
8. Älä koskaan pipetoi suulla ja vältä näytteiden kaikkea kosketusta ihoon, limakalvoihin ja silmiin.
9. Veriputket ja käsittelyyn käytetyt kertakäyttöiset materiaalit on hävitettävä poltettaviksi tarkoitetuissa ad hoc -astioissa.
10. Reagenssit ja jätteet on hävitettävä paikallisten vaatimusten mukaisesti.

GHS-VAARALUOKITUS

Ei luokiteltu vaaralliseksi

SDS Käyttöturvallisuustiedote on saatavana osoitteessa beckmancoulter.com/techdocs

SÄILYTYS JA STABILITEETTI

Tätä reagensseja on säilytettävä 2–8 °C:n lämpötilassa ja suojattava valolta ennen ampullin avaamista ja sen jälkeen.

Suljetun ampullin säilyvyysaika stabiliteettitutkimuksen mukaan: 1095 päivää.

Avatun ampullin stabiliteetti: reagenssi on stabiili 180 päivän ajan.

MERKIT PILAANTUMISESTA

Mahdolliset muutokset reagenssin fyysisessä ulkonäössä voivat viitata huonontumiseen, eikä reagenssia saa tällöin käyttää.

Jos tarvitset lisätietoja tai jos sait vahingoittuneen tuotteen, soita Beckman Coulter -asiakaspalveluun numeroon 800 742 2345 (USA ja Kanada) tai ota yhteyttä Beckman Coulterin paikalliseen edustajaan.

SISÄLTÖ

Natriumatsidi-säilöntäaine saattaa muodostaa räjähtäviä yhdisteitä metallisissa viemäriputkissa. Katso NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.08.1976). Huuhtele viemäriputket vedellä laimentamattoman reagenssin poiston jälkeen mahdollisen atsidiyhdisteiden kerääntymisen estämiseksi. Hävitä natriumatsidi asianmukaisten paikallismääräysten mukaisesti.

TARVITTAVAT MATERIAALIT, JOITA EI TOIMITETA SARJAN MUKANA:

- Näytteenottoon tarvittavat näytteenottoputket ja materiaalit.
- Automaattiset pipetit, joissa kertakäyttökärjet 20, 100 ja 500 µl.
- Muoviset hemolyysiputket.
- Punasolujen lyysireagenssi ja pesuvaihe lyysin jälkeen. Esimerkiksi: VersaLyse (viite A09777).
- Leukosyyttien kiinnitysreagenssi. Esimerkiksi: IOTest 3 -fiksatiiviliuos (viite A07800).
- Isotyyppinen kontrolli PE: IOTest-reagenssi (viite A07796).
- Puskuri (PBS: 0,01 M natriumfosfaattia, 0,145 M natriumkloridia, pH 7,2).
- Sentrifugi.
- Automaattinen sekoitin (Vortex-/pyörretyyppinen).
- Virtaussytometri.

VERSALYSE-REAGENSSIN MENETTELY

Jokaiselle analysoidulle näytteelle voidaan lisätä testiputken lisäksi yksi kontrolliputki, jossa solut sekoitetaan käyttämällä isotyyppistä kontrollia (ref. A07796).

1. Lisää 20 µl spesifisiä IOTest-konjugoituja vasta-aineita jokaiseen testiputkeen ja tarvittaessa 20 µl isotyyppistä kontrollia jokaiseen kontrolliputkeen.
2. Lisää 100 µl testinäytettä kuhunkin putkeen. Sekoita putkia vorteksilla varovaisesti.
3. Inkuboi 15–20 minuuttia huoneenlämmössä (18–25 °C), valolta suojattuna.
4. Tee sitten punasolujen lyysaus. Tutustu VersaLyse (viite A09777) -selosteeseen ja noudata mieluiten menettelyä, jonka nimessä on maininta ”rinnakkaiskiinnityksen kanssa” ja johon sisältyy ohje lisätä 1 ml kiinnitys- ja lyysiseosta, joka on valmistettu kyseistä tapausta varten. Sekoita välittömästi vorteksilla yhden sekunnin ajan ja inkuboi 10 minuuttia huoneenlämmössä, valolta suojattuna.
5. Sentrifugoi 150 x g 5 minuutin ajan huoneenlämmössä.
6. Poista supernatantti aspiroimalla.
7. Suspendoi solupelletti uudelleen käyttämällä 3 ml PBS:ää.
8. Toista vaihe 5.
9. Poista supernatantti aspiroimalla ja suspendoi solupelletti käyttämällä:

- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää plus 0,1 % formaldehydiä, jos valmisteet aiotaan säilyttää alle 24 tuntia. (0,1 % formaldehydiä sisältävä PBS saadaan laimentamalla 12,5 µl IOTest 3 -fiksatiiviliuosta (viite A07800) sen 10-kertaisella pitoisuudella 1 ml:aan PBS:ää).
- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää ilman formaldehydiä, jos valmisteet tullaan analysoimaan 2 tunnin sisällä.

Huomautus: Pidä valmisteet kaikissa tapauksissa 2–8 °C:n lämpötilassa ja valolta suojattuna.

ODOTETUT ARVOT

Laboratorioissamme 25 ilmeisesti terveen luovuttajan kokoverinäytteet käsiteltiin edellä kuvatulla reagenssilla. Seuraavassa taulukossa esitetään tällä reagenssilla saadut tulokset, kun kiinnostuksen kohteena olleet positiiviset tapahtumat laskettiin:

Positiivinen kohde	Lukumäärä	Keskiarvo (%)	SD	CV (%)
Lymfosyytit	25	18,74	6,02	32,10

Nämä arvot on tarkoitettu vain esimerkeiksi. Jokaisen laboratorion tulee luoda omat odotetut arvonsa paikallisen normaalien luovuttajien populaation mukaan.

SUORITUSKYKY

Suorituskykytiedot saadaan edellä kuvatulla menetelmällä käyttämällä alle 24 tunnin ikäisistä näytteistä, jotka on aiemmin kerätty steriileihin putkiin, joissa antikoagulanttina on EDTA-suola. Analyysi suoritetaan 2 tunnin kuluessa immunovärjäyksestä.

SPESIFISYYS

CD56 on voimakkaasti glykosyloitu proteiini (NKH1-molekyyli), jonka molekyylipaino on 200–220 kDa (10,11). Sitä ilmennetään perifeerisen veren lymfosyyttien alipopulaatiossa, joka osoittaa ei-MHC (non-major histocompatibility complex) -rajoitteisen sytotoksisuuden (10,12). Monoklonaalinen vasta-aine N901 (NKH-1) reagoi NK-solujen enemmistön kanssa (10,11). Se reagoi myös pienen CD3-positiivisten T-solujen alipopulaation kanssa, joka välittää sytotoksista aktiivisuutta (12). Tämä vasta-aine ei reagoi monosyyttien, granulosyyttien, erytrosyyttien tai B-lymfosyyttien kanssa. N901 (NKH-1) -vasta-aine määritettiin kuuluvaksi differentiaatioryhmään CD56 neljännessä ihmisleukosyyttien differentiaatioantigeenejä käsitelleessä kansainvälisessä seminaarissa (Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens), joka pidettiin Wienissä, Itävallassa, vuonna 1989 (13).

TARKKUUS

Prosentuaaliset positiiviset arvot määritettiin käyttämällä kokoverta. Jokainen näyte käsiteltiin 4 kertaa, kahdesti päivässä päivänä 1 2 laitteessa käyttämällä 2 erää CD56-PE monoklonaalisia vasta-ainereagensseja. Mittaukset (% positiivisia) tehtiin Navios-virtaussytometrillä. Analyysi tehtiin perustuen CLSI:n menetelmään EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivisten mittausmenetelmien tarkkuussuorituskyvyn arviointi).

Hyväksyntäkriteerimme on riippuvainen kussakin populaatiossa mitattujen positiivisten tapahtumien määrästä:

- Jos tapahtuma on positiivinen < 1 500, CV < 15 %
- Jos tapahtuma on positiivinen > 1 500, CV < 10 %

Lymfosyytit							
Positiivisten näytteiden lukumäärä (keskiarvo) = 1083							
	Käyttäjien välinen	Sytometrin sisäinen	Erän sisäinen	Erien välinen	Ajojen välinen	Ajon sisäinen	Yhteensä
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
TULOKSET	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ULKOINEN TARKKUUS

Kohteen CD56-PE tarkkuus arvioitiin vertaamalla tuloksia viitereagenssiin, joka toimi Navios-virtaussytometrilla käsitellyn kokoverinäytesarjan predikaattina. Testireagenssin ja vertailureagenssin välinen poikkeama määritettiin testitulosten välisen eron perusteella. Jos poikkeama on sallitun virhealueen rajoissa tai p-arvo ei osoita merkityksellistä eroa (> 0,05), näiden kahden reagenssin testituloksia pidetään vastaavina.

Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Luovuttajien määrä = 25				
Positiivinen kohde	Keskiarvo Δ	Δ % -solukriteeri	p-arvo	TULOKSET
Lymfosyytit	-0,25	<5	0,262	PASS

NOLLAMITTAUKSEN YLÄRAJA JA MITTAUKSEN ALARAJA

Tutkimus tehtiin CLSI EP17-A2:n mukaisesti, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Detektiokyvyn arviointi kliinisissä laboratoriomittausmenettelyissä). Mittauksen alaraja (LoD) on analyytin alhaisin pitoisuus, joka voidaan havaita johdonmukaisesti. Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Positive Target	Nollamittauksen yläraja (solu/µl)	Mittauksen alaraja (solu/µl)
Lymfosyytit	4	6

RAJOITUKSET

1. Virtaussytometrialla saadut tulokset voivat olla virheellisiä, jos sytometri on kohdistettu epätarkasti, jos fluoresenssivuotoja ei ole kompensoitu oikein ja jos alueita ei ole sijoitettu tarkasti.
2. On suositeltavaa käyttää punasolujen lyysaukseen pesuvaiheen sisältävää tekniikkaa, koska tätä reagenssia ei ole optimoitu lyysaustekniikoille, joihin ei sisälly pesua.
3. Tulokset oivat tarkkoja ja toistettavissa, kunhan käytetyt menetelmät ovat teknisen selosteen mukaisia ja noudattavat hyviä laboratoriokäytäntöjä.
4. Tämän reagenssin konjugoitu vasta-aine kalibroidaan siten, että saadaan paras spesifisen signaalin ja epäspesifisen signaalin suhde. Siksi on tärkeää noudattaa reagenssin tilavuuden / näytteen suhdetta jokaisessa testissä.
5. Jos kyseessä on hyperleukosytoosi, laimenna veri PBS:ään siten, että saat arvoksi noin 5 x 10^9 leukosyyttiä/l (14).
6. Tietyissä sairaustiloissa, kuten vaikeassa munuaisten vajaatoiminnassa tai hemoglobinopatioissa, punasolujen hajoaminen voi olla hidasta, epätäydellistä tai jopa mahdotonta. Tässä tapauksessa yksitumaiset solut on suositeltavaa eristää käyttämällä tiheysgradienttia (esimerkiksi Ficoll) ennen värjäystä (15).
7. Potilailla, joita on hoidettu muun kuin ihmisen monoklonaalisilla vasta-aineilla, kohdeantigeenin havaitseminen voi heikentyä tai estyä osittain tai kokonaan hoidossa käytetyn vasta-aineen vaikutuksesta.

8. CD56-PE-tulosten tulkinnassa on otettava huomioon potilaan kaikki kliiniset tiedot, mukaan lukien oireet, kliininen historia, lisätestien tiedot ja muut asianmukaiset tiedot.

Katso esimerkkejä ja viitteitä liitteestä.

TAVARAMERKIT

Beckman Coulter, tyylitelty logo ja tässä mainitut Beckman Coulter -tuotteiden ja palveluiden merkit ovat Beckman Coulter, Inc:in tavaramerkkejä tai rekisteröityjä tavaramerkkejä Yhdysvalloissa ja muissa maissa.

LISÄTIETOJA

Potilaalle / käyttäjälle / kolmannelle osapuolelle Euroopan unionin alueella ja maissa, joissa on samanlainen sääntelyjärjestelmä (in vitro -diagnostiikkaan tarkoitettuja lääkinnällisiä laitteita koskeva asetus 2017/746/EU): jos tämän laitteen käytön aikana tai sen käytön seurauksena on tapahtunut vakava tapahtuma, ilmoita siitä valmistajalle ja/tai valmistajan valtuutetulle edustajalle sekä kansalliselle viranomaiselle.

Turvallisuutta ja suorituskykyä koskeva yhteenveto on saatavilla EUDAMED-tietokannasta osoitteesta ec.europa.eu/tools/eudamed.

TARKISTUSHISTORIA

VERSIO AD:	Julkaisupäivä: Syyskuu 2019

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AW	Helmikuu 2022
Päivitetty noudattamaan Beckman Coulterin maailmanlaajuista merkintämenettelyä ja IVD-R (EU)2017/746 -standardin vaatimuksia:	
Lisätyt osat	BSI 2797 -numero, Käyttötarkoituksen mukainen käyttäjä, Kliininen relevanssi, Pitoisuus, Tarkkuus, Ulkoinen tarkkuus, Nollamittauksen yläraja ja mittauksen alaraja, Lisätietoja, Tarkistushistoria.
Lisätyt tiedot	Katso kohta Rajoitukset
Sanamuodot tai typografiset päivitykset	Katso kohdat Menettely, Suorituskyky, Rajoitukset, Varoitus ja varotoimet, Säilytys ja stabiliteetti.
Poistetut osat	Esimerkki kliinisistä käyttötarkoituksista, Reagenssit, Laboratorionsisäinen toistettavuus, Lineaarisuus
Päivitetyt osat	Käyttötarkoitus, GHS-vaaraluokitus, Merkit pilaantumisesta, Menettely, Liite.

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AX	Huhtikuu 2023
Päivitetyt osat	Lisää kazakki
Päivitetyt osat	Säilytys ja stabiliteetti

Tarkistettu versio	AY
Tarkistuksen päivämäärä	Toukokuu 2024
Päivitetyt käännökset	**Kliininen merkitys:**
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Tarkistettu versio	AZ
Tarkistuksen päivämäärä	Heinäkuu 2024
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Symboliluettelo

Symbolisanasto on saatavana osoitteessa beckman.com/techdocs (asiakirjan numero B60062)

	Προδιαγραφές
Ειδικότητα	CD56
Κλώνος	N901 (NKH-1)
Υβρίδωμα	NS1 x balb/c
Ανοσογόνο	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Ανοσοσφαιρίνη	IgG1
Είδος	Μυς
Κάθαρση	Χρωματογραφία συγγένειας
Φθορόχρωμα	R Phycoerythrin (PE)
Γραμμομοριακή αναλογία	PE/Ig: 0,5 - 1,5
διέγερση λ	488 nm
Μέγιστη τιμή εκπομπών	575 nm
Ρυθμιστικό Διάλυμα	PBS pH 7,2 συν 2 mg/mL BSA και 0,1% NaN_3

IOTest
Συζευγμένο αντίσωμα
CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20 µL/εξέταση

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Αυτό το συζευγμένο με φθοροχρώματα αντίσωμα επιτρέπει την ποιοτική και μη αυτοματοποιημένη ταυτοποίηση των κυτταρικών πληθυσμών που εκφράζουν το αντιγόνο CD56 που απαντάται σε ανθρώπινα βιολογικά δείγματα, με χρήση κυτταρομετρίας ροής (δείτε την παρακάτω ενότητα «Δείγματα»).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Αυτή η εξέταση βασίζεται στην ικανότητα συγκεκριμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων να δεσμεύονται στους αντιγονικούς καθοριστές που εκφράζονται από τα λευκοκύτταρα.

Η ειδική χρώση των λευκοκυττάρων πραγματοποιείται μέσω της επώασης του δείγματος με το αντιδραστήριο IOTest. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια αφαιρούνται στη συνέχεια με λύση και τα λευκοκύτταρα, τα οποία δεν επηρεάζονται από αυτήν τη διαδικασία, αναλύονται με κυτταρομετρία ροής.

Το κυτταρόμετρο ροής μετρά τη διάχυση φωτός και τον φθορισμό των κυττάρων. Καθιστά δυνατή την οριοθέτηση του πληθυσμού ενδιαφέροντος εντός του ηλεκτρονικού παραθύρου που ορίζεται σε ένα ιστόγραμμα, το οποίο συσχετίζει την ορθογώνια διάχυση φωτός (πλάγια σκέδαση ή SS) και τη διάχυση φωτός κλειστής γωνίας (πρόσθια σκέδαση ή FS). Άλλα ιστογράμματα που συνδυάζουν δύο από τις διαθέσιμες διαφορετικές παραμέτρους του κυτταρόμετρου μπορούν να χρησιμοποιηθούν υποστηρικτικά κατά το στάδιο της οριοθέτησης, ανάλογα με την εφαρμογή που επιλέγει ο χρήστης.

Ο φθορισμός των οριοθετημένων κυττάρων αναλύεται προκειμένου να είναι δυνατή η διάκριση μεταξύ των θετικά σημασμένων συμβάντων και των μη σημασμένων συμβάντων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ποσοστό των θετικών συμβάντων σε σχέση με το σύνολο των συμβάντων που ελήφθησαν από την οριοθέτηση.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΟΣ ΧΡΗΣΤΗΣ

Αυτό το προϊόν προορίζεται για επαγγελματική εργαστηριακή χρήση.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΝΑΦΕΙΑ

Το CD56-PE είναι ένα αντίσωμα CD56 που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό κυττάρων που εκφράζουν το αντιγόνο CD56 με κυτταρομετρία ροής. Αυτό το προϊόν από μόνο του δεν μπορεί να παράγει οποιοδήποτε διαγνωστικό συμπέρασμα και δεν προορίζεται για αυτήν τη χρήση.

Όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλους δείκτες, αυτό το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μία ή περισσότερες από τις ακόλουθες λειτουργίες:

- Ως βοήθημα στη διαφορική διάγνωση μη φυσιολογικών αιματολογικά ασθενών με υποψία αιμοποιητικής νεοπλασίας και για την παρακολούθηση ασθενών με γνωστή αιμοποιητική νεοπλασία.
- Ως βοήθημα στη διάγνωση ασθενών με υποψία ανοσοανεπάρκειας και για την παρακολούθηση ασθενών με γνωστή ανοσοανεπάρκεια.
- Ως βοήθημα στην πρόγνωση ασθενών με αιμοποιητική νεοπλασία.
- Για την παρακολούθηση της διαδικασίας μεταμόσχευσης ή των αποτελεσμάτων.

Δείτε τις ακόλουθες παραπομπές:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Τα δείγματα φλεβικού αίματος πρέπει να διατηρούνται σε αποστειρωμένα σωληνάρια που περιέχουν άλας EDTA ως αντιπηκτικό.

Τα δείγματα θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) και δεν θα πρέπει να ανακινούνται. Πριν από τη λήψη του δείγματος προς εξέταση, τα δείγματα πρέπει να ομογενοποιούνται με ήπια ανάδευση.

Τα δείγματα πρέπει να αναλύονται εντός 24 ωρών από τη φλεβοκέντηση.

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ

Δείτε το ειδικό για την παρτίδα πιστοποιητικό ανάλυσης στη διεύθυνση www.beckman.com.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

1. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης.
2. Μην καταψύχετε.
3. Αφήστε το να περιέλθει σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) πριν από τη χρήση.

4. Ελαχιστοποιήστε την έκθεση στο φως.
5. Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διαφορετικά ενδέχεται να προκύψουν ψευδή αποτελέσματα.
6. Να χειρίζεστε τα διαλύματα αντισωμάτων που περιέχουν αζίδιο του νατρίου (NaN_3) με προσοχή. Μην εισπνέετε και αποφεύγετε κάθε επαφή με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.

   Επιπλέον, σε όξινο μέσο, το αζίδιο του νατρίου μπορεί να σχηματίσει ένα δυνητικά επικίνδυνο υδραζωτικό οξύ. Αν χρειαστεί να απορριφθεί, συνιστάται η αραίωση του αντιδραστηρίου με μεγάλη ποσότητα νερού πριν από την έκχυση στο αποχετευτικό σύστημα, προκειμένου να αποφευχθεί η συσσώρευση αζιδίου του νατρίου στις μεταλλικές σωληνώσεις και να αποτραπεί ο κίνδυνος έκρηξης.
7. Πρέπει να θεωρείτε όλα τα δείγματα αίματος δυνητικά μολυσματικά και να τα χειρίζεστε με προσοχή (ειδικότερα: να φοράτε προστατευτικά γάντια, ποδιές και γυαλιά).
8. Μην χρησιμοποιείτε ποτέ πιπέτα με το στόμα και αποφεύγετε κάθε επαφή των δειγμάτων με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.
9. Τα σωληνάρια αίματος και το υλικό μίας χρήσης που χρησιμοποιούνται για τον χειρισμό πρέπει να απορρίπτονται σε ειδικά δοχεία που προορίζονται για αποτέφρωση.
10. Τα αντιδραστήρια και τα απόβλητα πρέπει να απομακρύνονται σύμφωνα με τις τοπικές απαιτήσεις.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ GHS

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο

SDS Το δελτίο δεδομένων ασφάλειας διατίθεται στη διεύθυνση beckmancoulter.com/techdocs

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Πρέπει να φυλάσσετε αυτό το αντιδραστήριο σε θερμοκρασία 2 έως 8 °C και να το προστατεύετε από το φως πριν και μετά το άνοιγμα του φιαλιδίου.

Διάρκεια ζωής κλειστού φιαλιδίου ανά μελέτη σταθερότητας: 1095 ημέρες.

Σταθερότητα ανοιχτού φιαλιδίου: το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό για 180 ημέρες.

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ

Οποιαδήποτε μεταβολή στην εμφάνιση των αντιδραστηρίων είναι πιθανό να υποδεικνύει αλλοίωση και το αντιδραστήριο δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται.

Για επιπλέον πληροφορίες ή σε περίπτωση παραλαβής ελαττωματικού προϊόντος, επικοινωνήστε με την υπηρεσία εξυπηρέτησης πελατών της Beckman Coulter στο 800-742-2345 (για ΗΠΑ και Καναδά) ή με τον τοπικό αντιπρόσωπο της Beckman Coulter.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Το συντηρητικό αζιδίου του νατρίου μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικές ενώσεις στους μεταλλικούς αποχετευτικούς αγωγούς. Δείτε το ενημερωτικό δελτίο του NIOSH: Explosive Azide Hazard (Κίνδυνος έκρηξης αζιδίου) (16/8/76)
Για να αποφύγετε την ενδεχόμενη συσσώρευση ενώσεων αζιδίου, να εκπλένετε τους σωλήνες αποβλήτων με νερό μετά την απόρριψη μη αραιωμένου αντιδραστηρίου. Η απόρριψη του αζιδίου του νατρίου πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους αντίστοιχους τοπικούς κανονισμούς.

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ KIT:

- Σωλήνες δειγματοληψίας και υλικό που είναι απαραίτητο για τη δειγματοληψία.
- Αυτόματες πιπέτες με ρύγχη μιας χρήσης για 20, 100 και 500 µL.
- Πλαστικά σωληνάρια αιμόλυσης.
- Αντιδραστήριο λύσης ερυθροκυττάρων με στάδιο πλύσης μετά τη λύση. Για παράδειγμα: VersaLyse (Ref. A09777).
- Αντιδραστήριο μονιμοποίησης λευκοκυττάρων. Για παράδειγμα: Διάλυμα μονιμοποίησης IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ισοτυπικός μάρτυρας PE: Αντιδραστήριο IOTest (Ref. A07796).
- Ρυθμιστικό διάλυμα (PBS: 0,01 M φωσφορικό νάτριο, 0,145 M χλωριούχο νάτριο, pH 7,2).
- Φυγόκεντρος.
- Αυτόματος αναδευτήρας (τύπου περιδίνησης).
- Κυτταρόμετρο ροής.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ VERSALYSE

Για κάθε δείγμα που αναλύεται, εκτός του σωληναρίου εξέτασης, μπορεί να προστεθεί ένα σωληνάριο μάρτυρα μέσα στο οποίο αναμειγνύονται τα κύτταρα παρουσία του ισοτυπικού μάρτυρα (Ref. A07796).

1. Προσθέστε 20 µL ειδικού συζευγμένου αντισώματος IOTest σε κάθε δοκιμαστικό σωληνάριο και, εάν απαιτείται, 20 µL του ισοτυπικού μάρτυρα σε κάθε σωληνάριο μάρτυρα.
2. Προσθέστε 100 µL του αναλυόμενου δείγματος σε κάθε σωληνάριο. Περιδινήστε απαλά τα σωληνάρια.
3. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) για 15 έως 20 λεπτά, προστατεύοντας από το φως.
4. Στη συνέχεια, πραγματοποιήστε λύση των ερυθροκυττάρων. Ανατρέξτε στο φύλλο οδηγιών του VersaLyse (Ref. A09777) και ακολουθήστε κατά προτίμηση τη διαδικασία «με ταυτόχρονη μονιμοποίηση», που περιλαμβάνει την προσθήκη 1 mL μείγματος «μονιμοποίησης και λύσης», το οποίο παρασκευάστηκε πρόχειρα. Περιδινήστε αμέσως επί ένα δευτερόλεπτο και επωάστε επί 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, προστατεύοντας από το φως.
5. Φυγοκεντρήστε για 5 λεπτά στα 150 x g σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση.
7. Πραγματοποιήστε επαναιώρηση του κυτταρικού ιζήματος με 3 mL PBS.
8. Επαναλάβετε το βήμα 5.

9. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση και επαναιωρήστε το κυτταρικό ίζημα με:

- 0,5 mL ή 1 mL PBS συν 0,1% φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να φυλαχθούν για λιγότερο από 24 ώρες. (Μπορείτε να παρασκευάσετε διάλυμα 0,1% φορμαλδεΰδης/PBS με αραίωση 12,5 µL του μονιμοποιητικού διαλύματος IOTest 3 (Ref. A07800) 10πλάσιας συγκέντρωσης σε 1 mL PBS).
- 0,5 mL ή 1 mL PBS χωρίς φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να αναλυθούν εντός 2 ωρών.

Σημείωση: Σε κάθε περίπτωση, φυλάσσετε τα παρασκευάσματα προστατευμένα από το φως, σε θερμοκρασία μεταξύ 2 και 8 °C.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Στα εργαστήριά μας, τα δείγματα ολικού αίματος από 25 φαινομενικά υγιείς δότες υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με χρήση του αντιδραστηρίου που περιγράφεται παραπάνω. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν για την καταμέτρηση των θετικών συμβάντων ενδιαφέροντος με αυτό το αντιδραστήριο παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

Θετικός στόχος	Αριθμός	Μέση τιμή (%)	SD	CV (%)
Λεμφοκύτταρα	25	18,74	6,02	32,10

Οι τιμές αυτές παρέχονται αποκλειστικά για ενδεικτικούς σκοπούς. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να ορίσει τις δικές του αναμενόμενες τιμές βάσει του τοπικού πληθυσμού των φυσιολογικών δοτών.

ΑΠΟΔΟΣΗ

Τα δεδομένα απόδοσης λαμβάνονται με χρήση της διαδικασίας που περιγράφηκε παραπάνω σε δείγματα αίματος ηλικίας μικρότερης των 24 ωρών που συλλέχθηκαν προηγουμένως σε αποστειρωμένα σωληνάρια με άλας EDTA ως αντιπηκτικό. Η ανάλυση εκτελείται εντός 2 ωρών από την ανοσοχρώση.

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Το μοριακό βάρος της έντονα γλυκοζυλιωμένης πρωτεΐνης CD56 (μόριο NKH1) είναι 200–220 kDa (10,11). Εκφράζεται σε έναν υποπληθυσμό των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος, ο οποίος επιδεικνύει κυτταροτοξικότητα μη περιοριζόμενη από μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας (10,12). Το μονοκλωνικό αντίσωμα N901 (NKH-1) αντιδρά με την πλειονότητα των NK κυττάρων (10,11). Επίσης, αντιδρά με έναν μικρό υποπληθυσμό CD3 θετικών Τ κυττάρων, ο οποίος προκαλεί μειωμένη κυτταροτοξική δραστηριότητα (12). Αυτό το αντίσωμα δεν αντιδρά με μονοκύτταρα, κοκκιοκύτταρα, ερυθροκύτταρα ή Β λεμφοκύτταρα. Το αντίσωμα N901 (NKH-1) αντιστοιχίστηκε στη συστάδα διαφοροποίησης CD56 κατά τη διάρκεια της 4ης Διεθνούς συνάντησης εργασίας για τα αντιγόνα διαφοροποίησης των ανθρώπινων λευκοκυττάρων, που πραγματοποιήθηκε το 1989 στη Βιέννη, Αυστρία (13).

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Οι ποσοστιαίες θετικές τιμές προσδιορίστηκαν με χρήση ολικού αίματος. Κάθε δείγμα αναλύθηκε 4 φορές, δύο φορές την ημέρα για 1 ημέρα σε 2 όργανα με χρήση 2 παρτίδων αντιδραστηρίων μονοκλωνικού αντισώματος CD56-PE. Οι μετρήσεις (% θετικών) πραγματοποιήθηκαν σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με βάση τη μέθοδο CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Αξιολόγηση της απόδοσης ακρίβειας για μεθόδους ποσοτικής μέτρησης).

Τα κριτήρια έγκρισης εξαρτώνται από τον αριθμό των θετικών συμβάντων που μετρώνται για κάθε πληθυσμό:

- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος <1.500, <15% CV
- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος >1.500, <10% CV

Λεμφοκύτταρα							
Αριθμός θετικών συμβάντων (μέσος όρος) = 1083							
	Μεταξύ χειριστών	Μεταξύ κυτταρόμετρων	Εντός παρτίδας	Μεταξύ παρτίδων	Μεταξύ αναλύσεων	Εντός ανάλυσης	Σύνολο
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ακρίβεια του CD56-PE αξιολογήθηκε με σύγκριση των αποτελεσμάτων με ένα αντιδραστήριο αναφοράς ως μέσο πρόγνωσης, σε ένα σύνολο δειγμάτων ολικού αίματος που αναλύθηκε σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Το συστηματικό σφάλμα μεταξύ εξέτασης και αντιδραστηρίου αναφοράς προσδιορίστηκε με βάση τη διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δοκιμής. Εάν το συστηματικό σφάλμα βρίσκεται εντός του επιτρεπόμενου εύρους σφαλμάτων ή η τιμή p δεν υποδεικνύει καμία σημαντική διαφορά (>0,05), τα αποτελέσματα δοκιμών για τα δύο αντιδραστήρια θεωρούνται ισοδύναμα.

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον πίνακα που ακολουθεί:

Αριθμός δοτών = 25				
Θετικός στόχος	Μέση τιμή Δ	Κριτήρια κυττάρων Δ %	Τιμή p	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
Λεμφοκύτταρα	-0,25	<5	0,262	PASS

ΟΡΙΟ ΤΥΦΛΟΥ ΚΑΙ ΟΡΙΟ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

Διεξήχθη μια μελέτη με βάση τις οδηγίες του CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Αξιολόγηση της ικανότητας ανίχνευσης για διαδικασίες μέτρησης κλινικών εργαστηρίων). Το όριο ανίχνευσης (ΟΑ) είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση αναλυόμενης ουσίας που μπορεί να ανιχνευτεί σταθερά. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Positive Target	Όριο τυφλού (κύτταρο/µL)	Όριο ανίχνευσης (κύτταρο/µL)
Λεμφοκύτταρα	4	6

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Η κυτταρομετρία ροής ενδέχεται να παράγει ψευδή αποτελέσματα αν το κυτταρόμετρο δεν είναι σωστά ευθυγραμμισμένο, αν οι διαρροές φθορισμού δεν έχουν αντισταθμιστεί σωστά και αν οι περιοχές δεν έχουν τοποθετηθεί προσεκτικά.
2. Η τεχνική λύσης RBC είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται με ένα βήμα πλύσης, καθώς το συγκεκριμένο αντιδραστήριο δεν έχει βελτιστοποιηθεί για τεχνικές λύσης «χωρίς πλύση».

3. Ακριβή και επαναλήψιμα αποτελέσματα προκύπτουν στο μέτρο που οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι σύμφωνες με το ένθετο τεχνικών οδηγιών και συμβατές με τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές.
4. Το συζευγμένο αντίσωμα αυτού του αντιδραστηρίου είναι βαθμονομημένο ώστε να προσφέρει την καλύτερη αναλογία ειδικής σήμανσης/μη ειδικής σήμανσης. Γι' αυτό είναι σημαντικό να τηρείτε την αναλογία όγκου αντιδραστηρίου/όγκου δείγματος σε κάθε εξέταση.
5. Σε περίπτωση υπερλευκοκυτπάρωσης, αραιώστε το αίμα σε PBS ώστε να επιτευχθεί τιμή περίπου 5 x 10^9 λευκοκύτταρα/L (14).
6. Σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις, όπως η σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια ή οι αιμοσφαιρινοπάθειες, η λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων ενδέχεται να είναι αργή, ατελής ή και ανέφικτη. Σε αυτήν την περίπτωση, συνιστάται η απομόνωση των μονοπύρηνων κυττάρων με διαβάθμιση πυκνότητας (για παράδειγμα Ficoll) πριν από τη χρώση (15).
7. Σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπείες με αντι-ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα, η ανίχνευση των ειδικών στοχευόμενων αντιγόνων ενδέχεται να είναι μειωμένη ή να απουσιάζει λόγω μερικού ή πλήρους αποκλεισμού από το θεραπευτικό αντίσωμα.
8. Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων του CD56-PE θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η συνολική κλινική εικόνα του ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων των συμπτωμάτων, του κλινικού ιστορικού, των δεδομένων πρόσθετων εξετάσεων και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Δείτε το Παράρτημα για παραδείγματα και παραπομπές.

ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ

Η επωνυμία Beckman Coulter, το τυποποιημένο λογότυπο και τα σήματα προϊόντων και υπηρεσιών της Beckman Coulter που αναφέρονται στο παρόν είναι εμπορικά σήματα ή σήματα κατατεθέντα της Beckman Coulter, Inc. στις Ηνωμένες Πολιτείες και σε άλλες χώρες.

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Για ασθενή/χρήστη/τρίτους στην Ευρωπαϊκή Ένωση και σε χώρες με όμοιο ρυθμιστικό καθεστώς (Οδηγία 2017/746/ΕΕ σχετικά με τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα), εάν, κατά τη χρήση αυτής της συσκευής ή ως αποτέλεσμα της χρήσης της, προκύψει σοβαρό περιστατικό, πρέπει να το αναφέρετε στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στις εθνικές αρχές της χώρας στην οποία κατοικείτε.

Το Summary of Safety and Performance (Σύνοψη ασφάλειας και απόδοσης) είναι διαθέσιμο στη βάση δεδομένων EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΕΩΝ

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ AD:	Ημερομηνία έκδοσης: Σεπτέμβριος 2019

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AW	Φεβρουάριος 2022
Ενημερώσεις για την επίτευξη συμμόρφωσης με την παγκόσμια πολιτική σήμανσης της Beckman Coulter και σύμφωνα με τις απαιτήσεις IVD-R (ΕΕ)2017/746:	
Προσθήκη ενοτήτων	Αριθμός BSI 2797, προβλεπόμενος χρήστης, κλινική συνάφεια, συγκέντρωση, πιστότητα, ακρίβεια, όριο τυφλού και όριο ανίχνευσης, πρόσθετες πληροφορίες, ιστορικό αναθεωρήσεων.
Προσθήκη πληροφοριών	Δείτε τις ενότητες «Περιορισμοί»
Εκφραστικές ή τυπογραφικές ενημερώσεις	Δείτε τις ενότητες «Διαδικασία», «Απόδοση», «Περιορισμοί», «Προειδοποίηση και προφυλάξεις», «Αποθήκευση και σταθερότητα».
Αφαίρεση ενοτήτων	Παράδειγμα κλινικών εφαρμογών, αντιδραστήρια, διεργαστηριακή επαναληψιμότητα, γραμμικότητα
Ενημερωμένες ενότητες	Προβλεπόμενη χρήση, Ταξινόμηση επικινδυνότητας κατά GHS, Ενδείξεις αλλοίωσης, Διαδικασία, Παράρτημα.

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AX	Απρίλιος 2023
Ενημερωμένες ενότητες	Προσθήκη Καζακικών
Ενημερωμένες ενότητες	Φύλαξη και σταθερότητα

Αναθεωρημένη έκδοση	AY
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Μάιος 2024
Ενημέρωση μεταφράσεων	**Κλινική συνάφεια:**
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθεωρημένη έκδοση	AZ
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Ιούλιος 2024
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Υπόμνημα συμβόλων

Το γλωσσάριο συμβόλων είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση beckman.com/techdocs (αριθμός εγγράφου B60062)

	仕様
特異性	CD56
クローン	N901 (NKH-1)
ハイブリドーマ	NS1 x balb/c
免疫原	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
免疫グロブリン	IgG1
動物種	マウス
精製	アフィニティークロマトグラフィー
蛍光色素	R Phycoerythrin (PE)
モル比	PE / Ig： 0.5 - 1.5
λ励起	488 nm
発光のピーク	575 nm
緩衝化剤	PBS(pH 7.2) + 2 mg/mL BSAおよび0.1% NaN_3

IOTest

コンジュゲート抗体

CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20 µL/テスト

***体外*診断用医薬品**

用途

この蛍光色素結合抗体混合物により、フローサイトメトリーを用いてヒト生物検体に存在するCD56抗原を発現する細胞集団の定性的かつ非自動での同定が可能になります（以下の「検体」の項を参照）。

原理

このテストは、白血球が発現する抗原決定因子に対する特異的モノクローナル抗体の結合能に基づいています。

白血球の特異的染色は、検体をIOTest試薬とインキュベートすることによって行います。次に、赤血球を溶解によって除去し、このプロセスの影響を受けない白血球をフローサイトメトリーによって分析します。

フローサイトメーターは、細胞の光拡散および蛍光を測定します。これにより、直角散乱光（側方散乱、SS）および鋭角散乱光（前方散乱、FS）と相関するヒストグラム上で規定した電子枠内で対象集団の限界設定が可能になります。ユーザーが選択したアプリケーションに依存して、サイトメーターで利用可能な種々のパラメーターの2つを組み合わせたその他のヒストグラムが、ゲーティング段階の補助として利用できます。

陽性染色イベントと未染色イベントを鑑別するために、区分した細胞の蛍光を測定します。結果は、ゲーティングで得られた全イベントに対する陽性イベントの比率として表します。

対象ユーザー

本製品は、検査室での専門的な使用を目的としています。

臨床的妥当性

CD56-PEは、フローサイトメトリーでCD56抗原を発現する細胞を同定および特性評価するために使用する抗体です。CD56この製品だけで診断の結論を下すことはできず、そのように意図されていません。

本製品は、他のマーカーと組み合わせて使用する場合、次の機能の1つまたは複数で使用できます。

- 造血系新生物が疑われる血液学的に異常な患者の鑑別診断を補助し、既知の造血系新生物を有する患者をモニタリングするため。
- 免疫不全が疑われる患者の診断を補助し、既知の免疫不全患者をモニタリングするため。
- 造血系新生物を有する患者の予後を支援するため。
- 移植プロセスまたは結果をモニターするため。

以下の参考文献を参照してください。

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

検体

静脈血は、抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブを用いて採取しなければなりません。

検体は室温（18～25°C）で保管し、揺らさないようにする必要があります。検体は、テスト検体を採取する前に、穏やかな撹拌によって均質化する必要があります。

この検体は、静脈穿刺から24時間以内に分析する必要があります。

濃度

www.beckman.comでロット固有の分析証明書を参照してください。

警告および注意

1. 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
2. 凍結しないでください。
3. 使用前に室温（18～25°C）にしてください。
4. 露光をできるだけ避けてください。
5. 試薬の微生物汚染を避けてください。誤った結果の原因となる場合があります。

6. アジ化ナトリウム（NaN_3）を含む抗体溶液は慎重に扱う必要があります。体内に摂取してはならず、皮膚、粘膜および眼との接触はすべて避けてください。

   また、酸性媒体では、アジ化ナトリウムから潜在的危険性のあるアジ化水素酸が生成されることがあります。アジ化ナトリウムを含む試薬を廃棄する必要がある場合、金属製のパイプにアジ化ナトリウムが蓄積しないように、また爆発の危険性を防ぐために、試薬を多量の水で希釈してから排水システムに廃棄することを推奨します。
7. すべての血液検体は感染性の可能性があるとみなして慎重に取り扱う必要があります（特に保護手袋、実験着、ゴーグルの着用）。
8. 絶対に口でピペットを吸わないでください。また、皮膚、粘膜、目に検体が接触しないようにしてください。
9. 使用済みの採血管およびディスポーザブル製品は、焼却用の専用容器に入れて廃棄してください。
10. 試薬や廃棄物は地方自治体の要件に従って廃棄してください。

GHSハザード分類

危険有害物質には分類されない

SDS　安全性データシートは、beckmancoulter.com/techdocsで入手できます。

保管および安定性

この試薬は、バイアル開封の前後に2～8℃で保管し、遮光する必要があります。

各安定性試験におけるクローズドバイアルの保存期間：1095日間

開封後のバイアル：試薬は180日間安定しています。

変質や劣化の兆候

試薬の物理的な外観の変化は劣化の徴候である場合があり、その試薬を使用してはなりません。

追加情報に関して、または損傷している製品をお受け取りになった場合、ベックマン・コールターのカスタマーサービス800-742-2345（米国またはカナダ）にお電話をくださるか、最寄りの代理店に連絡してください。

内容

保存剤のアジ化ナトリウムは、金属製排水管内で爆発性化合物を生成するおそれがあります。 NIOSH Bulletinを参照してください: アジド爆発危険性（76/8/16）
アジド化合物が蓄積する可能性を回避するため、未希釈の試薬を廃棄した後は排水管を水で洗い流します。アジ化ナトリウムは地方自治体の規定に従い適切に廃棄してください。

ご用意いただくもの:

- サンプリングに必要なサンプリングチューブと材料。
- 使い捨てチップ付き自動ピペット（100および500 µL用）。20
- プラスチックの溶血チューブ。
- 溶血処理後に洗浄操作した赤血球溶血試薬。例：VersaLyse（製品番号A09777）。
- 白血球固定試薬。例：IOTest 3固定液（製品番号A07800）。
- アイソタイプ対照PE：IOTest試薬（製品番号A07796）。
- 緩衝化剤（PBS：0.01 Mリン酸ナトリウム、0.145 M塩化ナトリウム、pH 7.2）。
- 遠心機
- 自動アジテーター（ボルテックスタイプ）。
- フローサイトメーター

VERSALYSE試薬による手順

測定する各検体について、テストチューブのほか、アイソタイプ対照存在下で細胞を混合した対照チューブ1本を追加することができます（製品番号A07796）。

1. 各テストチューブに20 µLの特異的IOTest結合抗体を加え、必要に応じて20 µLのアイソタイプ対照を各対照チューブに加えます。
2. 各チューブに100 µLのテスト検体を添加します。チューブを穏やかに攪拌します。
3. 遮光した状態で、室温（18～25°C）で15～20分間インキュベートします。
4. 次に、赤血球の溶解を行います。VersaLyse(製品番号A09777)のリーフレットを参照し、できれば「同時固定」と呼ばれる手順に従います。この手順では、その場で調製した「固定/溶解」混合液1 mLを加えます。直ちに1秒間撹拌し、室温、遮光下で10分間インキュベートします。
5. 室温で5分間遠心分離（150 x g）します。
6. 吸引により上清を除去します。
7. 3 mLのPBSを用いて細胞ペレットを懸濁します。
8. ステップ5を繰り返します。
9. 吸引により上清を除去し、以下により細胞ペレットを再懸濁します。

- 調製液の保存期間が24時間未満の場合、ホルムアルデヒド0.1％を含むPBS 0.5 mLまたは1 mL。（0.1%ホルムアルデヒドを含むPBSは、12.5 µLの10倍濃度のIOTest 3固定液（製品番号A07800）を1 mLのPBSに希釈して作製できます）。
- 調製液を2時間以内に分析する場合、ホルムアルデヒドを含まないPBS 0.5 mLまたは1 mL。

注記：いかなる場合でも、調製液は2～8°Cに保ち、遮光してください。

期待値

弊社検査室では、上記の試薬を用いて見かけ上健常なドナー25名の全血検体を処理しました。本試薬による陽性イベント数測定で得た結果を以下の表に示します。

陽性標的細胞	番号	平均（%）	SD	CV（%）
リンパ球	25	18.74	6.02	32.10

これらの値は、代表的な値であることのみを意図しています。各検査室は、正常なドナーの現地の集団から独自の期待値を確立してください。

性能

性能データは、以前に抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブに採取した24時間未満経過した血液検体を対象に、上述の手順を用いて取得しなければなりません。分析は、免疫染色後2時間以内に行います。

特異性

CD56重グリコシル化タンパク質（NKH1分子）の分子量は200～220 kDaです（10、11）。このタンパク質は、非主要組織適合性非限定細胞傷害性を示す末梢血リンパ球の亜集団上に発現します（10、12）。N901（NKH-1）モノクローナル抗体はNK細胞の大部分と反応します（10、11）。細胞傷害活性の減少を介するCD3陽性T細胞の小型亜集団とも反応します（12）。この抗体は単球、顆粒球、赤血球、B細胞とは反応しません。N901（NKH-1）抗体は、1989年にオーストリアのウィーンで開催された4th International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens（ヒト白血球分化抗原に関する第4回国際ワークショップ）において、CD56分化クラスターにアサインされました（13）。

精密性

陽性値の割合は、全血を使用して決定しました。各検体について、2つの装置で各4回を1日に2回、2ロットのCD56-PEモノクローナル抗体試薬を使用して測定しました。Naviosフローサイトメーターで測定（%陽性）しました。CLSIメソッドEP5-A2に基づいて分析しました。Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.（定量的測定メソッドの精密性性能の評価。）

当社の判定基準は、各集団について測定された陽性イベントの数によって異なります。

- 陽性イベント< 1,500の場合、CV< 15%
- 陽性イベント> 1,500の場合、CV< 10%

リンパ球							
陽性イベント数（平均）= 1083							
	オペレータ間	血球計算器間	ロット内	ロット間	測定間	測定内	総計
CV（%）	1.52	0.67	2.98	0.69	0.67	2.48	3.14
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

正確性

CD56-PEの正確度は、一連の全血検体についてNaviosフローサイトメーターで測定した規準としての参照試薬と、結果を比較して評価しました。テスト試薬と参照試薬との間のバイアスは、テスト結果の差に基づいて決定しました。バイアスが許容誤差範囲内にある場合、またはp値が有意差を示さない場合（> 0.05）、2つの試薬のテスト結果は同等と見なされます。

得られた結果を、下表にまとめます。

ドナー数 = 25				
陽性標的細胞	平均Δ	Δ % 細胞基準	p値	結果
リンパ球	-0.25	<5	0.262	PASS

ブランク上限と検出限界

試験は、CLSI EP17-A2、Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（臨床検査室測定手順の検出能力の評価）に基づいて実施されました。検出限界（LoD）とは、一貫して検出可能な分析物の最小濃度です。取得した結果は、下表に表示されています。

Positive Target	ブランク上限（細胞/µL）	検出限界（細胞/µL）
リンパ球	4	6

制限事項

1. フローサイトメトリーは、血球計数器が完全に配列されていない場合、蛍光リークが正しく相殺されていない場合、および領域が慎重に配置されていない場合、誤った結果を示す可能性があります。
2. この試薬は「洗浄なし」溶解手法用に最適化されていないため、洗浄ステップでRBC溶解法を使用することをお勧めします。
3. 取扱説明書および対応する検査室の実施基準に従って作業する限り、正確かつ再現性のある結果が得られます。
4. この試薬の結合抗体は、特異的シグナル/非特異的シグナル比が最適となるようにキャリブレーションされています。そのため、各テストでは、試薬量/検体量比を順守することが重要です。
5. 白血球増加症の場合、白血球数がおよそ5 x 10^9個/Lとなるよう、血液をPBSで希釈してください（14）。
6. 重度の腎不全やヘモグロビン異常など、特定の疾患状態では、赤血球の溶解が遅くなったり、不完全になったり、あるいは溶解できないことさえあります。この場合、染色する前に密度勾配（Ficollなど）を使用して単核細胞を分離することを推奨します（15）。
7. 抗ヒトモノクローナル抗体療法で治療を受けた患者では、治療用抗体による部分的または完全な遮断により、特定の標的抗原の検出が減少または消失する場合があります。
8. CD56-PEの結果は、患者の総合的な臨床像、例えば諸症状、病歴、他のテストデータ、その他の該当情報などを踏まえて解釈する必要があります。

附録にある例および参考文献を参照してください。

商標

ここに記載されているBeckman Coulter、ロゴマーク、ならびにベックマン・コールターの製品およびサービスマークは、ベックマン・コールターの米国およびその他の国における商標と登録商標です。

その他

欧州連合、および規制制度が欧州連合と同一の国の患者/ユーザー/第三者（体外診断医療機器規制2017/746/EU）については、本機器の使用中または使用の結果、重大な事故が発生した場合、製造元および/または認定代理店ならびに所管の行政機関に報告してください。

「安全性および性能の概要」はEUDAMEDデータベース：ec.europa.eu/tools/eudamedより入手できます。

改訂履歴

改訂番号 AD：	公開日：2019年9月

改訂	**発行日**
AW	2022年2月
ベックマン・コールターのグローバルラベリングポリシーおよびIVD-R（EU）2017/746の要件に準拠するための更新：	
セクションの追加	BSI 2797番号、対象ユーザー、臨床関連性、濃度、精度、正確度、ブランク上限および検出限界、その他、改訂履歴。
情報を追加	「制限事項」のセクションを参照してください
言い回しまたはタイプミスの更新	「手順」、「性能」、「制限」、「警告および注意」、「保管および安定性」のセクションを参照してください。
セクションの削除	臨床応用の例、試薬、検査室内再現性、直線性
セクションの更新	用途、GHSハザード分類、変質や劣化の兆候、手順、附録。

改訂	**発行日**
AX	4月 2023
セクションの更新	カザフ語を追加
セクションの更新	コントロールの調製

改訂版	AY
改訂日	5月 2024
更新された翻訳	**臨床的妥当性：**
セクションの更新	保管および安定性

改訂版	AZ
改訂日	7月 2024
セクションの更新	保管および安定性

記号凡例

記号一覧は、beckman.com/techdocsで入手できます（文書番号B60062）

	规格
特异性	CD56
克隆	N901 (NKH-1)
杂交瘤	NS1 x balb/c
免疫原	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
免疫球蛋白	IgG1
种类	小鼠
纯化	亲和色谱法
荧光染料	R Phycoerythrin (PE)
摩尔比率	PE/Ig： 0.5 - 1.5
λ 激励	488 nm
辐射峰值	575 nm
缓冲液	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 和 0.1% NaN_3

IOTest

结合抗体
CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20 µL/测试

供体外 *诊断*使用

预期用途

此种荧光染料结合抗体可通过流式细胞术对人体生物样本中存在的 CD56 抗原表达细胞群进行定性和非自动化鉴别（参阅下文“样本”部分）。

原理

该测试以特异性单克隆抗体能够与白细胞表达的抗原决定簇相结合这一特性为基础。

将样本与 IOTest 试剂一起培育，以便进行白细胞的特异性染色。然后通过裂解去除红细胞，再使用流式细胞术分析不受裂解过程影响的白细胞。

流式细胞仪可测定细胞的光漫射和荧光。这样可以限定直方图上定义的电子窗口内的感兴趣群体，直方图可以关联光的正交漫射（侧向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。细胞仪上可用的结合两个不同参数的其他直方图可以用于支持设门阶段，具体取决于用户所选的应用。

为了区分阳性染色事件和未染色事件，我们对划定细胞的荧光进行了分析。结果表示为阳性事件相对于设门获得的所有事件的百分比。

预期用户

本产品的预期用户为实验室专业人员。

临床意义

CD56-PE 是一种 CD56 抗体，这些抗体用于通过流式细胞术鉴定和表征表达 CD56 抗原的细胞。单独使用此产品不能产生任何诊断结论，这也并非其预期用途。

与其他标志物结合使用时，本产品可用于以下一种或多种用途：

- 对疑似有造血系统肿瘤的血液学异常患者进行辅助鉴别诊断，并对已知患有造血系统肿瘤的患者进行监测。
- 辅助诊断疑似有免疫缺陷的患者，并监测已知患有免疫缺陷的患者。
- 辅助造血系统肿瘤患者的预后诊断。
- 监测移植过程或结果。

参阅以下参考文献：

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

样本

必须使用含有 EDTA 盐作为抗凝血剂的无菌试管采集静脉血。

样本应保存在室温 (18-25°C) 条件下，并注意避免摇动。在吸取测试样本之前，应通过轻轻搅动使样本均质化。

样本必须在静脉采血后的 24 小时内分析。

浓度

请参阅 www.beckman.com 上的特定批次分析证书。

警告和注意事项

1. 请勿使用已过失效日期的试剂。
2. 切勿冷冻。
3. 使用前使其达到室温 (18–25°C)。
4. 尽量减少曝光。
5. 避免试剂受到微生物污染，否则可能出现错误结果。
6. 应小心处理含有叠氮化钠 (NaN_3) 的抗体溶液。请勿内服，并避免接触皮肤、粘膜和眼睛。

   此外，在中度酸性条件下，叠氮化钠可形成具有潜在危害的叠氮酸。若需要对其进行处置，建议您在将试剂倒入排污系统前用大量清水将其稀释，以避免叠氮化钠在金属管中累积并预防爆炸。

7. 所有血样都必须被视为具有潜在传染性，并且必须小心处理（具体地讲：穿戴防护手套、防护服和护目镜）。
8. 不得通过嘴巴移液，并避免样本以任何方式接触皮肤、黏膜和眼睛。
9. 用于处理的血液试管和一次性材料应丢弃于专门用于焚化的容器中。
10. 应根据当地要求处置试剂和废物。

GHS 危险等级分类

未被归为危险品

SDS 化学品安全技术说明书发布在 beckmancoulter.com/techdocs 上

存储和稳定性

在开瓶前后，必须将此试剂保存在 2-8°C 环境下，并注意避免光照。

根据稳定性研究的开封前保质期：1095 天。

已开瓶试剂的稳定性：试剂可稳定保存 180 天。

变质的迹象

试剂物理外观的任何变化都可能表明试剂变质，此时不应使用试剂。

有关其他信息，或者如果收到受损产品，请致电贝克曼库尔特公司客服：800-742-2345（美国或加拿大），或联系您当地的贝克曼库尔特代表。

目录

叠氮化钠防腐剂可在金属下水管道中形成易爆化合物。 请参阅 NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76)（美国国家职业安全与卫生研究所公报：易爆的叠氮化物危险品 [76/8/16]）。
为避免可能产生的叠氮化合物堆积，请在丢弃未经稀释的试剂后用水冲洗排污管。对叠氮化钠的丢弃必须符合当地的相关规定。

试剂盒中未提供的必需材料：

- 采样所需的采样管和材料。
- 可吸取 20100 和 500 µL 试剂的带有一次性吸头的自动移液器。
- 塑料溶血管。
- 红细胞溶解试剂在溶解后清洗。例如：VersaLyse（REF A09777）。
- 白细胞固定剂。例如：IOTest 3 固定剂（REF A07800）。
- 同型质控品 PE：IOTest 试剂（REF A07796）。
- 缓冲液（PBS：0.01 M 磷酸钠；0.145 M 氯化钠；pH 7.2）。
- 离心处理。
- 自动搅动器（旋涡型）。
- 流式细胞仪。

VERSALYSE 试剂的使用程序

对于分析的每种样本，除使用分析测试试管外，还可增加一个质控品试管，以在其中混合细胞与同型质控品（REF A07796）。

1. 将 20 µL 特异性 IOTest 结合抗体添加到每个分析测试试管中，并视需要将 20 µL 同型质控品添加到每个质控品试管中。
2. 添加 100 µL 测试样本到每个试管中。轻轻摇动试管。
3. 在室温 (18–25°C) 下避光孵育 15-20 分钟。
4. 然后进行红细胞裂解。请参阅 VersaLyse（REF A09777）说明书，最好按照名为“同时固定”的程序实施：加入 1 mL 临时配制的“固定-裂解”混合液。立即摇动 1 秒，并在室温条件下培育 10 分钟，注意避光。
5. 在室温下以 150 x g 离心处理 5 分钟。
6. 通过吸样去除上层清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新悬浮细胞微粒。
8. 重复第 5 步。
9. 通过吸样去除上层清液并使用以下溶液重新悬浮细胞微粒：

- 0.5 mL 或 1 mL PBS 与 0.1% 甲醛，若备品的保存时间低于 24 小时。（可通过在 1 mL PBS 中稀释 10 倍浓度的 12.5 µL IOTest 3 固定剂 [REF A07800] 获取含 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 0.5 mL 或 1 mL PBS，无甲醛，若制剂将在 2 小时内分析。

注释：任何情况下，制备试剂均需在 2-8°C 下避光保存。

预计值

我们在实验室中采用上述试剂处理了 25 名表观健康供体的全血样本。使用该试剂进行阳性目标颗粒计数得到的结果如下表所示：

阳性目标	数量	平均值 (%)	标准差	CV (%)
淋巴细胞	25	18.74	6.02	32.10

这些值仅供参考。各实验室应通过当地正常供体群体确定自己的预期值。

性能

使用上文描述的程序，通过分析之前采集在无菌试管（含有 EDTA 盐作为抗凝血剂）中未达 24 小时的血液样本获得了性能数据。在免疫染色后的 2 小时内进行分析。

特异性

CD56 高度糖基化蛋白（NKH1分子）的分子量为 200-220 kDa（10、11）。它表达于具有非主要组织相容性复合物限制性细胞毒性的外周血淋巴细胞亚群上（10、12）。N901 (NKH-1) 单克隆抗体可与大部分 NK 细胞反应（10、11）。它还与 CD3 阳性 T 细胞小亚群反应，从而介导减弱细胞毒活性 (12)。此抗体不与单核细胞、粒细胞、红细胞或 B 淋巴细胞反应。在 1989 年于奥地利维也纳举办的 4th International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens（第 4 届国际人类白细胞分化抗原会议）上，N901 (NKH-1) 抗体被分配到 CD56 分化群 (13)。

精度

阳性百分比值用全血测定。每份样本使用 2 个批次的 CD56-PE 单克隆抗体试剂，在 2 台仪器上运行 4 次，每天 2 次，持续 1 天。使用 Navios 流式细胞仪进行测量（阳性 %）。分析基于 CLSI method EP5-A2：Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：定量测量方法精度性能的评估）。

我们的接受限取决于针对每个群体所测得的阳性颗粒数：

- 如果阳性颗粒数 < 1,500，则 CV < 15%
- 如果阳性颗粒数 > 1,500，则 CV < 10%

淋巴细胞							
阳性颗粒数（平均值）= 1083							
	操作人员间	细胞仪间	批次内	批次间	运行间	运行内	总数
CV (%)	1.52	0.67	2.98	0.69	0.67	2.48	3.14
结果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

准确性

评估 CD56-PE 的准确性的方法为：将其与参考试剂分别应用于一组全血样本，然后用 Navios 流式细胞仪进行检测，之后比较结果。该测试与参考试剂之间的偏差根据测试结果的差异而确定。如果偏差在允许的错误范围内，或者 p 值没有显著差异 (> 0.05)，则认为这两种试剂的测试结果是等效的。

所得结果如下表所示：

献血人次 = 25				
阳性目标	平均值 Δ	Δ % 细胞标准	p 值	结果
淋巴细胞	-0.25	<5	0.262	PASS

空白检测限和检测限

研究人员根据 CLSI EP17-A2 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2 临床实验室测量程序检测能力的评估）进行了一项研究。检测限 (LOD) 指可被一致检出的最低分析物浓度。所得结果如下表所示：

Positive Target	空白检测限（个细胞/µL）	检测限（个细胞/µL）
淋巴细胞	4	6

限制

1. 若流式细胞术未完全校准、荧光泄漏未得到正确补偿或未在该区域谨慎定位，则流式细胞术可能会产生错误结果。
2. 最好使用包含洗涤步骤的 RBC 裂解技术，因为该试剂未针对“无洗涤”裂解技术进行优化。
3. 只要所使用的程序符合技术插页说明书并遵守实验室管理规范，就可以获得准确和可重现的结果。
4. 校准该试剂的结合抗体，以提供最佳的特异性信号/非特异性信号比率。因此，在每次测试中都务必遵从此试剂体积/样本体积比率。
5. 如果白细胞过多，请在 PBS 中稀释血液，使白细胞浓度降低到约 5 x 10^9 个/L (14)。
6. 在严重肾衰竭、血红蛋白病等特定疾病状态中，红细胞裂解会变得缓慢、不完全，甚至无法实现。在这种情况下，建议在染色前通过密度梯度（例如聚蔗糖）隔离单核细胞 (15)。
7. 接受抗人单克隆抗体治疗的患者可能会因治疗抗体的部分或完全阻断而难以或无法检测特定的靶抗原。
8. 在判读 CD56-PE 结果时，需参照患者的整体临床表现，包括：症状、临床病史、其他检查数据和其他适用的信息。

请参阅附录中的示例和参考文献。

商标

Beckman Coulter、标志以及文中提及的贝克曼库尔特产品和服务标记均是美国贝克曼库尔特有限公司在美国和其他国家/地区的商标或注册商标。

其他信息

对于欧盟及具有相同监管制度的国家/地区的患者/用户/第三方（Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices [有关体外诊断医疗装置的法规 2017/746/EU]）：如果在使用本装置期间或由于使用本装置而发生严重事件，请向制造商和/或其授权代表以及当地国家主管部门报告。

Summary of Safety and Performance（安全和性能摘要）提供在 EUDAMED 数据库中：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修订历史

修订版本 AD：	发布日期：2019 年 9 月

修订	**发布日期**
AW	2022 年 2 月

更新文档以符合贝克曼库尔特公司全球标签政策和 IVD-R (EU)2017/746 的要求：	
新增章节	BSI 2797 编号、预期用户、临床意义、浓度、精度、准确性、空白检测限和检测限、其他信息、修订记录。
添加了信息	参阅“限制”章节
更新了措辞或版面	参阅程序、性能、限制、警告和注意事项、储存和稳定性章节。
删除了几个章节	临床应用示例、试剂、实验室内重复性、线性度
更新后章节	预期用途、GHS 危险等级分类、变质的迹象、程序、附录。

修订	**发布日期**
AX	4 月 2023
更新后章节	添加哈萨克语
更新后章节	储存及稳定性

修订版本	AY
修订日期	5 月 2024
更新的翻译	**临床意义：**
更新后章节	修订历史

修订版本	AZ
修订日期	7 月 2024
更新后章节	修订历史

符号注解

符号词汇表发布于 beckman.com/techdocs（文档编号 B60062）

	Specifikacijos
Specifiškumas	CD56
Klonas	N901 (NKH-1)
Hibridoma	NS1 x balb/c
Imunogenas	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Imunoglobulinas	IgG1
Rūšis	Pelė
Išgryninimas	Gimininguмo chromatografija
Fluorochromas	R Phycoerythrin (PE)
Molinis santykis	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ žadinimas	488 nm
Spinduliuotės smailė	575 nm
Buferinis tirpalas	7,2 pH fosfato buferinis tirpalas plius 2 mg/ml GSA ir 0,1 % NaN_3

„IOTest“
Konjuguotas antikūnas CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 ml, 20 µl vienam tyrimui

***In vitro* diagnostiniam naudojimui**

NAUDOJIMO PASKIRTIS

Naudojant šį su fluorochromu konjuguotą antikūną, srauto citometrijos būdu galima kokybiškai ir neautomatizuotu būdu identifikuoti ląstelių populiacijas, išreiškiančias CD56 antigeną, esantį žmogaus biologiniuose mėginiuose (žr. paskesnį skyrių „Mėginiai“).

PRINCIPAS

Šis tyrimas pagrįstas specifinių monokloninių antikūnų gebėjimu jungtis prie antigenų determinantų, kuriuos ekspresuoja leukocitai.

Specifinis leukocitų dažymo procesas atliekamas mėginį inkubuojant reagentu „IOTest“. Tada lizuojant pašalinami eritrocitai ir srauto citometrijos būdu analizuojami leukocitai, kurie per šį etapą nepaveikiami.

Srauto citometru matuojama ląstelių šviesos sklaida ir fluorescencija. Šiuo būdu galima tiriamąją populiaciją apriboti histogramoje apibrėžtu elektroniniu langu, kuris koreliuoja su šviesos sklaida stačiu kampu (šonine sklaida arba ŠS) ir šviesos sklaida smailu kampu (priekine sklaida arba FS). Kitos citometre įdiegtos histogramos, kuriose derinami du skirtingi parametrai, gali būti naudojamos kaip papildoma priemonė nustatant atrankos intervalus, žiūrint, kokį naudojimo būdą pasirinko naudotojas.

Analizuojant apribotų ląstelių fluorescenciją, teigiamai nudažyti įvykiai atskiriami nuo neigiamai nudažytų. Rezultatai išreiškiami kaip teigiamų įvykių procentinė dalis visų įvykių, gautų nustačius atrankos intervalą, atžvilgiu.

NUMATOMAS NAUDOTOJAS

Šis gaminys skirtas naudoti specialistams laboratorijose.

KLINIKINĖ SVARBA

CD56-PE yra CD56 antikūnas, naudojamas CD56 antigeną ekspresuojančioms ląstelėms identifikuoti ir charakterizuoti srauto citometrijos būdu. Naudojant vien šį gaminį negalima padaryti jokios diagnostinės išvados ir jis nėra tam skirtas.

Kartu su kitais žymenimis naudojamas šis gaminys gali būti naudojamas vienu ar keliais iš toliau nurodytų tikslų.

- Hematologiškai nenormalių pacientų, kuriems įtariama kraujodaros sistemos neoplazma, diferencinei diagnozei palengvinti ir pacientams, kuriems jau nustatyta kraujodaros sistemos neoplazma, stebėti.
- Pacientų, kuriems įtariamas imunodeficitas, diferencinei diagnozei palengvinti ir pacientams, kuriems jau nustatytas imunodeficitas, stebėti.
- Kraujodaros sistemos neoplazma sergančių pacientų prognozės numatymui palengvinti.
- Transplantacijos procesui arba rezultatams stebėti.

Žr. šias nuorodas:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

MĖGINIAI

Veninio kraujo mėginius reikia imti į sterilius mėgintuvėlius su EDTA druska kaip antikoaguliantu.

Mėginius reikia laikyti kambario temperatūroje (18–25 °C) ir nekratyti. Prieš paimant tiriamąjį mėginį reikia atsargiai sujudinti mėginus, kad jie taptų vienalyčiai.

Mėginiai turi būti išanalizuoti per 24 valandas po venų punkcijos.

KONCENTRACIJA

Žr. konkrečios partijos analizės sertifikatą, pateikiamą interneto svetainėje www.beckman.com.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. Reagento nenaudoti pasibaigus galiojimo laikui.
2. Neužšaldyti.
3. Prieš naudojant reikia leisti sušilti iki kambario temperatūros (18–25 °C).
4. Laikykite kuo mažiau apšviestoje vietoje.

5. Saugokite, kad reagentai nebūtų užteršti mikrobais, nes antraip gali būti gaunami klaidingi rezultatai.
6. Su antikūnų tirpalais, kurių sudėtyje yra natrio azido (NaN_3), reikia elgtis atsargiai. Nevartokite į vidų ir saugokitės, kad nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.

   Be to, rūgščioje terpėje natrio azidas gali išskirti potencialiai pavojingą hidrazo rūgštį. Jei jį reikia pašalinti, prieš pilant į nutekėjimo sistemą, reagentą rekomenduojama praskiesti dideliu vandens kiekiu, kad būtų išvengta natrio azido kaupimosi metaliniuose vamzdžiuose ir išvengta sprogimo pavojaus.
7. Visi kraujo mėginiai turi būti laikomi potencialiai užkrečiamais ir su jais turi būti elgiamasi atsargiai (itin svarbu dėvėti apsaugines pirštines, apsiaustus ir akinius).
8. Jokiu būdu nesiurbkite burna ir saugokitės, kad mėginių nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.
9. Panaudoti kraujo mėgintuvėliai ir vienkartinės medžiagos turėtų būti išmetami į sudeginamas ad hoc talpyklas.
10. Reagentai ir atliekos turi būti šalinami pagal vietinius reikalavimus.

GHS PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Neklasifikuojama kaip pavojinga

SDS Saugos duomenų lapą galima gauti interneto svetainėje beckmancoulter.com/techdocs

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Prieš atidarant ir atidarius buteliuką reagentas turi būti laikomas 2–8 °C temperatūroje ir saugomas nuo šviesos.

Uždaryto buteliuko tinkamumo naudoti laikas pagal stabilumo tyrimą: 1095 d.

Atidaryto buteliuko stabilumas: reagentas lieka stabilus 180 d.

KOKYBĖS PABLOGĖJIMO POŽYMIAI

Bet koks reagentų fizinės išvaizdos pokytis gali reikšti pablogėjusias gaminio savybes, todėl tokio reagento naudoti negalima.

Prireikus papildomos informacijos arba gavę sugadintą gaminį skambinkite į „Beckman Coulter“ klientų aptarnavimo skyrių telefonu 800-742-2345 (JAV arba Kanadoje) arba susisiekite su vietiniu „Beckman Coulter“ atstovu.

TURINYS

Natrio azido konservantas metalo vamzdynuose gali sudaryti sprogiuosius junginius. Žr. „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (Nacionalinio darbų saugos ir sveikatos instituto biuletenį: sprogstamojo azido pavojus) (76-8-16).
Norėdami išvengti galimo azido junginių susikaupimo, išpylę į kanalizacijos sistemą neatskiesto reagento, vandeniu praplaukite nutekamuosius vamzdžius. Natrio azidas turi būti šalinamas pagal taikomų vietos reglamentų reikalavimus.

REIKALINGOS, BET SU RINKINIU NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS

- Mėginiams imti reikalingi mėginių ėmimo mėgintuvėliai ir medžiagos.
- Automatinės pipetės su vienkartiniais antgaliais, skirtos 20, 100 ir 500 µl tūrio mėginiams.
- Plastikiniai hemolizės mėgintuvėliai.
- Raudonųjų kraujo kūnelių lizavimo reagentas su plovimo etapu baigus lizuoti. Pavyzdys: „VersaLyse“ (kat. nr. A09777).
- Leukocitų fiksavimo reagentas. Pavyzdys: fiksavimo tirpalas „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800).
- Izotipų kontrolinė medžiaga PE: „IOTest“ reagentas (kat. Nr. A07796).
- Buferinis tirpalas (fosfato buferinis tirpalas: 0,01 M natrio fosfato; 0,145 M natrio chlorido; pH 7,2).
- Nucentrifuguokite.
- Automatinis maišytuvas (sūkurinio tipo).
- Srauto citometras.

PROCEDŪRA NAUDOJANT REAGENTĄ „VERSALYSE“

Analizuojant kiekvieną mėginį, be tiriamojo mėgintuvėlio galima naudoti vieną kontrolinį mėgintuvėlį, kuriame ląstelės sumaišytos su izotipine kontroline medžiaga (kat. Nr. A07796).

1. Į kiekvieną tiriamąjį mėgintuvėlį įpilkite po 20 µl specifinio su „IOTest“ konjuguoto antikūno ir prireikus į kiekvieną kontrolinį mėgintuvėlį įpilkite po 20 µl kiekvieno izotipo kontrolinės medžiagos.
2. Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite po 100 µl tiriamojo mėginio. Mėgintuvėlius atsargiai išmaišykite sūkuriniu būdu.
3. 15–20 minučių inkubuokite kambario temperatūroje (18–25 °C), saugodami nuo šviesos.
4. Tai padarę sulizuokite eritrocitus. Žr. „VersaLyse“ (kat. Nr. A09777) informacinį lapelį; rekomenduojama laikytis procedūros, vadinamos „su vienalaikiu fiksavimu“, kurios metu įpilama 1 ml prieš pat naudojant paruošto fiksavimo ir lizavimo mišinio. Tuojau pat vieną sekundę maišykite sūkuriniu būdu ir 10 minučių inkubuokite kambario temperatūroje, saugodami nuo šviesos.
5. 5 minutes centrifuguokite veikiant 150 x g jėgai kambario temperatūroje.
6. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą.
7. Iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami 3 ml fosfato buferinį tirpalą.
8. Pakartokite 5 veiksmą.
9. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą ir iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami toliau nurodytas medžiagas.

- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo ir 0,1 % formaldehido, jeigu preparatai bus laikomi mažiau nei 24 val. (0,1 % formaldehido fosfato buferinio tirpalo galima gauti 12,5 µl 10X koncentracijos fiksavimo tirpalo „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800) atskiedus 1 ml fosfato buferinio tirpalo.)
- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo be formaldehido, jeigu preparatai bus analizuojami per 2 val.

Pastaba. Visais atvejais preparatus laikykite 2–8 °C temperatūroje ir saugodami nuo šviesos.

TIKĖTINOS VERTĖS

Mūsų laboratorijose 25 tariamai sveikų donorų viso kraujo mėginiai buvo apdoroti pirmiau aprašytu reagentu. Toliau pateiktoje lentelėje nurodyti dominančių teigiamų įvykių skaičiaus rezultatai, gauti naudojant šį reagentą.

Teigiamas taikinys	Skaičius	Vidurkis (%)	SN	VK (%)
Limfocitai	25	18,74	6,02	32,10

Šios vertės tėra reprezentacinės. Kiekviena laboratorija turi iš vietinės normalių donorų populiacijos nustatyti savo numatomas vertes.

VEIKIMAS

Veikimo duomenys gauti, pirmiau aprašytą procedūrą atliekant su mažiau nei 24 val. senumo mėginiais, kurie buvo anksčiau paimti į sterilius mėgintuvėlius su antikoaguliantu EDTA druska. Analizė atliekama ne vėliau kaip 2 val. po imunodažymo.

SPECIFIŠKUMAS

CD56 labai glikozilinto baltymo (NKH1 molekulės) molekulinis svoris yra 200–220 kDa (10,11). Jis išreiškiamas periferinių kraujo limfocitų subpopuliacijoje, kuri demonstruoja ne didžiuoju audinių suderinamumo kompleksu ribojamą citotoksiškumą (10, 12). N901 (NKH-1) monokloninis antikūnas reaguoja su dauguma NK ląstelių (10,11). Jis taip pat reaguoja su nedidele CD3 teigiamų T ląstelių subpopuliacija, kuri sąlygoja silpnesnį citotoksinį aktyvumą (12). Šis antikūnas nereaguoja su monocitais, granulocitais, eritrocitais ir B limfocitais. N901 (NKH-1) antikūnas buvo priskirtas CD56 diferencijavimo klasteriui per 4-ąją tarptautinę konferenciją dėl žmogaus leukocitų diferencijavimo antigenų (ŽLDA), vykusią Vienoje, Austrijoje, 1989 m. (13).

GLAUDUMAS

Procentinės teigiamosios vertės nustatytos naudojant visą kraują. Kiekvienas mėginys buvo analizuojamas 4 kartus: 1 dieną, po du kartus, naudojant 2 prietaisus ir 2 CD56-PE monokloninių antikūnų reagentų partijas. Matavimai (% teigiamų) buvo atlikti srauto citometru „Navios“. Analizė atlikta pagal „CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods“ (CLSI metodą EP5-A2 „Kiekybinių matavimo metodų glaudumo veikimo vertinimas“).

Mūsų priėmimo kriterijai priklauso nuo kiekvienoje populiacijoje nustatyto teigiamų įvykių skaičiaus:

- jeigu teigiamų įvykių < 1 500, VK < 15 %
- Jeigu teigiamų įvykių > 1 500, VK < 10 %

Limfocitai							
Teigiamų įvykių skaičius (vidurkis) = 1083							
	Skirtingų operatorių	Skirtingų citometrų	Tos pačios partijos	Skirtingų partijų	Skirtingų analizių	Tos pačios analizės	Iš viso
VK (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
REZULTATAI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TIKSLUMAS

CD56-PE tikslumas vertintas palyginant rezultatus su etaloniniu reagentu kaip patvirtinamąja priemone, srauto citometru „Navios“ analizuojant viso kraujo mėginių rinkinį. Bandomojo ir etaloninio reagentų paklaida nustatyta pagal tyrimo rezultatų skirtumą. Jeigu paklaida neviršija leidžiamojo paklaidų diapazono arba p reikšmė nerodo reikšmingo skirtumo (> 0,05), abiejų reagentų tyrimo rezultatai laikomi lygiaverčiais.

Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Donorų skaičius = 25				
Teigiamas taikinys	Vidurkis Δ	Δ % ląstelių kriterijai	p reikšmė	REZULTATAI
Limfocitai	-0,25	<5	0,262	PASS

RUOŠINIO RIBA IR APTIKIMO RIBA

Pagal CLSI EP17-A2 dokumentą „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Klinikinių laboratorinių matavimų procedūrų aptikimo pajėgumų vertinimas) atliktas mokslinis tyrimas. Aptikimo riba (LOD) yra mažiausioji analitės koncentracija, kurią galima nuolat aptikti. Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Positive Target	Ruošinio riba (ląst./µl)	Aptikimo riba (ląst./µl)
Limfocitai	4	6

RIBOJIMAI

1. Atliekant srauto citometriją klaidingi rezultatai gali būti gauti tuo atveju, jei citometras nebuvo tiksliai sureguliuotas, fluorescencijos nuotėkiai nebuvo tinkamai kompensuoti ar regionai nebuvo kruopščiai išdėstyti.
2. Pageidautina taikant RBC lizavimo metodą atlikti plovimo etapą, nes šis reagentas nėra optimizuotas lizavimo „be plovimo“ metodikoms.
3. Tikslūs ir atkuriami rezultatai bus gaunami tol, kol naudojamos procedūros atitiks techniniame lapelyje pateiktą informaciją ir bus atliekamos laikantis geros laboratorijos praktikos.
4. Šio reagento konjuguotas antikūnas sukalibruotas taip, kad būtų gaunamas geriausias specifinio ir nespecifinio signalų santykis. Dėl šios priežasties atliekant kiekvieną tyrimą svarbu tiksliai laikytis nurodyto reagento ir mėginio tūrių santykio.
5. Hiperleukocitozės atveju kraują atskieskite fosfato buferiniu tirpalu, kad gautumėte maždaug 5 x 10^9 leukocitų/l koncentraciją (14).
6. Sergant kai kuriomis ligomis, pavyzdžiui, sunkiu inkstų nepakankamumu arba hemoglobinopatijomis, eritrocitai gali būti lėtai arba nevisiškai sulizuojami arba jų visai neįmanoma lizuoti. Tokiu atveju rekomenduojama prieš dažant atskirti vienbranduoles ląsteles tankio gradiento būdu (pavyzdžiui, Ficollo) (15).
7. Jeigu pacientams atliekama žmogaus monokloninių antikūnų terapija, specifiniai tiksliniai antigenai gali būti aptinkami prasčiau arba visai neaptinkami dėl dalinio arba visiško terapinio antikūno blokavimo.

8. CD56-PE rezultatai turi būti interpretuojami remiantis bendra paciento klinikine būkle, atsižvelgiant į: simptomus, klinikinę anamnezę, papildomų tyrimų duomenis ir kitą atitinkamą informaciją.

Pavyzdžiai ir nuorodos pateikti priede.

PREKIŲ ŽENKLAI

„Beckman Coulter“, stilizuotas logotipas ir kiti šiame dokumente nurodyti „Beckman Coulter“ gaminių ir prekių ženklai yra „Beckman Coulter, Inc.“ prekių ženklai arba registruotieji prekių ženklai Jungtinėse Amerikos Valstijose ir kitose šalyse.

PAPILDOMA INFORMACIJA

Pacientams / naudotojams / trečiosioms šalims Europos Sąjungoje ir šalyse, kuriose galioja identiški reguliaciniai reikalavimai (Reglamentas (ES) 2017/746 dėl in vitro diagnostikos medicinos priemonių): jeigu naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko sunkus incidentas, apie jį praneškite gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui ir savo šalies nacionalinei institucijai.

„Summary of Safety and Performance“ (Saugos ir veikimo suvestinė) pateikiama EUDAMED interneto svetainėje ec.europa.eu/tools/eudamed.

PERŽIŪRŲ ISTORIJA

PERŽIŪRA AD:	Leidimo data: 2019 m. rugsėjis

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AW	2022 m. vasaris
Atnaujinta pagal „Beckman Coulter“ visuotinių ženklinimo taisyklių ir IVD-R (ES)2017/746 reikalavimus.	
Pridėti skyriai	BSI 2797 numeris, „Numatomas naudotojas“, „Klinikinė svarba“, „Koncentracija“, „Glaudumas“, „Tikslumas“, „Ruošinio riba ir aptikimo riba“, „Papildoma informacija“, „Peržiūrų istorija“.
Pridėta informacija	Žr. skyrių „Ribojimai“
Frazavimo arba tipografiniai atnaujinimai	Žr. skyrius „Procedūra“, „Veikimas“, „Ribojimai“, „Įspėjimai ir atsargumo priemonės“, „Laikymas ir stabilumas“.
Pašalinti skyriai	„Klinikinio naudojimo pavyzdys“, „Reagentai“, „Laboratorijos vidaus atkartojamumas“, „Tiesiškumas“
Atnaujinti skyriai	„Paskirtis“, „Visuotiniai suderintos sistemos (GHS) pavojingumo klasifikacija“, „Kokybės pablogėjimo požymiai“, „Procedūra“, priedas.

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AX	Balandis 2023
Atnaujinti skyriai	Pridėta kazachų kalba
Atnaujinti skyriai	Laikymas ir stabilumas

Peržiūrėta versija	AY
Peržiūros data	Gegužė 2024
Atnaujintas vertimas	**Klinikinė svarba:**
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Peržiūrėta versija	AZ
Peržiūros data	Liepa 2024
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Simbolių sutartiniai ženklai

Simbolių terminų žodynas pateikiamas interneto svetainėje beckman.com/techdocs (dokumento numeris B60062).

	Specifikációk
Specificitás	CD56
Klón	N901 (NKH-1)
Hibridóma	NS1 x balb/c
Immunogén	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Immunglobulin	IgG1
Faj	Egér
Tisztítás	Affinitáskromatográfia
Fluorokróm	R Phycoerythrin (PE)
Moláris arány	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ gerjesztés	488 nm
Kibocsátási csúcs	575 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plusz 2 mg/mL BSA és 0,1% NaN_3

IOTest

Konjugált antitest CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20 µL/teszt

***In vitro* diagnosztikai használatra.**

RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

Ez a fluorokrómmal konjugált antitest lehetővé teszi a humán biológiai mintákban a(z) CD56 antigént expresszáló sejtpopulációk áramlási citometriával végzett kvalitatív és nem automatizált azonosítását (lásd a „Minták” című alábbi fejezet).

MŰKÖDÉSI ELV

A vizsgálat azon alapul, hogy a specifikus monoklonális antitestek képesek-e kötődni a leukociták által expresszált antigén-determinánsokhoz.

A leukociták specifikus festése a mintának az IOTest reagenssel való inkubálásával történik. Az eritrocitákat ezután lízissel eltávolítják, és a leukocitákat, amelyekre nincs hatással ez a művelet, analizálni lehet áramlási citometriával.

Az áramlási citométer a sejtek fényszórását és fluoreszcenciáját méri. Ez lehetővé teszi a vizsgált populáció elhatárolását egy olyan elektronikus ablakon belül, amelyet a derékszögben szórt fény (oldalszóródás vagy SS) és a hegyes szögben szórt fény (előreszóródás vagy FS) intenzitását összehasonlító hisztogramon határoztak meg. Más, a citométer által mértek közül két paramétert kombináló hisztogramok használhatók kiegészítésként a kapuzási fázisban, a felhasználó által választott alkalmazástól függően.

Az elkülönített sejtek fluoreszcenciáját a rendszer elemzi a pozitívan festődött események megkülönböztetésére a nem festődöttektől. Az eredmények kifejezése a pozitív események százalékos arányaként történik a kapuzás által regisztrált összes eseményhez képest.

CÉLFELHASZNÁLÓ

Ez a termék laboratóriumi szakemberek általi használatra készült.

KLINIKAI JELENTŐSÉG

A CD56-PE egy CD56 antitest, amely a(z) CD56 antigént expresszáló sejtek áramlási citometriás azonosítására és jellemzésére szolgál. Ez a termék önmagában nem képes arra, és nem is arra a célra lett kialakítva, hogy bármilyen diagnosztikai következtetést generáljon.

Más markerekkel kombinált használata esetén ez a termék az alábbiak közül egy vagy több célra használható:

- Segít azon rendellenes vérképű betegek differenciáldiagnózisában, akiknél hemopoetikus neoplasia gyanítható, valamint segít az ismerten hemopoetikus neoplasiaval rendelkező betegek monitorozásában.
- Segít azon betegek diagnózisában, akiknél fennáll az immundeficiencia gyanúja, valamint az ismerten immunhiányos betegek monitorozásában.
- Segít a hemopoetikus neoplasiaban szenvedő betegek prognózisának felállításában.
- A transzplantációs folyamat vagy eredmények monitorozására.

Lásd a következő hivatkozásokat:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

MINTÁK

A vénás vért steril, alvadásgátlóként EDTA sóját tartalmazó csövekbe kell gyűjteni.

A mintákat szobahőmérsékleten (18–25 °C között) kell tárolni, és nem szabad felrázni. A tesztminta vétele előtt a mintákat homogenizálni kell óvatos rázással.

A minták elemzését a vénaszúráshoz képest 24 órán belül el kell végezni.

KONCENTRÁCIÓ

Lásd: www.beckman.com, tételspecifikus analitikai bizonylat.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

1. Ne használja a reagenst a lejárati időn túl.
2. Fagyasztani tilos.
3. Használat előtt hagyja felmelegedni szobahőmérsékletre (18–25 °C).
4. Minimalizálja a fényexpozíciót.
5. Kerülje el a reagensek mikrobiális kontaminációját, ebben az esetben hamis eredményeket kaphat.

6. A nátrium-azidot (NaN_3) tartalmazó antitestoldatokat körültekintően kell kezelni. A terméket nem szabad lenyelni, és nem érintkezhet bőrrel, nyálkahártyával vagy a szemmel.

   Sőt, savas közegben a nátrium-azid potenciálisan robbanékony nitrogén-hidrogénsavat képez. Ha ártalmatlanítani kell, javasolt a reagenst nagy mennyiségű vízzel hígítani a szennyvízcsatornába öntés előtt, hogy ne halmozódhasson fel nátrium-azid a fémcsövekben, és ne keletkezzen robbanásveszély.
7. Minden vérmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és óvatosan kell kezelni (azaz védőkesztyűt, köpenyt és szemüveget viselve).
8. Soha ne pipettázzon szájjal, és a minták soha ne érintkezzenek szemmel, bőrrel vagy nyálkahártyával!
9. A vércsöveket és a kezeléshez használt, egyszer használatos anyagokat olyan ad hoc tartóedényben kell kidobni, amely égetésre szolgál.
10. A reagenseket és a hulladékot a helyi követelmények szerint kell ártalmatlanítani.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Nincs veszélyes anyagként besorolva

SDS A biztonsági adatlap megtalálható a következő weboldalon: beckmancoulter.com/techdocs

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A reagenst a fiola kibontása előtt és után is 2 és 8 °C között, fénytől védve kell tárolni.

A lezárt fiola eltarthatósági ideje a stabilitási vizsgálat alapján: 1095 nap.

A felbontott fiola stabilitása: a reagens 180 napig stabil.

A MINŐSÉGROMLÁS JELEI

A reagensek fizikai megjelenésének bármilyen megváltozása megromlásra utalhat, és a reagenst nem szabad felhasználni.

További információkért, illetve sérült termék kézhezvétele esetén hívja a Beckman Coulter ügyfélszolgálatát a 800-742-2345-es számon (az Amerikai Egyesült Államokban és Kanadában), vagy lépjen kapcsolatba a Beckman Coulter területileg illetékes képviselőjével.

A CSOMAG TARTALMA

A nátrium-azid tartósítószer robbanékony vegyületeket képezhet a fém lefolyócsövekben. Lásd az alábbi NIOSH-közleményt: Explosive Azide Hazard (Robbanékony azidokkal kapcsolatos veszélyek) (76. 8. 16.).
Az azidvegyületek esetleges felhalmozódásának elkerülése érdekében a hígítatlan reagens szennyvízlefolyóba történő kiöntése után a szennyvízvezetéket vízzel át kell öblíteni. A nátrium-azid ártalmatlanítását a vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell végezni.

SZÜKSÉGES, DE A KÉSZLETTEL NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK:

- Mintacsövek és a mintavételhez használt anyagok.
- Automata pipetták eldobható hegyekkel 20, 100 és 500 µL-hez.
- Műanyag hemolíziscsövek.
- Vörösvértesteket lizáló reagens, a lízis után mosási fázissal. Például: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leukocitafixáló reagens. Például: IOTest 3 fixálóoldat (Ref. A07800).
- Izotípus-kontroll PE: IOTest reagens (Ref. A07796).
- Puffer (PBS: 0,01 M nátrium-foszfát; 0,145 M nátrium-klorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automata keverő (vortex típusú).
- Áramlási citométer.

ELJÁRÁS VERSALYSE REAGENS ESETÉN

Mindegyik analizált minta esetében a vizsgált mintacsövön kívül a vizsgálatot ki lehet egészíteni egy kontrollmintacsővel is, amelyben a sejtek az izotípus-kontroll jelenlétében vannak összekeverve (Ref. A07796).

1. Adjon mindegyik mintacsőhöz 20 µL specifikus IOTest konjugált antitestet, és szükség esetén mindegyik kontrollmintacsőhöz 20 µL izotípuskontrollt.
2. Adjon 100 µL tesztmintát mindegyik mintacsőhöz. Óvatosan vortexelje a mintacsöveket.
3. Inkubálja 15–20 percig szobahőmérsékleten (18–25 °C), fénytől védett helyen.
4. Ezután végezze el a vörösvértestek lízisét. Kövesse a VersaLyse (Ref. A09777) füzet utasításait és lehetőség szerint a „konkomittáns fixációval” nevű eljárást alkalmazza, amelynek során 1 mL, akkor és ott elkészített „Fix-and-Lyse” keveréket kell hozzáadni a mintához. Azonnal vortexelje egy másodpercig, majd inkubálja 10 percig szobahőmérsékleten, fénytől védve.
5. Centrifugálja 5 percig szobahőmérsékleten, 150 x g-vel.
6. Felszívás segítségével távolítsa el a felülúszót.
7. Reszuszpendálja a sejtpelletet 3 mL PBS-ben.
8. Ismételje meg az 5. lépést.
9. Felszívással távolítsa el a felülúszót, és reszuszpendálja a sejtpelletet az alábbi reagenssel:

- 0,1% formaldehidet tartalmazó 0,5 mL vagy 1 mL PBS, ha a készítményt kevesebb mint 24 óráig fogják tárolni. (0,1% formaldehidet tartalmazó PBS készítéséhez hígítson 12,5 µL IOTest 3 fixálóoldatot (Ref. A07800) a 10X koncentrációra 1 mL PBS-ben.)
- 0,5 mL vagy 1 mL PBS formaldehid nélkül, ha a preparátum elemzése 2 órán belül fog történni.

Megjegyzés: A készítményeket fénytől védve, 2 és 8 °C között kell tárolni.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

A laboratóriumainkban látszólag egészséges 25 donorok teljesvér-mintáit kezeltük a fent ismertetett reagenssel. Az ezzel a reagenssel kapott vizsgált pozitív események számolási eredményeit az alábbi táblázat tartalmazza:

Pozitív cél	Szám	Átlag (%)	SD	CV (%)
Limfociták	25	18,74	6,02	32,10

Ezek az értékek csak tájékoztatásul szolgálnak. Az egyes laboratóriumoknak meg kell határozniuk a saját várt értékeiket a helyi egészséges donorok populációjából.

TELJESÍTMÉNY

A teljesítményadatokat a fent leírt eljárás segítségével lehet megkapni az alvadásgátlóként EDTA-sót tartalmazó steril csövekbe levett vérmintákból a vérvételt követő kevesebb mint 24 órán belül. Az analízist az immunfestést követő 2 órán belül kell elvégezni.

SPECIFICITÁS

A nagymértékben glikozilált CD56 fehérje (NKH1 molekula) molekulatömege 200–220 kDa (10,11). Ez expresszálódik a perifériás vérben a limfociták egyik csoportján, amelyek nem a fő hisztokompatibilitási komplex által korlátozott citotoxicitást mutatnak (10,12). Az N901 (NKH-1) monoklonális antitest reakcióba lép az NK-sejtek többségével (10,11). Ez reagál a CD3-pozitív T-sejtek egyik kis csoportjával is, amelynek tagjai csökkentik a citotoxikus aktivitást (12). Ez az antitest nem lép reakcióba a monocitákkal, a granulocitákkal, a vörösvérsejtekkel vagy a B-limfocitákkal. Az N901 (NKH-1) antitestet rendelték a CD56 differenciálódási csoporthoz a humán leukocita differenciációs antigénekről tartott 4. nemzetközi műhely alkalmával (Bécs, Ausztria, 1989) (13).

PRECIZITÁS

A százalékos pozitív értékeket teljes vér felhasználásával határozták meg. Mindegyik mintát 4-szer futtatták, naponta kétszer 1 napig, 2 berendezésen, a CD56-PE monoklonális antitest reagensek 2 gyártási tételének felhasználásával. A méréseket (pozitív %) Navios áramlási citométerrel végezték. Az analízist a CLSI által közzétett EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (A kvantitatív mérési módszerek precizitási teljesítményének értékelése) módszer alapján végezték.

Az elfogadhatósági kritériumaink az egyes populációknál mért pozitív események számától függ:

- Ha a pozitív esemény < 1500, CV < 15%
- Ha a pozitív esemény > 1500, CV < 10%

Limfociták							
Pozitív események száma (átlag) = 1083							
	Felhasználók közötti	Citométerek közötti	Egy gyártási tételen belüli	Eltérő gyártási tételek közötti	Futtatások közötti	Egy futtatáson belüli	Összes
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
EREDMÉNYEK	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PONTOSSÁG

A CD56-PE pontosságának értékeléséhez összevetették egy referencia reagens és a Navios áramlási citométeren futtatott teljesvér-minták eredményeit. A teszt- és a referenciareagens közötti torzítást a teszteredmények közötti különbségek alapján határozták meg. Ha a torzítás a megengedhető hibatartományon belül maradt, vagy ha a p-érték nem jelzett szignifikáns különbséget (> 0,05), akkor a két reagenssel kapott teszteredményeket egyenértékűnek tekintették.

Az eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Donorok száma = 25				
Pozitív cél	Átlag Δ	Δ % sejt kritériumok	p-érték	EREDMÉNYEK
Limfociták	-0,25	<5	0,262	PASS

VAK HATÁRÉRTÉK ÉS KIMUTATHATÓSÁGI HATÁRÉRTÉK

Vizsgálatot végeztek a CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (A klinikai laboratóriumi mérési eljárások kimutatási képességének értékelése) útmutatónak megfelelően. Kimutathatósági határérték (LOD) – a vizsgált anyag következetesen kimutatható legalacsonyabb koncentrációja. A kapott eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Positive Target	Vak határérték (sejt/µL)	Kimutathatósági határérték (sejt/µL)
Limfociták	4	6

KORLÁTOZÁSOK

1. Az áramlási citometria hamis eredményeket adhat, ha a citométert nem igazítják tökéletesen, ha nem kompenzálják megfelelően a fluoreszcenciaszivárgást és ha a régiókat nem pozicionálják elég gondosan.
2. Érdemes egy mosási lépést is tartalmazó vörösvértest lizáló módszert alkalmazni, mivel ezt a reagenst nem optimalizálták „mosás nélküli” lizáló módszerekhez.
3. Pontos és megismételhető eredmények születnek, amennyiben az eljárásokat a műszaki tájékoztató szerint és a helyes laboratóriumi gyakorlattal összhangban végzik el.
4. A reagens konjugált antitestjét úgy kalibrálták, hogy a legjobb specifikus jel/nem specifikus jel arányt produkálja. Ezért fontos, hogy minden tesztnél betartsa a reagenstérfogat/mintatérfogat arányt.
5. Emelkedett leukocitaszám esetén hígítsa a vért annyi PBS hozzáadásával, hogy a fehérvérsejtek koncentrációja körülbelül 5 x 10^9 leukocita/L legyen (14).

6. Bizonyos betegségek, például súlyos veseelégtelenség vagy hemoglobinopátiák esetében előfordulhat, hogy a vörösvértestek lízise lassú, részleges, vagy akár lehetetlen. Ilyenkor javasolt a festés előtt a mononukleáris sejtek elkülönítése egy sűrűséggradiens alapján működő eljárással (ilyen például a Ficoll) (15).
7. A humán antigén elleni monoklonális antitest terápiában részesülő betegek esetében a specifikus célantigén kimutatásának mértéke csökkenhet vagy sikertelen lehet az alkalmazott terápiás antitest által okozott részleges vagy teljes gátlás miatt.
8. Az CD56-PE eredményeket a beteg teljes klinikai képének fényében kell értelmezni, figyelembe véve a tüneteket, a kórtörténetet, más tesztek eredményeit és egyéb releváns adatokat.

A példákért és az irodalomjegyzékért lásd a Függeléket.

VÉDJEGYEK

A Beckman Coulter, a stilizált logó, valamint az itt említett Beckman Coulter termék- és szolgáltatásjegyek a Beckman Coulter, Inc. védjegyei vagy bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és más országokban.

TOVÁBBI INFORMÁCIÓK

Az Európai Unióban, illetve az EU-val azonos szabályozási rendszerrel (lásd: az EU 2017/746 rendelete az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökről) rendelkező országokban élő beteg/felhasználó/harmadik fél esetében: ha a jelen eszköz használata során vagy használata eredményeként súlyos váratlan esemény történik, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy hivatalos területi képviselőjének, valamint az illetékes nemzeti hatóságnak.

A Summary of Safety and Performance (A biztonság és a teljesítmény összefoglalása) című dokumentum elérhető az EUDAMED adatbázisban: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ÁTDOLGOZÁSOK

AD ÁTDOLGOZÁS:	Közzététel dátuma: 2019. szeptember

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AW	2022. február
A Beckman Coulter globális címkézési szabályzatának megfelelő, valamint az IVD-R (EU) 2017/746 követelmények szerinti frissítések:	
Hozzáadott szakaszok	BSI 2797 szám, Célfelhasználó, Klinikai jelentőség, Koncentráció, Precizitás, Pontosság, Vak határérték és kimutathatósági határérték, További információk, Átdolgozások.
Új információk	Lásd a Korlátozások című részeket
Megfogalmazási vagy tipográfiai frissítések	Lásd az Eljárás, Teljesítmény, Korlátozások, Figyelmeztetések és óvintézkedések, Tárolás és stabilitás című részeket.
Eltávolított szakaszok	Példa klinikai alkalmazásra, Reagensek, Laboratóriumon belüli reprodukálhatóság, Linearitás
Frissített szakaszok	Rendeltetésszerű használat, GHS szerinti veszélyességi besorolás, A minőségromlás jelei, Eljárás, Függelék.

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AX	Április 2023
Frissített szakaszok	Kazak nyelv hozzáadása
Frissített szakaszok	Tárolás és stabilitás

Átdolgozott verzió	AY
Átdolgozás dátuma	Május 2024
Frissített fordítások	**Klinikai jelentőség:**
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Átdolgozott verzió	AZ
Átdolgozás dátuma	július 2024
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Szimbólumok listája

A szimbólumok jegyzéke elérhető a következő weboldalon: beckman.com/techdocs (dokumentumszám: B60062)

	Specyfikacje
Swoistość	CD56
Klon	N901 (NKH-1)
Hybrydoma	NS1 x balb/c
Immunogen	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Immunoglobulina	IgG1
Gatunek	Mysz
Oczyszczanie	Chromatografia powinowactwa
Fluorochrom	R Phycoerythrin (PE)
Stosunek molowy	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Wzbudzenie λ	488 nm
Pik emisji	575 nm
Bufor	PBS o pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Przeciwciało skoniugowane CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

PRZEZNACZENIE

To przeciwciało skoniugowane z fluorochromem umożliwia jakościową i niezautomatyzowaną identyfikację populacji komórek wykazujących ekspresję antygenu CD56 obecnego w ludzkich próbkach biologicznych metodą cytometrii przepływowej (zobacz część „Próbki" poniżej).

ZASADA DZIAŁANIA

Ten test jest oparty na zdolności swoistych przeciwciał monoklonalnych do wiązania się z determinantami antygenowymi ekspresjonowanymi przez lekukocyty.

Barwienie swoiste leukocytów jest wykonywane poprzez inkubację próbki z odczynnikiem IOTest. Krwinki czerwone są następnie usuwane poprzez lizę, a leukocyty, na które ta liza nie wpływa, są analizowane metodą cytometrii przepływowej.

Cytometr przepływowy mierzy rozpraszanie światła i fluorescencję komórek. Umożliwia to odgraniczenie populacji zainteresowania w elektronicznym oknie zdefiniowanym na histogramie, który koreluje ortogonalne rozpraszanie światła (rozpraszanie boczne — Side Scatter, w skrócie SS) i rozpraszanie światła pod wąskim kątem (rozpraszanie do przodu, Forward Scatter, w skrócie FS). Na etapie bramkowania, w zależności od zastosowania wybranego przez użytkownika, można używać innych histogramów łączących dwa z różnych parametrów dostępnych w cytometrze.

Fluorescencja odgraniczonych komórek jest analizowana w celu odróżnienia zdarzeń barwionych dodatnio od zdarzeń nieulegających barwieniu. Wyniki są wyrażane jako odsetek zdarzeń dodatnich względem wszystkich zdarzeń zarejestrowanych poprzez bramkowanie.

UŻYTKOWNIK DOCELOWY

Produkt jest przeznaczony do profesjonalnego użytku w laboratoriach.

ZNACZENIE KLINICZNE

CD56-PE to przeciwciało CD56 służące do identyfikowania i charakteryzowania komórek wykazujących ekspresję antygenu CD56 za pomocą cytometrii przepływowej. Ten produkt nie może samodzielnie generować i nie jest przeznaczony do generowania jakichkolwiek wniosków diagnostycznych.

W połączeniu z innymi markerami produkt ten może służyć do jednego lub kilku z następujących zastosowań:

- Do wspomagania diagnostyki różnicowej pacjentów z nieprawidłowym obrazem hematologicznym i podejrzeniem nowotworu układu krwiotwórczego oraz do monitorowania pacjentów ze stwierdzonym nowotworem układu krwiotwórczego.
- Do wspomagania diagnostyki pacjentów z podejrzeniem niedoboru odporności oraz do monitorowania pacjentów z rozpoznanym niedoborem odporności.
- Jako pomoc w ustaleniu rokowania u pacjentów z nowotworem układu krwiotwórczego.
- Do monitorowania procesu lub wyników przeszczepiania.

Zobacz poniższe piśmiennictwo:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

PRÓBKI

Krew żylną należy pobierać do sterylnych probówek zawierających antykoagulant w postaci soli EDTA.

Próbki należy przechowywać w temperaturze pokojowej (18–25°C), bez wytrząsania. Przed pobraniem próbki do testu należy uzyskać jednorodną mieszaninę poprzez delikatne mieszanie.

Próbki muszą zostać zbadane w ciągu 24 godzin od pobrania krwi żylnej przez nakłucie.

STĘŻENIE

Zobacz świadectwo analizy właściwe dla serii pod adresem www.beckman.com.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Nie używać odczynników po upływie daty ważności.
2. Nie zamrażać.
3. Przed użyciem odczekać, aż osiągnie temperaturę pokojową (18–25°C).
4. Maksymalnie ograniczyć narażenie na działanie światła.

5. Nie dopuścić do skażenia mikrobiologicznego odczynników, gdyż może to spowodować uzyskanie fałszywych wyników.
6. Z roztworami przeciwciał zawierającymi azydek sodu (NaN_3) należy postępować ostrożnie. Nie spożywać i nie dopuszczać do kontaktu ze skórą, błoną śluzową oraz oczami.

   Ponadto w środowisku kwaśnym azydek sodu może tworzyć potencjalnie niebezpieczny kwas azotowodorowy. W przypadku konieczności usunięcia zalecane jest rozcieńczenie odczynnika w dużej objętości wody przed wlaniem go do kanalizacji, aby uniknąć gromadzenia się azydku sodu w metalowych rurach i uniknąć ryzyka wybuchu.
7. Wszystkie próbki krwi należy uważać za potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi ostrożnie (w szczególności nosić ochronne rękawice, fartuchy i okulary).
8. Nigdy nie wolno pipetować ustami. Nie dopuszczać do kontaktu próbek ze skórą, błonami śluzowymi i oczami.
9. Probówki przeznaczone na krew i materiały jednorazowego użytku używane podczas procedury należy usuwać do pojemników ad hoc przeznaczonych do spalenia.
10. Odczynniki i odpady należy usuwać zgodnie z wymogami lokalnymi.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Produkt nie został sklasyfikowany jako niebezpieczny

SDS Karta charakterystyki jest dostępna pod adresem beckmancoulter.com/techdocs

MAGAZYNOWANIE I STABILNOŚĆ

Ten odczynnik musi być przechowywany w temperaturze 2–8°C z zapewnieniem ochrony przed światłem, zarówno przed otwarciem fiolki jak i po jej otwarciu.

W oparciu o wyniki badania stabilności dopuszczalny okres przechowywania w zamkniętej fiolce ustalono na: 1095 dni.

Stabilność otwartej fiolki: odczynnik zachowuje stabilność przez 180 dni.

OZNAKA POGORSZENIA WŁAŚCIWOŚCI

Wszelkie zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników mogą wskazywać na pogorszenie właściwości — odczynników takich nie należy używać.

W celu otrzymania dodatkowych informacji lub w przypadku otrzymania uszkodzonego produktu należy skontaktować się z działem obsługi klienta firmy Beckman Coulter pod numerem telefonu 800-742-2345 (USA lub Kanada) lub z miejscowym przedstawicielem firmy Beckman Coulter.

ZAWARTOŚĆ

Środek konserwujący, azydek sodu, może tworzyć związki wybuchowe w metalowych rurach kanalizacyjnych. Patrz NIOSH Bulletin (Biuletyn instytutu NIOSH): Explosive Azide Hazard (Niebezpieczeństwo wybuchu azydku) (16.8.76).
Po usunięciu nierozcieńczonego odczynnika należy przepłukać rury ściekowe wodą, aby uniknąć gromadzenia się azydków. Azydek sodu musi być usuwany zgodnie z odpowiednimi przepisami lokalnymi.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE Z ZESTAWEM:

- Probówki do pobierania próbek i materiały wymagane do pobierania próbek.
- Pipety automatyczne z jednorazowymi końcówkami na 20, 100 i 500 µL.
- Probówki z tworzywa sztucznego przeznaczone do hemolizy.
- Odczynnik do lizy erytrocytów, z etapem przemywania po etapie lizy. Przykład: VersaLyse (nr ref. A09777).
- Odczynnik do utrwalania limfocytów. Przykład: Roztwór utrwalający IOTest 3 (nr ref. A07800).
- Kontrola izotypowa PE: Odczynnik IOTest (nr ref. A07796).
- Bufor (PBS: 0,01 M fosforan sodu; 0,145 M chlorek sodu; pH 7,2).
- Wirówka.
- Mieszadło automatyczne (typu worteks).
- Cytometr przepływowy.

PROCEDURA Z ODCZYNNIKIEM VERSALYSE

Do każdej badanej próbki, dodatkowo oprócz probówki testowej, można dodać jedną probówkę kontrolną, w której komórki są mieszane w obecności kontroli izotypowej (nr ref. A07796).

1. Dodać po 20 µL swoistego przeciwciała skoniugowanego IOTest do każdej probówki testowej i, w razie potrzeby, po 20 µL kontroli izotypowej do każdej probówki kontrolnej.
2. Do każdej probówki dodać 100 µL próbki testowej. Łagodnie worteksować probówki.
3. Inkubować przez 15–20 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C), chroniąc przed światłem.
4. Następnie przeprowadzić lizę krwinek czerwonych. Zapoznać się z ulotką VersaLyse (nr ref. A09777). Preferowane jest postępowanie zgodnie z procedurą „z towarzyszącym utrwalaniem", która polega na dodaniu 1 mL przygotowanej wcześniej mieszaniny do utrwalania i lizy (Fix-and-Lyse). Bezzwłocznie worteksować przez jedną sekundę i inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej, chroniąc przed światłem.
5. Wirować przez 5 minut przy 150 x g w temperaturze pokojowej.
6. Usunąć supernatant poprzez zasysanie.
7. Zawiesić osad komórkowy w 3 mL PBS.
8. Powtórzyć etap 5.
9. Usunąć supernatant poprzez zasysanie i ponownie zawiesić osad komórkowy w:

- 0,5 mL lub 1 mL PBS oraz 0,1% formaldehydu, jeśli preparaty mają być przechowywane przez mniej niż 24 godz. (0,1% roztwór formaldehydu w PBS można uzyskać, rozcieńczając 12,5 µL roztworu utrwalającego IOTest 3 (nr ref. A07800) stężonego 10X w 1 mL PBS).
- 0,5 mL lub 1 mL PBS bez formaldehydu, jeśli preparaty zostaną poddane analizie w ciągu 2 godz.

Uwaga: Niezależnie od sytuacji preparaty należy przechowywać w temperaturze 2–8°C, chroniąc je przed światłem.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

W naszych laboratoriach próbki krwi pełnej od 25 dawców niewykazujących objawów chorobowych poddano obróbce z użyciem opisanego powyżej odczynnika. Uzyskane wyniki w zakresie liczby dodatnich zdarzeń zainteresowania w przypadku tego odczynnika podano w tabeli poniżej:

Dodatnie docelowe komórki	Liczba	Średnia (%)	SD	WZ (%)
Limfocyty	25	18,74	6,02	32,10

Wartości te są przeznaczone wyłącznie do celów poglądowych. Każde laboratorium powinno ustalić własne wartości oczekiwane z użyciem próbek reprezentatywnych dla lokalnej populacji zdrowych dawców.

WYDAJNOŚĆ

Dane dotyczące wydajności uzyskano z wykorzystaniem procedury opisanej powyżej na próbkach krwi mających mniej niż 24 godziny, uprzednio pobranych do sterylnych probówek z solą EDTA jako antykoagulantem. Badanie przeprowadzono w ciągu 2 godzin po barwieniu immunologicznym.

SWOISTOŚĆ

Masa cząsteczkowa silnie glikolizowanego białka CD56 (cząsteczka NKH1) wynosi 200–220 kDa (10,11). Do jej ekspresji dochodzi na podpopulacji limfocytów krwi obwodowej, które wykazują cytotoksyczność ograniczoną przez niegłówny kompleks zgodności tkankowej (10,12). Przeciwciało monoklonalne N901 (NKH-1) reaguje z większością komórek NK (10,11). Reaguje także z mniejszą podpopulacją CD3-dodatnich komórek T, która stanowi mediator zmniejszonej aktywności cytotoksycznej (12). To przeciwciało nie reaguje z monocytami, granulocytami, erytrocytami ani limfocytami B. Przeciwciało N901 (NKH-1) przydzielono do gronka różnicowania CD56 podczas Czwartych Międzynarodowych Warsztatów Różnicowania Antygenów Leukocytów Ludzkich we Wiedniu, Austria, w 1989 r. (13).

PRECYZJA

Odsetek wartości dodatnich określono przy użyciu krwi pełnej. Każdą próbkę oznaczano 4 razy, dwa razy na dobę przez 1 dzień na 2 analizatorach przy użyciu 2 serii odczynnika przeciwciała monoklonalnego CD56-PE. Pomiary (% dodatnich) przeprowadzono na cytometrze przepływowym Navios. Badanie przeprowadzono na podstawie metody opisanej w wytycznych CLSI w dokumencie EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Ocena wydajności precyzji metody pomiarów ilościowych).

Nasze kryteria akceptacji są uzależnione od liczby zdarzeń dodatnich zmierzonych w każdej populacji:

- Jeśli zdarzenie dodatnie < 1500, WZ < 15%
- Jeśli zdarzenie dodatnie > 1500, WZ < 10%

Limfocyty							
Liczba zdarzeń dodatnich (średnia) = 1083							
	Między operatorami	Między cytometrami	W ramach serii	Między seriami	Między oznaczeniami	W ramach analizy	Łącznie
WZ (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
WYNIKI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOKŁADNOŚĆ

Dokładność odczynnika CD56-PE oceniano poprzez porównanie wyników uzyskanych za pomocą tego odczynnika z wynikami uzyskanymi za pomocą odczynnika referencyjnego, wykorzystywanego jako odniesienie, na zestawie próbek krwi pełnej oznaczanych na cytometrze przepływowym Navios. Odchylenie między odczynnikiem testowym i referencyjnym określono na podstawie różnicy między wynikami testu. Jeśli odchylenie mieści się w dopuszczalnym zakresie błędu lub wartość p wskazuje na brak istotnej różnicy (> 0,05), wyniki testu dla dwóch odczynników są uznawane za równoważne.

W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Liczba dawców = 25				
Dodatnie docelowe komórki	Średnia Δ	Kryteria Δ % komórki	Wartość p	WYNIKI
Limfocyty	-0,25	<5	0,262	PASS

GRANICA PRÓBY ŚLEPEJ I GRANICA WYKRYWALNOŚCI

Przeprowadzono badanie zgodnie z dokumentem CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zdolności wykrywania dla procedur pomiarowych w laboratoriach medycznych). Granica wykrywalności (LOD) to najniższe stężenie analitu, które może być powtarzalnie wykrywane. W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Positive Target	Granica próby ślepej (l. komórek/µL)	Granica wykrywalności (l. komórek/µL)
Limfocyty	4	6

ORGANICZENIA

1. Wyniki cytometrii przepływowej mogą być zafałszowane, jeśli osiowanie cytometru nie było dokładne, przepuszczona fluorescencja nie została prawidłowo skompensowana, a regiony nie zostały starannie upozycjonowane.
2. Preferowane jest stosowanie techniki lizy RBC z etapem przemywania, ponieważ odczynnik ten nie został zoptymalizowany dla technik lizy „bez przemywania”.

3. Uzyskane wyniki będą dokładne i odtwarzalne pod warunkiem, że stosowane będą procedury zgodne z informacjami zawartymi w ulotce z danymi technicznymi oraz z dobrymi praktykami laboratoryjnymi.
4. Skoniugowane przeciwciało zawarte w tym odczynniku zostało skalibrowane tak, aby zapewniać najlepszy stosunek sygnału swoistego do nieswoistego. Dlatego ważne jest przestrzeganie stosunku objętości odczynnika do objętości próbki w każdym teście.
5. W przypadku hiperleukocytozy należy rozcieńczyć krew w PBS, aby uzyskać wartość w przybliżeniu 5 x 10^9 leukocytów/L (14).
6. W niektórych stanach chorobowych, takich jak ciężka niewydolność nerek lub hemoglobinopatie, liza krwinek czerwonych może być powolna, niepełna lub nawet niemożliwa. W takich przypadkach przed barwieniem zalecane jest wyizolowanie komórek jednojądrzastych na gradiencie gęstości (na przykład Ficoll) (15).
7. U pacjentów poddawanych terapii anty-ludzkimi przeciwciałami monoklonalnymi, wykrywanie swoistych antygenów docelowych może być osłabione lub niemożliwe z powodu częściowego lub całkowitego zablokowania przez przeciwciało terapeutyczne.
8. Wyniki oznaczenia CD56-PE należy interpretować w świetle ogólnego obrazu klinicznego pacjenta, w tym objawów, historii klinicznej, danych z dodatkowych testów oraz innych właściwych informacji.

Przykłady i piśmiennictwo można znaleźć w załączniku.

ZNAKI TOWAROWE

Beckman Coulter, stylizowane logo oraz wymienione w tym dokumencie znaki produktów i usług firmy Beckman Coulter są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Beckman Coulter, Inc. w Stanach Zjednoczonych i innych krajach.

DODATKOWE INFORMACJE

Dotyczy pacjentów/użytkowników/stron trzecich w Unii Europejskiej i w krajach o identycznym systemie regulacyjnym (rozporządzenie 2017/746/UE w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro) — jeśli podczas lub w wyniku korzystania z tego wyrobu wystąpi poważny incydent, należy zgłosić go producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz odpowiedniemu organowi krajowemu.

Dokument The Summary of Safety and Performance (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania) jest dostępne w bazie danych EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIA ZMIAN

WERSJA AD:	Data wydania: Wrzesień 2019 r.

WERSJA	**Data wydania**
AW	Luty 2022 r.
Aktualizacje w celu zapewnienia zgodności z globalnymi zasadami oznakowania firmy Beckman Coulter i według wymogów rozporządzenia IVD-R (UE)2017/746:	
Dodano części	Numer BSI 2797, Użytkownik docelowy, Znaczenie kliniczne, Stężenie, Precyzja, Dokładność, Granica próby ślepej i granica wykrywalności, Informacje dodatkowe, Historia zmian.
Dodano informacje	Zobacz części Ograniczenia
Aktualizacje wyrażeń lub typograficzne	Zobacz części Procedura, Wydajność, Ograniczenia, Ostrzeżenia i środki ostrożności, Magazynowanie i stabilność.
Usunięte części	Przykłady zastosowań klinicznych, Odczynniki, Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna, Liniowość
Zaktualizowane części	Przeznaczenie, Klasyfikacja zagrożeń wg GHS, Dowód pogorszenia jakości, Procedura, Załącznik.

WERSJA	**Data wydania**
AX	Kwiecień 2023
Zaktualizowane części	Dodano język kazachski
Zaktualizowane części	Przechowywanie i stabilność

Wersja zmieniona	AY
Data zmiany	Maj 2024
Zaktualizowano tłumaczenia	**Znaczenie kliniczne:**
Zaktualizowane części	Historia zmian

Wersja zmieniona	AZ
Data zmiany	Lipiec 2024
Zaktualizowane części	Historia zmian

Legenda symboli

Słowniczek symboli jest dostępny pod adresem beckman.com/techdocs (numer dokumentu B60062)

	Specifikace
Specificita	CD56
Klon	N901 (NKH-1)
Hybridom	NS1 x balb/c
Imunogen	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Imunoglobulin	IgG1
Druhy	Myš
Purifikace	Afinitní chromatografie
Fluorochrom	R Phycoerythrin (PE)
Molární poměr	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Excitace λ	488 nm
Emisní vrchol	575 nm
Pufr	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugovaná protilátka CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 ml, 20 µl/test

Pouze pro diagnostiku *in vitro*

URČENÉ POUŽITÍ

Tato protilátka konjugovaná s fluorochromem umožňuje kvalitativní a neautomatizovanou identifikaci buněčných populací exprimujících antigen CD56 v lidských biologických vzorcích (viz část „Vzorky“ níže) pomocí průtokové cytometrie.

PRINCIP

Tento test je založen na schopnosti monoklonálních protilátek specificky se vázat na antigenní determinanty exprimované na leukocytech.

Specifické značení leukocytů se provádí inkubováním vzorku s reagencií IOTest. Červené krvinky jsou poté odstraněny provedením lýzy a bílé krvinky, jež tímto procesem nejsou ovlivněny, jsou analyzovány na průtokovém cytometru.

Průtokový cytometr měří difúzi světla a fluorescenci buněk. Umožňuje oddělit zkoumanou populaci v rámci elektronického okna definovaného na histogramu, který je v korelaci s ortogonální difúzí světla (kolmý rozptyl) a s difúzí světla v úzkém úhlu (přímý rozptyl). Jako podporu ve fázi gatování lze, v závislosti na aplikaci zvolené uživatelem, použít další histogramy s kombinací dvou různých parametrů, které jsou v cytometru k dispozici.

Fluorescence oddělených buněk je analyzována s cílem odlišit pozitivně obarvené události od neobarvených. Výsledky jsou vyjádřeny jako procentní podíl pozitivních událostí ze všech událostí zjištěných gatováním.

ZAMÝŠLENÝ UŽIVATEL

Tento produkt je určen pro profesionální laboratorní použití.

KLINICKÁ VÝZNAMNOST

CD56-PE je protilátka CD56 používaná k identifikaci a charakterizaci buněk exprimujících antigen CD56 pomocí průtokové cytometrie. Tento produkt sám o sobě nevytváří a nemá vytvářet žádný diagnostický závěr.

Při použití v kombinaci s dalšími markery lze tento produkt použít k jedné nebo více z následujících funkcí:

- Jako pomůcka pro diferenciální diagnostiku pacientů s hematologickými abnormalitami, u kterých je podezření na hematopoetickou neoplazii, a k monitorování pacientů se známou hematopoetickou neoplazií.
- Jako pomůcka pro diagnostiku pacientů s podezřením na imunodeficienci a k monitorování pacientů se známou imunodeficiencí.
- Jako pomůcka pro stanovení prognózy u pacientů s hematopoetickou neoplazií.
- K monitorování procesu nebo výsledků transplantace.

Viz následující odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

VZORKY

Vzorky žilní krve musejí být odebrány do sterilních zkumavek obsahujících sůl EDTA jako antikoagulační činidlo.

Vzorky by měly být uchovávány při laboratorní teplotě (18–25 °C) a neměly by se protřepávat. Vzorek by měl být před odebráním vzorku k testování homogenizován mírným promícháním.

Vzorky je nutné analyzovat do 24 hodin od venepunkce.

KONCENTRACE

Viz certifikát o analýze specifický pro šarži na www.beckman.com.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagencii nepoužívejte po datu exspirace.
2. Nezmrazujte.
3. Před použitím nechte vytemperovat na laboratorní teplotu (18–25 °C).
4. Minimalizujte expozici světlu.
5. Zabraňte mikrobiologické kontaminaci reagencií, jinak mohou být výsledky chybné.

6. S roztoky protilátek obsahujícími azid sodný (NaN_3) je třeba manipulovat opatrně. Neužívejte vnitřně a zabraňte veškerému kontaktu s pokožkou, sliznicemi a očima.

   V kyselém prostředí může azid sodný navíc vytvářet potenciálně nebezpečnou kyselinu azidovodíkovou. Při likvidaci se doporučuje před vylitím do odpadu reagencii zředit velkým objemem vody, aby nedocházelo k hromadění nebezpečného azidu sodného v kovovém potrubí a předešlo se tak riziku exploze.
7. Všechny vzorky krve je nutno považovat za potenciálně infekční a je nutné manipulovat s nimi opatrně (zvláště: používat ochranné rukavice, pláště a brýle).
8. Nikdy nepipetujte ústy a zabraňte tomu, aby se vzorky dostaly do kontaktu s kůží, sliznicí ani očima.
9. Zkumavky s krví a jednorázový materiál určený pro manipulaci je třeba likvidovat v kontejnerech ad hoc určených ke spálení.
10. Reagencie a odpad by měly být odstraňovány v souladu s místními požadavky.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Není klasifikované jako nebezpečné

SDS Bezpečnostní list je k dispozici na internetové adrese beckmancoulter.com/techdocs.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Před otevřením lahvičky a po jejím otevření musí být tato reagencie uchovávána při teplotě mezi 2 a 8 °C a chráněna před světlem.

Doba použitelnosti uzavřené lahvičky podle studie stability: 1095 dnů/dní.

Stabilita již jednou otevřené lahvičky: reagencie je stabilní po dobu 180 dní.

ZNÁMKY ZHORŠENÍ KVALITY

Jakákoli změna fyzického vzhledu reagencií může znamenat jejich znehodnocení a taková reagencie by se neměla používat.

Pokud potřebujete další informace nebo jste obdrželi poškozený produkt, zavolejte na telefonní číslo zákaznické služby společnosti Beckman Coulter 800-742-2345 (USA nebo Kanada) nebo se obraťte na místního zástupce společnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervační látka azid sodný může v kovovém odpadním potrubí vytvářet výbušné sloučeniny. Viz buletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečí výbušných azidů) (16.8.76).
Po vypuštění neředěné reagencie propláchněte odpadní potrubí vodou, aby se v něm nehromadily azidové sloučeniny. Likvidace azidu sodného musí být prováděna podle příslušných místních předpisů.

MATERIÁLY POTŘEBNÉ, ALE NEDODANÉ SE SOUPRAVOU:

- Zkumavky na odběr vzorků a materiál potřebný k odběru vzorků.
- Automatické pipety s jednorázovými špičkami pro 20, 100 a 500 µl.
- Plastové zkumavky na hemolýzu.
- Reagencie pro lýzu červených krvinek s fází promývání po lýze. Například: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagencie pro fixaci leukocytů. Například: Fixační roztok IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotypová kontrola PE: Reagencie IOTest (ref. A07796).
- Pufr (PBS: 0,01 M fosforečnan sodný; 0,145 M chlorid sodný; pH 7,2).
- Odstředivka.
- Automatické míchadlo (typu vortex).
- Průtokový cytometr.

POSTUP S REAGENCIÍ VERSALYSE

Pro každý analyzovaný vzorek lze kromě testovací zkumavky přidat jednu kontrolní zkumavku, v níž jsou buňky promíchány v přítomnosti izotypové kontroly (ref. A07796).

1. Do každé z testovacích zkumavek přidejte 20 µl konjugované protilátky specifické pro IOTest a podle potřeby do každé ze zkumavek kontroly přidejte 20 µl kontroly izotypu.
2. Do každé zkumavky přidejte 100 µl testovaného vzorku. Zkumavky jemně promíchejte na vortexové míchačce.
3. Provádějte inkubaci po dobu 15 až 20 minut při laboratorní teplotě (18–25 °C), chraňte před světlem.
4. Poté lyzujte červené krvinky. Postupujte dle brožury VersaLyse (ref. A09777) a řiďte se, pokud možno, postupem nazvaným „s průvodní fixací“, který spočívá v přidání 1 ml fixační a lyzační směsi připravené bezprostředně před použitím. Ihned vortexujte po dobu jedné sekundy a inkubujte po dobu 10 minut při laboratorní teplotě, přičemž chraňte před světlem.
5. Odstřeďujte 5 minut při 150 x g při laboratorní teplotě.
6. Supernatant odsajte.
7. Resuspendujte buněčnou peletu pomocí 3 ml PBS.
8. Opakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte buněčnou peletu pomocí:

- 0,5 ml nebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, pokud mají být preparáty uchovány po dobu kratší než 24 hodin. (PBS s 0,1 % formaldehydu lze získat zředěním 12,5 µl fixačního roztoku IOTest 3 (ref. A07800) o koncentraci 10x v 1 ml PBS.)
- 0,5 ml nebo 1 ml PBS bez formaldehydu, pokud mají být preparáty analyzovány do 2 hodin.

Poznámka: Ve všech případech uchovávejte preparáty při teplotě mezi 2 a 8 °C a chraňte je před světlem.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratořích bylo 25 vzorků plné krve zjevně zdravých dárců zpracováno za použití výše popsané reagencie. Získané výsledné počty cílových pozitivních událostí s touto reagencií jsou uvedeny v následující tabulce:

Pozitivní nosič	Počet	Průměr (%)	SD (směrodatná odchylka)	VK (%)
Lymfocyty	25	18,74	6,02	32,10

Tyto hodnoty by měly být pouze reprezentativní. Každá laboratoř si musí stanovit vlastní očekávané hodnoty na základě místní populace normálních dárců.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Data o výkonu se získávají výše popsaným postupem na vzorcích krve starých méně než 24 hodin, které byly odebrány do sterilních zkumavek se solí EDTA jakožto antikoagulačním činidlem. Analýza se provádí do 2 hodin od imunobarvení.

SPECIFICITA

Molekulová hmotnost vysoce glykosylovaného proteinu CD56 (molekuly NKH1) je 200–220 kDa (10,11). Je exprimován jako subpopulace lymfocytů periferní krve, které vykazují sníženou cytotoxicitu vedlejšího histokompatibilního komplexu (10,12). Monoklonální protilátka N901 (NKH-1) reaguje s většinou NK-buněk (10,11). Také reaguje s menší subpopulací CD3+ T-buněk, které slouží k mediaci snížené cytotoxické aktivity (12). Tato protilátka nereaguje s monocyty, granulocyty, erytrocyty ani B-lymfocyty. Protilátka N901 (NKH-1) byla na 4. mezinárodní konferenci o lidských leukocytárních diferenciačních antigenech konané rakouské Vídni (1989) zařazena do diferenciační skupiny CD56 (13).

PRECIZNOST

Procentuální pozitivní hodnoty byly stanoveny použitím plné krve. Každý vzorek byl analyzován 4krát, dvakrát denně v průběhu 1 dne na 2 přístrojích pomocí 2 šarží reagencií s monoklonální protilátkou CD56-PE. Měření (% pozitivních) byla provedena na průtokovém cytometru Navios. Analýza byla provedena na základě metody CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vyhodnocení výkonu preciznosti kvantitativních měřicích metod).

Naše kritéria přijatelnosti závisí na počtu pozitivních událostí změřených pro každou populaci:

- Pokud pozitivní událost < 1 500, VK < 15 %
- Pokud pozitivní událost > 1 500, VK < 10 %

Lymfocyty							
Počet pozitivních událostí (průměr) = 1083							
	Mezi obslužnými pracovníky	Mezi cytometry	V rámci šarže	Mezi šaržemi	Mezi cykly	V rámci cyklu	Celkem
VK (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PŘESNOST

Přesnost CD56-PE byla vyhodnocena porovnáním výsledků s referenční reagencií sloužící jako srovnávací látka na sadě vzorků plné krve analyzované na průtokovém cytometru Navios. Na základě rozdílu mezi výsledky testů byla stanovena odchylka mezi testem a referenční reagencií. Pokud je odchylka v rámci rozsahu přípustné chyby nebo hodnota p naznačuje, že nedošlo k žádnému významnému rozdílu (> 0,05), výsledky testů daných dvou reagencií se považují za shodné.

Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Počet dárců = 25				
Pozitivní nosič	Průměr Δ	Kritéria Δ % buněk	Hodnota p	VÝSLEDKY
Lymfocyty	-0,25	<5	0,262	PASS

MEZ PRÁZDNÉHO VZORKU A MEZ MĚŘITELNOSTI

Byla provedena studie v souladu se směrnicí CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnocení schopnosti detekce pro klinické laboratorní postupy měření). Mez měřitelnosti (LOD) je nejnižší koncentrace analytu, kterou lze spolehlivě detekovat. Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Positive Target	Mez prázdného vzorku (buňky/µl)	Mez měřitelnosti (buňky/µl)
Lymfocyty	4	6

OMEZENÍ

1. Průtoková cytometrie může přinést falešné výsledky, pokud cytometr nebyl dokonale seřízen, pokud nebyly správně kompenzovány úniky fluorescence a pokud oblasti nebyly pečlivě umístěny.
2. Je vhodné používat techniku lýzy RBC s promývacím krokem, protože tato reagencie není optimalizována pro techniku lýzy bez promývání.
3. Přesných a reprodukovatelných výsledků bude dosaženo, pokud jsou použité postupy v souladu s technickým příbalovým letákem a se správnou laboratorní praxí.
4. Konjugovaná protilátka této reagencie je kalibrována tak, aby poskytovala nejlepší možný poměr specifického signálu k nespecifickému signálu. Proto je důležité při každém testu dodržovat poměr objemu reagencie a objemu vzorku.
5. V případě hyperleukocytózy nařeďte krev v přípravku PBS tak, aby byla dosažena hodnota přibližně 5 x 10^9 leukocytů/l (14).
6. U určitých chorob, například závažného selhání ledvin či hemoglobinopatií, se může stát, že lýza červených krvinek bude probíhat pomalu, nedokončí se, nebo dokonce nebude možná. V tomto případě se před značením doporučuje izolovat mononukleární buňky s použitím hustotního gradientu (např. Ficoll) (15).

7. U pacientů léčených pomocí monoklonálních protilátek proti lidským antigenům může být detekce specificky cílených antigenů snížena nebo může chybět kvůli částečné nebo celkové blokaci terapeutickými protilátkami.
8. Výsledky analýzy CD56-PE je nutné interpretovat s přihlédnutím k celkovému klinickému obrazu pacienta, včetně symptomů, klinické anamnézy, údajů z dalších testů a dalších vhodných informací.

Příklady a reference jsou uvedeny v příloze.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, stylizované logo a známky produktů a služeb společnosti Beckman Coulter uvedené v tomto dokumentu jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Beckman Coulter, Inc. ve Spojených státech amerických a dalších zemích.

DALŠÍ INFORMACE

Pro pacienty, uživatele nebo třetí osoby v Evropské unii a v zemích se stejným regulačním režimem (nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro); pokud při používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání dojde k závažné nehodě, prosím ohlaste tuto nehodu výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a kompetentnímu vnitrostátnímu orgánu.

Summary of Safety and Performance (Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti) je k dispozici v databázi EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIE REVIZÍ

REVIZE AD:	Datum vydání: Září 2019

REVIZE	**Datum vydání**
AW	Únor 2022
Aktualizace kvůli shodě s globálními zásadami označování společnosti Beckman Coulter a dle požadavků IVD-R (EU) 2017/746:	
Přidání částí	Číslo BSI 2797, Určený uživatel, Klinická významnost, Koncentrace, Preciznost, Přesnost, Mez prázdného vzorku a mez měřitelnosti, Další informace, Historie změn.
Přidány informace	Viz část Omezení
Aktualizace formulací a typografické aktualizace	Viz části Postup, Výkon, Omezení, Varování a bezpečnostní opatření, Skladování a stabilita.
Odstranění částí	Příklad klinických použití, Reagencie, Reprodukovatelnost v rámci laboratoře, Linearita
Aktualizované části	Určené použití, Klasifikace nebezpečí podle GHS, Známky znehodnocení, Postup, Příloha.

REVIZE	**Datum vydání**
AX	duben 2023
Aktualizované části	Přidání kazašského jazyka
Aktualizované části	Skladování a stabilita

Revidovaná verze	AY
Datum revize	Květen 2024
Aktualizované překlady	**Klinická významnost:**
Aktualizované části	Historie revizí

Revidovaná verze	AZ
Datum revize	cervenec 2024
Aktualizované části	Historie revizí

Klíč k symbolům

Slovníček symbolů je k dispozici na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	Špecifikácie
Špecificita	CD56
Klon	N901 (NKH-1)
Hybridóm	NS1 x balb/c
Imunogén	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Imunoglobulín	IgG1
Druhy	Myš
Purifikácia	Afinitná chromatografia
Fluorochróm	R Phycoerythrin (PE)
Molárny pomer	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Excitácia λ	488 nm
Vrchol emisií	575 nm
Tlmivý roztok	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugovaná protilátka CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 ml, 20 µl/test

Na diagnostické použitie *in vitro*

URČENÉ POUŽITIE

Táto protilátka konjugovaná s fluorochrómom umožňuje pomocou prietokovej cytometrie vykonávať kvalitatívnu, neautomatizovanú identifikáciu populácie buniek exprimujúcich antigén CD56 v ľudských biologických vzorkách (pozri časť „vzorky“ nižšie).

PRINCÍP

Tento test je založený na schopnosti špecifických monoklonálnych protilátok viazať sa na antigénne determinanty exprimované na leukocytoch.

Špecifické farbenie leukocytov sa vykoná inkubáciou vzorky s činidlom IOTest. Červené krvinky sa následne odstránia lýzou a leukocyty, na ktoré tento postup nemá vplyv, sa analyzujú prietokovou cytometriou.

Prietokový cytometer meria rozptyl svetla a fluorescenciu buniek. Umožňuje vymedzenie požadovanej populácie v rámci elektronického okna zadefinovaného v histograme znázorňujúcom koreláciu ortogonálneho rozptylu svetla (bočný rozptyl, SS) a rozptylu svetla v úzkom uhle (predný rozptyl, FS). Ostatné histogramy obsahujúce kombináciu dvoch rozličných parametrov dostupných na cytometri možno použiť na podporu vo fáze gatingu v závislosti od aplikácie zvolenej používateľom.

Fluorescencia vymedzených buniek sa analyzuje s cieľom odlíšiť pozitívne sfarbené udalosti od nesfarbených. Výsledky sú vyjadrené ako percento pozitívnych udalostí vzhľadom na všetky udalosti zaznamenané gatingom.

URČENÝ POUŽÍVATEĽ

Tento produkt je určený na profesionálne laboratórne použitie.

KLINICKÝ VÝZNAM

CD56-PE je protilátka proti CD56 používaná na identifikáciu a charakterizáciu buniek exprimujúcich antigén CD56 pomocou prietokovej cytometrie. Tento výrobok sám osebe nemôže a ani nemá slúžiť na vyvodzovanie akýchkoľvek diagnostických záverov.

Pri použití v kombinácii s inými markermi možno tento produkt použiť na jeden alebo viac z týchto účelov:

- Ako pomôcka pri diferenciálnej diagnostike hematologicky abnormálnych pacientov s podozrením na hematopoetickú neoplazmu a na monitorovanie pacientov so známou hematopoetickou neoplazmou.
- Ako pomôcka pri diagnostike pacientov s podozrením na imunitnú nedostatočnosť a na monitorovanie pacientov so známou imunitnou nedostatočnosťou.
- ako pomôcka pri stanovovaní prognózy u pacientov s hematopoetickou neoplazmou,
- Na monitorovanie transplantačného procesu alebo výsledkov.

Pozrite si nasledujúce odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

VZORKY

Vzorky žilovej krvi musia byť odobraté do sterilných skúmaviek, ktoré obsahujú soľ EDTA ako antikoagulačné činidlo.

Vzorky by sa mali uchovávať pri izbovej teplote (18 – 25 °C) a nemalo by sa nimi triasť. Vzorky by sa mali pred odobratím testovacej vzorky homogenizovať jemným pretrepaním.

Vzorky sa musia analyzovať do 24 hodín od odberu.

KONCENTRÁCIA

Pozrite si certifikát analýzy pre konkrétnu šaržu na adrese www.beckman.com.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

1. Činidlo nepoužívajte po dátume exspirácie.
2. Nezamrazujte.
3. Pred použitím nechajte zahriať na izbovú teplotu (18 – 25 °C).

4. Minimalizujte vystavenie svetlu.
5. Zabráňte mikrobiálnej kontaminácii činidiel, inak môže dôjsť k falošným výsledkom.
6. S roztokmi protilátok obsahujúcimi azid sodný (NaN_3) by sa malo zaobchádzať opatrne. Nepožívajte ich a vyhýbajte sa akémukoľvek kontaktu s kožou, sliznicami a očami.

   V médiu s obsahom kyseliny môže navyše azid sodný vytvárať potenciálne nebezpečnú kyselinu azidovodíkovú. Ak je činidlo potrebné zlikvidovať, odporúča sa ho pred vyliatím do kanalizácie zriediť vo veľkom objeme vody, aby sa predišlo riziku explózie v dôsledku hromadenia azidu sodného v kovovom potrubí.
7. Všetky vzorky krvi sa musia považovať za potenciálne infekčné, a preto sa s nimi musí narábať opatrne (predovšetkým: používajte ochranné rukavice, plášte a okuliare).
8. Nikdy nepipetujte ústami a zabráňte akémukoľvek kontaktu vzoriek s pokožkou, sliznicami a očami.
9. Skúmavky na krv a jednorazový materiál používané pri manipulácii sa musia zlikvidovať do schválených nádob určených na spálenie.
10. Činidlá a odpad by sa mali eliminovať v súlade s miestnymi požiadavkami.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Nie je klasifikované ako nebezpečné

SDS Bezpečnostný list je dostupný na adrese beckmancoulter.com/techdocs

SKLADOVANIE A STABILITA

Toto činidlo sa musí skladovať pri teplote od 2 do 8 °C a chrániť pred svetlom pred aj po otvorení fľaštičky.

Doba použiteľnosti uzavretej fľaštičky podľa štúdie stability: 1095 dní.

Stabilita otvorenej fľaštičky: činidlo je stabilné 180 dní.

ZNÁMKY ZNEHODNOTENIA

Akákoľvek zmena fyzického vzhľadu činidla môže svedčiť o zhoršení kvality a takéto činidlo by sa nemalo používať.

Ak potrebujete ďalšie informácie alebo ak je výrobok poškodený, kontaktujte stredisko zákazníckych služieb spoločnosti Beckman Coulter na telefónnom čísle 800-742-2345 (ak sa nachádzate v USA alebo Kanade) alebo kontaktujte miestneho zástupcu spoločnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervačné činidlo azid sodný môže v kovovej kanalizačnej sieti vytvárať výbušné zlúčeniny. Pozrite si informačný bulletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečenstvo výbušného azidu) (16. 8. 76).
Aby nedošlo k možnému nahromadeniu azidových zlúčenín, po likvidácii neriedeného činidla vypláchnite potrubie vodou. Likvidácia azidu sodného musí prebiehať v súlade s príslušnými miestnymi predpismi.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ NIE JE SÚČASŤOU SÚPRAVY:

- Vzorkovacie skúmavky a materiál potrebný na vzorkovanie.
- Automatické pipety s jednorazovými špičkami na dávkovanie objemov 20, 100 a 500 µl.
- Plastové hemolytické skúmavky.
- Činidlo na lýzu červených krviniek s umývacou fázou po lýze. Napríklad: VersaLyse (Ref. A09777).
- Činidlo na fixáciu leukocytov. Napríklad: fixačný roztok IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotypová kontrolaPE: činidlo IOTest (Ref. A07796).
- Tlmiaci roztok (PBS: fosforečnan sodný 0,01 M; chlorid sodný 0,145 M; pH 7,2).
- Centrifúga.
- Automatické miešadlo (typ Vortex).
- Prietokový cytometer.

POSTUP S ČINIDLOM VERSALYSE

Na každú analyzovanú vzorku je možné okrem testovacej skúmavky pridať aj jednu kontrolnú skúmavku, v ktorej sa zmiešajú bunky v prítomnosti izotypovej kontroly (Ref. A07796).

1. Pridajte 20 µl špecifickej konjugovanej protilátky IOTest do každej testovacej skúmavky a v prípade potreby 20 µl izotopovej kontroly do každej kontrolnej skúmavky.
2. Do každej skúmavky pridajte 100 µl testovanej vzorky. Skúmavky jemne vortexujte.
3. Inkubujte 15 až 20 minút pri izbovej teplote (18 – 25 °C) bez prístupu svetla.
4. Potom vykonajte lýzu červených krviniek. Postupujte podľa písomnej informácie VersaLyse (Ref. A09777) a ideálne použite postup označený ako „so sprievodnou fixáciou“, ktorý zahŕňa pridanie 1 ml bezprostredne pripravenej zmesi „na fixáciu a lýzu“. Ihneď premiešajte jednu sekundu a inkubujte 10 minút pri izbovej teplote a chráňte pred svetlom.
5. Odstreďujte 5 minút pri 150 x g pri izbovej teplote.
6. Nasatím odoberte supernatant.
7. Resuspendujte bunkový pelet použitím 3 ml PBS.
8. Zopakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte bunkový pelet použitím:

- 0,5 ml alebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, ak sa preparáty budú skladovať kratšie ako 24 hodín. (Roztok PBS s 0,1 % formaldehydu možno pripraviť zriedením 12,5 µl fixačného roztoku IOTest 3 (Ref. A07800) v 10X koncentrácii v 1 ml roztoku PBS).
- 0,5 ml alebo 1 ml PBS bez formaldehydu, ak sa preparáty budú analyzovať do 2 hodín.

Poznámka: Preparáty vždy uchovávajte pri teplote 2 až 8 °C a mimo dosahu svetla.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratóriách sa vzorky plnej krvi od 25 zjavne zdravých darcov spracovali pomocou vyššie popísaného činidla. Získané výsledky pre príslušné počty skúmaných pozitívnych udalostí s týmto činidlom sú uvedené v tabuľke nižšie:

Pozitívny cieľ	Počet	Priemer (%)	SD	CV (%)
Lymfocyty	25	18,74	6,02	32,10

Tieto hodnoty slúžia len ako reprezentatívne údaje. Každé laboratórium by si malo určiť vlastné očakávané hodnoty na základe miestnej populácie normálnych darcov.

VÝKONNOSŤ

Údaje o výkonnosti boli získané pomocou vyššie opísaného postupu z menej ako 24 hodín starých vzoriek krvi odobraných do sterilných skúmaviek so soľou EDTA ako antikoagulačným činidlom. Analýza prebehla do 2 hodín od imunologického farbenia.

ŠPECIFICITA

Molekulová hmotnosť výrazne glykozylovaného proteínu CD56 (molekula NKH1) je 200 – 220 kDa (10,11). Exprimuje sa na subpopulácii lymfocytov v periférnej krvi, ktorá vykazuje cytotoxicitu obmedzenú na iný ako hlavný histokompatibilný komplex (10,12). Monoklonálna protilátka N901 (NKH-1) reaguje s väčšinou NK-buniek (10,11). Reaguje tiež s menšou subpopuláciou CD3-pozitívnych T-buniek, ktoré sprostredkúvajú zníženú cytotoxickú aktivitu (12). Táto protilátka nereaguje s monocytmi, granulocytmi, erytrocytmi ani B-lymfocytmi. Špecificita rozpoznania klastra diferenciácie CD56 monoklonálnou protilátkou N901 (NKH-1) bola uznaná na štvrtej Medzinárodnej konferencii o diferenciačných antigénoch ľudských leukocytov, ktorá sa konala v roku 1989 v rakúskej Viedni (13).

PRESNOSŤ

Percentuálne pozitívne hodnoty boli stanovené s použitím plnej krvi. Každá vzorka bola analyzovaná 4-krát, dva razy denne počas 1 dňa na 2 prístrojoch pri použití 2 šarží činidiel s monoklonálnymi protilátkami proti CD56-PE. Merania (% pozitívnych) sa vykonávali na prietokovom cytometri Navios. Analýza sa vykonávala podľa metódy CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Hodnotenie zhodnosti pri metódach kvantitatívneho merania).

Naše kritériá prijateľnosti závisia od počtu pozitívnych udalostí nameraného v jednotlivých populáciách:

- Ak je pozitívnych udalostí < 1500, CV < 15 %
- Ak je pozitívnych udalostí > 1500, CV < 10 %

Lymfocyty							
Počet pozitívnych udalostí (priemer) = 1083							
	Medzi operátormi	Medzi cytometrami	V rámci jednej šarže	Medzi šaržami	Medzi analýzami	V rámci jednej analýzy	Celkovo
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRESNOSŤ

Presnosť CD56-PE bola vyhodnotená porovnaním výsledkov s porovnávacím referenčným činidlom na súbore vzoriek plnej krvi analyzovaných v prietokovom cytometri Navios. Odchýlka medzi testovaným a referenčným činidlom bola stanovená na základe rozdielu medzi výsledkami testov. Ak je odchýlka v medziach prípustného chybového rozsahu, alebo ak p-hodnota svedčí o nevýznamnom rozdiele (> 0,05), výsledky testovania daných dvoch činidiel sa považujú za rovnocenné.

Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Počet darcov = 25				
Pozitívny cieľ	Priemer Δ	Kritériá Δ % buniek	p-hodnota	VÝSLEDKY
Lymfocyty	-0,25	<5	0,262	PASS

MEDZA PRÁZDNEJ VZORKY A MEDZA MERATEĽNOSTI

Bola vykonaná štúdia v súlade s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnotenie detekčnej schopnosti pre postupy klinických laboratórnych meraní). Medza merateľnosti (LoD) je najnižšia koncentrácia analytu, ktorú možno konzistentne detegovať. Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Positive Target	Medza prázdnej vzorky (buniek/µl)	Medza merateľnosti (buniek/µl)
Lymfocyty	4	6

OBMEDZENIA

1. Prietoková cytometria môže vytvárať falošné výsledky, ak cytometer nie je správne zarovnaný, ak úniky fluorescencie nie sú správne kompenzované, alebo ak nie sú oblasti správne umiestnené.
2. Vhodnejšie je používať metódu lýzy RBC s krokom premývania, keďže toto činidlo nie je optimalizované na metódy lýzy „bez premývania“.
3. Presné a reprodukovateľné výsledky sa získajú len vtedy, ak sa použijú postupy v súlade s technickými údajmi v príbalovom letáku a v súlade s osvedčenou laboratórnou praxou.

4. Konjugovaná protilátka tohto činidla sa kalibruje tak, aby ponúkala najlepší pomer špecifického signálu/nešpecifického signálu. Preto je dôležité pri každom teste dodržať pomer objem činidla/objem vzorky.
5. V prípade hyperleukocytózy zrieďte krv v PBS na koncentráciu približne 5 x 10^9 leukocytov/l (14).
6. Pri niektorých chorobných stavoch, akými sú napríklad závažné zlyhanie obličiek alebo hemoglobinopatie, môže byť lýza červených krviniek pomalá, neúplná alebo dokonca nemožná. V takom prípade sa odporúča pred farbením izolovať mononukleárne bunky pomocou hustotného gradientu (napríklad Ficoll) (15).
7. U pacientov liečených monoklonálnymi protilátkami proti ľudským protilátkam môže byť detekcia špecifických cieleným antigénom znížená alebo môže úplne chýbať v dôsledku čiastočného alebo úplného blokovania terapeutickej protilátky.
8. Pri interpretácii výsledkov CD56-PE treba brať do úvahy celkový klinický obraz pacienta vrátane symptómov, klinickej anamnézy, výsledkov ďalších testov a iných súvisiacich informácií.

Príklady a referencie nájdete v Dodatku.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, štylizované logo a známky produktov a služieb spoločnosti Beckman Coulter spomenuté v tomto dokumente sú ochranné známky alebo registrované ochranné známky spoločnosti Beckman Coulter, Inc. v USA a ďalších krajinách.

DOPLŇUJÚCE INFORMÁCIE

Pre pacienta/používateľa/tretiu stranu v Európskej únii a v krajinách s identickým regulačným režimom (Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/746 o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro): ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne vážna nehoda, nahláste ju výrobcovi a/alebo jeho autorizovanému zástupcovi a vášmu národnému orgánu.

Summary of Safety and Performance (Súhrn informácií o bezpečnosti a výkonnosti) je k dispozícii v databáze EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRIA REVÍZIÍ

REVÍZIA AD:	Dátum vydania: September 2019

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AW	Február 2022
Aktualizácie kvôli súladu s dokumentom Beckman Coulter Global Labelling Policy (Globálne pravidlá označovania spoločnosti Beckman Coulter) a podľa požiadaviek nariadenia IVDR (EÚ) 2017/746:	
Pridané časti	Číslo BSI 2797, Určený používateľ, Klinický význam, Koncentrácia, Zhodnosť, Presnosť, Medza prázdnej vzorky a medza merateľnosti, Doplňujúce informácie, História revízií.
Pridané informácie	Pozri časti Obmedzenia
Aktualizácie formulácií alebo typografické aktualizácie	Pozri časti Postup, Výkonnosť, Obmedzenia, Výstraha a opatrenia, Skladovanie a stabilita.
Odstránené časti	Príklad klinických aplikácií, Činidlá, Intralaboratórna reprodukovateľnosť, Linearita
Aktualizované časti	Určené použitie, Klasifikácia nebezpečenstiev podľa GHS, Známky zhoršenia kvality, Postup, Dodatok.

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AX	Apríl 2023
Aktualizované časti	Pridať kazaštinu
Aktualizované časti	Skladovanie a stabilita

Revidovaná verzia	AY
Dátum revízie	Máj 2024
Aktualizované preklady	**Klinický význam:**
Aktualizované časti	História revízií

Revidovaná verzia	AZ
Dátum revízie	Júl 2024
Aktualizované časti	História revízií

Popis symbolov

Slovník symbolov je dostupný na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	규격
특이도	CD56
클론	N901 (NKH-1)
하이브리도마	NS1 x balb/c
면역원	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
면역글로불린	IgG1
종	생쥐
정제	친화성 크로마토그래피
형광색소	R Phycoerythrin (PE)
분자비	PE/Ig: 0.5 - 1.5
λ 자극	488 nm
방출 피크	575 nm
완충액	PBS pH 7.2 + 2mg/mL BSA 및 0.1 % NaN_3

IOTest

복합 항체
CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20µL/검사

체외 **진단용**

사용목적

본 형광색소 결합 항체를 사용 시 유세포 분석법으로 인간의 생물학적 검체에 있는 CD56 항원을 나타내는 세포군의 정성적 동정 및 비자동 동정을 수행할 수 있습니다(아래 "검체" 섹션 참조).

원리

이 검사는 백혈구로 발현되는 항원 결정기에 특이적 단일클론 항체가 결합할 수 있는 능력에 기초합니다.

백혈구의 특이적 염색은 검체를 IOTest 시약과 함께 배양하여 수행합니다. 그런 다음 적혈구를 용해하여 제거하고 이 과정에서 영향을 받지 않은 백혈구를 유세포 분석법을 통해 분석하십시오.

유세포 분석기는 세포의 빛 확산과 형광 영역을 측정합니다. 유세포 분석기를 사용하면 빛의 직교 확산(측면 산란, SS)과 좁은 각의 광확산(전방 산란, FS)의 상호 관계를 지정하는 막대그래프상에 정의된 전자 창 내에서 관심 개체의 한계를 결정할 수 있습니다. 유세포 분석기에서 사용할 수 있는 두 가지 파라메타를 결합하는 기타 막대그래프를 사용자가 선택한 애플리케이션에 따라 게이팅 단계에서 지원 자료로 사용 가능합니다.

범위가 결정된 세포의 형광 영역을 분석하여 명확하게 염색된 이벤트와 염색되지 않은 이벤트를 구분합니다. 분석 결과는 게이팅으로 획득한 전체 이벤트와 비교한 양성 이벤트의 비율로 표현합니다.

의도된 사용자

본 제품은 실험실 전문가용입니다.

임상 관련성

CD56-PE은(는) 유세포 분석법으로 CD56 항원을 나타내는 세포를 식별하고 특성화하는 데 사용하는 CD56 항체입니다. 본 제품만 사용하여 진단과 관련된 결론을 내릴 수 없으며, 해당 용도로 사용해서도 안 됩니다.

다른 표지자와 함께 사용하는 경우 이 제품은 다음 중 하나 이상의 기능에 사용할 수 있습니다.

- 조혈세포성 종양이 의심되고 혈액학적 이상을 동반하는 환자의 감별 진단을 위한 보조 수단으로 활용하거나 알려진 조혈세포성 종양을 가진 환자를 모니터링하는 데 사용합니다.
- 면역결핍이 의심되는 환자의 진단을 위한 보조 수단으로 활용하거나 알려진 면역결핍증이 있는 환자를 모니터링하는 데 사용합니다.
- 혈액암 환자 예후의 보조 수단으로 활용.
- 이식 과정 또는 결과를 모니터링합니다.

다음 참조를 살펴보십시오.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

검체

정맥혈은 EDTA 염을 항응고제로 포함한 무균 튜브를 사용하여 채취해야 합니다.

검체는 실온(18~25°C)에 보관해야 하며 흔들어서는 안 됩니다. 검사 검체를 채취하기 전에 부드럽게 교반하여 검체를 균질화해야 합니다.

검체는 정맥천자 후 24시간 이내에 분석해야 합니다.

농도

www.beckman.com에서 로트별 분석증명서를 확인할 수 있습니다.

경고 및 주의 사항

1. 유효 기간이 지난 시약은 사용하지 마십시오.
2. 냉동하지 마십시오.
3. 사용 전 실온(18~25°C)에 두십시오.
4. 빛 노출을 최소화하십시오.
5. 시약이 미생물에 오염되지 않도록 하십시오. 그러지 않으면 잘못된 결과를 얻을 수 있습니다.

6. 아지드화나트륨(NaN_3)을 함유한 항체 용액은 주의해서 다루어야 합니다. 흡입을 피하고 피부, 점막 및 눈에 절대 닿지 않도록 하십시오.

   또한 산성 매질에 함유된 아지드화나트륨은 잠재적 위험 물질인 히드라조산을 만들어낼 수 있습니다. 시약을 폐기할 때는 금속 파이프 내 아지드화나트륨 축적과 폭발 위험을 방지하기 위해 다량의 물에 희석한 후 배수 시설로 흘려보내야 합니다.
7. 모든 혈액 검체는 잠재적으로 전염성이 있다고 간주하고 주의해서 다루어야 합니다(특히 보호용 장갑, 가운 및 보안경 착용).
8. 피펫을 절대 입으로 사용하지 않도록 하고 검체가 피부, 점막 및 눈에 닿지 않도록 하십시오.
9. 취급에 사용한 혈액 튜브 및 일회용 물질은 소각용 특수 용기에서 폐기해야 합니다.
10. 시약 및 폐기물은 현지 요구 사항에 따라 제거해야 합니다.

GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음

SDS 안전보건자료는 beckmancoulter.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다.

보관 및 안정성

이 시약은 바이알 개봉 전후에 2~8°C로 유지하면서 빛으로부터 보호해야 합니다.

안정성 시험에 따른 밀봉 바이알 유효 기간: 1095일.

개봉한 바이알의 안정성: 시약은 180일 동안 안정적입니다.

성능 저하 증거

시약 외관에 물리적 변화가 있는 경우 성능 저하를 나타내는 것일 수 있으므로 시약을 사용해서는 안 됩니다.

자세한 정보가 필요하거나 손상된 제품을 받은 경우에는 Beckman Coulter 고객 서비스에 800-742-2345(미국 또는 캐나다)로 또는 현지 Beckman Coulter 담당자에게 문의하십시오.

목차

소디움 아자이드 보존제는 금속 배수관에서 폭발성 화합물을 형성할 수 있습니다. NIOSH 게시판을 참조하십시오. Explosive Azide Hazard(폭발성 아지드 유해물질)(76/8/16)
아지드 화합물의 축적 가능성을 방지하려면 희석되지 않은 시약을 폐기한 다음 폐기 파이프를 물로 세척하십시오. 소디움 아자이드의 폐기는 해당 지역 규정을 따라야 합니다.

필요하지만 키트와 함께 제공되지 않는 품목:

- 검체 튜브와 검체 채취에 필요한 물질.
- 20, 100 및 500µL용 일회용 팁이 있는 자동 피펫.
- 플라스틱 용혈 튜브.
- 용해 후 세척 단계의 적혈구 용해 시약. 예: VersaLyse(참조 A09777).
- 백혈구 고정 시약. 예: IOTest 3 고정액(참조 A07800).
- 동형 정도관리물질PE: IOTest 시약(참조 A07796).
- 완충액(PBS: 0.01M 인산나트륨, 0.145M 염화나트륨, pH 7.2).
- 원심분리기.
- 자동 교반기(교반 유형).
- 유세포 분석기.

VERSALYSE 시약을 이용한 절차

분석할 각 검체마다 검사 튜브와 더불어 동형 대조물질이 있는 상태에서 세포를 혼합하는 하나의 정도관리물질 튜브를 추가할 수 있습니다(참조 A07796).

1. 20µL의 특정 IOTest 결합 항체를 각 검사 튜브에 첨가하고, 필요에 따라 20µL의 동형 정도관리물질을 각 정도관리물질 튜브에 첨가합니다.
2. 100µL의 검사 검체를 각 튜브에 첨가합니다. 튜브를 부드럽게 교반합니다.
3. 실온(18~25°C)에서 빛을 피해 15~20분 동안 배양하십시오.
4. 그런 다음 적혈구 용해를 수행합니다. VersaLyse(참조 A09777) 책자 내용을 참조하여 즉석에서 준비한 1mL의 "고정 및 세포 용해" 혼합물을 첨가하는 "수반 고정" 절차를 따릅니다. 즉시 1초 동안 교반한 후 직사광선을 피해 상온에서 10분 동안 배양합니다.
5. 상온에서 150 x g로 5분 동안 원심분리합니다.
6. 흡입 시 상청액을 제거하십시오.
7. 3mL의 PBS를 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.
8. 5단계를 반복합니다.
9. 그런 다음 흡입 방식으로 상등액을 제거하고 다음을 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.

- 조제 물질을 24시간 미만으로 보관하려는 경우 0.1 %의 포름알데히드가 함유된 0.5mL 또는 1mL의 PBS. (0.1 % 포름알데히드 PBS는 12.5µL의 IOTest 3 고정액(참조 A07800)을 1mL의 PBS에 10X 농도로 희석하여 얻을 수 있습니다).
- 조제 물질을 2시간 이내에 분석하려는 경우 포름알데히드가 없는 0.5mL 또는 1mL의 PBS.

참고: 조제물은 항상 빛을 피해 2~8°C로 유지하십시오.

예상 수치

실험실에서 25명의 건강한 공여자의 전혈 검체를 위에 설명된 시약을 사용하여 처리했습니다. 이 시약에서 관심 대상의 양성 이벤트 수 계산을 위해 얻은 결과는 아래 표와 같습니다.

양성 표적	번호	평균(%)	표준편차	CV(%)
림프구	25	18.74	6.02	32.10

위 값은 전형적인 값으로만 참고해야 합니다. 각 실험실은 소재 지역의 정상 공여자 집단을 통해 고유한 예상값을 설정해야 합니다.

성능

성능 데이터는 위에 설명한 절차를 이용하여 이전에 EDTA 염을 항응고제로 하여 무균 튜브에서 수집한 지 24시간 미만인 혈액 검체로 획득합니다. 분석은 면역염색 후 2시간 이내에 수행됩니다.

특이도

CD56 중당화 단백질(NKH1 분자)의 분자량은 200–220 kDa입니다(10,11). 비주요 조직적합성 복합체 제한 세포독성을 나타내는 말초 혈액 림프구의 부분 모집단에서 발현됩니다(10,12). N901(NKH-1) 단일 클론 항체는 NK 세포의 대다수에 반응합니다(10,11). 또한 감소된 세포독성 활동을 매개하는 CD3 양성 T 세포의 소수 부분모집단과 반응합니다(12). 이 항체는 단핵구, 과립구, 적혈구 또는 B 림프구와 반응하지 않습니다. N901(NKH-1) 항체는 1989년 오스트리아 비엔나에서 열린 4th International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens(인간 백혈구 감별 항원에 관한 제 4차 국제 워크숍)에서 CD56 감별군에 할당되었습니다(13).

정밀도

양성 비율 값은 전혈을 사용하여 측정되었습니다. 각 검체는 2개의 CD56-PE 단일 클론 항체 시약 로트를 사용하여 2개의 장비에서 하루 동안 일일 2회씩 4번 실행되었습니다. 측정값(양성 비율)은 Navios 유세포 분석기로 도출했습니다. 분석은 CLSI 방법 EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods(EP5-A2: 정량적 측정 방법의 정밀도 성능 평가)를 기반으로 수행했습니다.

허용 기준은 각 집단에서 측정한 양성 이벤트 수에 따라 다릅니다.

- 양성 이벤트 수가 < 1,500인 경우 CV < 15 %
- 양성 이벤트 수가 > 1,500인 경우 CV < 10 %

림프구							
양성 이벤트 수(평균) = 1083							
	작업자 간	유세포 분석기 간	로트 내	로트 간	실행 간	실행 내	총계
CV(%)	1.52	0.67	2.98	0.69	0.67	2.48	3.14
결과	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

정확도

CD56-PE의 정확도는 그 결과를 Navios 유세포 분석기로 처리된 전혈 검체에 공인 참조 시약을 가한 값과 비교하여 평가했습니다. 검사 시약과 참조 시약 간 바이어스는 검사 결과 간 차이를 기반으로 지정되었습니다. 바이어스가 허용 가능한 오차 범위 내에 있거나 p-값이 유의한 차이를 나타내지 않는 경우 (> 0.05) 두 시약의 검사 결과는 동일한 것으로 간주됩니다.

얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

공여자 수 = 25				
양성 표적	평균 Δ	Δ % 세포 기준	p-값	결과
림프구	-0.25	<5	0.262	PASS

공시료 최저 검출한계 및 검출한계

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures(CLSI EP17-A2, 임상 실험실 측정 절차에 대한 검출 능력 평가)에 따라 연구를 실시했습니다. 검출한계(LoD)는 일관되게 검출 가능한 분석물질의 최저 농도입니다. 얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

Positive Target	공시료 최저 검출한계(세포/µL)	검출한계(세포/µL)
림프구	4	6

한계

1. 유세포 분석기가 완벽하게 정렬되지 않은 경우, 형광 누출이 올바르게 보정되지 않은 경우 또는 영역 위치를 신중하게 지정하지 않은 경우 유세포 분석법에서 잘못된 결과가 나올 수 있습니다.
2. 이 시약은 "비세척" 용해 기법에 최적화되지 않았으므로 세척 단계를 포함한 적혈구 용해법을 사용하는 것이 바람직합니다.
3. 사용한 절차가 동봉된 기술 책자의 내용을 따르고 실험실 모범 사례와 호환되는 경우 정확하고 재현 가능한 결과를 얻을 수 있습니다.
4. 이 시약의 결합 항체는 최상의 특이/비특이 신호비를 제공하도록 보정됩니다. 그러므로 모든 검사에서 시약의 용적/검체 용적 비율을 준수하는 것이 중요합니다.
5. 과백혈구 증가증의 경우 혈액을 PBS에 희석하여 대략 백혈구 5 x 10^9개/L 값을 얻어야 합니다(14).
6. 심한 신부전 또는 혈색소병증 같은 특정 질병 상태에서 적혈구의 용해는 느리거나 불완전하거나 심지어는 불가능할 수도 있습니다. 이러한 경우 염색 전에 밀도 구배(예: Ficoll)를 사용하여 단핵구 세포를 분리하는 것이 좋습니다(15).
7. 항 인간 단일 클론 항체 요법으로 치료받은 환자에서, 특이 표적 항원의 검출이 치료 항체에 의한 일부 또는 전체 차단으로 인해 감소하거나 이루어지지 않을 수 있습니다.
8. CD56-PE 결과는 증상, 병력, 추가 검사 데이터, 기타 적절한 정보 등 환자의 모든 임상 증상을 고려하여 해석해야 합니다.

예시와 참고 자료는 부록을 참조하십시오.

상표

본 문서에 포함된 Beckman Coulter, 스타일 로고, Beckman Coulter 제품 및 서비스 마크는 미국 및 기타 국가에서 Beckman Coulter, Inc.의 상표이거나 등록 상표입니다.

추가 정보

유럽 연합 및 이와 동일한 규정 체제(EU 규정 2017/746, 체외 진단용 의료 기기 관련)를 사용하는 국가에 거주하는 환자/사용자/타사의 경우, 이 장치의 사용 중이나 사용으로 인해 심각한 상황이 발생했다면 제조업체 및/또는 공인 담당자와 해당 국가의 담당 기관에 신고하십시오.

Summary of Safety and Performance(안전성 및 성능에 관한 개요)는 ec.europa.eu/tools/eudamed 주소의 EUDAMED 데이터베이스에서 확인할 수 있습니다.

개정 이력

개정판 AD:	발행 날짜: 2019년 9월

개정	**발행 날짜**
AW	2022년 2월
Beckman Coulter 글로벌 라벨 지정 정책 및 IVD-R (EU) 2017/746 요건에 따라 업데이트했습니다.	
추가된 섹션	BSI 2797 번호, 대상 사용자, 임상적 관련성, 농도, 정밀도, 정확도, 공시료 최저 검출한계 및 검출한계, 추가 정보, 개정 이력.
추가된 정보	한계 섹션 참조
언어적 표현이나 글자 배치를 업데이트했습니다.	절차, 성능, 한계, 경고 및 주의 사항, 보관 및 안정성 섹션을 참조하십시오.
삭제된 섹션	임상 용도의 예, 시약, 실험실 내 재현성, 직선성
업데이트된 섹션	사용목적, GHS 유해물질 등급, 성능 저하 증거, 절차, 부록.

개정	**발행 날짜**
AX	4월 2023
업데이트된 섹션	카자흐어 추가
업데이트된 섹션	보관 및 안정성

개정된 버전	AY
개정 날짜	5월 2024
업데이트된 번역	**임상적 관련성:**
업데이트된 섹션	개정 이력

개정된 버전	AZ
개정 날짜	7월 2024
업데이트된 섹션	개정 이력

기호 목록

기호 용어집은 beckman.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다(문서 번호 B60062)

	Spesifikasyonlar
Özgüllük	CD56
Klon	N901 (NKH-1)
Hibridoma	NS1 x balb/c
İmmünojen	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Immunoglobulin	IgG1
Türler	Fare
Arıtma	Afinite Kromatografisi
Florokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molar oran	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ eksitasyonu	488 nm
Emisyon piki	575 nm
Tampon	PBS pH 7,2 artı 2 mg/mL BSA ve %0,1 NaN_3

IOTest
Konjuge Antikor CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

***İn Vitro* Diagnostik Kullanım içindir**

KULLANIM AMACI

Bu florokrom konjuge antikor, akış sitometrisi kullanılarak insan biyolojik örneklerinde var olan CD56 antijenini eksprese eden hücre popülasyonlarının otomatik olmayan ve kalitatif tanımlamasına olanak tanır (aşağıdaki "Örnekler" bölümüne bakın).

İLKE

Bu test, spesifik monoklonal antikorların lökositler tarafından eksprese edilen antijenik belirleyicilere bağlanabilmesine dayanmaktadır.

Lökositlerin spesifik boyaması, örnek, IOTest reaktifi ile inkübe edilerek gerçekleştirilir. Sonra kırmızı hücreler parçalanarak giderilir ve bu işlemden etkilenmeyen lökositler, akış sitometrisi ile analiz edilir.

Akış sitometrisi ışık difüzyonunu ve hücre floresanını ölçer. Bu durum, ilgili popülasyonun, ışığın ortogonal difüzyonu (Yana Yayılma veya SS) ve dar açılı ışığın difüzyonu (İleri Yayılma veya FS) ile ilişkilendirilen histogram üzerinde tanımlanmış elektronik pencerede sınırlanmasını sağlar. Sitometredeki farklı parametrelerden ikisini birleştiren diğer histogramlar, kullanıcının seçtiği uygulamaya bağlı olarak kapılama aşamasında destek olarak kullanılabilir.

Sınırlı hücrelerin floresanı analiz edilerek pozitif boyalı olaylar boyasızlardan ayrılır. Sonuçlar pozitif olayların geçiş ile edinilmiş tüm olaylara yüzdesi olarak ifade edilir.

HEDEF KULLANICI

Bu ürün, laboratuvarda profesyonel kullanım için tasarlanmıştır.

KLİNİK GEÇERLİLİK

CD56-PE, akış sitometrisiyle CD56 antijenini eksprese eden hücreleri tanımlamak ve karakterize etmek amacıyla kullanılan bir CD56 antikorudur. Bu ürün tek başına, herhangi bir tanı sonucu oluşturamaz ve tanı sonucu oluşturmak üzere tasarlanmamıştır.

Bu ürün, diğer belirteçlerle birlikte kullanıldığında aşağıdaki işlevlerden biri veya daha fazlası için kullanılabilir:

- Hematopoetik neoplazmı olduğundan şüphelenilen hematolojik olarak anormal hastalarda ayırıcı tanıya yardımcı olmak ve bilinen hematopoetik neoplazmı olan hastaları izlemek için.
- İmmün yetmezliği olduğundan şüphelenilen hastaların tanısına yardımcı olmak ve immün yetmezliği olduğu bilinen hastaları izlemek için.
- Hematopoetik neoplazmı olan hastalarda prognoza yardımcı olmak için.
- Nakil işlemini veya sonuçlarını izlemek için.

Şu referanslara bakın:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

ÖRNEKLER

Antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüpler kullanılarak venöz kan alınmalıdır.

Örnekler oda sıcaklığında (18-25°C) tutulmalı ve çalkalanmamalıdır. Örnekler test örneği alınmadan önce hafifçe çalkalanarak homojenize edilmelidir.

Örnekler venipunktür sonrası 24 saat içinde analiz edilmelidir.

KONSANTRASYON

Lota özel Analiz Sertifikası için www.beckman.com adresine bakın.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. Reaktifi son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
2. Dondurmayın.
3. Kullanmadan önce oda sıcaklığına (18-25°C) getirin.
4. Işığa maruz kalmasını en aza indirin.
5. Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonundan kaçının yoksa yanlış sonuçlar oluşabilir.

6. Sodyum azid (NaN_3) içeren antikor solüsyonları dikkatle işlenmelidir. Yutmayın ve cilt, mukoza ve gözlerle temasından kaçının.

   Ayrıca, asit ortamında, sodyum azid potansiyel olarak tehlikeli hidrazoik asit oluşturabilir. Atılması gerekiyorsa, metal borularda sodyum azid birikmesini ve patlama riskini önlemek için, reaktifin drenaj sistemine dökülmeden önce çok miktarda suyla seyreltilmesi önerilmektedir.
7. Tüm kan örnekleri potansiyel olarak bulaşıcı olarak kabul edilmeli ve dikkatle ele alınmalıdır (özellikle koruyucu eldiven, önlük ve gözlük takılmalıdır).
8. Asla ağızla pipetleme yapmayın ve örneklerin cilt, mukoza veya gözle herhangi bir şekilde temas etmesini önleyin.
9. Taşıma için kullanılan kan tüpleri ve tek kullanımlık malzeme, yakma amacıyla özel kaplara atılmalıdır.
10. Reaktifler ve atıklar yerel gereksinimlere göre elimine edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır

SDS Güvenlik Bilgi Formuna beckmancoulter.com/techdocs adresinden ulaşılabilir

SAKLAMA VE STABİLİTE

Bu reaktifin, şişe açılmadan önce ve açıldıktan sonra 2 ile 8°C arasında tutulması ve ışıktan korunması gereklidir.

Stabilite çalışması için şişe raf ömrü: 1095 gün.

Açılan şişenin stabilitesi: reaktif 180 gün stabildir.

BOZULMA GÖSTERGESİ

Reaktiflerin fiziksel görünümündeki herhangi bir değişiklik bozulmayı gösterebilir ve reaktif kullanılmamalıdır.

Ek bilgi almak isterseniz veya aldığınız ürün hasarlı çıktıysa, 800-742-2345 numaralı telefondan (ABD veya Kanada) Beckman Coulter Müşteri Hizmetlerini arayın veya yerel Beckman Coulter Temsilcinizle temas kurun.

İÇİNDEKİLER

Sodyum azid koruyucu maddesi metal kanalizasyon hatlarında patlayıcı bileşimler oluşturabilir. NIOSH Bültenine bakın: Explosive Azide Hazard (Patlayıcı Azide Tehlikesi) (16.8.76).
Azid bileşenlerinin olası birikimini engellemek amacıyla, seyreltilmemiş reaktifi çöpe attıktan sonra atık borularını bol suyla yıkayın. Sodyum azid, uygun yerel düzenlemelere göre çöpe atılmalıdır.

GEREKLİ OLAN ANCAK KİT İLE BİRLİKTE VERİLMEYEN MALZEMELER:

- Numune alma tüpleri ve numune alma için gerekli malzemeler.
- 20, 100 ve 500 µL için tek kullanımlık uçlu otomatik pipetler.
- Plastik hemoliz tüpleri.
- Lizis sonrası yıkama aşamasıyla birlikte eritrosit lizis reaktifi. Örneğin: VersaLyse (Ref. A09777).
- Lökosit fiksasyon reaktifi. Örneğin: IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonu (Ref. A07800).
- İzotip kontrolüPE: IOTest reaktifi (Ref. A07796).
- Tampon (PBS: 0,01 M sodyum fosfat; 0,145 M sodyum klorür; pH 7,2).
- Santrifüjleyin.
- Otomatik karıştırıcı (Vorteks tipi).
- Akış sitometresi.

VERSALYSE REAKTİFİ İLE PROSEDÜR

Analiz edilen her örnek için test tüpüne ek olarak, hücrelerin izotip kontrolü varlığında karıştırıldığı bir kontrol tüpü eklenebilir (Ref. A07796).

1. Her test tüpüne 20 µL spesifik IOTest konjuge antikor ve gerekirse, her kontrol tüpüne, 20 µL izotip kontrolü ekleyin.
2. Her bir tüpe 100 µL test örneği ekleyin. Tüpleri yavaşça vorteksleyin.
3. Oda sıcaklığında (18-25°C) ışıktan koruyarak 15-20 dakika boyunca inkübe edin.
4. Ardından kırmızı hücrelerin lizisini gerçekleştirin. VersaLyse (Ref. A09777) broşürüne bakın ve tercihen "birlikte kullanılan fiksasyon ile" adlı, doğaçlama hazırlanan 1 mL "Fiksasyon ve Lizis" karışımını eklemeyi içeren prosedürü izleyin. Hemen bir saniye boyunca vorteksleyin ve ışıktan koruyarak, 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
5. Oda sıcaklığında 5 dakika 150 x g hızda santrifüjleyin.
6. Aspirasyon ile üst fazı alın.
7. 3 mL PBS kullanarak hücre peletini yeniden süspanse edin.
8. Adım 5'i tekrarlayın.
9. Yüzer maddeyi aspirasyonla alın ve hücre topağını şunu kullanarak yeniden süspanse edin:

- Preparatlar 24 saatten az tutulacaksa, 0,5 mL veya 1 mL PBS'nin yanı sıra %0,1 formaldehit. (%0,1 formaldehit PBS, 1 mL PBS içinde 10X konsantre IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonundan (Ref. A07800) 12,5 µL seyreltilerek elde edilebilir).
- 0,5 mL veya 1 mL PBS formaldehidsiz, preparatlar 2 saat içinde analiz edilmelidir.

Not: Tüm durumlarda, preperatlar 2 ile 8°C arasında tutulmalı ve ışıktan korunmalıdır.

BEKLENEN DEĞERLER

Laboratuvarlarımızda, yukarıda açıklanan reaktif kullanılarak sağlıklı görünen 25 donörün tam kan örnekleri işlenmiştir. Bu reaktif ile ilgi konusu pozitif olayların sayısı için elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir:

Pozitif Hedef	Sayı	Ortalama (%)	SS	VK (%)
Lenfositler	25	18,74	6,02	32,10

Bu değerlerin sadece temsili olması amaçlanmaktadır. Her laboratuvar normal donörlerden oluşan yerel popülasyonunda kendi beklenen değerlerini oluşturmalıdır.

PERFORMANS

Performans verileri, antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüplerde daha önce toplanan, 24 saatten eski olmayan kan örnekleri üzerinde yukarıdaki prosedür kullanılarak elde edilmiştir. İmmün boyamayı takiben 2 saat içinde analiz gerçekleştirilir.

ÖZGÜLLÜK

Aşırı derecede glikozile protein CD56'nın moleküler ağırlığı (NKH1 molekül) 200-220 kDa'dır (10,11). Majör olmayan histokompatibilite kompleksi ile sınırlı sitotoksisite gösteren periferik kan lenfositlerinin bir alt popülasyonunda eksprese edilir (10,12). N901 (NKH-1) monoklonal antikoru NK hücrelerinin çoğu ile reaksiyona girer (10,11). Ayrıca, düşük sitotoksik aktiviteye aracılık eden CD3 pozitif T hücrelerinin küçük bir alt popülasyonu ile de reaksiyona girer (12). Bu antikor, monositler, granülositler, eritrositler veya B lenfositlerle reaksiyona girmez. 1989 yılında Viyana, Avusturya'da düzenlenen İnsan Lökosit Diferansiyasyon Antijenleri ile ilgili 4. Uluslararası Çalıştay sırasında N901 (NKH-1) antikoru CD56 farklılaşma yığılım moleküllerine atanmıştır (13).

KESİNLİK

Yüzde pozitif değerler, Tam Kan kullanılarak belirlenmiştir. Her örnek, 2 lot CD56-PE Monoklonal Antikor Reaktifleri kullanılarak 2 cihazda 1 gün için günde iki kez olmak üzere 4 kez çalışılmıştır. Ölçümler (% pozitif) Navios akış sitometresi üzerinde yapılmıştır. Analiz, CLSI yöntemi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kantitatif Ölçüm Yöntemlerinin Kesinlik Performansına İlişkin Değerlendirme) temelinde yürütülmüştür.

Kabul kriterlerimiz, her popülasyon için ölçülen pozitif olay sayısına bağlıdır:

- Pozitif olay <1.500, VK <%15 ise
- Pozitif olay >1.500, VK <%10 ise

Lenfositler							
Pozitif olay sayısı (Ortalama)=1083							
	Kullanıcılar arası	Sitometreler arası	Lot içi	Lotlar arası	Çalışmalar arası	Çalışma içi	Total
VK (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
SONUÇLAR	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOĞRULUK

CD56-PE doğruluğu, bir Navios akış sitometresinde çalışılan tam kan örnekleri grubunda esas alınan referans reaktifle sonuçlar karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Test ve referans reaktif arasındaki sapma, test sonuçları arasındaki fark temelinde belirlenmiştir. Sapma, izin verilen hata aralığı dahilindeyse veya p değeri anlamlı fark göstermediğinde (>0,05), iki reaktif için test sonuçlarının eşdeğer olduğu kabul edilir.

Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Donör sayısı=25				
Pozitif Hedef	Ortalama Δ	Δ % Hücre kriteri	p değeri	SONUÇLAR
Lenfositler	-0,25	<5	0,262	PASS

KÖR LİMİTİ VE TESPİT LİMİTİ

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klinik Laboratuvar Ölçüm Prosedürleri için Tespit Kabiliyetinin Değerlendirilmesi) ile uyumlu bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Tespit Limiti (LOD), tutarlı olarak tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonudur. Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Positive Target	Kör Limiti (hücre/µL)	Tespit Limiti (hücre/µL)
Lenfositler	4	6

SINIRLAMALAR

1. Akış sitometrisi, sitometre mükemmel şekilde hizalanmadıysa, floresan sızıntıları doğru şekilde telafi edilmediyse ve bölgeler dikkatli bir şekilde konumlandırılmadıysa yanlış sonuçlar üretebilir.
2. Bu reaktif "yıkamasız" parçalama teknikleri için optimize edilmediğinden, yıkama adımı içeren bir RBC parçalama tekniği kullanılması tercih edilir.
3. Kullanılan prosedürler teknik bilgi broşürüne uygun olduğu ve iyi laboratuvar uygulamalarına uygun olduğu sürece doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilecektir.
4. Bu reaktifin konjugat antikoru, en iyi spesifik sinyal/spesifik olmayan sinyal oranını sunacak şekilde kalibre edilir. Bu nedenle her testte reaktif hacmi/örnek hacmi oranına bağlı kalmak önemlidir.
5. Hiperlökositoz durumunda yaklaşık 5 x 10^9 lökosit/L (14) değerini elde etmek için kanı PBS içinde seyreltin.
6. Şiddetli böbrek yetmezliği veya hemoglobinopatiler gibi bazı hastalık durumlarında, eritrosit lizisi yavaş, eksik ve hatta imkansız olabilir. Bu durumda mononükleotidli hücrelerin boyama öncesinde yoğunluk gradyanı (örneğin Ficoll) kullanılarak izole edilmesi önerilmektedir (15).
7. Anti-insan monoklonal antikor terapisi ile tedavi edilen hastalarda, terapötik antikorun kısmi veya tam engellemesi nedeniyle spesifik hedeflenen antijenlerin tespiti azalabilir veya yapılamayabilir.
8. CD56-PE sonuçları, semptomlar, klinik öykü, ilave testlerden elde edilen veriler ve diğer uygun bilgiler dahil olmak üzere hastanın genel klinik tablosu dikkate alınarak yorumlanmalıdır.

Örnekler ve referanslar için Ek'e bakın.

TİCARİ MARKALAR

Bu belgede belirtilen Beckman Coulter, stilize logo ve Beckman Coulter ürün ve hizmet markaları, Beckman Coulter, Inc. firmasının ABD'de ve diğer ülkelerdeki ticari veya tescilli ticari markalarıdır.

EK BİLGİLER

Avrupa Birliği'nde ve aynı düzenleme rejiminin olduğu ülkelerdeki (In Vitro Diagnostik Tıbbi Cihazlar hakkında 2017/746/EU sayılı Yönetmelik) hasta/kullanıcı/üçüncü taraflar için; bu cihazın kullanımı sırasında veya cihazın kullanımının bir sonucu olarak ciddi bir olay meydana gelirse lütfen olayı üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makamınıza bildirin.

Summary of Safety and Performance (Güvenlik ve Performans Özeti) EUDAMED veritabanında mevcuttur: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVİZYON GEÇMİŞİ

REVİZYON AD:	Yayın tarihi: Eylül 2019

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AW	Şubat 2022
Beckman Coulter Global Etiketleme Politikasıyla uyumluluk sağlamak için ve IVD-R (AB)2017/746 gerekliliklerine göre güncellemeler yapıldı:	
Bölümler eklendi	BSI 2797 Numarası, Hedef Kullanıcı, Klinik Anlam, Konsantrasyon, Kesinlik, Doğruluk, Kör limiti ve tespit limiti, Ek Bilgiler, Revizyon Geçmişi.
Bilgi eklendi	Sınırlamalar bölümlerine bakın
İfade veya yazım güncellemeleri	Prosedür, Performans, Sınırlamalar, Uyarılar ve Önlemler, Saklama ve Stabilite bölümlerine bakın.
Bölümler kaldırıldı	Klinik uygulama örneği, Reaktifler, Laboratuvar içi yeniden üretilebilirlik, Linearite
Güncellenmiş bölümler	Kullanım Amacı, GHS Tehlike Sınıflandırması, Bozulma Göstergesi, Prosedür, Ek.

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AX	Nisan 2023
Güncellenmiş bölümler	Kazakça ekle
Güncellenmiş bölümler	Saklama ve stabilite

Düzeltilmiş Sürüm	AY
Revizyon Tarihi	Mayıs 2024
Güncellenmiş Çeviriler	**Klinik önemi:**
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Düzeltilmiş Sürüm	AZ
Revizyon Tarihi	Temmuz 2024
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Sembol Anahtarı

Semboller Sözlüğü beckman.com/techdocs adresinde bulunabilir (belge numarası B60062)

	Спецификации
Специфичность	CD56
Клон	N901 (NKH-1)
Гибридома	NS1 x balb/c
Иммуноген	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Иммуноглобулин	IgG1
Вид	Мышь
Очистка	Аффинная хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin (PE)
Молярное отношение	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Возбуждение λ	488 nm
Пик эмиссии	575 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 мг/мл БСА и 0,1% NaN_3

Конъюгированное антитело IOTest CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 мл, 20 мкл/тест

Применяется для *In Vitro* диагностики.

НАЗНАЧЕНИЕ

Это конъюгированное с флуорохромом антитело позволяет с использованием проточной цитометрии выполнить качественное и не автоматизированное определение клеточных популяций, экспрессирующих антиген CD56, который присутствует в биологических пробах человека (см. раздел «Пробы» ниже).

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Данный тест основан на способности специфических моноклональных антител связывать антигенные детерминанты, экспрессированные лейкоцитами.

Специфическое окрашивание лейкоцитов выполняется путем инкубирования пробы с реагентом IOTest. Затем методом лизиса удаляются эритроциты, и выполняется анализ лейкоцитов, не затронутых этим процессом, методом проточной цитометрии.

Проточный цитометр измеряет светорассеяние и флуоресценцию клеток. Это дает возможность разграничения интересующей популяции в электронном окне, определенном на гистограмме, что коррелирует с ортогональным светорассеянием (боковое рассеяние, или SS) и рассеянием света под острым углом (прямое рассеяние, или FS). Другие гистограммы, сочетающие два из других параметров, доступных на цитометре, могут использоваться как вспомогательные на стадии селекции, в зависимости от приложения, выбранного пользователем.

Флуоресценцию разграниченных клеток анализируют с целью различения положительно-окрашенных и неокрашенных событий. Результаты выражаются в виде процентного отношения положительных событий ко всем событиям, полученным в ходе селекции.

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ

Изделие предназначено для использования в лаборатории персоналом с профессиональной подготовкой.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

CD56-PE представляет собой антитело к CD56, используемое для идентификации и определения характеристик клеток, экспрессирующих антиген CD56, методом проточной цитометрии. Этот продукт отдельно от других исследований не может приводить к принятию каких-либо диагностических решений и не предназначен для этого.

При использовании в сочетании с другими маркерами этот продукт может использоваться в следующих целях.

- Для использования при дифференциальной диагностике пациентов с отклонениями гематологических результатов (при подозрении на наличие гематопоэтических новообразований), а также для мониторинга пациентов с известным гематопоэтическим новообразованием.
- Для использования при диагностике пациентов с подозрением на иммунодефицит, а также для мониторинга пациентов с известным иммунодефицитом.
- Для определения прогноза у пациентов с гематопоэтическими новообразованиями.
- Для отслеживания процесса или результатов трансплантации.

См. следующие ссылки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

ПРОБЫ

При взятии образца венозной крови необходимо использовать стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта.

Пробы следует хранить при комнатной температуре (18–25°C), не встряхивая. Пробы следует гомогенизировать, осторожно перемешав, до отбора тестовой пробы.

Пробы требуется проанализировать в течение 24 ч после венипункции.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

См. специфический для партии сертификат анализа на веб-сайте www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Не используйте реагенты после истечения срока годности.
2. Не замораживать.
3. Перед использованием довести до комнатной температуры (18–25°C).

4. Минимизируют воздействие света.
5. Во избежание получения ошибочных результатов не допускайте микробной контаминации реагентов.
6. Следует с осторожностью обращаться с растворами антител, содержащими натрия азид (NaN_3). Не принимайте внутрь и избегайте любого контакта с кожей, слизистыми оболочками и глазами.

   Кроме того, в кислой среде натрия азид может образовывать потенциально опасную азотистоводородную кислоту. Если требуется утилизация, рекомендуется разводить реагент в большом объеме воды, прежде чем выливать его в канализацию, чтобы избежать накопления натрия азида в металлических трубах и исключить возможность взрыва.
7. Все пробы крови должны считаться потенциально инфицированными, при обращении с ними необходимо соблюдать осторожность (в частности, использовать защитные перчатки, одежду и очки).
8. Никогда не пипетируйте ртом и избегайте любого контакта проб с кожей, слизистыми и глазами.
9. При утилизации пробирок и одноразовых материалов следует использовать специальные предназначенные для сжигания контейнеры.
10. При утилизации реагентов и отходов необходимо следовать требованиям местного законодательства.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Не классифицируется как опасное вещество

SDS Паспорт безопасности доступен на сайте beckmancoulter.com/techdocs

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Этот реагент требуется хранить при температуре от 2 до 8°C, защищая от света, до и после вскрытия флакона.

Срок хранения закрытого флакона согласно исследованию стабильности: 1095 день.

Стабильность в открытом флаконе: реагент сохраняет стабильность в течение 180 дн.

ПРИЗНАКИ ПОРЧИ

Любые изменения внешнего вида реагентов могут говорить о порче, использовать такой реагент не следует.

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь со своим местным представителем Beckman Coulter.

СОДЕРЖАНИЕ

Консервант с содержанием азида натрия может образовывать взрывоопасные соединения в металлической водопроводной арматуре. См. бюллетень Национального института по охране труда и промышленной гигиене (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Взрывоопасные азиды) (16.8.76). Чтобы избежать накопления азидных соединений, промывайте сливные трубы водой после сброса неразбавленного реагента. Утилизацию азида натрия следует проводить в соответствии с соответствующими местными нормами.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, КОТОРЫЕ НЕ ВХОДЯТ В НАБОР:

- Необходимые для взятия проб пробирки и материалы.
- Автоматические пипетки с одноразовыми наконечниками для 20, 100 и 500 мкл.
- Пластиковые пробирки для гемолиза.
- Реагент для лизиса эритроцитов с этапом промывки после лизиса. Например: VersaLyse (ссылочный номер A09777).
- Реагент для фиксации лейкоцитов. Например: IOTest 3 Fixative Solution (фиксирующий раствор) (ссылочный номер A07800).
- Изотипический контроль -PE: Реагент IOTest (ссылочный номер A07796).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрия фосфата; 0,145 M натрия хлорида; pH 7,2).
- Центрифугируйте.
- Автоматическая мешалка (вортексная)
- Проточный цитометр.

ПРОЦЕДУРА С РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для каждой анализируемой пробы в дополнение к тестовой пробирке можно добавить одну контрольную пробирку, в которой клетки смешаны в присутствии изотипического контроля (ссылочный номер A07796).

1. В каждую тестовую пробирку добавьте по 20 мкл специфического конъюгированного антитела IOTest, а в каждую контрольную пробирку — по 20 мкл изотипического контроля, если необходимо.
2. Добавьте 100 мкл тестовой пробы в каждую пробирку. Аккуратно перемешайте пробирки на вортексе.
3. Инкубируют при комнатной температуре (18–25°C) в течение 15-20 мин, в защищенном от света месте.
4. Затем выполняют лизис эритроцитов. См. вкладыш VersaLyse (ссылочный номер A09777) и, предпочтительно, следуйте процедуре с названием «с сопутствующей фиксацией», которая заключается в добавлении 1 мл смеси «Фиксирующей и лизирующей», приготовленной для немедленного применения. Немедленно перемешивают на вортексе в течение одной секунды и инкубируют в течение 10 минут при комнатной температуре, защищая от света.
5. Центрифугируют в течение 5 минут при 150 g при комнатной температуре.
6. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации.
7. Ресуспендируют осадок клеток, используя 3 мл PBS.
8. Повторите шаг 5.
9. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации и ресуспендируют осадок клеток, используя:

- 0,5 мл или 1 мл PBS плюс 0,1% формальдегида, если препараты следует хранить менее 24 ч. (PBS с 0,1% формальдегида можно получить путем разведения 12,5 мкл фиксирующего раствора IOTest 3 (ссылочный номер A07800) в 10-кратной концентрации в 1 мл PBS).
- 0,5 мл или 1 мл PBS без формальдегида, если препараты следует проанализировать в течение 2 ч.

Примечание. В обязательном порядке защищайте подготавливаемые материалы от солнечного света, храните их при температуре от 2 до 8°C.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В наших лабораториях пробы цельной крови от клинически здоровых доноров (количество доноров: 25) были обработаны с использованием описанного выше реагента. Результаты, полученные для количества положительных интересующих явлений с этим реагентом, приводятся в таблице ниже:

Положительная мишень	Число	Среднее (%)	SD	CV (%)
Лимфоциты	25	18,74	6,02	32,10

Эти значения используются только в качестве примера. В каждой лаборатории должны быть установлены собственные диапазоны ожидаемых значений с учетом проб нормальных доноров из числа местного населения.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Рабочие характеристики получены с использованием описанной выше процедуры на пробах, собранных не ранее чем за 24 часа до анализа в стерильные пробирки с солью ЭДТА как антикоагулянтом. Анализ проводится в течение 2 часов после иммуноокрашивания.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Молекулярная масса сильно гликированного белка CD56 (молекулы NKH1) составляет 200–220 kDa (10,11). Он экспрессирует на субпопуляции лимфоцитов периферической крови, которые демонстрируют не ограниченную главным комплексом гистосовместимости цитотоксичность (10,12). Моноклональное антитело N901 (NKH-1) вступает в реакцию с большинством NK-клеток (10,11). Оно также вступает в реакцию с небольшой популяцией CD3-положительных Т-клеток, которая опосредует пониженную цитотоксическую активность (12). Это антитело не вступает в реакцию с моноцитами, гранулоцитами, эритроцитами и В-лимфоцитами. Антитело N901 (NKH-1) было отнесено к кластеру дифференцирования CD56 на 4-м Международном семинаре, посвященном дифференцированию лейкоцитов человека, который проводился в Vienna, Австрия, в 1989 г. (13).

ПРЕЦИЗИОННОСТЬ

Процент положительных результатов был установлен с использованием цельной крови. Каждую пробу измеряли 4 раза, два раза в день в течение 1 дня на 2 приборах, с использованием 2 партий реагентов моноклональных антител CD56-PE. Измерения (% положительных) выполняли на проточном цитометре Navios. Анализ проводился на основе метода CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оценка прецизионности количественных методик измерения).

Наши критерии принятия зависят от количества положительных событий, измеренных для каждой популяции:

- Если положительных событий <1 500, CV <15%
- Если положительных событий >1 500, CV <10%

Лимфоциты							
Количество положительных событий (среднее) = 1083							
	Между операторами	Между цитометрами	Внутри партии	Между партиями	Между анализами	Внутри анализа	Итого
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
РЕЗУЛЬТАТЫ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТЬ

Точность CD56-PE оценивалась путем сравнения результатов с результатами по референсному реагенту как предикатом. Анализ выполняли на проточном цитометре Navios с использованием набора проб цельной крови. Систематическая ошибка оценки между тестовым и референсным реагентами была определена на основании различий между результатами теста. Если систематическая ошибка оценки находится в пределах допустимого диапазона ошибки или если p-значение указывает на отсутствие значительного различия (>0,05), тогда результаты теста для двух реагентов рассматриваются как эквивалентные.

Полученные результаты обобщены в таблице далее.

Количество доноров = 25				
Положительная мишень	Среднее значение Δ	Критерии Δ % клеток	p-значение	РЕЗУЛЬТАТЫ
Лимфоциты	-0,25	<5	0,262	PASS

ПРЕДЕЛ БЛАНКА И ПРЕДЕЛ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Исследование было проведено в соответствии с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Оценка способности обнаружения для методик измерения клинической лаборатории). Предел чувствительности (LOD) — наименьшая концентрация аналита, которая может последовательно обнаруживаться. Полученные результаты обобщены в таблице ниже.

Positive Target	Предел бланка (клеток/мкл)	Предел чувствительности (клеток/мкл)
Лимфоциты	4	6

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. При проведении проточной цитометрии возможно получение ложных результатов, если цитометр не был идеально позиционирован, не была проведена правильная компенсация утечек флуоресцентного агента или точное позиционирование областей.

2. Предпочтительно использовать технику лизиса RBC с шагом промывки, так как этот реагент не был оптимизирован для техник лизиса «без промывки».
3. Для получения точных и повторяемых результатов необходимо выполнять процедуры в соответствии с инструкцией-вкладышем и требованиями надлежащей лабораторной практики.
4. Выполняется калибровка конъюгированного антитела этого реагента с целью получения наилучшего для данной конкретной задачи соотношения специфичного и неспецифичного сигнала. Поэтому при каждом тесте важно придерживаться правильного соотношения объема реагента и пробы.
5. При гиперлейкоцитозе, разбавляют кровь PBS до приблизительно 5 x 10^9 лейкоцитов/л (14).
6. При определенных заболеваниях, таких как острая почечная недостаточность или гемоглобинопатии, лизис эритроцитов может протекать медленно, быть неполным или даже невозможным. В таком случае рекомендуется изолировать одноядерные клетки, используя градиент плотности (например, фиколл), перед окрашиванием (15).
7. У пациентов, получавших лечение античеловеческими моноклональными антителами, обнаружение специфических целевых антител может быть снижено или может отсутствовать вследствие частичной или полной блокировки терапевтическими антителами.
8. Результаты CD56-PE должны интерпретироваться с учетом общих клинических проявлений пациента, включая симптомы, историю болезни, данные дополнительных тестирований и прочую информацию.

Примеры и ссылки см. в Приложении.

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

Beckman Coulter, стилизованный логотип и упоминаемые здесь знаки продукции и услуг Beckman Coulter являются товарными знаками или зарегистрированными товарными знаками корпорации Beckman Coulter, Inc. в Соединенных Штатах и других странах.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для пациента / пользователя / третьей стороны в Европейском Союзе и в странах с идентичным регуляторным режимом (Регламент 2017/746/EC в отношении медицинских изделий для in vitro диагностики); если, во время использования этого изделия или в результате его использования произошел серьезный инцидент, сообщите о нем производителю и/или его уполномоченному представителю и своему национальному органу регулирования.

Summary of Safety and Performance (Сводные данные по безопасности и функциональным характеристикам) доступны в Европейской базе данных изделий медицинского назначения (EUDAMED): ec.europa.eu/tools/eudamed.

СВЕДЕНИЯ О ВЕРСИЯХ

ВЕРСИЯ AD:	Дата выпуска: Сентябрь 2019 г.

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AW	Февраль 2022 г.
Обновления с целью приведения в соответствие политике международной маркировки Beckman Coulter и для выполнения требований IVD-R (EC)2017/746:	
Добавлены разделы	Номер BSI 2797, «Предполагаемый пользователь», «Клиническая значимость», «Концентрация», «Прецизионность», «Точность», «Предел бланка и предел чувствительности», «Дополнительная информация», «Сведения о версиях».
Добавлена информация	См. раздел «Ограничения»
Обновлены формулировки или исправлены опечатки	См. разделы «Процедура», «Эксплуатационные характеристики», «Ограничения», «Предупреждения и меры предосторожности», «Хранение и стабильность».
Удалены разделы	«Примеры клинических областей применения», «Реагенты», «Внутрилабораторная сходимость», «Линейность»
Обновленные разделы	«Назначение», «Классификация опасностей по системе СГС», «Признаки порчи», «Процедура», «Приложение».

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AX	Апрель 2023
Обновленные разделы	Добавить казахский язык
Обновленные разделы	Хранение и стабильность

Пересмотренная версия	AY
Дата пересмотра	Май 2024
Обновленные переводы	**Клиническая значимость:**
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Пересмотренная версия	AZ
Дата пересмотра	Июль 2024
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Определения символов

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (номер документа B60062)

	Spetsifikatsioonid
Spetsiifilisus	CD56
Kloon	N901 (NKH-1)
Hübridoom	NS1 x balb/c
Immunogeen	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Immunoglobuliin	IgG1
Liigid	Hiir
Puhastamine	Afiinsuskromatograafia
Fluorokroom	R Phycoerythrin (PE)
Molaarsuhe	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ergastumine	488 nm
Emission Peak	575 nm
Puhver	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/ml BSA ja 0,1% NaN_3

IOTest
konjugeeritud antikeha CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 ml, 20 µl / analüüs

***In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks**

KASUTUSOTSTARVE

See fluorokroomiga konjugeeritud antikeha võimaldab voolutsütomeetriaga kvalitatiivselt ja mitteautomatiseeritult tuvastada rakupopulatsioone, mis esitavad inimese bioloogilistes proovides antigeeni CD56 (vt allpool osa „Proovid“).

PÕHIMÕTE

Analüüs põhineb spetsiifiliste monoklonaalsete antikehade võimel seonduda leukotsüütide sünteesitavate antigeensete determinantidega.

Leukotsüütide eriomaseks värvimiseks tuleb proovi koos tootesarja IOTest reagendiga inkubeerida. Seejärel eemaldatakse erütrotsüüdid lüüsimisega ja pärast seda analüüsitakse voolutsütomeetriaga leukotsüüte, mida see protsess ei mõjuta.

Läbivoolutsütomeeter mõõdab valguse hajumist ja rakkude fluorestsentsi. See muudab võimalikuks huvialuse populatsiooni piiristamise histogrammil määratud elektroonilisel alal. Histogramm korreleerib valguse ortogonaalset hajumist (külghajumine ehk KH) ja kitsasnurga valguse hajumist (edasihajumine ehk EH). Teisi histogramme, kus ühendatakse tsütomeetrias saadaolevat kahte parameetrit, võib kasutada lüüsimisetapis olenevalt kasutaja valitud rakendusest.

Piiritletud rakkude fluorestsentsi analüüsitakse, et eristada positiivselt värvitud sündmusi värvimata sündmustest. Tulemusi kajastatakse positiivsete sündmuste protsentuaalse osakaaluna kõigi väravdamisega hõivatud sündmuste suhtes.

SIHTKASUTAJA

See toode on ette nähtud laboratoorseks kasutamiseks.

KLIINILINE TÄHTSUS

CD56-PE on CD56 antikeha, mida kasutatakse CD56 antigeeni sünteesivate rakkude voolutsütomeetriaga tuvastamiseks ja kirjeldamiseks. See toode üksi ei saa ega ole mõeldud ühegi diagnostilise otsuse tegemiseks.

Koos teiste markeritega kasutades saab seda toodet kasutada ühes või mitmes järgmistest funktsioonidest:

- Lihtsustamaks diferentsiaaldiagnoosi panemist hematoloogiliste ebanormaalsustega patsientidele, kellel kahtlustatakse vereloome neoplasmi esinemist, ja teadaoleva vereloome neoplasmiga patsientide monitoorimiseks.
- Immuunpuudulikkusega patsientide diagnoosimise hõlbustamiseks ja teadaoleva immuunpuudulikkusega patsientide jälgimiseks.
- Vereloome neoplasmiga patsientidele prognoosi andmise hõlbustamiseks.
- Siirdamisprotsessi või tulemuste jälgimiseks.

Vt järgmisi viiteid.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

PROOVID

Veeniverd tuleb võtta steriilsete katsutitega, mis sisaldavad antikoagulandina etüleendiamiintetraatsetaadi (EDTA) soola.

Proove tuleb hoida toatemperatuuril (18–25 °C) ja neid ei tohi raputada. Proove tuleb ühtlustada seda enne näidisproovi võtmist ettevaatlikult loksutades.

Proove tuleb analüüsida 24 tunni jooksul alates veenipunktsioonist.

KONTSENTRATSIOON

Vt partiispetsiifilist analüüsi sertifikaati veebilehelt www.beckman.com.

HOIATUS JA ETTEVAATUSABINÕUD

1. Ärge kasutage reagenti pärast aegumiskuupäeva.
2. Ärge külmutage.
3. Enne kasutamist laske tasakaalustuda toatemperatuuriga (18–25 °C).
4. Minimeerige kokkupuudet valgusega.
5. Vältige reagentide mikroobidega saastumist, vastasel juhul võite saada valed tulemused.

6. Antikehade lahuseid, mis sisaldavad naatriumasiidi (NaN_3), tuleb käsitseda ettevaatlikult. See pole mõeldud seespidiseks kasutamiseks. Vältige kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.

   Lisaks võib naatriumasiid moodustada happelises keskkonnas potentsiaalselt ohtliku hüdrasoonhappe. Kui see tuleb kõrvaldada, on soovitatav lahjendada reagenti suure hulga veega, enne kui see äravoolusüsteemi valada, et vältida plahvatusohtu ja naatriumasiidi kogunemist metalltorudesse.
7. Kõiki vereproove tuleb pidada potentsiaalselt nakkusohtlikuks ja käsitseda ettevaatusega (kasutage kaitsekindaid, kitlit ning kaitseprille).
8. Ärge kunagi pipettige suuga ja vältige proovide kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.
9. Verekatsutid ja käitlemiseks kasutatav ühekordselt kasutatav materjal tuleb hävitada põletamiseks ettenähtud spetsiaalsetes konteinerites.
10. Reagendid ja jäätmed tuleb kõrvaldada vastavalt kohalikele nõuetele.

GHS-I OHUKLASSIFIKATSIOON

Ei ole klassifitseeritud ohtlikuks

SDS Ohutuskaart on saadaval saidil beckmancoulter.com/techdocs

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Seda reagenti tuleb enne ja pärast viaali avamist hoida temperatuuril 2–8 °C ning valguse eest kaitstult.

Suletud viaali säilivusaeg stabiilsusuuringu põhjal: 1095 päeva.

Avatud viaali stabiilsus: reagent on stabiilne 180 päeva.

RIKNEMISE TUNNUSED

Igasugune muutus reagentide füüsilises välimuses võib viidata reagendi riknemisele ja seda ei tohi kasutada.

Lisateabe hankimiseks või kahjustatud toote saamisel helistage Beckman Coulteri klienditeenindusse numbril 800-742-2345 (USA või Kanada) või võtke ühendust kohaliku Beckman Coulteri esindajaga.

SISU

Naatriumasiidist konservant võib moodustada metallist kanalisatsioonitorudes plahvatusohtlikke ühendeid. Vt asutuse NIOSH teadaannet. Explosive Azide Hazard (Plahvatusohtliku asiidi oht) (16.8.76).
Vältimaks võimalikku asiidiühendite akumuleerimist, loputage äravoolutorusid pärast lahjendamata reagendi kõrvaldamist. Naatriumasiidi kõrvaldamine peab olema kooskõlas asjakohaste kohalike eeskirjadega.

VAJALIKUD, KUID KOMPLEKTI MITTEKUULUVAD MATERJALID

- Proovide kogumiseks vajalikud proovivõtukatsutid ja vahendid.
- Automaatpipetid ühekordselt kasutatavate otsakutega, mis võimaldavad teisaldada 20, 100 ja 500 µl.
- Plastist hemolüüsi katsutid.
- Erütrotsüütide lüüsireagent koos pesemisetapiga pärast lüüsi. Analüüsinäide VersaLyse (viitenr A09777).
- Leukotsüütide fikseerimisreagent. Näide Tootesarja IOTest 3 fikseerimisreagent (viitenr A07800).
- Isotüübi kontrollPE: Tootesarja IOTest reagent (viitenr A07796).
- Puhver (PBS: 0,01 M naatriumfosfaat; 0,145 M naatriumkloriid; pH 7,2).
- Tsentrifuugige.
- Automaatsegisti (vibratsioonsegamise tüüpi).
- Voolutsütomeeter.

PROTSEDUUR REAGENDIGA VERSALYSE

Iga analüüsitud proovi kohta võib lisaks analüüsikatsutile lisada ühe kontrollkatsuti, milles rakud segatakse isotüübi kontrolliga (viitenr A07796).

1. Lisage igasse analüüsikatsutisse 20 µl spetsiifilist tootesarja IOTest konjugeeritud antikeha ja vajaduse korral igasse kontrollkatsutisse 20 µl isotüüpset kontrolli.
2. Lisage igasse katsutisse 100 µl analüüsiproovi. Vibratsioonsegage ettevaatlikult katsuteid.
3. Inkubeerige valguse eest kaitstult 15–20 minutit toatemperatuuril (18–25 °C).
4. Seejärel lüüsige erütrotsüüdid. Lugege VersaLyse'i (viitenr A09777) teabelehte ja järgige eelistatavalt protseduuri nimega „samaaegse fikseerimisega", mis põhineb ekstemporaalselt ettevalmistatud 1 ml segu „Fix-and-Lyse" lisamisel. Vibratsioonsegage kohe üks sekund ja inkubeerige 10 minutit toatemperatuuril valguse eest kaitstult.
5. Tsentrifuugige 5 minutit toatemperatuuril kasutades sätet 150 x g.
6. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus.
7. Taassuspendeerige rakusade PBS-is, mille kogus on 3 ml.
8. Korrake etappi 5.
9. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus ja taassuspendeerige rakugraanuleid vahendiga:

- 0,5 ml või 1 ml PBS-i ja 0,1% formaldehüüdi, kui preparaate tuleb hoida vähem kui 24 tundi. (0,1% formaldehüüdi sisaldava PBS-i saamiseks võite lahjendada 12,5 µl tootesarja IOTest 3 10x kontsentratsioonil fikseerimislahust (viitenr A07800) PBS-is, mille kogus on) 1 ml.
- 0,5 ml või 1 ml formaldehüüdita PBS-iga, kui valmissegusid analüüsitakse 2 tunni jooksul.

Märkus Preparaate tuleb alati hoida temperatuuril 2–8 °C ja valguse eest kaitstult.

OODATUD VÄÄRTUSED

Ettevõttesisestes laborites töödeldi ülalkirjeldatud reagendiga täisvere proove, mis koguti 25 tõenäoliselt tervelt doonoritelt. Alljärgnev tabel annab ülevaate selle reagendiga saadud positiivsete huvipakkuvate sündmuste loendustulemustest:

Positiivne siht	Arv	Keskmine (%)	SH	CV (%)
Lümfotsüüdid	25	18,74	6,02	32,10

Need väärtused on mõeldud üksnes näitlikena. Iga laboratoorium peaks kindlaks määrama oma oodatavad vahemikud kohaliku tavapäraste doonorite populatsiooni alusel.

TOIMIMINE

Toimimisandmed saadakse kasutades ülalkirjeldatud protseduuri vähem kui 24 tundi vanadel antikoagulandi EDTA naatriumsoolaga steriilsetesse katsutitesse kogutud vereproovidel. Analüüs tehakse 2 tunni jooksul pärast immuunovärvimist.

SPETSIIFILISUS

CD56 tugevasti glükosüleeritud valgu (NKH1 molekuli) molekulmass on 200–220 kDa (10,11). See avaldub perifeerse vere lümfotsüütide alampopulatsioonis, mis näitavad väiksema koesobivuskompleksi piiratud tsütotoksilisust (10,12). N901 (NKH-1) monoklonaalne antikeha reageerib enamiku NK rakkudega (10,11). Samuti reageerib see CD3-positiivsete T-rakkude väheolulise alampopulatsiooniga, mis vahendab vähenenud tsütotoksilist aktiivsust (12). See antikeha ei reageeri monotsüütide, granulotsüütide, erütrotsüütide ega B-lümfotsüütidega. N901 (NKH-1) antikeha on määratud CD56 diferentseerumisklastrile neljandal rahvusvahelise inimese leukotsüütide diferentseerumise antigeenide alasel seminaril, mis toimus 1989. aastal Viinis, Austrias (13).

TÄPSUS

Positiivsete väärtuste protsent määrati täisverest. Igat proovi testiti 4 korda, kaks korda päevas, 1 päeva jooksul 2 instrumendil, kasutades 2 CD56-PE monoklonaalsete antikehade reagentide partiid. Mõõtmised (% positiivne) tehti Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsiti CLSI meetodi EP5-A2 põhjal. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivsete mõõtmismeetodite täpsuse näitajate hindamine).

Meie sobivuskriteeriumid sõltuvad iga populatsiooni kohta mõõdetud positiivsete sündmuste arvust:

- Positiivse sündmuse korral < 1500, CV < 15%
- Positiivse sündmuse korral > 1500, CV < 10%

Lümfotsüüdid							
Positiivsete sündmuste arv (keskmine) = 1083							
	Kasutajatevaheline	Tsütomeetritevaheline	Partiisisene	Partiidevaheline	Testidevaheline	Testisisene	Kokku
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
TULEMUSED	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

MÕÕTETÄPSUS

CD56-PE mõõtetäpsust hinnati võrreldes tulemusi võrdlusreagendiga kui predikaadiga täisvereproovide komplektis, mida oli testitud Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsi- ja võrdlusreagendi erinevused määrati analüüsitulemuste erinevuse põhjal. Kui erisus jääb lubatud veavahemikku või kui p-väärtus ei näita statistiliselt olulist erinevust (> 0,05), loetakse kahe reagendi analüüsitulemused võrdväärseteks.

Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis.

Doonorite arv = 25				
Positiivne siht	Keskmine Δ	Δ% raku kriteeriumid	p-väärtus	TULEMUSED
Lümfotsüüdid	-0,25	<5	0,262	PASS

NULLPIIR JA TUVASTUSPIIR

Uuriti vastavalt CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Kliinilise labori mõõtmisprotseduuride avastamisvõime hindamise) nõuetele. Tuvastuspiir (LOD) on väikseim analüüdi kontsentratsioon, mida saab järjekindlalt määrata. Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis:

Positive Target	Nullpiir (rakku/µl)	Tuvastuspiir (rakku/µl)
Lümfotsüüdid	4	6

PIIRANGUD

1. Voolutsütomeetria võib anda valed tulemused, kui tsütomeeter ei ole ideaalselt joondatud, kui fluorestsentsi lekkeid ei ole õigesti kompenseeritud ja kui piirkonnad ei ole hoolikalt paigutatud.
2. Eelistatav on kasutada pesemisetapiga RBC lüüsi tehnikat, kuna seda reagenti pole optimeeritud „pesemiseta“ lüüsi tehnikate jaoks.
3. Täpsed ja korratavad tulemused saadakse, kui kasutatavad protseduurid on kooskõlas tehnilise teabelehe ja heade laboritavadega.
4. Selle reagendi pööratud antikeha kalibreeritakse nii, et tagatud oleks parim spetsiifilise/mittespetsiifilise signaali suhe. Seetõttu on igas analüüsis oluline järgida reagendi- ja proovimahu suhet.
5. Hüperleukotsütoosi korral lahjendage verd PBS-is nii, et saadav väärtus oleks ligikaudu 5 x 10^9 leukotsüüti/l kohta (14).
6. Teatud haigusseisundite (näiteks raske neerupuudulikkuse või hemoglobinopaatia) korral võib erütrotsüütide lüüsimine olla aeglane, mittetäielik või isegi võimatu. Sellisel juhul on enne värvimist soovitatav mononukleaarsete rakkude isoleerimine tihedusgradiendi (näiteks Ficoll-gradiendi) abil (15).
7. Inimesevastaste monoklonaalsete antikehadega ravitud patsientidel võib spetsiifiliste antigeenide tuvastamise võime väheneda või puududa, sest need on terapeutiliste antikehade poolt osaliselt või täielikult blokeeritud.
8. CD56-PE tulemuste tõlgendamisel tuleb arvestada patsiendi terviklikku kliinilist pilti, sh sümptomeid, kliinilist anamneesi, lisaanalüüside andmeid ja muud asjakohast teavet.

Vt näiteid ja viiteid lisast.

KAUBAMÄRGID

Beckman Coulter, stiliseeritud logo ning selles juhendis nimetatud ettevõtte Beckman Coulter toote- ja teenusemärgid on ettevõtte Beckman Coulter, Inc. kaubamärgid või registreeritud kaubamärgid Ameerika Ühendriikides ja teistes riikides.

LISATEAVE

Patsiendile / kasutajale / muule osapoolele Euroopa Liidus ja identse regulatsioonirežiimiga riikides (määrus (EL) nr 2017/746 in vitro diagnostikameditsiiniseadmete kohta), kui selle seadme kasutamise ajal või selle kasutamise tagajärjel on toimunud tõsine vahejuhtum, teatage sellest tootjale ja/või tema volitatud esindajale ning teie riiklikult pädevale asutusele.

Summary of Safety and Performance (Ohutuse ja kliinilise toimivuse kokkuvõte) on EUDAMED-andmebaasis: ec.europa.eu/tools/eudamed.

VERSIOONI AJALUGU

REVISION AD:	Väljastuskuupäev: September 2019

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AW	Veebruar 2022
Värskendused, mis vastavad Beckman Coulteri ülemaailmse märgistamise poliitikale ja IVD-R (EL) 2017/746 nõuetele:	
Lisatud osad	BSI 2797 number, sihtkasutaja, kliiniline tähtsus, kontsentratsioon, täpsus, mõõtetäpsus, nullpiir ja tuvastuspiir, lisateave, versiooni ajalugu.
Lisatud informatsioon	Vaata osa „Piirangud“
Fraseerimine või tüpograafiline värskendamine	Vaata osasid Protseduur, Toimimine, Piirangud, Hoiatus ja ettevaatusabinõud, Säilitamine ja stabiilsus.
Eemaldatud osad	Kasutusotstarvete, reagentide, laborisisese korratavuse, lineaarsuse näited
Uuendatud jaotised	Kasutusotstarve, GHS-i ohuklassifikatsioon, Riknemise tunnused, Protseduur, Lisa.

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AX	aprill 2023
Uuendatud jaotised	Lisada kasahhi keel
Uuendatud jaotised	Säilitamine ja stabiilsus

Muudetud versioon	AY
Muutmise kuupäev	mai 2024
Värskendatud tõlked	**Kliiniline tähtsus:**
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Muudetud versioon	AZ
Muutmise kuupäev	juuli 2024
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Sümboli tähis

Sümbolite mõisted on kättesaadavad veebilehel beckman.com/techdocs (dokument nr B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD56
Klon	N901 (NKH-1)
Hibridom	NS1 x balb/c
Imunogen	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Imunoglobulin	IgG1
Vrsta	Miš
Pročišćavanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molarni omjer	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna emisija	575 nm
Pufer	PBS pH 7,2 uz 2 mg/mL BSA i 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano antitijelo CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Za *in vitro* dijagnostičku uporabu

NAMJENA

To fluorokromom konjugirano antitijelo omogućuje kvalitativno i neautomatizirano prepoznavanje populacija stanica koje eksprimiraju antigen CD56 prisutan u humanim biološkim uzorcima uz pomoć protočne citometrije (pogledajte odjeljak „Uzorci" u nastavku).

NAČELO

Ovaj je test utemeljen na mogućnosti vezivanja specifičnih monoklonskih antitijela na antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično se bojenje leukocita izvodi inkubacijom uzorka s reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utječe, analiziraju se protočnom citometrijom.

Citometar toka mjeri difuziju svjetlosti i fluorescenciju stanica. Omogućuje razgraničavanje promatrane populacije unutar elektroničkog prozora definiranog na histogramu, koji stvara korelaciju između ortogonalne difuzije svjetlosti (bočnog raspršenja (BR)) i difuzije uskokutne svjetlosti (prednjeg raspršenja (PR)). Drugi histogrami koji kombiniraju dva od više različitih parametara dostupnih na citometru mogu se upotrebljavati kao pomoć u fazi ograđivanja ovisno o primjeni koju je odabrao korisnik.

Analizira se fluorescencija ograničenih stanica da bi se pozitivno obojeni događaji odvojili od neobojenih. Rezultati se izražavaju kao postotak pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobivene ograđivanjem.

PREDVIĐENI KORISNIK

Proizvod je namijenjen za profesionalnu laboratorijsku uporabu.

KLINIČKA RELEVANTNOST

CD56-PE antitijelo je na CD56 koje se koristi za prepoznavanje i karakteriziranje stanica koje eksprimiraju antigen CD56 protočnom citometrijom. Ovaj proizvod samostalno ne može generirati nikakav dijagnostički zaključak niti je tome namijenjen.

Kada se upotrebljava u kombinaciji s drugim markerima, ovaj se proizvod može upotrebljavati u jednoj ili više sljedećih funkcija:

- Kao pomoć prilikom postavljanja diferencijalne dijagnoze u hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu te za praćenje pacijenata s poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć prilikom postavljanja dijagnoze u pacijenata za koje se sumnja na imunodeficijenciju te za praćenje pacijenata s poznatom imunodeficijencijom.
- Kao pomoć prilikom donošenja prognoze za pacijente s hematopoetskom neoplazmom.
- Za nadzor postupka ili rezultata transplantacije.

Pogledajte sljedeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

UZORCI

Venska krv mora se uzeti sterilnim epruvetama koje kao antikoagulans sadrže EDTA sol.

Uzorke držite na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C) i nemojte ih tresti. Prije uzimanja testnog uzorka potrebno je homogenizirati uzorke pažljivim mućkanjem.

Uzorci venske krvi moraju se analizirati u roku od 24 sata od njihova uzimanja.

KONCENTRACIJA

Na web-mjestu www.beckman.com pogledajte Certifikat o analizi specifičan za lot koji upotrebljavate.

UPOZORENJE I MJERE OPREZA

1. Reagens nemojte upotrebljavati nakon isteka roka trajanja.
2. Nemojte zamrzavati.
3. Prije upotrebe pustite da dosegne sobnu temperaturu (18 – 25 °C).
4. Smanjite izlaganje svjetlu.

5. Izbjegavajte mikrobnu kontaminaciju reagensa ili može doći do netočnih rezultata.
6. Otopinama antitijela koje sadrže natrijev azid (NaN_3) potrebno je rukovati oprezno. Ne gutajte i izbjegavajte dodir s kožom, sluznicom i očima.

   Štoviše, natrijev azid u kiselom mediju može formirati potencijalno opasnu hidrazoičnu kiselinu. Ako je reagens potrebno odložiti u otpad, preporučuje se da ga razrijedite u velikoj količini vode prije nego što ga izlijete u odvodni sustav da biste izbjegli nakupljanje natrijeva azida u metalnim cijevima i spriječili opasnost od eksplozije.
7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno zaraznima te je njima potrebno rukovati oprezno (odnosno nositi zaštitne rukavice, odjeću i naočale).
8. Nikada ne pipetirajte ustima te izbjegavajte doticaj uzoraka s kožom, sluznicom i očima.
9. Epruvete s krvlju i otpadni materijal za rukovanje treba odložiti u jednokratne spremnike namijenjene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad potrebno je ukloniti u skladu s lokalnim zahtjevima.

KLASIFIKACIJA OPASNOSTI PREMA GHS-U

Nije klasificiran kao opasan

SDS Sigurnosni list dostupan je na adresi beckmancoulter.com/techdocs

POHRANA I STABILNOST

Reagens se mora čuvati na temperaturi između 2 i 8 °C te zaštićen od svjetlosti, kako prije, tako i poslije otvaranja bočice.

Vijek trajanja zatvorene bočice prema ispitivanju stabilnosti: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dana.

DOKAZ PROPADANJA

Svaka promjena fizičkog izgleda reagensa može upućivati na propadanje te se reagens ne smije upotrebljavati.

Ako su vam potrebne dodatne informacije ili ste primili oštećen proizvod, nazovite korisnički servis tvrtke Beckman Coulter na 800-742-2345 (u SAD-u ili Kanadi) ili se obratite lokalnom predstavniku tvrtke Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans s natrijevim azidom može stvoriti eksplozivne spojeve u metalnim cjevovodima. Pogledajte bilten NIOSH: Explosive Azide Hazard (Opasnost od eksplozije azida) (16. 8. 76.).
Da biste spriječili moguće taloženje komponenata azida, prilikom odlaganja nerazrijeđenog reagensa u otpad odvodne cijevi isperite vodom. Odlaganje natrijeva azida u otpad mora biti u skladu s odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU DIO KOMPLETA:

- Epruvete za uzorke i materijal potreban za uzimanje uzoraka.
- Automatske pipete s jednokratnim nastavcima za 20, 100 i 500 µL.
- Plastične hemolitičke epruvete.
- Reagens za liziranje eritrocita s fazom pranja nakon liziranja. Na primjer: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primjer: Otopina za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotipska kontrola PE: reagens IOTest (ref. A07796).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijeva fosfata, 0,145 M natrijeva klorida, pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska miješalica (tip vorteks).
- Citometar toka.

POSTUPAK S REAGENSOM VERSALYSE

Za svaki uzorak koji se analizira može se uz testnu epruvetu dodati jedna kontrolna epruveta u kojoj su stanice pomiješane u prisutnosti izotipskih kontrola (ref. A07796).

1. Dodajte 20 µL konjugiranog antitijela specifičnog za IOTest u svaku testnu epruvetu i, ako je potrebno, 20 µL izotipske kontrole u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µL testnog uzorka u svaku epruvetu. Epruvete polako promiješajte u vorteks-miješalici.
3. Inkubirajte od 15 do 20 min na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C), zaštićeno od svjetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje eritrocita. Pogledajte brošuru VersaLyse (ref. A09777) i po mogućnosti slijedite postupak „uz istovremeno fiksiranje" koji se sastoji od dodavanja 1 mL svježe pripremljene mješavine za fiksiranje i liziranje. Odmah promiješajte u vorteks-miješalici jednu sekundu i inkubirajte 10 min pri sobnoj temperaturi, zaštićeno od svjetlosti.
5. Centrifugirajte 5 min pri 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću 3 mL PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Uklonite supernatant aspiracijom i stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću:

- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a plus 0,1 % formaldehida ako se pripravke planira čuvati manje od 24 sati. (PBS s 0,1 % formaldehida možete pripremiti razrjeđivanjem 12,5 µL otopine za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800) pri njezinoj 10X koncentraciji u 1 mL PBS-a).
- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a bez formaldehida, ako pripravak treba analizirati u roku od 2 sati.

Napomena: U svakom slučaju pripravke čuvajte zaštićene od svjetlosti na temperaturi između 2 i 8 °C.

OČEKIVANE VRIJEDNOSTI

U našim su laboratorijima obrađeni uzorci pune krvi naizgled zdravih donora (njih 25) pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati prikupljeni pomoću tog reagensa u svrhu brojanja pozitivnih relevantnih događaja navedeni su u tablici u nastavku:

Pozitivna ciljna vrijednost	Broj	Srednja vrijednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti	25	18,74	6,02	32,10

Te su vrijednosti samo okvirne. Svaki laboratorij mora utvrditi vlastite očekivane vrijednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o performansama dobivaju se prethodno opisanim postupkom na manje od 24 sata starim uzorcima krvi prethodno prikupljenima u sterilne epruvete uz EDTA sol kao antikoagulans. Analiza se provodi u roku od 2 sata nakon imunobojenja.

SPECIFIČNOST

Relativna molekularna masa proteina CD56 s visokom koncentracijom glukoze (molekula NKH1) iznosi 200 – 220 kDa (10,11). Izražena je u potpopulaciji limfocita periferne krvi koji iskazuju ograničenu ne-MHC citotoksičnost (10,12). Monoklonsko antitijelo N901 (NKH-1) reagira s većinom NK stanica (10,11). Reagira i s manjom potpopulacijom CD3 pozitivnih T-stanica koje pokreću smanjenu citotoksičnu aktivnost (12). To antitijelo ne reagira s monocitima, granulocitima, eritrocitima ni B-limfocitima. Antitijelo N901 (NKH-1) dodijeljeno je razlikovnoj grupi CD56 tijekom 4. međunarodne radionice o razlikovnim antigenima humanih leukocita, održanoj u Beču (Austrija) 1989. (13).

PRECIZNOST

Postotne pozitivne vrijednosti utvrđene su pomoću pune krvi. Svaki je uzorak obrađen 4 puta, dvaput dnevno tijekom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagensa s monoklonskim antitijelima CD56-PE. Mjerenja (% pozitivnih vrijednosti) provedena su s pomoću citometra toka Navios. Analiza je provedena na temelju CLSI metode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procjena radnih značajki preciznosti metoda kvantitativnog mjerenja).

Naši kriteriji prihvatljivosti ovise o broju pozitivnih događaja izmjerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivni događaj < 1500, CV < 15 %
- Ako je pozitivni događaj > 1500, CV < 10 %

Limfociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrijednost) = 1083							
	Među operatorima	Među citometrima	Unutar lota	Među lotovima	Među obradama	Unutar obrade	Ukupno
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost mjerenja CD56-PE procijenjena je usporedbom rezultata s referentnim reagensom kao predikatom na skupu uzoraka pune krvi obrađenima na protočnom citometru Navios. Odstupanje između testa i referentnog reagensa utvrđeno je na temelju razlike između rezultata testa. Ako je odstupanje unutar dopuštenog raspona pogreške ili ako p-vrijednost upućuje na to da nema značajne razlike (> 0,05), rezultati testa za dva reagensa smatraju se istovjetnima.

Dobiveni rezultati sažeti su u tablici u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivna ciljna vrijednost	Srednja vrijednost Δ	Kriterij stanica Δ %	p-vrijednost	REZULTATI
Limfociti	-0,25	<5	0,262	PASS

GRANICA SLIJEPE PROBE I GRANICA DETEKCIJE

Ispitivanje je izvedeno u skladu s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Procjena sposobnosti otkrivanja za postupke mjerenja u kliničkim laboratorijima). Granica detekcije (LOD) – najniža koncentracija analita koja se može dosljedno otkriti. Dobiveni rezultati sažeti su u sljedećoj tablici:

Positive Target	Granica slijepe probe (stanica/µL)	Granica detekcije (stanica/µL)
Limfociti	4	6

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti pogrešne rezultate ako citometar nije savršeno poravnat, ako fluorescentna curenja nisu pravilno kompenzirana i ako regije nisu pažljivo pozicionirane.
2. Poželjno je upotrebljavati tehniku liziranja pomoću RBC-a uz korak pranja jer ovaj reagens nije optimiziran za tehnike liziranja „bez pranja”.
3. Točni i ponovljivi rezultati dobivat će se sve dok se postupci izvode u skladu s tehničkom brošurom i u skladu s dobrim laboratorijskim praksama.
4. Konjugirano antitijelo tog reagensa kalibrirano je tako da pruža najbolji omjer specifičnog i nespecifičnog signala. Zato je važno pridržavati se omjera volumena reagensa i volumena uzorka prilikom svakog testiranja.
5. U slučaju hiperleukocitoze razrijedite uzorak u PBS-u da biste dobili vrijednost od približno 5 x 10^9 leukocita/L (14).
6. Pri određenim bolestima, kao što je ozbiljno zatajenje bubrega ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak i nemoguće. U tom se slučaju prije bojenja preporučuje izoliranje jednojezgrenih stanica s pomoću gradijenta gustoće (na primjer, Ficoll) (15).

7. U pacijenata koji primaju terapiju monoklonskim antihumanim antitijelima detekcija određenih ciljanih antigena može biti smanjena ili nepostojeća zbog djelomičnog ili potpunog blokiranja terapijskih antitijela.
8. Rezultate CD56-PE treba tumačiti u kontekstu ukupne kliničke slike pacijenta, uključujući simptome, anamnezu, podatke iz dodatnih testova i druge odgovarajuće informacije.

Za primjere i reference pogledajte Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizirani logotip te oznake proizvoda i usluga tvrtke Beckman Coulter žigovi su ili registrirani žigovi tvrtke Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim državama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta / korisnika / treću stranu u Europskoj uniji i u državama s identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskim proizvodima za in vitro dijagnostiku): ako tijekom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe dođe do ozbiljnog štetnog događaja, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovu ovlaštenom zastupniku te nadležnom nacionalnom tijelu.

Summary of Safety and Performance (Sažetak podataka o sigurnosti i performansama) potražite u bazi podataka EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

POVIJEST REVIZIJA

REVIZIJA AD:	Datum objave: rujan 2019.

REVIZIJA	**Datum objave**
AW	Veljača 2022.
Ažuriranja radi usklađivanja s pravilnikom o globalnom označavanju tvrtke Beckman Coulter i u skladu sa zahtjevima uredbe (EU)2017/746 o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima (IVD-R):	
Dodani odjeljci	Broj BSI 2797, Ciljni korisnik, Klinička relevantnost, Koncentracija, Preciznost, Točnost, Granica slijepe probe i granica detekcije, Dodatne informacije, Povijest revizija.
Dodane informacije	Pogledajte odjeljke Ograničenja
Preformuliranje ili tipografska ažuriranja	Pogledajte odjeljke Postupak, Performanse, Ograničenja, Upozorenje i mjere opreza, Pohrana i stabilnost.
Uklonjeni odjeljci	Primjer kliničkih primjena, Reagensi, Unutarlaboratorijska obnovljivost, Linearnost
Ažurirani odjeljci	Namjena, Klasifikacija opasnosti prema GHS-u, Dokaz pogoršanja stanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum objave**
AX	Travanj 2023
Ažurirani odjeljci	Dodati kazaški
Ažurirani odjeljci	Čuvanje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Svibanj 2024
Ažurirani prijevodi	**Klinička relevantnost:**
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Srpanj 2024
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Pojmovnik simbola

Pojmovnik simbola dostupan je na web-mjestu beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Спецификации
Специфичност	CD56
Клонинг	N901 (NKH-1)
Хибридома	NS1 x balb/c
Имуноген	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Имуноглобулин	IgG1
Вид	Мишка
Пречистване	Афинитетна хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin (PE)
Моларно съотношение	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ възбуждане	488 nm
Емисионен пик	575 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 mg/mL BSA и 0,1 % NaN_3

IOTest
Конюгирано антитяло
CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20 µL/тест

За *ин витро* диагностика

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Това флуорохром-конюгирано антитяло позволява качествена и неавтоматизирана идентификация с помощта на поточна цитометрия на клетъчни популации, експресиращи CD56 антиген, присъстващ в човешки биологични проби (вижте раздел „Проби“ по-долу).

ПРИНЦИП

Този тест се базира на способността на специфични моноклонални антитела да се свързват с антигенни детерминанти, експресирани от левкоцитите.

Специфично оцветяване на левкоцитите се извършва чрез инкубиране на пробата с реактива IOTest. След това червените кръвни телца се отстраняват чрез лизиране, а левкоцитите, които не се повлияват от този процес, се анализират чрез поточна цитометрия.

Поточният цитометър измерва разсейването на светлината и флуоресценцията на клетките. Това прави възможно разграничаването на популацията, която се изследва, в електронния прозорец, дефиниран на една хистограма, която корелира с ортогоналната дифузия на светлината (странично разсейване) и дифузията на тесноъгълна светлина (предно разсейване). Други хистограми, комбиниращи два от различните параметри на разположение на цитометъра, могат да бъдат използвани като основа в етапа на определяне на област за анализ в зависимост от приложението, избрано от потребителя.

Флуоресценцията на разграничените клетки се анализира, за да се разграничат позитивно оцветените събития от неоцветените такива. Резултатите се изразяват като процент на положителни събития във връзка с всички събития, получени от определянето на областта за анализ.

ПРЕДВИДЕН ПОТРЕБИТЕЛ

Този продукт е предназначен само за лабораторна професионална употреба.

КЛИНИЧНА ЗНАЧИМОСТ

CD56-PE е антитяло CD56, използвано за идентифициране и характеризиране чрез поточна цитометрия на клетки, експресиращи CD56 антиген. Този продукт не може и не е предназначен самостоятелно да генерира каквото и да е диагностично заключение.

Когато се използва в комбинация с други маркери, този продукт може да се използва в една или повече от следните функции:

- Като помощно средство при поставяне на диференциална диагноза на хематологично абнормни пациенти, суспектни за хематопоетично новообразуване, и за проследяване на пациенти с известно хематопоетично новообразуване.
- Като помощно средство за диагностициране на пациенти със суспектен имунодефицит и проследяване на пациенти с известен имунодефицит.
- Като помощно средство при създаване на прогноза за пациенти с хематопоетична неоплазма.
- За проследяване на процес или резултати от трансплантация.

Вижте следните справки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

ПРОБИ

Венозна кръв трябва да се взема в стерилни епруветки, съдържащи сол EDTA като антикоагулант.

Пробите трябва да бъдат съхранявани при стайна температура (18–25°C) и не трябва да се разклащат. Пробите трябва да бъдат хомогенизирани чрез внимателно смесване, преди да се вземе пробата за теста.

Пробите трябва да бъдат анализирани в рамките на 24 часа от венопункturата.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Вижте Сертификата за анализ за конкретната партида на www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Не използвайте реактива след изтичане на срока на годност.
2. Не замразявайте.
3. Оставете на стайна температура (18–25°C) преди употреба.

4. Минимизирайте излагането на светлина.
5. Избягвайте микробно замърсяване на реактивите, в противен случай е възможно да се получат погрешни резултати.
6. С разтворите на антитела, съдържащи натриев азид (NaN_3), трябва да се работи внимателно. Не приемайте вътрешно и избягвайте всякакъв контакт с кожата, лигавицата и очите.

   В допълнение, в киселинна среда натриевият азид може да образува потенциално опасната хидразоена киселина. Ако тя трябва да се изхвърли, препоръчва се реактивът да се разреди в голям обем вода, преди да се излее в дренажната система, за да се избегне натрупването на натриев азид в металните тръби и да се предотврати риск от експлозия.
7. Всички кръвни проби трябва да се считат за потенциално заразни и с тях трябва да се борави внимателно (по-специално: носене на защитни ръкавици, облекло и очила).
8. Никога не пипетирайте с уста и избягвайте всякакви контакти между пробите и Вашата кожа, лигавица и очи.
9. Епруветките за кръв и материалите за еднократна употреба, използвани за боравене, трябва да се изхвърлят във временни контейнери, предназначени за изгаряне.
10. Реактивите и отпадъците трябва да бъдат елиминирани в съответствие с местните изисквания.

КЛАСИФИЦИЯ НА ОПАСНОСТИТЕ ПО GHS

Не е класифициран като опасен

SDS Информационният лист за безопасност е наличен на адрес beckmancoulter.com/techdocs

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Този реактив трябва да се съхранява при температури между 2 и 8°C и да бъде защитен от светлина преди и след отваряне на флакона.

Изследване на срок на годност при затворена епруветка и стабилност: 1095 дни.

Стабилност на отворен флакон: реактивът е стабилен за 180 дни.

ДАННИ ЗА ВЛОШАВАНЕ

Всяка промяна във физическия изглед на реактивите може да е признак за влошаване и реактивът не трябва да бъде използван.

За допълнителна информация или при получаване на повреден продукт се свържете с отдела за обслужване на клиенти на Beckman Coulter на тел. 800-742-2345 (САЩ или Канада) или се свържете с местния представител на Beckman Coulter.

СЪДЪРЖАНИЕ

Консервантът натриев азид може да образува експлозивни съединения в метални отводнителни тръбопроводи. Вижте Бюлетина на NIOSH: Explosive Azide Hazard (Бюлетин на Националния институт по безопасност и хигиена на труда: Опасност от експлозия на азид) (16/8/76).
За да избегнете възможно натрупване на азидни съединения, промивайте канализационните тръби с вода след изхвърляне на неразтворен реактив. Изхвърлянето на натриев азид трябва да бъде в съответствие с местните разпоредби.

НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СА ДОСТАВЕНИ С КОМПЛЕКТА:

- Епруветки за проби и материали, необходими за вземане на проби.
- Автоматични пипети с накрайници за еднократна употреба за 20, 100 и 500 µL.
- Пластмасови хемолизни епруветки.
- Реактив за лизис на червени кръвни телца с етап на отмиване след лизис. Например: VersaLyse (Реф. A09777).
- Реактив за левкоцитна фиксация. Например: IOTest 3 фиксиращ разтвор (Реф. A07800).
- Изотипна контрола PE: Реактив IOTest (Реф. № A07796).
- Буфер (PBS: 0,01 M натриев фосфат; 0,145 M натриев хлорид; pH 7,2).
- Центрофугирайте.
- Автоматичен агитатор (тип вортекс).
- Поточен цитометър.

ПРОЦЕДУРА С РЕАКТИВ VERSALYSE

За всяка анализирана проба освен тестовата епруветка може да се добави и една контролна епруветка, в която клетките да са смесени в присъствието на изотипната контрола (Реф. A07796).

1. Добавете 20 µL специфично IOTest конюгирано антитяло във всяка тестова епруветка и, ако е необходимо, 20 µL изотипна контрола във всяка контролна епруветка.
2. Добавете 100 µL от тестовата проба във всяка епруветка. Внимателно разбъркайте във вортекс епруветките.
3. Инкубирайте за 15 до 20 минути при стайна температура (18–25°C), като предпазвате от светлина.
4. След това се изпълнява лизиране на червените кръвни телца. Вижте брошурата на VersaLyse (Реф. A09777) и изпълнете за предпочитане процедурата, наречена „със съпътстващо фиксиране“, която се състои от добавяне на 1 mL от сместа „Фиксиране и лизиране“, приготвена за незабавно приложение. Незабавно завъртете епруветките с вортекс за една секунда и инкубирайте за 10 минути при стайна температура на защитено от светлина място.
5. Центрофугирайте 5 минути при 150 x g при стайна температура.
6. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация.
7. Разтворете отново клетъчната утайка, като използвате 3 mL PBS.
8. Повторете стъпка 5.

9. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация и ресуспендирайте клетъчната утайка с:

- 0,5 mL или 1 mL PBS плюс 0,1 % формалдехид, ако препаратите трябва да бъдат съхранявани по-малко от 24 часа. (Може да се получи 0,1 % формалдехид PBS чрез разреждане на 12,5 µL разтвор за фиксиране IOTest 3 (Реф. A07800) при 10X концентрация в 1 mL PBS).
- 0,5 mL или 1 mL PBS без формалдехид, ако препаратите ще бъдат анализирани в рамките на 2 часа.

Забележка: Във всички случаи съхранявайте препаратите при температури между 2 и 8°C и защитени от светлина.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

В нашите лаборатории бяха третирани пробите цялостна кръв на 25 видимо здрави донори с описания по-горе реактив. Получените с този реактив резултати за броя на положителните събития, които са от значение, са дадени в таблицата по-долу:

Положителна цел	Брой	Средна (%)	SD	CV (%)
Лимфоцити	25	18,74	6,02	32,10

Тези стойности са само представителни. Всяка лаборатория трябва да установи свои очаквани стойности от местната популация нормални донори.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данните за ефективността се получават с помощта на описаната по-горе процедура за кръвни проби до 24 часа, предварително събрани в стерилни епруветки със сол EDTA като антикоагулант. Анализ се извършва в рамките на 2 часа след имунооцветяване.

СПЕЦИФИЧНОСТ

Молекулното тегло на силно гликозилирания протеин CD56 (NKH1 молекула) е 200–220 kDa (10,11). Той се експресира върху субпопулация на лимфоцити в периферната кръв, които демонстрират неголяма ограничена цитотоксичност в комплекса за тъканна съвместимост (10,12). Моноклоналните антитела N901 (NKH-1) реагират с основната част от NK-клетките (10,11). Реагират също и с малка субпопулация на CD3 положителни Т-клетки, което медиира намалена цитотоксична активност (12). Тези антитела не реагират с моноцити, гранулоцити, еритроцити и В-лимфоцити. По време на 4-ти Международен семинар по диференциращи антигени на човешките левкоцити проведен във Виена, Австрия, през 1989 г. антителата N901 (NKH-1) са отнесени към CD56 диференциращ клъстер (13).

ТОЧНОСТ

Процентните положителни стойности са определени посредством цялостна кръв. Всяка проба е обработена 4 пъти, два пъти на ден за 1 ден на 2 инструмента, като са използвани 2 партиди реактиви с CD56-PE моноклонално антитяло. Измерванията (% положителни) са направени на поточен цитометър Navios. Анализът е проведен на основата на CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods. (Метод EP5-A2 на CLSI: Оценка на точността на методите за количествено измерване.)

Нашите критерии за приемливост зависят от броя положителни събития, измерени за всяка популация:

- Ако положителните събития са < 1500, CV < 15 %
- Ако положителните събития са > 1500, CV < 10 %

Лимфоцити							
Брой положителни събития (средно) = 1083							
	Между оператори	Между цитометри	Вътрепартидна	Между партиди	Между цикли	В рамките на цикъл	Общо
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
РЕЗУЛТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТ

Точността на CD56-PE е изследвана чрез сравняване на резултатите с референтен реактив като потвърждение върху група от проби от цялостна кръв, обработени на поточен цитометър Navios. Отклонението между тестовия и референтния реактив се определя въз основа на разликата между резултатите от теста. Ако отклонението е в рамките на допустимия обхват на грешка или p-стойността не показва значима разлика (> 0,05), резултатите от теста за двата реактива се считат за еквивалентни.

Получените резултати са обобщени в таблицата, дадена по-долу:

Брой донори = 25				
Положителна цел	Средна Δ	Критерии Δ % клетки	p-стойност	РЕЗУЛТАТИ
Лимфоцити	-0,25	<5	0,262	PASS

ГРАНИЦА НА СЛЯПА ПРОБА И ГРАНИЦА НА ОТКРИВАНЕ

Проведено е проучване в съответствие с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оценка на възможността за детекция за измервателни процедури в клинични лаборатории). Границата на откриване (LOD) е най-ниската концентрация на аналита, която може да бъде стабилно открита. Получените резултати са обобщени в следващата таблица:

Positive Target	Граница на сляпата проба (клетки/µL)	Граница на откриване (клетки/µL)
Лимфоцити	4	6

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Поточната цитометрия може да даде неточни резултати, ако цитометърът не е бил идеално приравнен, ако течове на флуоресценция не са били правилно компенсирани или ако регионите не са били внимателно позиционирани.
2. Предпочита се използването на техника за лизиране на червени кръвни клетки със стъпка за промиване, тъй като този реактив не е оптимизиран за техники за лизиране „без промиване“.
3. Ще бъдат получени точни и възпроизводими резултати, при условие, че използваните процедури са в съответствие с техническата листовка и са съвместими с добрите лабораторни практики.

4. Конюгираното антитяло на този реактив е калибрирано, за да се осигури най-доброто съотношение между специфичен сигнал/неспецифичен сигнал. Затова е важно да се придържате към съотношението обем на реактива/обем на пробата във всеки тест.
5. В случай на хиперлевкоцитоза кръвта се разрежда в PBS, така че да се получи стойност приблизително 5 x 10^9 левкоцити/L (14).
6. При определени болестни състояния, например тежка бъбречна недостатъчност или хемоглобинопатии, лизирането на червените кръвни телца може да бъде бавно, непълно или дори невъзможно. В този случай се препоръчва да се изолират мононуклеарни клетки, като се използва градиент на плътността (Ficoll например) преди оцветяване (15).
7. При пациенти, лекувани с терапии с античовешко моноклонално антитяло, отриването на специфични целеви антигени може да бъде занижено или да липсват поради частично или цялостно блокиране от терапевтичното антитяло.
8. Резултатите от CD56-PE трябва да се интерпретират спрямо общата клинична презентация на пациента, включваща: симптоми, клинична анамнеза, данни от допълнителни тестове и друга съответстваща информация.

Вижте Приложението за примери и справки.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ

Beckman Coulter, стилизираното лого и марките на продуктите и услугите на Beckman Coulter, присъстващи в този документ, са търговски марки или регистрирани търговски марки на Beckman Coulter, Inc. в САЩ и в други държави.

ДОПЪЛНИТЕЛНА ИНФОРМАЦИЯ

За пациенти/потребители/трети лица в Европейския съюз и в страни с идентичен регулаторен режим (Регламент 2017/746/ЕС относно ин витро диагностичните медицински изделия); ако по време на използването на това изделие или в резултат на използването му е настъпил сериозен инцидент, моля, съобщете за това на производителя и/или неговия упълномощен представител и на Вашия национален орган.

Summary of Safety and Performance (Обобщение на безопасността и работата) е налично в базата данни EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ХРОНОЛОГИЯ НА РЕДАКЦИИТЕ

РЕДАКЦИЯ AD:	Дата на издаване: септември 2019 г.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AW	февруари 2022 г.
Актуализации с цел съответствие с Глобалната политика за етикетиране на Beckman Coulter и съгласно изискванията на Регламент (ЕС) 2017/746 за медицинските изделия за ин витро диагностика (IVD-R):	
Добавени раздели	Номер 2797 на BSI, Предвиден потребител, Клинична значимост, Концентрация, Прецизност, Точност, Граница на сляпата проба и граница на откриване, Допълнителна информация, Хронология на редакциите.
Добавена информация	Вижте разделите „Ограничения“
Актуализации във формулировките или типографията	Вижте раздели „Процедура“, „Работни характеристики“, „Ограничения“, „Предупреждения и предпазни мерки“, „Съхранение и стабилност“.
Премахнати раздели	Пример за клинични приложения, Реактиви, Вътрешнолабораторна възпроизводимост, Линейност
Актуализирани раздели	Предвидена употреба, Класификация на опасностите по GHS, Признаци за влошаване, Процедура, Приложение.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AX	Април 2023
Актуализирани раздели	Добавен е казахски
Актуализирани раздели	Съхранение и стабилност

Редактирана версия	AY
Редактирана дата	Май 2024
Актуализирани преводи	**Клинична значимост:**
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Редактирана версия	AZ
Редактирана дата	Юли 2024
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Легенда на символите

Речник на символите е наличен на beckman.com/techdocs (номер на документа B60062)

	規格
專一性	CD56
轉殖	N901 (NKH-1)
融合瘤	NS1 x balb/c
免疫原	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
免疫球蛋白	IgG1
物種	小鼠
純化	親和力層析法
螢光染料	R Phycoerythrin (PE)
莫耳比率	PE/Ig： 0.5 - 1.5
λ 激發	488 nm
發射峰	575 nm
緩衝劑	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 及 0.1% NaN_3

IOTest
結合抗體
CD56-PE

REF A07788 100 次檢測；2 mL, 20 µL/測試

***體外*診斷使用**

預期用途

使用此螢光染料結合的抗體，能夠以流式細胞分析儀器對人體生物檢體中出現的表現 CD56 抗原之細胞群進行非自動化定性鑑別（請參閱下列「檢體」部分）。

原理

本測試的基礎在於特異性單株抗體結合由白血球表現之抗原決定簇的能力。

以 IOTest 試劑與檢體反應，對白血球進行特異性染色。然後以溶解作用去除紅血球，而白血球不受此程序影響，並可透過流式細胞分析儀器進行分析。

流式細胞分析儀器可測量細胞的光漫射和螢光。這樣可以界定直方圖上定義的電子窗口內的目標群體，直方圖可以關聯光的正交漫射（側向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。細胞分析儀器上可用之結合兩個不同參數的其他直方圖，可用於支持圈選階段，這取決於使用者所選的應用。

為了區分陽性染色事件和未染色事件，對劃定細胞的螢光進行了分析。結果表示為陽性事件相對於圈選所得全部事件的百分比。

預期使用者

本產品應當用於實驗室內的專業用途。

臨床相關性

CD56-PE 是一種 CD56 抗體，以流式細胞分析儀器使用此抗體庫可辨認表達 CD56 抗原的細胞並鑑別其特徵。單獨使用此程序並不足以診斷出任何結果。

本產品搭配其他標誌物使用時，可用於以下一或多個功能：

- 可輔助疑似罹患造血組織腫瘤之血液異常患者的鑑別診斷，並可監測已知罹患造血組織腫瘤的患者。
- 可輔助診斷疑似罹患免疫不全疾病的患者，並監測已知罹患免疫不全疾病的患者。
- 有助於罹患造血組織腫瘤之患者的預後情況。
- 監測移植過程或結果。

請參閱下列參考資料：

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

檢體

靜脈血必須使用無菌試管抽取，此無菌試管中含有 EDTA 鹽作為抗凝劑。

檢體應存放在室溫 (18~25°C)，且不得搖晃。取用測試檢體前，應將檢體輕輕攪動，使之均勻化。

檢體必須在靜脈穿刺後 24 小時內進行分析。

濃度

請參閱 www.beckman.com 參閱各批次專屬的分析證書。

警告和預防措施

1. 請勿使用過期試劑。
2. 切勿冷凍。
3. 使用前，請將其恢復至室溫 (18~25°C)。
4. 儘量避免陽光直射。
5. 請避免試劑受到微生物污染，否則可能會出現錯誤結果。
6. 含有疊氮化鈉 (NaN_3) 的抗體溶液應謹慎處理。請勿內服，並避免接觸皮膚、黏膜和眼睛。

   此外，在酸性介質中，疊氮化鈉可形成具有潛在危害的疊氮酸。若需要對其進行處置，建議在試劑倒入排水系統前以大量清水稀釋，避免疊氮化鈉在金屬管道中累積並預防爆炸。

7. 所有血液檢體必須視為具有潛在傳染性，且必須小心處理（務必穿戴防護手套、防護衣和護目鏡）。
8. 切勿用嘴吸液，並避免檢體接觸皮膚、黏膜和眼睛。
9. 用於處理的血液試管和一次性材料應放入焚化專用的特殊容器中處置。
10. 應根據當地要求清除試劑和廢棄物。

GHS 危害分類

未歸類為危險物質

SDS 安全性資料表載於 beckmancoulter.com/techdocs

存儲和穩定性

在打開試劑瓶前後，試劑必須避光保存於 2~8°C。

穩定性研究的封閉式藥瓶有效期限：1095 天。

開瓶後穩定性：試劑穩定性可維持 180 天。

變質的證據

試劑外觀的任何變化表示可能發生變質，因此不應使用該試劑。

如需瞭解其他資訊，或如果收到已損壞的產品，請撥打 800-742-2345（美國或加拿大）聯絡貝克曼庫爾特客戶服務部，或聯絡您當地的貝克曼庫爾特代表。

內容物

疊氮化鈉防腐劑可能會在金屬排水管道中形成爆炸性化合物。 請參閱 NIOSH Bulletin： Explosive Azide Hazard（爆炸性疊氮化物危害）(76/8/16)。
為防止疊氮化合物可能累積，丟棄未稀釋的試劑後請用水沖洗污水管。必須依照相關當地法規丟棄疊氮化鈉。

試劑盒未提供但卻需要的材料：

- 採樣時需要採樣試管和材料。
- 帶有可吸取 20、100 和 500 µL 一次性吸頭的自動移液器。
- 塑膠溶血試管。
- 用於溶解後洗滌階段的紅血球溶解試劑。舉例：VersaLyse (參考 A09777)。
- 白血球固定試劑。舉例：IOTest 3 固定液 (參考 A07800)。
- 同型品管劑 PE：IOTest 試劑 (參考 A07796)。
- 緩衝劑 (PBS：0.01 M 磷酸鈉；0.145 M 氯化鈉；pH 7.2）。
- 離心機。
- 自動攪拌器（旋渦型）。
- 流式細胞分析儀器。

使用 VERSALYSE 試劑的程序

對於已分析的每項檢體，除使用測試試管外，可再增加一個品管劑試管，以在其中混合細胞與同型品管劑 (參考 A07796)。

1. 向每個測試試管添加 20 µL 特異性 IOTest 結合抗體，如果需要，向每個質控試管添加 20 µL 同型質控品。
2. 向每個試管中添加 100 µL 測試檢體。輕輕漩渦振盪試管。
3. 在室溫 (18~25°C) 下避光反應 15~20 分鐘。
4. 然後將紅血球溶解。請參閱 VersaLyse (參考 A09777) 的手冊，最好按照名為「共伴固定」的程序操作，其包含添加臨時製備的 1 mL「固定加溶解」混合物。立即震盪 1 秒後，在室溫下避光反應 10 分鐘。
5. 在室溫下以 150 x g 離心 5 分鐘。
6. 吸除上清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新懸浮細胞團塊。
8. 重複第 5 步。
9. 吸除上清液並按照以下方式重新懸浮細胞團塊：

- 若製劑存放時間不超過 24 小時，則以 0.5 mL 或 1 mL PBS 加 0.1% 甲醛。（可在 1 mL PBS 中稀釋 10X 濃度的 12.5 µL IOTest 3 固定液 (參考 A07800)，得到含有 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 若製劑將在 2 小時內分析，使用 0.5 mL 或 1 mL PBS（無甲醛）。

註：在所有情況下，將製劑在 2~8°C 避光保存。

預期值

在我們的實驗室中，採用上述試劑處理 25 名明顯健康的捐贈者的全血檢體。使用該試劑進行陽性目標事件計數得到的結果如下表所示：

陽性目標	數量	平均值 (%)	SD	CV (%)
淋巴球	25	18.74	6.02	32.10

這些數值是具代表性的參考值。每個實驗室都應運用當地正常捐贈者族群的檢測結果，自行確立適用的預期值。

性能

對於之前採集在無菌試管（含有 EDTA 鹽作為抗凝劑）中短於 24 小時的血液檢體，使用上面描述的程序獲取了性能資料。在免疫染色後的 2 小時內進行分析。

專一性

CD56 高度醣基化蛋白（NKH1 分子）的分子量為 200–220 kDa (10,11)。其在展現出非主要組織相容性復合體限制性細胞毒性的外周血淋巴細胞亞群上表達 (10,12)。N901 (NKH-1) 單株抗體可與大多數 NK 細胞發生反應 (10,11)。它也可與媒介細胞毒性活性下降的 CD3 陽性 T 細胞小亞群發生反應 (12)。該抗體不與單核細胞、粒細胞、紅血球或 B 淋巴細胞發生反應。在 1989 年於奧地利維也納舉行的 4th International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens（第 4 屆 HLDA 人類白細胞分化抗原會議）上，將 N901 (NKH-1) 抗體指定到 CD56 分化集群中 (13)。

準確度

使用全血測定了百分比陽性值。每項檢體皆使用 2 個批次的 CD56-PE 單株抗體試劑，以 2 台儀器 1 天運行 2 次，共運行了 4 次。使用 Navios 流式細胞分析儀器檢測結果（陽性 %）。根據 CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：評估定量檢測方法的準確度性能）進行分析。

我們的接受標準視各族群所檢測的陽性事件數量而定：

- 若陽性事件數量 < 1,500，則 CV < 15%
- 若陽性事件數量 > 1,500，則 CV < 10%

淋巴球							
陽性事件數量（平均值）= 1083							
	各操作者間	各台細胞分析儀器間	批內	批間	各次執行間	各次執行內	總計
CV (%)	1.52	0.67	2.98	0.69	0.67	2.48	3.14
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

準確性

評估 CD56-PE 準確性的方式，是比較它與參考試劑用於添加了陽性細胞的一組全血檢體，在 Navios 流式細胞分析儀器上進行化驗時，其結果有何差異。根據測試結果間的差異，測定了測試與參考試劑之間的偏差。如果此偏倚在允許的誤差範圍內或 P 值並未顯示顯著差異 (> 0.05)，則兩種試劑的測試結果視為相當。

所得結果總結於下表：

捐贈者數量 = 25				
陽性目標	平均值差	細胞標準 Δ %	P 值	結果
淋巴球	-0.25	<5	0.262	PASS

空白檢體的偵測極限與偵測極限

按照 CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2，臨床實驗室測定程序的偵測能力評估）開展了一項試驗。偵測極限 (LOD) 是指可始終被偵測出的最低分析物濃度。所得結果總結於下表：

Positive Target	空白檢體的偵測極限（細胞數/µL）	偵測極限（細胞數/µL）
淋巴球	4	6

限制條件

1. 流式細胞分析儀器在下列情況下可能產生錯誤結果：細胞分析儀器未正確校正、螢光洩漏未正確補償、相關區域並未仔細定位。
2. 最好採用帶洗滌步驟的 RBC 溶解方法，因該試劑不能在「無洗滌」溶解方法中取得最佳效果。
3. 按照技術手冊採用相關流程並遵循優良實驗室操作規範，便可得到準確且可重複的結果。
4. 此試劑的結合抗體已經過校正，以提供最佳的特異性訊號/非特異性訊號比率。因此，在每次測試中遵守試劑體積/檢體體積比率很重要。
5. 如果白血球過多，請在 PBS 中稀釋血液，使白血球濃度約為 5 x 10^9 顆/L (14)。
6. 在嚴重腎衰竭、血色素病變等特定疾病狀態中，紅血球溶解可能會變得緩慢、不完全，甚至無法溶解。在這種情況下，建議在染色前使用密度梯度（例如聚蔗糖）分離單核球 (15)。
7. 使用抗人單株抗體療法治療患者時，由於治療抗體的部分或完全阻斷，偵測到的特定目標抗原可能會減少或完全偵測不到。
8. CD56-PE 結果的判讀應結合患者的整體臨床表徵，包括：症狀、臨床病史、其他測試的資料以及其他相關資訊。

請參閱附錄以閱讀舉例和參考文獻。

商標

Beckman Coulter、徽標以及本文述及的貝克曼庫爾特公司產品和服務標記是美國貝克曼庫爾特有限公司在美國和其他國家的商標或註冊商標。

其他資訊

對於患者/使用者/第三方（在歐盟和有相同監管制度（體外診斷醫療裝置法規，2017/746/EU）的國家）；如果在使用中或由於使用而導致嚴重事件，請將情況回報製造商和/或授權代表，以及貴國主管機關。

Summary of Safety and Performance（安全與性能）的摘要請參見 EUDAMED 資料庫：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修訂歷程記錄

修訂版 AD：	發佈日期：2019 年 9 月

修訂	發行日期
AW	2022 年 2 月
更新以遵守貝克曼庫爾特公司全球標籤政策以及 IVD-R (EU)2017/746 規定：	
已新增部分	BSI 2797 編號、預期使用者、臨床相關性、濃度、精密度、準確性、空白檢體的偵測極限和偵測極限、其他資訊、修訂記錄。
已新增資訊	請參閱「限制」部分
修辭或印刷更新	請參閱「程序」、「性能」、「限制」、「警告和預防措施」、「存儲和穩定性」等部分。
已移除的部分	臨床應用範例、試劑、實驗室內再現性、線性
已更新部分	預期用途、GHS 危害分類、變質的證據、程序、附錄。

修訂	發行日期
AX	4 月 2023
已更新部分	新增哈薩克語
已更新部分	存儲和穩定性

修訂版本	AY
修訂日期	5 月 2024
已更新的譯文	**臨床關聯性**：
已更新部分	修訂歷史

修訂版本	AZ
修訂日期	7 月 2024
已更新部分	修訂歷史

符號釋義

符號術語表請參見網站：beckman.com/techdocs（文件編號 B60062）

	Specificații
Specificitate	CD56
Clonă	N901 (NKH-1)
Hibridom	NS1 x balb/c
Imunogen	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Imunoglobulină	IgG1
Specie	Șoarece
Purificare	Cromatografia de afinitate
Fluorocrom	R Phycoerythrin (PE)
Raport molar	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Excitare λ	488 nm
Vârful de emisie	575 nm
Soluție tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA și 0,1% NaN_3

IOTest
Anticorp conjugat
CD56-PE

REF A07788 100 de teste; 2 ml, 20 µl/test

Pentru diagnosticare *in vitro*

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

Acest anticorp conjugat cu fluorocrom permite identificarea calitativă și non-automată a populațiilor celulare care exprimă antigenul CD56 prezent în probele biologice umane prin citometrie în flux (consultați secțiunea „probe” de mai jos).

PRINCIPIU

Acest test se bazează pe abilitatea anticorpilor monoclonali specifici de a se lega de determinanții antigenici exprimați de leucocite.

Colorarea specifică a leucocitelor este efectuată prin incubarea probei cu reactivul IOTest. Eritrocitele sunt ulterior îndepărtate prin liză, iar leucocitele, care nu sunt afectate de acest proces, sunt analizate prin citometrie în flux.

Citometrul în flux măsoară difuzia luminii și fluorescența celulelor. Acesta face posibilă delimitarea populațiilor de interes în fereastra electronică definită pe o histogramă, care corelează difuzia ortogonală a luminii (Dispersia perpendiculară sau SS – Side Scatter) și difuzia luminii sub un unghi ascuțit (Dispersia pe direcția înainte sau FS – Forward Scatter). Alte histograme care combină doi dintre parametrii diferiți disponibili pe citometru pot fi utilizate ca suporturi în faza de stabilire a porților (gating) în funcție de aplicația aleasă de către utilizator.

Fluorescența celulelor delimitate se analizează pentru distingerea evenimentelor colorate pozitiv de cele necolorate. Rezultatele sunt exprimate ca procentaj de evenimente pozitive în raport cu toate evenimentele obținute de gating.

UTILIZATOR PRECONIZAT

Acest produs este destinat utilizării profesionale în laborator.

RELEVANȚĂ CLINICĂ

CD56-PE este un anticorp CD56 utilizat pentru a identifica și caracteriza celulele care exprimă antigenul CD56 prin citometrie în flux. Acest produs în sine nu poate și nu este conceput pentru a genera concluzii cu rol de diagnostic.

Atunci când este utilizat în combinație cu alți markeri, acest produs poate fi utilizat pentru una sau mai multe dintre următoarele funcții:

- Pentru a ajuta la obținerea unui diagnostic diferențial pentru pacienții cu anormalități hematologice suspecți de neoplasm hematopoietic și la monitorizarea pacienților cu neoplasm hematopoietic diagnosticat.
- Pentru a ajuta la diagnosticarea pacienților cu suspiciune de imunodeficiență și la monitorizarea pacienților cu imunodeficiență diagnosticată.
- Pentru a ajuta la obținerea unui prognostic pentru pacienții cu neoplasm hematopoietic.
- Pentru a monitoriza procesul de transplant sau rezultatele.

Consultați următoarele referințe:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

PROBE

Sângele venos trebuie recoltat utilizând eprubete sterile care conțin o sare de EDTA drept anticoagulant.

Se recomandă păstrarea probelor la temperatura camerei (18–25°C). Acestea nu se vor scutura. Se recomandă omogenizarea probelor prin agitare ușoară înainte de recoltarea probei de test.

Proba trebuie analizată în decurs de 24 de ore de la puncția venoasă.

CONCENTRAȚIE

Consultați certificatul de analiză specific lotului la adresa www.beckman.com.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Nu utilizați reactivul după data expirării.
2. Nu congelați.
3. Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei (18–25°C).
4. Reduceți la minimum expunerea la lumină.
5. Evitați contaminarea microbiană a reactivilor. În caz contrar, se pot obține rezultate false.

6. Soluțiile de anticorpi care conțin azidă de sodiu (NaN_3) trebuie manipulate cu atenție. A nu se ingera și a se evita contactul cu pielea, mucoasele și ochii.

   În plus, într-un mediu acid, azida de sodiu poate forma acid hidrazoic, un compus potențial periculos. Dacă este necesară eliminarea reactivului, se recomandă ca acesta să fie diluat într-un volum mare de apă înainte de a fi vărsat în sistemul de canalizare pentru a evita acumularea de azidă de sodiu în conductele metalice și pentru a preveni riscul de explozie.

7. Toate probele de sânge trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie manipulate cu grijă (în special: purtarea de mănuși de protecție, halate și ochelari de protecție).
8. Nu pipetați niciodată cu gura și evitați contactul probelor cu pielea, mucoasele și ochii.
9. Eprubetele pentru sânge și materialele de unică folosință utilizate pentru manipulare trebuie eliminate în recipiente ad-hoc destinate incinerării.
10. Reactivii și deșeurile trebuie eliminați în conformitate cu cerințele locale.

CLASIFICAREA RISCURILOR ÎN SISTEMUL GHS

Nu este clasificat ca periculos

SDS Fișa tehnică de securitate este disponibilă la beckmancoulter.com/techdocs

DEPOZITAREA ȘI STABILITATEA

Înainte și după desigilarea fiolei, acest reactiv trebuie păstrat la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C într-un loc ferit de lumină.

Perioada de valabilitate în fiolă închisă în conformitate cu studiul de stabilitate: 1095 zile.

Stabilitatea fiolei desigilate: reactivul este stabil timp de 180 (de) zile.

DOVADĂ DE DETERIORARE

Orice modificare a aspectului fizic al reactivilor poate indica degradarea. În acest caz, nu se recomandă utilizarea reactivului.

Pentru informații suplimentare sau dacă s-a primit un produs deteriorat, sunați la Serviciul Clienți Beckman Coulter la 800-742-2345 (SUA sau Canada) sau contactați-vă reprezentantul Beckman Coulter local.

CONȚINUT

Azida de sodiu folosită drept conservant poate forma compuși cu risc de explozie în conductele de drenaj metalice. Consultați buletinul informativ al NIOSH: Explosive Azide Hazard (Azidă cu risc de explozie) (08/16/76).
Pentru a evita posibila acumulare de compuși de azidă, spălați cu apă conductele pentru evacuarea deșeurilor după eliminarea reactivului nediluat. Eliminarea azidei de sodiu trebuie realizată în conformitate cu reglementările locale aplicabile.

MATERIALE NECESARE, DAR NEFURNIZATE CU SETUL:

- Eprubete pentru probe și materiale necesare pentru prelevarea probelor.
- Pipete automate cu vârfuri de unică folosință pentru 20, 100 și 500 µl.
- Eprubete din plastic pentru hemoliză.
- Reactiv de liză a eritrocitelor cu faza de spălare după liză. De exemplu: VersaLyse (ref. A09777).
- Reactiv de fixare a leucocitelor. De exemplu: Soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800).
- Ser de control izotipic PE: Reactiv IOTest (ref. A07796).
- Soluție tampon (PBS: 0,01 mol de fosfat de sodiu; 0,145 mol de clorură de sodiu; pH 7,2).
- Centrifugați.
- Agitator automat (tip Vortex).
- Citometru de flux.

PROCEDURA CU REACTIVUL VERSALYSE

Pentru fiecare probă analizată, în afară de eprubeta de testare, poate fi adăugată o eprubetă de ser de control în care celulele sunt amestecate în prezența serurilor de control izotipic (ref. A07796).

1. Adăugați 20 µl de anticorp conjugat IOTest specific în fiecare eprubetă de test și, dacă este necesar, 20 µl de ser de control izotipic în fiecare eprubetă cu ser de control.
2. Adăugați 100 µl de probă de test în fiecare eprubetă. Amestecați cu grijă eprubetele în agitatorul vortex.
3. Incubați timp de 15–20 de minute la temperatura camerei (18–25°C) într-un loc ferit de lumină.
4. Apoi efectuați liza eritrocitelor. Consultați prospectul VersaLyse (ref. A09777) și urmați, de preferat, procedura denumită „cu fixare concomitentă”, care constă în adăugarea a 1 ml de amestec „Fixare și liză” preparat extemporaneu. Amestecați imediat în agitatorul vortex timp de o secundă și incubați timp de 10 minute la temperatura camerei, într-un loc ferit de lumină.
5. Centrifugați timp de 5 minute la 150 x g la temperatura camerei.
6. Îndepărtați supernatantul prin aspirare.
7. Resuspendați peleta de celule utilizând 3 ml de PBS.
8. Repetați pasul 5.
9. Îndepărtați supernatantul prin aspirare și resuspendați peleta de celule utilizând:

- 0,5 ml sau 1 ml de PBS plus 0,1% formaldehidă dacă preparatele trebuie păstrate mai puțin de 24 (de) ore. (O soluție PBS cu 0,1% formaldehidă poate fi obținută prin diluarea unei cantități de 12,5 µl de soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800) la concentrația sa de 10X în 1 ml de PBS).
- 0,5 ml sau 1 ml de PBS fără formaldehidă, dacă preparatele trebuie analizate în decurs de 2 (de) ore.

Observație: În toate cazurile, păstrați preparatele la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C, în locuri ferite de lumină.

VALORI PRECONIZATE

În laboratoarele noastre, probele de sânge integral de la 25 donatori aparent sănătoși au fost tratate utilizându-se reactivul descris mai sus. Rezultatele obținute pentru numărul de evenimente pozitive de interes cu acest reactiv sunt date în tabelul de mai jos:

Ținta pozitivă	Număr	Medie (%)	SD (deviație standard)	CV (%)
Limfocite	25	18,74	6,02	32,10

Aceste valori au doar caracter exemplificativ. Fiecare laborator trebuie să stabilească propriile valori așteptate de la populația locală de donatori normali.

PERFORMANȚĂ

Datele de performanță se obțin folosindu-se procedeul descris mai sus pe probe de sânge cu o vechime mai mică de 24 de ore recoltate anterior în eprubete sterile cu sare EDTA ca anticoagulant. Analiza se efectuează în decurs de 2 ore de la imunocolorare.

SPECIFICITATE

Greutatea moleculară proteinei CD56 puternic glicozilate (molecula NKH1) este de 200–220 kDa (10,11). Ea este prezentă într-o subpopulație de limfocite din sângele periferic care prezintă citotoxicitate restrânsă la complexul de histocompatibilitate non-major (10,12). Anticorpul monoclonal N901 (NKH-1) reacționează cu majoritatea celulelor NK (10,11). El mai reacționează și cu o subpopulație minoră de celule T pozitive CD3 care mediază o activitate citotoxică redusă (12). Acest anticorp nu reacționează cu monocitele, granulocitele, eritrocitele și limfocitele B. Anticorpul N901 (NKH-1) a fost atribuit clusterului CD56 de diferențiere cu ocazia 4th International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Al patrulea congres internațional consacrat antigenilor de diferențiere din leucocitele umane), organizat la Viena, Austria, în 1989 (13).

PRECIZIE

Valorile procentuale pozitive au fost stabilite folosind sânge integral. Fiecare probă a fost analizată de 4 ori, de două ori pe zi timp de 1 zi, pe 2 instrumente, folosind 2 loturi de reactivi cu anticorp monoclonal CD56-PE. Măsurătorile (% pozitive) au fost efectuate pe un citometru în flux Navios. Analiza a fost efectuată în conformitate cu metoda CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluarea performanței de precizie a metodelor de măsurare cantitativă).

Criteriile noastre de acceptare depind de numărul de evenimente pozitive măsurate pentru fiecare populație:

- Dacă evenimentul pozitiv < 1500, CV < 15%
- Dacă evenimentul pozitiv > 1500, CV < 10%

Limfocite							
Număr de evenimente pozitive (medie) = 1083							
	Inter-operator	Inter-citometru	Intra-lot	Inter-lot	Inter-ciclu	Intra-testare	Total
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
REZULTATE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACURATEȚE

Acuratețea CD56-PE a fost evaluată prin compararea rezultatelor cu un reactiv de referință ca predicat pe un set de probe de sânge integral analizate cu un citometru în flux Navios. Eroarea sistematică dintre test și reactivul de referință a fost determinată în funcție de diferența dintre rezultatele testului. Dacă eroarea sistematică se încadrează în intervalul de eroare permis sau dacă valoarea p nu indică o diferență semnificativă (> 0,05), rezultatele testului pentru cei doi reactivi sunt considerate ca fiind echivalente.

Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul de mai jos:

Număr de donatori = 25				
Ținta pozitivă	Medie Δ	Criterii celulă Δ%	Valoarea p	REZULTATE
Limfocite	-0,25	<5	0,262	PASS

LIMITA DE BLANC ȘI LIMITA DE DETECȚIE

A fost realizat un studiu în conformitate cu documentul CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluarea capacității de detecție în cazul procedurilor de măsurare din laborator). Limita de detecție (LOD) este cea mai redusă concentrație de analit care poate fi detectată în mod constant. Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul următor:

Positive Target	Limită de blanc (celulă/µl)	Limită de detecție (celulă/µl)
Limfocite	4	6

LIMITĂRI

1. Citometria în flux poate furniza rezultate false dacă citometrul nu a fost aliniat perfect, dacă scurgerile de fluorescență nu au fost compensate corect și dacă regiunile nu au fost poziționate corect.
2. Este de preferat să se utilizeze o tehnică de liză a eritrocitelor (RBC) cu o etapă de spălare, deoarece acest reactiv nu a fost optimizat pentru tehnici de liză „fără spălare”.
3. Se vor obține rezultate corecte și reproductibile dacă procedurile utilizate respectă prospectul tehnic și bunele practici de laborator.
4. Anticorpul conjugat din acest reactiv este calibrat astfel încât să ofere cel mai bun raport semnal specific/semnal nespecific. Prin urmare, este important ca la fiecare test să se respecte raportul volum de reactiv/volum de probă.
5. În cazul unei hiperleucocitoze, diluați sângele în PBS astfel încât să obțineți o valoare de aproximativ 5 x 10^9 leucocite/l (14).
6. În anumite stări patologice, cum ar fi insuficiența renală severă sau hemoglobinopatiile, liza eritrocitelor poate fi lentă, incompletă sau chiar imposibilă. În acest caz, se recomandă izolarea celulelor mononucleare cu ajutorul unui gradient de densitate (de exemplu, Ficoll), înainte de colorare (15).
7. În cazul pacienților tratați cu terapii cu anticorp monoclonal anti-uman, detecția antigenilor specifici țintiți poate fi diminuată sau absentă din cauza blocării parțiale sau complete asigurată de anticorpul terapeutic.
8. Rezultatele CD56-PE trebuie interpretate în lumina prezentării clinice integrale a pacientului, inclusiv: simptome, istoric clinic, date din teste suplimentare și alte informații corespunzătoare.

Consultați Anexa pentru exemple și referințe.

MĂRCI COMERCIALE

Beckman Coulter, logoul stilizat și mărcile de produse și servicii Beckman Coulter menționate aici sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Beckman Coulter, Inc. în Statele Unite și în alte țări.

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

În cazul unui pacient/utilizator/terț aflat în Uniunea Europeană sau în țări cu un regim de reglementare identic (Regulamentul 2017/746/UE privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro); dacă, în timpul utilizării acestui dispozitiv sau în urma utilizării acestuia, are loc un incident grav, raportați acest incident către producător și/sau reprezentantul său autorizat și către autoritatea națională din țara dvs.

Rezumatul secțiunilor Siguranță și Performanță este disponibil din baza de date EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORICUL REVIZUIRILOR

REVIZIA AD:	Data publicării: Septembrie 2019

REVIZIE	**Data publicării**
AW	Februarie 2022
Se actualizează pentru a respecta politica globală de etichetare Beckman Coulter și cerințele regulamentului IVD-R (UE) 2017/746:	
Secțiuni adăugate	Număr BSI 2797, Utilizator propus, Relevanță clinică, Concentrație, Precizie, Acuratețe, Limita de blanc și limita de detecție, Informații suplimentare, Istoric revizuiri.
Informații adăugate	Consultați secțiunile Limitări
Actualizări referitoare la frazare și tipografice	Consultați secțiunile Procedură, Performanță, Limitări, Avertizări și măsuri de precauție, Depozitare și stabilitate.
Secțiuni eliminate	Exemplu de utilizări clinice, Reactivi, Reproductibilitate intralaborator, Liniaritate
Secțiuni actualizate	Utilizare propusă, Clasificarea riscurilor în sistemul GHS, Dovadă de deteriorare, Procedură, Anexă.

REVIZIE	**Data publicării**
AX	Aprilie 2023
Secțiuni actualizate	A fost adăugată limba kazahă
Secțiuni actualizate	Depozitare și stabilitate

Versiunea revizuită	AY
Data revizuirii	Mai 2024
Au fost actualizate traducerile	**Relevanță clinică:**
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Versiunea revizuită	AZ
Data revizuirii	Iulie 2024
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Cheie simboluri

Glosarul de simboluri este disponibil la beckman.com/techdocs (număr document B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD56
Klon	N901 (NKH-1)
Hibridom	NS1 x balb/c
Imunogen	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Imunoglobulin	IgG1
Vrsta	Miš
Prečiščevanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molarno razmerje	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisij	575 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA in 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano protitelo CD56-PE

REF A07788 100 testov; 2 ml, 20 µl/test

Za diagnostično uporabo *in vitro*

NAMEN UPORABE

To protitelo, konjugirano s fluorokromi, omogoča kvalitativno in neavtomatizirano identifikacijo celičnih populacij, ki izražajo antigen CD56, prisoten v človeških bioloških vzorcih, z uporabo pretočne citometrije (oglejte si poglavje »Vzorci« spodaj).

NAČELO

Ta test temelji na sposobnosti specifičnih monoklonskih protiteles, da se vežejo na antigenske determinante, ki jih izražajo levkociti.

Specifično barvanje levkocitov izvedemo z inkubacijo vzorca z reagentom IOTest. Rdeče krvničke nato odstranimo z lizo, levkocite, na katere ta proces ne vpliva, pa analiziramo s pretočno citometrijo.

Pretočni citometer meri difuzijo svetlobe in fluorescenco celic. Omogoča razmejitev opazovane populacije v elektronskem oknu, opredeljenem v histogramu, ki je povezan z ortogonalno difuzijo svetlobe (stransko sipanje ali SS) in difuzijo svetlobe pri majhnemu kotu (sipanje naprej ali FS). Glede na uporabo, ki jo izbere uporabnik, lahko druge histograme, ki uporabljajo kombinacijo dveh različnih parametrov, ki so na voljo na citometru, uporabimo kot nosilce v fazi uokvirjanja.

Fluorescenco razmejenih celic analiziramo z namenom razlikovanja med pozitivno obarvanimi dogodki in tistimi, ki niso obarvani. Rezultati so izraženi kot odstotek pozitivnih dogodkov glede na vse dogodke, pridobljene z uokviranjem.

PREDVIDENI UPORABNIK

Izdelek je namenjen profesionalni laboratorijski uporabi.

KLINIČNI POMEN

CD56-PE je protitelo CD56, ki se uporablja za identifikacijo in karakterizacijo celic, ki izražajo antigen CD56 s pomočjo pretočne citometrije. Ta izdelek sam ne more ustvariti in ni namenjen za ustvarjanje kakršnih koli diagnostičnih zaključkov.

Če se izdelek uporablja v kombinaciji z drugimi označevalci, se lahko uporablja pri eni ali več naslednjih funkcij:

- Uporablja se kot pripomoček pri diferencialnem diagnosticiranju hematološko neobičajnih bolnikov, pri katerih obstaja sum, da imajo hematopoetsko neoplazmo, in za spremljanje bolnikov z znano hematopoetsko neoplazmo.
- Za pomoč pri diagnozi bolnikov s sumom na imunsko pomanjkljivost in spremljanje bolnikov z znano imunsko pomanjkljivostjo.
- Za pomoč pri napovedi stanja bolnikov s hematopoetsko neoplazmo.
- Za spremljanje procesa ali rezultatov presaditve.

Oglejte si naslednje reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

VZORCI

Pri jemanju venske krvi je treba uporabiti sterilne epruvete, ki vsebujejo sol EDTA kot antikoagulant.

Vzorce je treba hraniti pri sobni temperaturi (18–25 °C) in jih ni dovoljeno pretresati. Vzorce je treba homogenizirati z rahlim stresanjem pred odvzemom testnega vzorca.

Vzorce je treba analizirati v 24 urah po venepunkciji.

KONCENTRACIJA

Oglejte si ustrezen certifikat o analizi za izbrano serijo na spletni strani www.beckman.com.

OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI

1. Ne uporabljajte reagenta po izteku roka uporabnosti.
2. Ne zamrzujte.
3. Pred uporabo počakajte, da se ogrejejo na sobno temperaturo (18–25 °C).
4. Čim manj izpostavljajte svetlobi.

5. Preprečite mikrobno kontaminacijo reagentov, sicer lahko pride do napačnih rezultatov.
6. Z raztopinami protiteles, ki vsebujejo natrijev azid (NaN_3), je treba ravnati previdno. Ne zaužijte in se izogibajte vsakršnemu stiku s kožo, sluznico in očmi.

   Poleg tega lahko natrijev azid v kislem mediju tvori potencialno nevaren vodikov azid. Če ga je treba odstraniti, je reagent priporočljivo razredčiti z veliko količino vode pred izlivanjem v kanalizacijo, da bi se izognili kopičenju natrijevega azida v kovinskih ceveh in preprečili nevarnost eksplozije.
7. Vse vzorce krvi je treba obravnavati kot potencialno kužne in je treba z njimi ravnati previdno (predvsem je treba nositi zaščitne rokavice, halje in očala).
8. Nikoli ne pipetirajte z usti in se izogibajte vsakršnemu stiku vzorcev s kožo, sluznico in očmi.
9. Epruvete za kri in material za enkratno uporabo je treba odstraniti v zabojnike na licu mesta, namenjene sežigu.
10. Reagente in odpadke je treba odstraniti skladno z lokalnimi predpisi.

KLASIFIKACIJA NEVARNOSTI PO GHS

Ni razvrščeno kot nevarno

SDS Varnostni list je na voljo na povezavi beckmancoulter.com/techdocs

SHRANJEVANJE IN OBSTOJNOST

Ta reagent je treba shranjevati pri temperaturi od 2 do 8 °C in zaščiteno pred svetlobo pred odprtjem vial in po njem.

Rok uporabnosti zaprte viale po študiji stabilnosti: 1095 dni.

Stabilnost odprte stekleničke: reagent je stabilen 180 dni.

DOKAZ O POSLABŠANJU STANJA

Vsaka sprememba fizičnega videza reagentov lahko kaže na poslabšanje stanja in reagenta ni dovoljeno uporabljati.

Za dodatne informacije ali ob prejemu poškodovanega izdelka pokličite službo za pomoč strankam družbe Beckman Coulter na številko 800-742-2345 (ZDA ali Kanada) ali se obrnite na lokalnega predstavnika podjetja Beckman Coulter.

VSEBINA

Konzervans iz natrijevega azida lahko tvori eksplozivne spojine v kovinskih odvodnih ceveh. Oglejte si NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16. 8. 76) (Nevarnost eksplozivnih azidov).
Da bi se izognili morebitnemu kopičenju azidnih spojin, po odstranjevanju nerazredčenega reagenta sperite odtočne cevi z vodo. Odstranjevanje natrijevega azida mora biti skladno z ustreznimi lokalnimi predpisi.

POTREBEN MATERIAL, KI NI PRILOŽEN V KOMPLETU:

- Epruvete za vzorčenje in material, potreben za vzorčenje.
- Samodejne pipete s konicami za enkratno uporabo za 20, 100 in 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizo.
- Reagent za lizo rdečih krvničk z izpiranjem po lizi. Na primer: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagent za fiksacijo levkocitov. Na primer: fiksirna raztopina IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotipska kontrola PE: Reagent IOTest (Ref. A07796).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijev fosfat; 0,145 M natrijev klorid; pH 7,2).
- Centrifugirajte.
- Samodejni stresalnik (za stresanje).
- Pretočni citometer.

POSTOPEK Z REAGENTOM VERSALYSE

Za vsak analizirani vzorec lahko poleg testne epruvete dodamo še kontrolno epruveto, v kateri so celice pomešane v prisotnosti izotipskih kontrol (Ref. A07796).

1. V vsako testno epruveto dodajte 20 µl konjugiranih protiteles IOTest, po potrebi pa 20 µl izotipske kontrole v vsako kontrolno epruveto.
2. V vsako epruveto dodajte 100 µl testnega vzorca. Epruvete nežno stresajte.
3. Inkubirajte ga 15 do 20 minut pri sobni temperaturi (18–25 °C), zaščitenega pred svetlobo.
4. Nato izvedite lizo rdečih celic. Oglejte si brošuro VersaLyse (Ref. A09777) in po možnosti upoštevajte postopek, imenovan »s hkratno fiksacijo«, po katerem je treba dodati 1 ml mešanice »Fix-and-Lyse«, pripravljene sprotno. Takoj stresajte eno sekundo in inkubirajte 10 minut pri sobni temperaturi, zaščiteno pred svetlobo.
5. Centrifugirajte 5 minut pri 150 x g na sobni temperaturi.
6. Supernatant odstranite z aspiracijo.
7. Celično usedlino znova suspendirajte z uporabo 3 ml PBS.
8. Ponovite 5. korak.
9. Supernatant odstranite z aspiracijo in znova suspendirajte celično usedlino z uporabo:

- 0,5 ml ali 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehida, če je pripravke treba hraniti manj kot 24 ur. (0,1-% formaldehid PBS lahko dobimo z redčenjem 12,5 µl fiksirne raztopine IOTest 3 (Ref. A07800) pri njeni 10X koncentraciji v 1 ml PBS).
- 0,5 ml ali 1 ml PBS brez formaldehida, če je pripravke treba analizirati v 2 urah.

Opomba: v vseh primerih pripravke hranite na temperaturi od 2 do 8 °C in zaščitite pred svetlobo.

PRIČAKOVANE VREDNOSTI

V naših laboratorijih smo z zgoraj opisanim reagentom obdelali vzorce polne krvi 25 na videz zdravih darovalcev. Rezultati, pridobljeni s štetjem pozitivnih dogodkov, ki nas zanimajo v zvezi s tem reagentom, so navedeni v spodnjih preglednicah:

Pozitivna tarča	Številka	Povprečje (%)	SD (SO)	CV (%)
Limfociti	25	18,74	6,02	32,10

Te vrednosti so zgolj reprezentativne. Vsak laboratorij mora določiti lastne pričakovane vrednosti za lokalno populacijo običajnih darovalcev.

USPEŠNOST

Podatke o zmogljivosti pridobimo z zgoraj opisanim postopkom na vzorcih krvi, starih manj kot 24 ur, ki so bili predhodno zbrani v sterilnih epruvetah s soljo EDTA kot antikoagulantom. Analizo se izvede v 2 urah po imunohistokemičnem barvanju.

SPECIFIČNOST

Molekulska masa močno glikozilirane beljakovine CD56 (molekula NKH1) je 200–220 kDa (10,11). Izražena je na podpopulaciji limfocitov periferne krvi, ki kažejo omejeno citotoksičnost ne-glavnega kompleksa histokompatibilnosti (10,12). Monoklonsko protitelo N901 (NKH-1) reagira z večino celic NK (10,11). Prav tako reagira z manjšo podpopulacijo CD3 pozitivnih celic T, ki posreduje zmanjšano citotoksično aktivnost (12). To protitelo ne reagira z monociti, granulociti, eritrociti ali limfociti B. Protitelo N901 (NKH-1) je bilo dodeljeno grozdu diferenciacije CD56 med 4. International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (mednarodno delavnico o antigenih za diferenciacijo človeških levkocitov), na Dunaju v Avstriji leta 1989 (13).

NATANČNOST

Odstotke pozitivnih vrednosti smo določili z uporabo polne krvi. Vsak vzorec je bil obravnavan 4-krat, dvakrat dnevno 1 dan na 2 napravah z uporabo 2 serij reagentov z monoklonskimi protitelesi CD56-PE. Meritve (% pozitivnih) so bile opravljene na pretočnem citometru Navios. Analiza je bila izvedena na podlagi metode CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vrednotenje natančnosti kvantitativnih merilnih metod).

Naša merila sprejemljivosti so odvisna od števila pozitivnih dogodkov, izmerjenih za vsako populacijo:

- Če je pozitiven dogodek < 1.500, je CV < 15 %
- Če je pozitiven dogodek > 1.500, je CV < 10 %

Limfociti							
Število pozitivnih dogodkov (povprečje) = 1083							
	Med upravljavci	Med citometri	Znotraj serije	Med serijami	Med postopki	Znotraj postopka	Skupaj
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost CD56-PE smo ocenili s primerjavo rezultatov z referenčnim reagentom kot reagentom s potrjeno skladnostjo na nizu vzorcev polne krvi, obdelane na pretočnem citometru Navios. Odstopanje med testnim in referenčnim reagentom je bilo določeno na podlagi razlike med rezultati testa. Če je odstopanje znotraj dovoljenega območja napake ali vrednost p ne kaže pomembne razlike (> 0,05), se rezultati testov za oba reagenta štejejo za enakovredne.

Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Število darovalcev = 25				
Pozitivna tarča	Povprečje Δ	Δ % celičnega kriterija	vrednost p	REZULTATI
Limfociti	-0,25	<5	0,262	PASS

MEJA SLEPEGA VZORCA IN MEJA ZAZNAVANJA

Študija je bila izvedena skladno z metodo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zmogljivosti zaznavanja za merilne postopke v kliničnih laboratorijih). Meja zaznavanja (LOD) je najnižja koncentracija analita, ki jo je mogoče dosledno zaznati. Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Positive Target	Meja slepega vzorca (celic/µl)	Meja zaznavanja (celic/µl)
Limfociti	4	6

OMEJITVE

1. S pretočno citometrijo lahko pride do napačnih rezultatov, če citometer ni bil točno nameščen, če puščanje fluorescence ni bilo ustrezno izravnano in če območja niso bila natančno pozicionirana.
2. Priporočljivo je uporabiti tehniko liziranja RBC s korakom pranja, saj ta reagent ni optimiziran za tehnike liziranja »brez pranja«.
3. Točne in ponovljive rezultate se bo doseglo, če se bo uporabilo postopke, ki so skladni s priloženim tehničnim listom in z načeli dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugirano protitelo tega reagenta je umerjeno, tako da zagotavlja najboljše razmerje med specifičnim/nespecifičnim signalnim razmerjem. Zato je pomembno, da pri vsakem testu upoštevamo razmerje med količino reagenta/količino vzorca.
5. V primeru hiperlevkocitoze razredčite kri v PBS, da se tako dobi vrednost približno 5 x 10^9 levkocitov/l (14).
6. Pri nekaterih bolezenskih stanjih, kot je huda ledvična odpoved ali hemoglobinopatije, je lahko liza rdečih krvničk počasna, nepopolna ali celo nemogoča. V tem primeru je priporočljivo izolirati mononuklearne celice z uporabo gradienta gostote (na primer Ficoll) pred barvanjem (15).
7. Pri bolnikih, ki se zdravijo s terapijo z antihumanimi monoklonskimi protitelesi, je lahko odkrivanje specifičnih ciljnih antigenov zmanjšano ali pa ga sploh ni zaradi delnega ali popolnega blokiranja s strani terapevtskega protitelesa.

8. Rezultate CD56-PE je treba razlagati v luči celotne klinične slike bolnika, vključno s: simptomi, anamnezo, podatki dodatnih testov in drugimi ustreznimi podatki.

Primere in reference si oglejte v prilogi.

BLAGOVNE ZNAMKE

Beckman Coulter, stiliziran logotip ter znamke izdelkov in storitev podjetja Beckman Coulter, omenjene v tem dokumentu, so blagovne znamke ali registrirane blagovne znamke podjetja Beckman Coulter, Inc. v Združenih državah Amerike in drugih državah.

DRUGI PODATKI

Za bolnike/uporabnike/tretje osebe v Evropski uniji in v državah z enakim regulativnim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskih pripomočkih za in vitro diagnostiko): če med uporabo tega pripomočka ali kot rezultat njegove uporabe pride do resnega incidenta, o tem poročajte proizvajalcu in/ali njegovemu pooblaščenemu predstavniku in svojemu nacionalnemu organu.

Summary of Safety and Performance (Povzetek o varnosti in zmogljivosti) je na voljo v bazi podatkov EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ZGODOVINA REVIZIJ

REVIDIRANA IZDAJA AD:	Datum izdaje: September 2019

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AW	Februar 2022
Posodobitve za skladnost z globalno politiko označevanja Beckman Coulter in v skladu z zahtevami IVD-R (EU) 2017/746:	
Dodana poglavja	Številka BSI 2797, predvideni uporabnik, klinični pomen, koncentracija, točnost, natančnost, meja slepega vzorca in meja zaznavanja, dodatne informacije, zgodovina revizij.
Dodatne informacije	Oglejte si poglavja Omejitve
Izrazne ali tipografske posodobitve	Oglejte si poglavja Postopek, Zmogljivost, Omejitve, Opozorila in previdnostni ukrepi, Shranjevanje in stabilnost.
Odstranjena poglavja	Primer klinične uporabe, reagenti, ponovljivost znotraj laboratorija, linearnost
Posodobljena poglavja	Predvidena uporaba, Klasifikacija nevarnosti po GHS, Dokaz o poslabšanju stanja, Postopek, Priloga.

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AX	April 2023
Posodobljena poglavja	Dodaj kazaščino
Posodobljena poglavja	Shranjevanje in stabilnost

Revidirana različica	AY
Revidiran datum	Maj 2024
Posodobljeni prevodi	**Klinični pomen:**
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Revidirana različica	AZ
Revidiran datum	Julij 2024
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Seznam simbolov

Glosar simbolov je na voljo na beckman.com/techdocs (številka dokumenta B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD56
Klon	N901 (NKH-1)
Hibridom	NS1 x balb/c
Imunogen	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Imunoglobulin	IgG1
Vrste	Miš
Prečišćavanje	Afinitetna hromatografija
Fluorohrom	R Phycoerythrin (PE)
Molarni odnos	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisije	575 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Konjugovano antitelo CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 ml, 20 µl/testu

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu

NAMENA

Ovo fluorohromno-konjugovano antitelo omogućava kvalitativnu i neautomatizovanu identifikaciju ćelijskih populacija koje eksprimiraju CD56 antigen prisutnih u humanim biološkim uzorcima pomoću protočne citometrije (pogledati odeljak „Uzorci“ u nastavku).

PRINCIP

Ovaj test se zasniva na sposobnosti određenih monoklonskih antitela da se vežu za antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično bojenje leukocita se obavlja inkubiranjem uzorka sa reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utiče, analiziraju se protočnom citometrijom.

Protočni citometar meri difuziju svetlosti i fluorescenciju ćelija. On omogućava razgraničenje populacije od interesa u okviru elektronskog prozora definisanog na histogramu, što je u korelaciji sa ortogonalnom difuzijom svetlosti (bočno rasejanje ili SS) i difuzijom uskougaone svetlosti (prednje rasejanje ili FS). Drugi histogrami koji kombinuju dva različita parametra koja postoje na citometru mogu se koristiti kao podrška u fazi regulacije, u zavisnosti od primene koju je korisnik odabrao.

Fluorescencija ograničenih ćelija se analizira kako bi se razlikovali pozitivno obojeni događaji od neobojenih događaja. Rezultati su prikazani kao procenat pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobijene regulacijom.

PREDVIĐENI KORISNIK

Ovaj proizvod je namenjen za upotrebu od strane laboratorijskih stručnjaka.

KLINIČKI ZNAČAJ

CD56-PE predstavlja CD56 antitelo korišćeno za identifikovanje i karakterizaciju ćelija koje eksprimiraju CD56 antigen pomoću protočne citometrije. Ovaj proizvod sam po sebi ne može da se koristi i nije namenjen za donošenje bilo kog dijagnostičkog zaključka.

Kada se koristi u kombinaciji sa drugim markerima, ovaj proizvod može da se koristi kod jedne ili više od sledećih funkcija:

- Kao pomoć u diferencijalnoj dijagnozi kod hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu i za nadgledanje pacijenata sa poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć u dijagnostikovanju kod pacijenata sa suspektnom imunodeficijencijom i nadgledanju pacijenata sa poznatom imunodeficijencijom.
- Kao pomoć u prognozi za pacijente koji imaju hematopoetsku neoplazmu.
- Za nadgledanje procesa ili rezultata transplantacije.

Pogledajte sledeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

UZORCI

Uzorci iz venske krvi moraju se uzimati sterilnim epruvetama koje sadrže EDTA so kao antikoagulans.

Uzorke treba čuvati na sobnoj temperaturi (18–25°C) i ne tresti. Uzorke treba pre uzimanja uzorka za testiranje homogenizovati blagim mešanjem.

Uzorci se moraju analizirati u roku od 24 sati od venepunkcije.

KONCENTRACIJA

Pogledajte dokument „Certificate of Analysis“ (Sertifikat analize) za određeni lot na veb-sajtu www.beckman.com.

UPOZORENJE I MERE OPREZA

1. Ne koristite reagense nakon isteka roka trajanja.
2. Ne zamrzavajte.
3. Pre upotrebe sačekajte da se približi sobnoj temperaturi (18–25°C).
4. Izbegavati izloženost svetlosti.
5. Sprečite mikrobsku kontaminaciju reagenasa ili se mogu javiti netačni rezultati.

6. Rastvorima antitela koji sadrže natrijum azid (NaN_3) treba pažljivo rukovati. Ne uzimajte interno i izbegavajte svaki dodir sa kožom, sluzokožom i očima.

   Pored toga, u kiseloj sredini, natrijum azid može formirati potencijalno opasnu hidrazoinsku kiselinu. Ako je potrebno da se odloži u otpad, preporučuje se da se reagens razblaži u velikoj zapremini vode pre sipanja u sistem kanalizacije kako bi se izbeglo taloženje natrijum azida u metalnim cevima i sprečila opasnost od eksplozije.
7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno infektivnim i njima se mora pažljivo rukovati (posebno: nošenje zaštitnih rukavica, odeće i zaštitnih naočara).
8. Nikada ne pipetirajte ustima i izbegavajte svaki kontakt uzoraka sa kožom, sluzokožom i očima.
9. Epruvete za uzorak krvi i potrošni materijal koji je korišćen za rukovanje treba odložiti u ad hoc kontejnere predviđene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad treba ukloniti prema lokalnim zahtevima.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno

SDS Dokument „Bezbednosni list“ dostupan je na internet stranici beckmancoulter.com/techdocs

SKLADIŠTENJE I STABILNOST

Ovaj reagens se mora čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C i zaštićen od svetlosti, pre i posle otvaranja bočice.

Ispitivanje roka trajanja zatvorene bočice u odnosu na stabilnost: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dan(a).

DOKAZI POGORŠANJA

Bilo koja promena u fizičkom izgledu reagensa može ukazivati na pogoršanje i reagens ne treba koristiti.

Za dodatne informacije ili ako dobijete oštećen proizvod, pozovite korisnički servis kompanije Beckman Coulter na broj 800-742-2345 (SAD ili Kanada) ili pozovite svog lokalnog predstavnika kompanije Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans sa natrijum azidom može formirati eksplozivna jedinjenja u metalnim odvodnim vodovima. Pogledajte „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (16.8.76.) (Bilten Nacionalnog instituta za bezbednost i zdravlje na radu: Opasnost od eksplozivnih azida).
Da biste sprečili moguće taloženje jedinjenja azida, isperite cevi za otpad vodom nakon odlaganja u otpad nerazblaženog reagensa. Odlaganje u otpad natrijum azida mora biti u skladu sa odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI SE NE ISPORUČUJU UZ KOMPLET:

- Epruvete za uzorkovanje i materijal potreban za uzorkovanje.
- Automatske pipete sa nastavcima za jednokratnu upotrebu za 20 100 µl i 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizu.
- Reagens za liziranje eritrocita sa fazom ispiranja nakon liziranja. Na primer: VersaLyse (referentni broj A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primer: IOTest 3 fiksativni rastvor (referentni broj A07800).
- Izotipska kontrola PE: IOTest reagens (referentni broj A07796).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijum-fosfat; 0,145 M natrijum-hlorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska mešalica (vrtložnog tipa).
- Protočni citometar.

POSTUPAK SA VERSALYSE REAGENSOM

Za svaki analiziran uzorak je pored epruvete za uzorak moguće dodati i jednu kontrolnu epruvetu u kojoj se ćelije mešaju u prisustvu izotipske kontrole (referentni broj A07796).

1. Dodajte 20 µl specifičnog IOTest konjugovanog antitela u svaku epruvetu za uzorak i, ako je to potrebno, 20 µl kontrole izotipa u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µl uzorka za testiranje u svaku epruvetu za uzorak. Pažljivo izmešajte epruvete u vrtložnoj mešalici.
3. Inkubirajte 15 do 20 minuta na sobnoj temperaturi (18–25°C), zaštićeno od svetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje crvenih ćelija. Pogledajte VersaLyse (referentni broj A09777) letak i poželjno pratite postupak pod nazivom „sa istovremenom fiksacijom“, koji se sastoji od dodavanja 1 ml nezavisno pripremljene smeše za fiksiranje i liziranje („Fix-and-Lyse“). Odmah izmešajte u vrtložnoj mešalici jednu sekundu i inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi, zaštićeno od svetlosti.
5. Centrifugirajte 5 minuta na 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Ponovo suspendujte talog ćelija u 3 ml PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Aspiracijom uklonite supernatant i ponovo suspendujte talog ćelija u:

- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a plus 0,1% formaldehida ako će se preparati čuvati kraće od ovog broja sati: 24. (PBS sa 0,1% formaldehida može se dobiti razblaživanjem 12,5 µl IOTest 3 rastvora za fiksiranje (referentni broj A07800) u 10X koncentraciji u 1 ml PBS-a).
- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a bez formaldehida ako će se preparati analizirati u roku od ovog broja sati – 2.

Napomena: U svim slučajevima preparate čuvajte na temperaturi između 2°C i 8°C i zaštićene od svetlosti.

OČEKIVANE VREDNOSTI

U našim laboratorijama, uzorci pune krvi 25 očigledno zdravih donora tretirani su pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati dobijeni za broj pozitivnih događaja od interesa sa ovim reagensom navedeni su u tabeli u nastavku:

Pozitivan cilj	Broj	Srednja vrednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti	25	18,74	6,02	32,10

Ove vrednosti treba da služe samo kao reprezentativne vrednosti. Svaka laboratorija treba da uspostavi sopstvene očekivane vrednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o delovanju dobijeni su pomoću prethodno opisanog postupka na manje od 24 sata starim uzorcima krvi koji su prethodno prikupljeni sterilnim epruvetama za uzorke sa EDTA solju kao antikoagulansom. Analiza se vrši u roku od 2 sata od imunobojenja.

SPECIFIČNOST

Molekulska težina CD56 veoma glikoziliranog proteina (NKH1 molekul) je 200–220 kDa (10,11). On se eksprimira na subpopulaciji limfocita periferne krvi koji pokazuju ograničenu citotoksičnost ne-glavnog kompleksa histokompatibilnosti (10,12). N901 (NKH-1) monoklonalno antitelo reaguje sa većinom NK ćelija (10,11). Ono takođe reaguje sa manjom subpopulacijom CD3 pozitivnih T ćelija koja posreduje u smanjenoj citotoksičnoj aktivnosti (12). Ovo antitelo ne reaguje sa monocitima, granulocitima, eritrocitima ili B limfocitima. N901 (NKH-1) antitelo je pridruženo klasteru diferencijacije CD56 tokom radionice „4th International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens“ (Četvrta Međunarodna konferencija o ljudskim antigenima leukocitne diferencijacije), koja je održana u Beču, u Austriji, 1989. godine (13).

PRECIZNOST

Procenat pozitivnih vrednosti utvrđen je pomoću pune krvi. Svaki uzorak je analiziran 4 puta, dva puta dnevno tokom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagenasa monoklonskog antitela CD56-PE. Merenja (% pozitivnog) su izvršena na Navios protočnom citometru. Analiza je obavljena na osnovu CLSI metoda EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procena preciznosti učinka kvantitativnih metoda merenja).

Naši kriterijumi prihvatljivosti zavise od broja pozitivnih događaja izmerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivan događaj <1.500, CV <15%
- Ako je pozitivan događaj >1.500, CV <10%

Limfociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrednost) = 1083							
	Između više operatera	Između više citometara	Unutar jednog lota	Između više lotova	Između više analiziranja	Unutar jednog analiziranja	Ukupno
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TAČNOST

Tačnost testa CD56-PE procenjena je poređenjem rezultata sa referentnim reagensom kao osnovom na kompletu uzoraka pune krvi analiziranim na Navios protočnom citometru. Odstupanje između testa i referentnog reagensa određeno je na osnovu razlike između rezultata testova. Ako je odstupanje u okviru dozvoljenog opsega greške ili p-vrednost ne ukazuje na značajnu razliku (>0,05), rezultati testova za ova dva reagensa se smatraju ekvivalentnim.

Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivan cilj	Srednja vrednost Δ	Δ % ćelijskih kriterijuma	p-vrednost	REZULTATI
Limfociti	-0,25	<5	0,262	PASS

LIMIT SLEPE PROBE I LIMIT DETEKCIJE

Izvršeno je ispitivanje u skladu s protokolom CLSI EP17-A2, „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Procena sposobnosti detekcije za postupke merenja u kliničkoj laboratoriji). Limit detekcije (LoD) je najniža koncentracija analita koja se može dosledno detektovati. Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli:

Positive Target	Limit slepe probe (ćelija/µl)	Limit detekcije (ćelija/µl)
Limfociti	4	6

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti netačne rezultate ako citometar nije pravilno postavljen, ako fluorescentna curenja nisu ispravno kompenzirana ili ako regioni nisu pažljivo postavljeni.
2. Poželjno je koristiti tehniku liziranja RBC sa korakom ispiranja jer ovaj reagens nije optimizovan za tehnike liziranja „bez pranja“.
3. Tačni i ponovljivi rezultati će se dobijati sve dok su korišćeni postupci u skladu sa listom sa tehničkim podacima i postupci kompatibilni sa smernicama dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugovano antitelo ovog reagensa je kalibrisano tako da ponudi najbolji odnos specifičnog i nespecifičnog signala. Prema tome, važno je u svakom testu koristiti utvrđeni odnos zapremine reagensa i zapremine uzorka.
5. U slučaju hiperleukocitoze, razredite krv u PBS-u kako biste dobili vrednost od približno 5 x 10^9 leukocita/l (14).
6. U određenim stanjima bolesti, kao što su teška bubrežna insuficijencija ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak nemoguće. U tom slučaju se pre bojenja preporučuje izoliranje mononuklearnih ćelija upotrebom gradijenta gustine (na primer, fikol) (15).
7. Kod pacijenata lečenih terapijama antihumanim monoklonskim antitelima, detekcija specifičnih ciljanih antigena može biti umanjena ili odsutna usled delimične ili potpune blokade od strane terapijskog antitela.

8. Rezultate CD56-PE testa treba tumačiti u svetlu celokupne kliničke slike pacijenta, uključujući: simptome, kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i druge prikladne informacije.

Za primere i referentne materijale pogledati Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizovani logotip i Beckman Coulter robni i servisni žigovi koji se navode u ovom dokumentu jesu žigovi ili registrovani žigovi kompanije Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim zemljama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta/korisnika/treću stranu u Evropskoj uniji i zemljama sa identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o in vitro dijagnostičkim medicinskim sredstvima); ako je tokom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe došlo do ozbiljnog incidenta, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlašćenom predstavniku i svom nacionalnom organu.

Dokument Summary of Safety and Performance (Sažetak informacija o bezbednosti i učinku) dostupan je u EUDAMED bazi podataka: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORIJA REVIZIJA

REVIZIJA AD:	Datum izdavanja: September, 2019.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AW	Februar 2022.
Ažurirano radi usklađenosti sa smernicama za globalno obeležavanje kompanije Beckman Coulter u skladu sa zahtevima IVD-R (EU)2017/746:	
Dodati odeljci	BSI 2797 broj, Predviđeni korisnik, Klinički značaj, Koncentracija, Preciznost, Tačnost, Limit slepe probe i limit detekcije, Dodatne informacije, Istorija revizija.
Dodate informacije	Pogledati odeljke Ograničenja
Ažuriranje formulacija ili tipografije	Pogledati odeljke Postupak, Učinak, Ograničenja, Upozorenja i mere opreza, Čuvanje i stabilnost.
Uklonjeni odeljci	Primeri kliničkih primena, Reagensi, Intralaboratorijska reproducibilnost, Linearnost
Dopunjeni odeljci	Namena, GHS klasifikacija opasnosti, Dokaz propadanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AX	April 2023
Dopunjeni odeljci	Dodajte kazaški
Dopunjeni odeljci	Skladištenje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Maj 2024
Ažurirani prevodi	**Klinički značaj:**
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Jul 2024
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Ključ za simbole

Rečnik simbola je dostupan na adresi beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Specifikācijas
Specifika	CD56
Klons	N901 (NKH-1)
Hibridoma	NS1 x balb/c
Imunogēns	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Imūnglobulīns	IgG1
Suga	Pele
Attīrīšana	Afinitātes hromatogrāfija
Fluorohroms	R Phycoerythrin (PE)
Molārā attiecība	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ierosme	488 nm
Izstarojuma lielākā vērtība	575 nm
Buferšķīdums	PBS pH 7,2 ar 2 mg/ml BSA un 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugētā antiviela
CD56-PE

REF A07788 100 testi; 2 ml, 20 µl uz testu

***In vitro* diagnostikas lietošanai**

PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

Ar fluorohromu konjugētā antiviela nodrošina tādu šūnu populāciju kvalitatīvo un neautomatizēto noteikšanu, kam ir CD56 antigēna ekspresija un kas ir cilvēka bioloģiskajos paraugos, izmantojot plūsmas citometriju (skatīt tālāk sadaļu „Paraugi").

PRINCIPS

Šī testa pamatā ir specifisku monoklonālu antivielu spēja saistīties ar leikocītu izdalītām antigēnu determinantēm.

Leikocītu specifiskā iekrāsošana tiek veikta, inkubējot paraugu ar IOTest reaģentu. Pēc tam eritrocīti tiek atdalīti lizēšanas procesā, un leikocīti, ko šis process neietekmē, tiek analizēti, izmantojot plūsmas citometriju.

Plūsmas citometrs mēra gaismas difūziju un šūnu fluorescenci. Tādēļ ir iespējama interesējošās populācijas ierobežošana elektroniskajā logā, kas definēts histogrammā, kas korelē ar gaismas ortogonālo difūziju (sānu izkliede jeb SS) un šaurleņķa gaismas difūziju (priekšējā izkliede jeb FS). Kā papildu metodes sinhronizācijas procesā iespējams izmantot citas histogrammas, kurās iespējams kombinēt divus dažādus citometrā pieejamos parametrus atkarībā no lietotāja izvēlētā izmantojuma.

Tiek analizēta atdalīto šūnu fluorescence, lai atšķirtu pozitīvi iekrāsotos notikumus no neiekrāsotajiem. Rezultāti tiek izteikti kā procentuālais lielums no pozitīviem notikumiem attiecībā pret visiem notikumiem, kas iegūti selekcijā.

PAREDZĒTAIS LIETOTĀJS

Šis produkts ir paredzēts profesionālai lietošanai laboratorijā.

KLĪNISKAIS NOZĪMĪGUMS

CD56-PE ir CD56 antiviela, ko izmanto, lai ar plūsmas citometriju noteiktu un raksturotu šūnas, kas ekspresē CD56 antigēnu. Ar vienu pašu šo izstrādājumu nevar iegūt nekādu diagnostisku secinājumu, un tas nav tam paredzēts.

Izmantojot kopā ar citiem marķieriem, šo izstrādājumu var lietot vienai vai vairākām tālāk norādītajām funkcijām.

- Lai palīdzētu veikt diferenciāldiagnostiku pacientiem ar hematoloģiskām patoloģijām, kuriem, iespējams, ir asinsrades neoplazma, un lai kontrolētu pacientus ar zināmu asinsrades neoplazmu.
- Lai palīdzētu noteikt diagnozi pacientiem, kuriem, iespējams, ir imūndeficīts, un lai uzraudzītu pacientus ar zināmu imūndeficītu.
- Lai palīdzētu noteikt prognozi pacientiem ar asinsrades neoplazmu.
- Lai uzraudzītu transplantācijas gaitu vai rezultātus.

Skatiet tālāk sniegtās atsauces.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

PARAUGI

Venozās asinis jāņem, izmantojot sterilas mēģenes, kurās kā antikoagulants ir izmantots EDTA sāls.

Paraugi ir jāuzglabā istabas temperatūrā (18–25 °C), un tos nedrīkst sakratīt. Pirms testa parauga ņemšanas ir jāveic paraugu homogenizācija, viegli saskalojot paraugus.

Paraugu analīze ir jāveic 24 stundu laikā pēc vēnas punkcijas.

KONCENTRĀCIJA

Konkrētai partijai atbilstošo analīzes sertifikātu skatiet vietnē www.beckman.com.

BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

1. Neizmantojiet reaģentu pēc derīguma termiņa beigām.
2. Nedrīkst sasaldēt.
3. Pirms izmantošanas ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai (18–25 °C).
4. Minimizējiet ekspozīciju gaismas iedarbībai.
5. Izvairieties no reaģentu bakteriālas kontaminācijas, jo iespējami viltus rezultāti.

6. Strādājot ar antivielu šķīdumiem, kuru sastāvā ir nātrija azīds (NaN_3), jāievēro piesardzība. Neizmantojiet iekšķīgi un nepieļaujiet saskari ar ādu, gļotādu un acīm.

   Turklāt skābā vidē nātrija azīds var radīt potenciāli bīstamo hidrazoīdskābi. Ja to nepieciešams izmest, reaģentu ieteicams šķīdināt lielā daudzumā ūdens un izliet to kanalizācijas sistēmā, lai novērstu nātrija azīda uzkrāšanos metāla caurulēs un novērstu sprādziena risku.

7. Visi asins paraugi ir jāuzskata par potenciāli infekcioziem, un ar tiem jārīkojas, ievērojot piesardzību (respektīvi, jāvalkā aizsargcimdi, aizsargtērpi un brilles).
8. Nekādā gadījumā neizmantojiet muti, lai darbotos ar pipeti. Paraugi nekādā gadījumā nedrīkst saskarties ar ādu, gļotādu un acīm.
9. Darbā izmantotās asiņu mēģenes un vienreizlietojamie materiāli ir jāizmet ad hoc konteineros, kas paredzēti sadedzināšanai.
10. Ir jāveic reaģentu un atkritumu utilizācija atbilstoši vietējām prasībām.

ĶĪMISKO VIELU KLASIFICĒŠANAS UN MARĶĒŠANAS VISPĀRĒJI SASKAŅOTĀS SISTĒMAS BĪSTAMĪBAS KLASIFIKĀCIJA

Nav klasificēts kā bīstams

SDS Drošības datu lapa ir pieejama vietnē beckmancoulter.com/techdocs

GLABĀŠANA UN STABILITĀTE

Reaģents ir jāuzglabā 2–8 °C temperatūrā un jāsargā no gaismas pirms un pēc flakona atvēršanas.

Aizvērta flakona glabāšanas laiks saskaņā ar stabilitātes pētījumu: 1095 dienas.

Atvērta flakona stabilitāte: reaģents ir stabils 180 dienas.

SADALĪŠANĀS PAZĪMES

Jebkuras reaģentu pazīmju izmaiņas var norādīt, ka reaģents sadalās un to nedrīkst izmantot.

Lai iegūtu papildu informāciju vai arī ja saņemtais izstrādājums ir bojāts, zvaniet Beckman Coulter klientu servisam pa tālruni 800-742-2345 (ASV vai Kanāda) vai sazinieties ar vietējo Beckman Coulter pārstāvi.

SATURS

Nātrija azīda konservants var izveidot sprādzienbīstamus savienojumus metāla notekcaurulēs. Skatīt NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (NIOSH biļetens: Azīdu sprādzienbīstamība) (16.8.76.).
Lai nepieļautu iespējamo azīda savienojumu uzkrāšanos, pēc neatšķaidītā reaģenta izmešanas izskalojiet kanalizācijas caurules ar ūdeni. Nātrija azīda izmešana ir jāveic saskaņā ar atbilstošajiem vietējiem noteikumiem.

NEPIECIEŠAMIE MATERIĀLI, KAS NEIETILPST KOMPLEKTĀ

- Paraugu ņemšanai nepieciešamās mēģenes un materiāli.
- Automātiskās pipetes ar vienreizlietojamiem uzgaļiem, kas paredzētas 20, 100 un 500 µl.
- Plastmasas hemolīzes mēģenes.
- Eritrocītu lizēšanas reaģents ar mazgāšanas fāzi pēc lizēšanas. Piemērs: VersaLyse (ats. A09777).
- Leikocītu fiksācijas reaģents. Piemērs: IOTest 3 fiksatīvais šķīdums (ats. A07800).
- Izotipa kontrole PE: IOTest reaģents (ats. A07796).
- Buferšķīdums (PBS: 0,01 M nātrija fosfāta; 0,145 M nātrija hlorīda; pH 7,2).
- Centrifugējiet.
- Automātisks maisītājs (samaisīšanas tipa).
- Plūsmas citometrs.

PROCEDŪRA AR REAĢENTU VERSALYSE

Katram analizētajam paraugam papildus testa mēģenei var izmantot vienu kontroles mēģeni, kurā šūnas tiek sajauktas izotipu kontroles klātbūtnē (ats. A07796).

1. Katrai testa mēģenei pievienojiet 20 µl specifiskas IOTest konjugētas antivielas un, ja nepieciešams, katrai kontroles mēģenei pievienojiet 20 µl izotipa kontroles.
2. Pievienojiet 100 µl testa parauga katrai mēģenei. Saudzīgi samaisiet mēģenes.
3. Inkubējiet 15–20 minūtes istabas temperatūrā (18–25 °C), sargājot no gaismas.
4. Pēc tam veiciet eritrocītu lizēšanu. Skatiet VersaLyse (ats. A09777) lietošanas instrukciju, un ir vēlams izmantot procedūru ar nosaukumu „ar vienlaicīgu fiksāciju", kas tiek veikta, pievienojot 1 ml ekstemporāli izgatavota „Fix-and-Lyse" maisījuma. Nekavējoties samaisiet uz vienu sekundi un inkubējiet mēģeni 10 minūtes istabas temperatūrā, sargājot to no gaismas iedarbības.
5. Centrifugējiet 5 minūtes istabas temperatūrā, izmantojot 150 x g.
6. Aspirējot noņemiet virsējo slāni.
7. Atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu ar 3 ml PBS.
8. Atkārtojiet 5. darbību.
9. Aspirējot noņemiet virsējo slāni un atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu, izmantojot:

- 0,5 ml vai 1 ml PBS ar 0,1 % formaldehīda, ja preparātus ir paredzēts uzglabāt mazāk nekā 24 stundas. (0,1 % formaldehīda PBS var iegūt, atšķaidot 12,5 µl IOTest 3 fiksācijas šķīduma (ats. A07800) 10X koncentrācijā ar 1 ml PBS).
- 0,5 ml vai 1 ml PBS bez formaldehīda, ja ir paredzēts analizēt sagataves 2 stundu laikā.

Piezīme. Sagatavotos maisījums vienmēr uzglabājiet 2–8 °C temperatūrā un sargājiet no gaismas.

PAREDZAMĀS VĒRTĪBAS

Mūsu laboratorijās tika apstrādāti 25 acīmredzami veselu donoru pilnasins paraugi, izmantojot iepriekš aprakstīto reaģentu. Ar šo reaģentu iegūtie interesējošo pozitīvo notikumu rezultāti skaitliskā veidā ir sniegti tālāk tabulā.

Pozitīvais mērķis	Numurs	Aritmētiskais vidējais (%)	SN	Variācijas koeficients (%)
Limfocīti	25	18,74	6,02	32,10

Šīm vērtībām ir tikai raksturojošs nolūks. Katrai laboratorijai jānosaka savas paredzamās vērtības, kas iegūtas no veseliem vietējās populācijas donoriem.

VEIKTSPĒJA

Veiktspējas dati tiek iegūti, izmantojot iepriekš aprakstīto procedūru mazāk nekā 24 stundu veciem asins paraugiem, kas iepriekš paņemti sterilās mēģenēs ar EDTA sāli kā antikoagulantu. Analīze tiek veikta 2 stundu laikā pēc imūnkrāsošanas metodes izmantošanas.

SPECIFIKA

CD56 lielos apmēros glikozilētā proteīna (NKH1 molekula) molekulmasa ir 200–220 kDa (10,11). To ekspresē perifēro asiņu limfocītu subpopulācijā, kas parāda, galvenajam audu saderības kompleksam nepiederošu ierobežotu citotoksiskumu (10,12). N901 (NKH-1) monoklonāla antiviela reaģē ar vairumu NK šūnu (10,11). Tas arī reaģē ar nelielu CD3 pozitīvu T šūnu subpopulāciju, kas mediē samazinātu citotoksisko darbību (12). Šī antiviela nereaģē ar monocītiem un granulocītiem, eritrocītiem vai B limfocītiem. N901 (NKH-1) antiviela tika piešķirta CD56 diferenciācijas klasterim seminārā 4th International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (4. HLDA seminārā par cilvēku leikocītu diferenciācijas antigēniem), Vīnē, Austrijā, 1989. gadā (13).

PRECIZITĀTE

Procentuāli pozitīvās vērtības tika noteiktas, izmantojot pilnasinis. Katru paraugu analizēja 4 reizes: divreiz dienā 1 dienu 2 instrumentos, izmantojot 2 partijas CD56-PE monoklonālu antivielu reaģentu. Mērījumus (% pozitīvs) veica Navios plūsmas citometrā. Analīzi veica, pamatojoties uz CLSI metodi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatīvo mērīšanas metožu precizitātes veiktspējas novērtēšana).

Mūsu pieņemšanas kritēriji ir atkarīgi no katrai populācijai noteikto pozitīvo notikumu skaita.

- Ja pozitīvs notikums < 1500, variācijas koeficients < 15 %
- Ja pozitīvs notikums > 1500, variācijas koeficients < 10 %

Limfocīti							
Pozitīvo notikumu skaits (aritmētiskais vidējais) = 1083							
	Starp operatoriem	Starp citometriem	Partijā	Starp partijām	Starp analīzēm	Analīzē	Kopā
Variācijas koeficients (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
REZULTĀTI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRECIZITĀTE

CD56-PE precizitāti novērtēja, pilnasins paraugu kopas, kas analizēti Navios plūsmas citometrā, rezultātus salīdzinot ar atsauces reaģentu kā predikātu. Novirzi starp testa un atsauces reaģentu noteica, pamatojoties uz testu rezultātu atšķirību. Ja novirze atbilst pieļaujamajam kļūdas diapazonam vai p vērtība neliecina par nozīmīgu atšķirību (> 0,05), tad abu reaģentu testu rezultāti uzskatāmi par līdzvērtīgiem.

Iegūtie rezultāti ir apkopoti nākamajā tabulā.

Donoru skaits = 25				
Pozitīvais mērķis	Aritmētiskais vidējais Δ	Δ % šūnu kritēriji	p vērtība	REZULTĀTI
Limfocīti	-0,25	<5	0,262	PASS

TUKŠO PARAUGU ROBEŽVĒRTĪBA UN NOTEIKŠANAS ROBEŽVERTĪBA

Pētījums tika veikts saskaņā ar CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klīniskās laboratorijas mērījumu procedūru noteikšanas spēju izvērtējums). Noteikšanas robežvērtība (NR) ir zemākā analīta koncentrācija, ko iespējams konsekventi noteikt. Iegūtie rezultāti ir apkopoti tālāk tabulā.

Positive Target	Tukšo paraugu robežvērtība (šūnas/µl)	Noteikšanas robežvērtība (šūnas/µl)
Limfocīti	4	6

IEROBEŽOJUMI

1. Ja citometrs nav novietots precīzi līdzeni, ja nav pareizi kompensētas fluorescences noplūdes un ja reģioni nav uzmanīgi novietoti, plūsmas citometrija var radīt viltus rezultātus.
2. Ir ieteicams izmantot RBC lizēšanas paņēmienu ar mazgāšanas darbību, jo šis reaģents nav optimizēts izmantošanai lizēšanas paņēmienā „bez mazgāšanas".
3. Iegūtie rezultāti ir precīzi un reproducējami, ja visas izmantotās procedūras tiek izpildītas atbilstoši tehniskajai lietošanas instrukcijai un ir saskaņā ar labu laboratorijas praksi.
4. Šī reaģenta konjugētā antiviela ir kalibrēta tā, lai nodrošinātu labāko specifiska signāla/nespecifiska signāla attiecību. Tāpēc ir ļoti svarīgi ievērot reaģenta tilpuma/parauga tilpuma attiecību katrā testā.
5. Hiperleikocitozes gadījumā atšķaidiet asinis ar PBS, lai iegūtā vērtība būtu apmēram 5 x 10^9 leikocīti/l (14).
6. Dažos slimību stāvokļos, piemēram, izteiktas nieru mazspējas vai hemoglobinopātijas gadījumā, eritrocītu lizēšana var būt lēna, nepilnīga vai pat neiespējama. Šajā gadījumā pirms iekrāsošanas ir ieteicams izolēt mononukleārās šūnas, izmantojot blīvuma gradientu (piemēram, Ficoll) (15).
7. Pacientiem, ko ārstē ar anti-cilvēka monoklonālas antivielas līdzekļiem, specifisku mērķa antigēnu noteikšana var būt pasliktināta vai tās var nebūt, jo to daļēji vai pilnībā bloķē terapeitiskā antiviela.
8. CD56-PE rezultāti jāinterpretē, ņemot vērā pacienta kopējo klīnisko prezentāciju, tajā skaitā simptomus, slimības vēsturi, papildu testu rādītājus un citu atbilstošu informāciju.

Pielikumā skatiet piemērus un atsauces.

PREČU ZĪMES

Beckman Coulter, stilizētais logotips un Beckman Coulter preču un pakalpojumu zīmes, kas minētas šeit, ir Beckman Coulter, Inc. preču zīmes vai reģistrētas preču zīmes Amerikas Savienotajās Valstīs un citās valstīs.

PAPILDINFORMĀCIJA

Attiecībā uz pacientiem/lietotājiem/trešajām personām Eiropas Savienībā vai valstīs ar identisku regulatīvo režīmu (Regula (ES) 2017/746 par in vitro diagnostikas medicīniskām ierīcēm); ja ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā rodas nopietns negadījums, informējiet par to ražotāju un/vai tā pilnvaroto pārstāvi, kā arī valsts iestādi.

Summary of Safety and Performance (Drošuma un veiktspējas kopsavilkums) ir pieejams EUDAMED datubāzē: ec.europa.eu/tools/eudamed.

PĀRSKATĪŠANAS VĒSTURE

AD VERSIJA:	Laidiena datums: 2019. gada septembris

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AW	2022. gada februāris
Atjauninājumi atbilst Beckman Coulter vispārējai marķēšanas politikai un IVD-R (ES)2017/746 prasībām:	
Pievienotas iedaļas	BSI 2797 numurs, Paredzētais lietotājs, Klīniskais nozīmīgums, Koncentrācija, Precizitāte, Precizitāte, Tukšo paraugu robežvērtība un noteikšanas robežvērtība, Papildinformācija, Pārskatīšanas vēsture.
Pievienota informācija	Skatīt iedaļas Ierobežojumi.
Formulējuma vai tipogrāfiski atjauninājumi	Skatīt iedaļas Procedūra, Veiktspēja, Ierobežojumi, Brīdinājumi un piesardzības pasākumi, Glabāšana un Stabilitāte.
Izņemtās iedaļas	Klīniskā lietojuma piemērs, reaģenti, reproducējamība laboratorijā, linearitāte.
Atjauninātās sadaļas	Paredzētā lietošana, Ķīmisko vielu klasificēšanas un marķēšanas vispārēji saskaņotās sistēmas bīstamības klasifikācija, Sadalīšanās pazīmes, Procedūra, Pielikums.

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AX	Aprīlis 2023
Atjauninātās sadaļas	Pievienot kazahu valodu
Atjauninātās sadaļas	Glabāšana un stabilitāte

Pārskatītā versija	AY
Pārskatītā izdevuma datums	Maijs 2024
Atjauninātie tulkojumi	**Klīniskais nozīmīgums:**
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Pārskatītā versija	AZ
Pārskatītā izdevuma datums	Jūlijs 2024
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Simbolu skaidrojumi

Simbolu glosārijs ir pieejams vietnē beckman.com/techdocs (dokumenta numurs B60062)

	Специфікації
Специфічність	CD56
Клон	N901 (NKH-1)
Гібридома	NS1 x balb/c
Імуноген	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Імуноглобулін	IgG1
Вид	Миша
Очищення	Афінна хроматографія
Флуорохром	R Phycoerythrin (PE)
Молярне співвідношення	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-збудження	488 нм
Пік випромінювання	575 нм
Буфер	Розчин ФСБ pH 7,2 плюс бичачий сироватковий альбумін (БСА) 2 мг/мл та 0,1% NaN_3

Кон'юговане антитіло IOTest CD56-PE

REF A07788 100 тестів; 2 мл, 20 мкл/тест

Для діагностики *in vitro*.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Ці антитіла, кон'юговані з флуорохромом, забезпечують якісну та неавтоматизовану ідентифікацію популяцій клітин, що експресують антиген CD56, присутніх у біологічних пробах людини, за допомогою проточної цитометрії (див. розділ «Проби» нижче).

ПРИНЦИП

Цей тест базується на здатності специфічних моноклональних антитіл зв'язуватися з антигенними детермінантами, які експресуються лейкоцитами.

Специфічне забарвлення лейкоцитів здійснюється через інкубацію проби з реагентом IOTest. Еритроцити далі видаляють за допомогою лізису, а лейкоцити, на які не впливає цей процес, досліджують методом проточної цитометрії.

Проточний цитометр вимірює розсіювання світла та флуоресценцію клітин. Це робить можливим розмежування досліджуваної популяції всередині електронного вікна, що визначається на гістограмі, яка співвідносить ортогональне розсіювання світла (бічне розсіювання або Side Scatter — SS) і вузькокутове розсіювання світла (пряме розсіювання або Forward Scatter — FS). Інші гістограми, що поєднують два різні параметри, доступні на цитометрі, можна використовувати для допомоги на етапі гейтингу залежно від програми, вибраної користувачем.

Флуоресценція обмеженої популяції клітин аналізується, щоб розрізнити події з позитивно забарвленими клітинами й незабарвленими. Результати виражаються як відсоток позитивних подій відносно всіх подій, зареєстрованих за допомогою гейтингу.

ПЕРЕДБАЧУВАНИЙ КОРИСТУВАЧ

Цей продукт призначений для професійного використання в лабораторії.

КЛІНІЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ

CD56-PE — це антитіло CD56, яке використовується для ідентифікації та характеристики клітин, що експресують антиген CD56, методом проточної цитометрії. Цей виріб за ізольованого використання не може застосовуватись для генерації жодних діагностичних висновків, він не призначений для цього.

Під час використання разом з іншими маркерами цей продукт можна використовувати в одному або декількох з нижченаведених застосувань.

- Як допоміжний засіб під час проведення диференціальної діагностики в пацієнтів з відхиленнями в результатах гематологічних досліджень із підозрою на наявність гематопоетичного новоутворення, а також для моніторингу пацієнтів з відомим гематопоетичним новоутворенням.
- Як допоміжний засіб діагностики пацієнтів з підозрою на імунодефіцит і моніторингу пацієнтів з відомим імунодефіцитом.
- У якості допоміжного засобу при прогнозуванні подальшого перебігу хвороби у пацієнтів з гематопоетичним новоутворенням.
- Для моніторингу процесу або результатів трансплантації.

Див. такі посилання:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

ПРОБИ

Венозну кров потрібно брати в стерильні пробірки, що містять ангикоагулянт — сіль ЕДТА.

Проби слід зберігати за кімнатної температури (18–25°C), і їх не слід струшувати. Перш ніж узяти пробу для тестування, проби потрібно гомогенізувати за допомогою обережного перемішування.

Проби потрібно проаналізувати не пізніше ніж через 24 години після венепункції.

КОНЦЕНТРАЦІЯ

Див. сертифікат аналізу для серії на вебсайті www.beckman.com.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.
2. Не заморожуйте.
3. Доведіть до кімнатної температури (18–25°C) перед використанням.
4. Зведіть до мінімуму вплив світла.
5. Уникайте мікробної контамінації реагентів, інакше можуть бути отримані помилкові результати.

6. Розчини антитіл, які містять азид натрію (NaN_3), треба обробляти обережно. Не приймайте внутрішньо й уникайте будь-якого контакту зі шкірою, слизовими оболонками та очима.

   Крім того, у кислому середовищі азид натрію може утворити потенційно небезпечну азотистоводневу кислоту. Якщо його потрібно утилізувати, рекомендується розвести реагент у великій кількості води перед зливанням у водостічну систему, щоб уникнути накопичення азиду натрію на поверхні металевих труб і запобігти небезпеці вибуху.
7. Усі проби крові слід розглядати як потенційно інфекційні та поводитися з ними обережно (зокрема, використовуючи захисні рукавички, халати й окуляри).
8. У жодному разі не піпетуйте ротом та уникайте потрапляння проб на шкіру, слизові оболонки та в очі.
9. Пробірки для крові та одноразові матеріали, які використовуються для оброблення, слід викидати в спеціальні контейнери, вміст яких призначений для спалювання.
10. Реагенти та відходи потрібно утилізувати відповідно до місцевих вимог.

КЛАСИФІКАЦІЯ НЕБЕЗПЕКИ ЗА СИСТЕМОЮ GHS

Не класифікуються як небезпечні

SDS Паспорт безпеки доступний на сторінці beckmancoulter.com/techdocs

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Цей реагент потрібно зберігати за температури від 2 до 8°C у захищеному від світла місці, як до, так і після відкриття флакона.

Термін придатності вмісту закритого флакону відповідно до дослідження стабільності: 1095 день.

Стабільність після відкриття флакона: реагент стабільний 180 діб.

ОЗНАКИ ПСУВАННЯ

Будь-яка зміна зовнішнього вигляду реагентів може вказувати на псування, і реагент не слід використовувати.

Щоб отримати додаткову інформацію або повідомити про отримання пошкодженого продукту, зателефонуйте до Служби обслуговування клієнтів Beckman Coulter за номером 800-742-2345 (США або Канада) чи зверніться до місцевого представника компанії Beckman Coulter.

ЗМІСТ

Консервант азид натрію може утворювати вибухонебезпечні сполуки в металевих зливних трубопроводах. Див. Бюлетень Національного інституту з охорони праці та промислової гігієни (NIOSH) Explosive Azide Hazard (Вибухонебезпечні азиди) (16.8.76).
Щоб уникнути можливого утворення сполук азиду, промийте зливні труби водою відразу після утилізації нерозведеного реагенту. Реагенти, що містять азид натрію, треба утилізувати з дотриманням відповідних місцевих норм.

ПОТРІБНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ У КОМПЛЕКТ

- Пробірки для проб і матеріали, потрібні для забору проб.
- Автоматичні піпетки з одноразовими наконечниками на 20, 100 і 500 мкл.
- Пластикові пробірки для гемолізу.
- Реагент для лізису еритроцитів з етапом промивання після лізису. Наприклад: VersaLyse (Ref. A09777).
- Реагент для фіксації лейкоцитів. Наприклад: розчин для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ізотипічний контроль PE: реагент IOTest (Ref. A07796).
- Буфер (ФСБ: 0,01 моль фосфату натрію; 0,145 моль хлориду натрію; pH 7,2).
- Центрифугування.
- Автоматичний змішувач (типу вортекс).
- Проточний цитометр.

ПРОЦЕДУРА З РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для кожної аналізованої проби на додачу до тест-пробірки може бути використана одна контрольна пробірка, у якій клітини змішано в присутності ізотипічного контролю (Ref. A07796).

1. Додайте до кожної тестової пробірки 20 мкл специфічних кон'югованих антитіл IOTest, і, якщо потрібно, 20 мкл ізотипічного контролю до кожної контрольної пробірки.
2. Додайте 100 мкл проби для тестування в кожну пробірку. Обережно змішайте вміст пробірок вихровим способом.
3. Витримайте протягом 15–20 хвилин за кімнатної температури (18–25°C) у захищеному від світла місці.
4. Потім виконують лізис еритроцитів. Перегляньте вкладний листок VersaLyse (Ref. A09777) і за можливості дотримуйтеся процедури з одночасною фіксацією, яка полягає в додаванні 1 мл суміші Fix-and-Lyse, приготованої безпосередньо перед використанням. Відразу змішайте вихровим способом упродовж однієї секунди й витримайте протягом 10 хвилин за кімнатної температури в захищеному від світла місці.
5. Центрифугуйте за кімнатної температури протягом 5 хвилин зі швидкістю 150 g.
6. Видаліть надосадову рідину аспіратором.
7. Ресуспендуйте осад клітин у 3 мл ФСБ.
8. Повторіть крок 5.
9. Видаліть надосадову рідину аспіратором і ресуспендуйте осад клітин, використовуючи наведене далі.

- 0,5 мл або 1 мл ФСБ плюс 0,1% формальдегіду, якщо препарати передбачається зберігати менше ніж 24 годин. (Розчин ФСБ, що містить 0,1% формальдегіду, можна отримати за допомогою розведення 12,5 мкл розчину для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800) за його 10-кратної концентрації в 1 мл ФСБ).
- 0,5 мл або 1 мл ФСБ без формальдегіду, якщо препарати будуть аналізувати впродовж наступних 2 годин.

Примітка. У всіх випадках препарати слід зберігати в захищеному від світла місці за температури 2–8°C.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

У наших лабораторіях проби цільної крові 25 практично здорових донорів обробляли з використанням реагенту, описаного вище. Отримані результати підрахунку позитивних подій, які досліджуються, з використанням цього реагенту наведено в таблиці нижче:

Цільова позитивна популяція	Число	Середнє значення (%)	СВ	КВ (%)
Лімфоцити	25	18,74	6,02	32,10

Ці значення призначені лише для репрезентативних цілей. Кожна лабораторія має встановити власний діапазон очікуваних значень серед місцевої популяції здорових донорів.

ЕФЕКТИВНІСТЬ

Робочі показники ефективності отримуються з використанням процедури, описаної вище, на пробах крові, які були відібрані в стерильні пробірки із сіллю ЕДТА як антикоагулянтом, а також зберігалися менше ніж 24 години. Аналіз проводиться впродовж 2 годин після імунного фарбування.

СПЕЦИФІЧНІСТЬ

Молекулярна маса сильно глікозильованого білку CD56 (молекула NKH1) становить 200–220 кДа (10,11). Він експресується в субпопуляції лімфоцитів периферійної крові, які демонструють не рестриктовану головним комплексом гістосумісності цитотоксичність (10,12). Моноклональне антитіло N901 (NKH-1) реагує з більшістю клітин NK (10,11). Воно також реагує з невеликим субпопуляціями CD3-позитивних Т-клітин, які опосередковують знижену цитотоксичну активність (12). Це антитіло не реагує з моноцитами, гранулоцитами, еритроцитами або В-лімфоцитами. Антитіло N901 (NKH-1) було віднесено до кластеру диференціації CD56 під час 4-го International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Міжнародного семінару з питань антигенів для диференціації лейкоцитів людини), що проходив у Відні, Австрія, в 1989 році (13).

ПРЕЦИЗІЙНІСТЬ

Процент позитивних значень визначали за допомогою цільної крові. Кожну пробу обробляли 4 рази, двічі на добу впродовж 1 доби на 2 приладах, використовуючи 2 серії реагентів моноклональних антитіл CD56-PE. Вимірювання (% позитивних значень) виконували на проточному цитометрі Navios. Аналіз проводили на основі методу CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оцінювання прецизійності кількісних методів вимірювання).

Наші критерії прийнятності залежать від кількості позитивних подій, виміряних для кожної популяції.

- Якщо кількість позитивних подій < 1500, КВ < 15%
- Якщо кількість позитивних подій > 1500, КВ < 10%

Лімфоцити							
Кількість позитивних подій (середнє значення) = 1083							
	Між операторами	Між цитометрами	У межах однієї серії	Між серіями	Між серіями вимірювань	У межах однієї серії вимірювань	Усього
КВ (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
РЕЗУЛЬТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНІСТЬ

Точність CD56-PE оцінювали через порівняння результатів з еталонним реагентом як контролем якості для набору проб цільної крові на проточному цитометрі Navios. Систематичну помилку між тестовим та еталонним реагентами визначали на основі різниці між результатами тесту. Якщо систематична помилка знаходиться в межах діапазону допустимої похибки або p-значення вказує на відсутність значущої різниці (> 0,05), тоді результати тесту для двох реагентів вважаються еквівалентними.

Отримані результати підсумовано в таблиці, наведеній нижче.

Кількість донорів = 25				
Цільова позитивна популяція	Середня Δ	Критерії Δ % клітин	p-значення	РЕЗУЛЬТАТИ
Лімфоцити	-0,25	<5	0,262	PASS

МЕЖА ХОЛОСТОЇ ПРОБИ Й МЕЖА ВИЯВЛЕННЯ

Дослідження проводилося відповідно до рекомендацій CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оцінювання можливості виявлення для методик клінічних лабораторних вимірювань). Межа виявлення (LOD) — це найнижча концентрація аналіту, яку стабільно можна виявити. Отримані результати підсумовано в наведеній нижче таблиці.

Positive Target	Межа холостої проби (клітин/мкл)	Межа виявлення (клітин/мкл)
Лімфоцити	4	6

ОБМЕЖЕННЯ

1. Результати проточної цитометрії можуть бути помилковими, якщо вказане нижче не було виконано належним чином: вирівняно цитометр, скомпенсовано витік флуоресценції, здійснено позиціонування ділянок.
2. Бажано використовувати метод лізису еритроцитів з етапом промивання, оскільки цей реагент не оптимізовано для методів лізису «без промивання».

3. Буде отримано точні й відтворювані результати, якщо процедури застосовуються відповідно до технічної інструкції, що додається, і стандартів належної лабораторної практики.
4. Кон'юговані антитіла цього реагенту відкалібровано таким чином, щоб забезпечити краще співвідношення специфічного сигналу та неспецифічного сигналу. Тому важливо дотримуватися співвідношення об'єму реагенту та об'єму проби в кожному тесті.
5. У разі гіперлейкоцитозу кров слід розводити у ФСБ так, щоб отримати концентрацію приблизно 5×10^9 лейкоцитів/л (14).
6. У разі деяких захворювань або станів, як-от тяжка ниркова недостатність або гемоглобінопатії, лізис еритроцитів може бути повільним, неповним або навіть неможливим. У цьому разі рекомендується виділяти мононуклеарні клітини за градієнтом щільності (наприклад, з використанням фіколу) перед фарбуванням (15).
7. У пацієнтів, які отримують лікування антилюдськими моноклональними антитілами, виявлення специфічних цільових антигенів може бути зниженим або відсутнім через часткове або повне блокування терапевтичним антитілом.
8. Результати CD56-PE слід інтерпретувати у світлі загальної клінічної картини пацієнта, включно із симптомами, клінічним анамнезом, даними додаткових тестів та іншою відповідною інформацією.

Див. приклади й посилання в додатку.

ТОРГОВЕЛЬНІ МАРКИ

Beckman Coulter, стилізований логотип, товарні знаки й сервісні марки Beckman Coulter, вказані тут, є торговельними марками або зареєстрованими торговельними марками компанії Beckman Coulter, Inc. у Сполучених Штатах Америки й інших країнах.

ДОДАТКОВА ІНФОРМАЦІЯ

Для пацієнта / користувача / третьої сторони в Європейському Союзі та в країнах з ідентичною системою нормативного регулювання (Регламент 2017/746/ЄС про медичні вироби для діагностики in vitro); якщо під час використання цього пристрою або в результаті його використання стався серйозний інцидент, повідомте про це виробнику й (або) його уповноваженому представнику та місцевому національному органу.

The Summary of Safety and Performance (Огляд безпеки та основних характеристик) доступний у базі даних EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ІСТОРІЯ ЗМІН

РЕДАКЦІЯ AD	Дата випуску: вересень 2019 р.

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AW	Лютий 2022 р.
Оновлення мають відповідати Глобальній політиці щодо маркування компанії Beckman Coulter і вимогам IVD-R (ЄС)2017/746:	
Додані розділи	«Номер BSI 2797», «Цільовий користувач», «Клінічна значущість», «Концентрація», «Прецизійність», «Точність», «Межа холостої проби й межа виявлення», «Додаткова інформація», «Історія змін».
Додана інформація	Див. розділ «Обмеження»
Оновлення формулювання або типографічні оновлення	Див. розділи «Процедура», «Робочі показники», «Обмеження», «Попередження та застереження», «Зберігання та стабільність».
Видалені розділи	«Приклад клінічного застосування», «Реагенти», «Міжлабораторна відтворюваність», «Лінійність»
Оновлені розділи	«Призначення», «Класифікація небезпек GHS», «Ознаки погіршення характеристик», «Процедура», «Додаток».

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AX	Квітень 2023
Оновлені розділи	Додано казахську мову
Оновлені розділи	Зберігання й стабільність

Переглянута версія	AY
Дата перегляду	Травень 2024
Оновлені переклади	**Клінічна значущість:**
Оновлені розділи	Історія змін

Переглянута версія	AZ
Дата перегляду	Липень 2024
Оновлені розділи	Історія змін

Список символів

Глосарій символів доступний на сайті beckman.com/techdocs (документ № B60062)

	Especificações
Especificidade	CD56
Clone	N901 (NKH-1)
Hibridoma	NS1 x balb/c
Imunógeno	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Camundongo
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	R Phycoerythrin (PE)
Razão molar	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	575 nm
Tampão	PBS com pH de 7,2 mais 2 mg/mL de BSA e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado CD56-PE

REF A07788 100 testes; 2 mL, 20 µL/teste

Para uso em diagnóstico *in vitro*

USO PREVISTO

Esse anticorpo conjugado com fluorocromo permite a identificação qualitativa e não automatizada das populações de células que expressam o antígeno CD56 presente em amostras biológicas humanas utilizando a citometria de fluxo (consulte a seção “Amostras” a seguir).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade que os anticorpos monoclonais específicos têm de se ligarem aos determinantes antigênicos expressos por leucócitos.

A coloração específica de leucócitos é realizada incubando-se a amostra com o reagente IOTest. As hemácias são então removidas por lise e os leucócitos, que não são afetados por esse processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citômetro de fluxo mede a difusão da luz e a fluorescência das células. Ele possibilita a delimitação da população de interesse na janela eletrônica definida por um histograma, que correlaciona a difusão ortogonal da luz (dispersão lateral ou SS) e a difusão da luz em ângulo estreito (dispersão frontal ou FS). Outros histogramas que combinam dois dos diferentes parâmetros disponíveis no citômetro podem ser utilizados como auxílio no estágio de delimitação, dependendo da aplicação escolhida pelo usuário.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são expressos como uma porcentagem dos eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos pela delimitação.

USUÁRIO PREVISTO

Este produto destina-se ao uso laboratorial profissional.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD56-PE é um anticorpo para CD56 usado para identificar e caracterizar, por citometria de fluxo, as células que expressam o antígeno CD56. Este produto por si só não pode e não se destina a originar qualquer conclusão diagnóstica.

Quando usado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser usado com uma ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com anormalidades hematológicas com suspeita de terem neoplasia hematopoiética e para monitorar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.
- Para auxiliar no diagnóstico de pacientes com suspeita de imunodeficiência e monitorar pacientes com imunodeficiência conhecida.
- Para auxiliar no prognóstico de pacientes que possuem neoplasia hematopoiética.
- Para monitorar o processo ou os resultados do transplante.

Consulte as referências a seguir:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

AMOSTRAS

Sangue venoso deve ser coletado usando tubos estéreis contendo um sal de EDTA como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas em temperatura ambiente (18-25°C) e não devem ser agitadas. A amostra deve ser homogeneizada por agitação suave antes que a amostra para teste seja retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a coleta.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não use o reagente após o prazo de validade.
2. Não congele.
3. Deixe atingir a temperatura ambiente antes de usar (18-25°C).
4. Minimize a exposição à luz.

5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, pois isso pode gerar falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos contendo azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não utilize internamente e evite o contato com a pele, mucosas e olhos.

   Além disso, em um meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazoico potencialmente perigoso. Se precisar descartar essa substância, recomenda-se que o reagente seja diluído em um grande volume de água antes de despejá-lo no sistema de drenagem para evitar o acúmulo de azida sódica nos canos de metal e o risco de explosão.
7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas como potencialmente infecciosas e devem ser manipuladas com cuidado (em particular: uso de luvas, jalecos e óculos de proteção).
8. Nunca coloque a pipeta na boca e evite qualquer contato das amostras com a pele, mucosas e olhos.
9. Os tubos de sangue e o material descartável utilizado para manuseio deve ser descartado em recipientes ad hoc destinados à incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO DO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Folha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido entre 2 e 8°C e protegido da luz, antes e depois do frasco ter sido aberto.

Validade do frasco fechado de acordo com o estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente é estável por 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DETERIORAÇÃO

Qualquer alteração no aspecto físico dos reagentes poderá indicar deterioração e o reagente não deverá ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, entre em contato com o serviço de atendimento ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou entre em contato com o representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em canos de escoamento metálicos. Consulte o Boletim do NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health [Instituto de segurança e saúde ocupacional dos EUA]): Explosive Azide Hazard (Perigos de explosão de azida) (16/8/76).
Para evitar o possível acúmulo de compostos de azida, enxágue os canos de escoamento com água após o descarte do reagente não diluído. O descarte da azida sódica deve ser efetuado de acordo com as normas locais apropriadas.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostra e material necessário para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 20, 100 e 500 µL.
- Tubos plásticos de hemólise.
- Reagente de lise de hemácias com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: Reagente VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: Solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controle do isótipo PE: reagente IOTest (Ref. A07796).
- Tampão (PBS: fosfato de sódio a 0,01 M; cloreto de sódio a 0,145 M; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citômetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM O REAGENTE VERSALYSE

Para cada amostra analisada, além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controle no qual as células são misturadas na presença do controle de isótipo (Ref. A07796).

1. Adicione 20 µL de anticorpo conjugado IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 20 µL do controle do isótipo a cada tubo de controle.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos em temperatura ambiente (18-25°C), protegido da luz.
4. Em seguida, faça a lise das hemácias. Consulte o folheto da VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento chamado “with concomitant fixation (com fixação concomitante)”, que consiste em adicionar 1 mL da mistura de fixação e lise preparada extemporaneamente. Agite em vórtex imediatamente durante um segundo e incube durante 10 minutos em temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue por 5 minutos a 150 x g em temperatura ambiente.
6. Retire o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita a etapa 5.
9. Retire o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular usando:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído, se as preparações forem mantidas por um prazo inferior a 24 horas. (É possível obter uma solução PBS com 0,1% de formaldeído diluindo-se 12,5 µL de Solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na concentração de 10X em 1 mL de PBS).

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído, se as preparações forem analisadas dentro de 2 horas.

Nota: Em qualquer dos casos, mantenha as preparações entre 2 e 8°C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Em nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 doadores aparentemente saudáveis foram tratadas usando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos positivos de interesse com esse reagente são fornecidos na tabela a seguir:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP (Desvio padrão)	CV (%)
Linfócitos	25	18,74	6,02	32,10

Esses valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores esperados da população local de doadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos usando o procedimento descrito anteriormente em amostras de sangue com menos de 24 horas, coletadas previamente em tubos estéreis com sal de EDTA como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

O peso molecular da proteína CD56 significativamente glicosilada (molécula NKH1) é de 200–220 kDa (10,11). Está expressa numa subpopulação de linfócitos de sangue periférico que demonstram citotoxicidade não restrita ao complexo principal de histocompatibilidade (10,12). O anticorpo monoclonal N901 (NKH-1) reage com a maioria das células NK (10,11). Reage também com uma pequena subpopulação de células T CD3 positivas, que media a atividade citotóxica reduzida (12). Este anticorpo não reage com monócitos, granulócitos, eritrócitos ou linfócitos B. O anticorpo N901 (NKH-1) foi atribuído ao aglomerado de diferenciação de CD56 durante o 4º International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Workshop internacional sobre antígenos de diferenciação de leucócitos humanos) em Viena, Áustria, em 1989 (13).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados usando-se sangue total. Cada amostra foi processada 4 vezes, duas vezes por dia durante 1 dia em 2 instrumentos, usando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD56-PE. As medições (% de positivos) foram realizadas no citômetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação de desempenho de precisão de métodos de medição quantitativos).

Nossos critérios de aceitação dependem do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Se eventos positivos <1.500, CV <15%
- Se eventos positivos >1.500, CV <10%

Linfócitos							
Número de eventos positivos (média) = 1083							
	Entre operadores	Entre citômetros	Dentro do lote	Entre lotes	Entre processamentos	Dentro do processamento	Total
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD56-PE foi avaliada comparando-se os resultados com um reagente de referência como o predicado em um conjunto de amostras de sangue total processadas em um citômetro de fluxo Navios. A tendência entre o reagente de teste e o de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados dos testes. Se a tendência estiver dentro da faixa de erro aceitável ou o valor p não indicar diferenças significativas (>0,05), então os resultados dos testes para os dois reagentes são considerados como equivalentes.

Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Número de doadores = 25				
Alvo positivo	Δ média	Critérios de Δ % de células	valor p	RESULTADOS
Linfócitos	-0,25	<5	0,262	PASS

LIMITE DE BRANCO E LIMITE DE DETECÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com a diretriz EP17-A2 do CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de detecção para procedimentos de medição de laboratório clínico). O Limite de detecção (LOD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detectada consistentemente. Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite de branco (células/µL)	Limite de detecção (células/µL)
Linfócitos	4	6

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo pode produzir resultados falsos se o citômetro não for alinhado perfeitamente, se os vazamentos de fluorescência não forem corretamente compensados e se as regiões não forem cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível usar uma técnica de lise de RBC com uma etapa de lavagem, já que esse reagente não foi otimizado para técnicas de lise “sem lavagem”.
3. Serão obtidos resultados exatos e reproduzíveis desde que os procedimentos utilizados estejam em conformidade com o folheto técnico e sejam compatíveis com as boas práticas de laboratório.
4. O anticorpo conjugado desse reagente é calibrado para oferecer a melhor razão entre sinal específico e sinal não específico. Por isso, é importante manter a razão entre volume do reagente e volume da amostra em cada teste.
5. No caso de hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (14).

6. Em certos estados da doença, como insuficiência renal grave e hemoglobinopatias, a lise das hemácias pode ser lenta, incompleta ou até mesmo impossível. Nesse caso, recomenda-se isolar as células mononucleadas usando um gradiente de densidade (Ficoll, por exemplo) antes da coloração (15).
7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a detecção dos antígenos-alvo específicos pode ser diminuída ou não ocorrer devido ao bloqueio parcial ou total pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de CD56-PE devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, histórico clínico, dados de testes adicionais e outras informações apropriadas.

Consulte o anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logotipo estilizado e as marcas dos produtos e serviços da Beckman Coulter mencionados neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registradas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e em outros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/usuário/terceiro na União Europeia e em países com regime regulatório idêntico (Regulamentação 2017/746/UE sobre In vitro Diagnostic Medical Devices [Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro]), se, durante o uso deste dispositivo ou como resultado de seu uso, ocorrer um incidente grave, relate-o ao fabricante e/ou ao seu representante autorizado e à sua autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível no banco de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO AD:	Data de publicação: setembro de 2019

REVISÃO	**Data de publicação**
AW	Fevereiro de 2022
Atualizações para o cumprimento da Global labelling Policy (Política de rotulagem global) da Beckman Coulter e de acordo com os requisitos da IVD-R (UE)2017/746:	
Seções adicionadas	Número BSI 2797, Usuário previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite de branco e limite de detecção, Informações adicionais, Histórico de revisão.
Informações adicionadas	Consulte as seções: Limitações
Atualizações tipográficas ou de fraseado	Consulte as seções Procedimento, Desempenho, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Seções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Seções atualizadas	Uso previsto, Classificação de perigo do GHS, Evidência de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de publicação**
AX	Abril 2023
Seções atualizadas	Adicionar cazaque
Seções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revisada	AY
Data da revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Versão revisada	AZ
Data da revisão	Julho 2024
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (documento número B60062)

	Specificaties
Specificiteit	CD56
Kloon	N901 (NKH-1)
Hybridoom	NS1 x balb/c
Immunogeen	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Immunoglobuline	IgG1
Soort	Muis
Purificatie	Affiniteit chromatografie
Fluorochroom	R Phycoerythrin (PE)
Molaire verhouding	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ excitatie	488 nm
Emissiepiek	575 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA en 0,1% NaN_3

IOTest

Geconjugeerd antilichaam CD56-PE

REF A07788 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik

BEOOGD GEBRUIK

Met dit fluorochroom-geconjugeerde antilichaam kunnen celpopulaties die het CD56-antigeen tot expressie brengen, kwalitatief en niet-geautomatiseerd worden geïdentificeerd in menselijke biologische monsters met behulp van flowcytometrie (zie het gedeelte 'Monsters' hieronder).

PRINCIPE

Deze test is gebaseerd op het vermogen van specifieke monoklonale antilichamen om zich te binden aan de antigene determinanten die tot expressie worden gebracht door leukocyten.

Specifieke kleuring van de leukocyten wordt uitgevoerd door het monster te incuberen met het IOTest -reagens. De rode cellen worden vervolgens via lysering verwijderd en de leukocyten (die ongevoelig zijn voor dit proces) worden geanalyseerd voor middel van flowcytometrie.

De flowcytometer meet de lichtdiffusie en de fluorescentie van cellen. Het maakt de afbakening van de betrokken populatie mogelijk binnen het elektronische venster gedefinieerd op een histogram, wat de orthogonale verspreiding van licht (zijwaartse verstrooiing of ZV) in verband brengt met de verspreiding van smalhoekig licht (voorwaartse verstrooiing of VV). Andere histogrammen die twee van de verschillende beschikbare parameters op de cytometer combineren, kunnen worden gebruikt als ondersteuning bij de gating-fase, afhankelijk van de door de gebruiker gekozen toepassing.

De fluorescentie van de afgeperkte cellen wordt geanalyseerd om de positief-gekleurde gebeurtenissen te onderscheiden van de niet-gekleurde. De resultaten worden uitgedrukt als een percentage van positieve gebeurtenissen ten opzichte van alle gebeurtenissen verzameld door de gating.

BEOOGDE GEBRUIKER

Dit product is bedoeld voor professioneel gebruik in het laboratorium.

KLINISCHE RELEVANTIE

Het CD56-PE is een CD56-antilichaam dat wordt gebruikt om door middel van flowcytometrie cellen te identificeren en te karakteriseren die het CD56-antigeen tot expressie brengen. Dit product alleen kan niet worden gebruikt voor en is niet bedoeld voor de totstandbrenging van diagnostische conclusies.

Bij gebruik in combinatie met andere markers kan dit product worden gebruikt voor een of meer van de volgende functies:

- Ter ondersteuning van de differentiaaldiagnostiek bij patiënten met een hematologische afwijking met verdenking op het hebben van een hematopoiëtisch neoplasma en ter controle van patiënten met een bekend hematopoiëtisch neoplasma.
- Ter ondersteuning van de diagnose van patiënten met vermoedelijke immunodeficiëntie en het bewaken van patiënten met bekende immunodeficiëntie.
- Ter ondersteuning van de prognose van patiënten met hematopoiëtisch neoplasma.
- Ter bewaking van transplantatieproces of -resultaten.

Zie de volgende referenties:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

MONSTERS

Veneus bloed moet worden afgenomen met steriele buisjes die EDTA-zout bevatten als anticoagulans.

De monsters moeten op kamertemperatuur (18-25 °C) worden gehouden en mogen niet worden geschud. De monsters moeten gehomogeniseerd worden door licht te schudden voordat het testmonster wordt afgenomen.

De monsters moeten worden geanalyseerd binnen 24 uur van venapunctie.

CONCENTRATIE

Zie batch-specifiek analysecertificaat op www.beckman.com.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Gebruik het reagens niet na de uiterste houdbaarheidsdatum.
2. Niet invriezen.
3. Laat het op kamertemperatuur (18-25 °C) komen voor gebruik.
4. Beperk de blootstelling aan licht.

5. Vermijd microbiële verontreiniging van de reagentia, anders kunnen verkeerde resultaten optreden.
6. Antilichaamoplossingen die natriumazide (NaN_3) bevatten moeten voorzichtig gehanteerd worden. Niet innemen en elk contact met huid, slijmvliezen en ogen vermijden.

   In een zuur medium kan natriumazide bovendien de potentieel gevaarlijke waterstofazide vormen. Indien verwijdering nodig is, wordt het aanbevolen om het reagens te verdunnen in een groot volume water voordat het in het afvoersysteem wordt gegoten, om de accumulatie van natriumazide in metalen buizen en explosiegevaar te vermijden.
7. Alle bloedmonsters moeten worden beschouwd als mogelijk besmettelijk en moeten voorzichtig worden gehanteerd (met name: veiligheidshandschoenen, -jas en -bril dragen).
8. Pipetteer nooit met de mond en vermijd elk contact van de monster met huid, slijmvliezen en ogen.
9. Bloedbuisjes en wegwerpmateriaal die gebruikt zijn, moeten verwijderd worden in afvalcontainers bestemd voor verbranding.
10. Reagentia en afval moeten verwijderd worden volgens de plaatselijke voorschriften.

GHS GEVARENCLASSIFICATIE

Niet geclassificeerd als gevaarlijk

SDS Het veiligheidsinformatieblad is beschikbaar op beckmancoulter.com/techdocs

OPSLAG EN STABILITEIT

Dit reagens moet tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht worden bewaard, voor- en nadat het buisje wordt geopend.

Houdbaarheidsdatum van ongeopend buisje volgens stabiliteitsstudie: 1095 dagen.

Stabiliteit van geopend buisje: het reagens is stabiel gedurende 180 dagen.

BEWIJS VAN BEDERF

Elke wijziging in de fysieke verschijning van de reagentia kan wijzen op aantasting; het reagens mag dan niet langer gebruikt worden.

Bel voor meer informatie, of als het product beschadigd is, met de klantenservice van Beckman Coulter op 800-742-2345 (VS of Canada) of neem contact op met uw plaatselijke vertegenwoordiger van Beckman Coulter.

INHOUD

Een conserveringsmiddel van natriumazide kan explosieve verbindingen vormen in metalen afvoerleidingen. Zie NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (Explosiegevaar van azide, 16-08-1976).
Om de ophoping van azideverbindingen te vermijden, spoelt u de afvoerbuizen met water na verwijdering van onverdund reagens. Natriumazide moet worden verwijderd volgens de toepasselijke plaatselijke voorschriften.

BENODIGD MATERIAAL DAT NIET IS MEEGELEVERD IN DE KIT:

- Monsterbuisjes en materiaal vereist voor monsterneming.
- Automatische pipetten met wegwerppunten voor 20, 100 en 500 µL.
- Plastic hemolysebuisjes.
- Ontbindingsreagens voor rode cellen met spoelfase na de lysis. Bijvoorbeeld: VersaLyse (ref. A09777).
- Fixatiereagens voor leukocyten. Bijvoorbeeld: IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800).
- Isotypecontrole PE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfaat; 0,145 M natriumchloride; pH 7,2).
- Centrifugeer.
- Automatische schudder (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MET VERSALYSE-REAGENS

Voor elk geanalyseerd monster kan, naast het testbuisje, één controlebuisje worden toegevoegd waarin de cellen worden gemengd in aanwezigheid van de isotypecontrole (ref. A07796).

1. Voeg 20 µL specifiek IOTest-geconjugeerd antilichaam toe aan elk testbuisje en, indien nodig, 20 µL isotypecontrole aan elk controlebuisje.
2. Voeg 100 µL van het testmonster toe aan elk buisje. Wervel de buisjes voorzichtig.
3. Incubeer 15 tot 20 minuten op kamertemperatuur (18-25 °C), beschermd tegen licht.
4. Lyseer vervolgens de rode cellen. Raadpleeg de VersaLyse-bijsluiter (ref. A09777) en volg bij voorkeur de procedure genaamd 'met gelijktijdige fixatie', die bestaat uit het toevoegen van 1 mL 'fixeer-en-lyseer'-oplossing die ex tempore wordt bereid. Wervel onmiddellijk gedurende één seconde en incubeer 10 minuten op kamertemperatuur, beschermd tegen licht.
5. Centrifugeer gedurende 5 minuten bij 150 x g op kamertemperatuur.
6. Verwijder het supernatant door opzuiging.
7. Suspendeer de celpellet opnieuw met 3 mL van PBS.
8. Herhaal stap 5.
9. Verwijder het supernatant door opzuiging en suspendeer de celpellet opnieuw met:

- 0,5 mL of 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyde, indien de bereidingen minder dan 24 uur worden bewaard. (Een PBS met 0,1% formaldehyde kan worden verkregen door 12,5 µL IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800) bij de 10X-concentratie te verdunnen in 1 mL PBS).
- 0,5 mL of 1 mL PBS zonder formaldehyde, indien de bereidingen moeten worden geanalyseerd binnen 2 uur.

Opmerking: houd de bereidingen in alle gevallen tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht.

VERWACHTE WAARDEN

In onze laboratoria werden de volbloedmonsters van 25 ogenschijnlijk gezonde donoren behandeld met het hierboven beschreven reagens. De verkregen resultaten voor de telling van de relevante positieve gebeurtenissen voor dit reagens worden in de onderstaande tabel weergegeven:

Positieve target	Nummer	Gemiddeld (%)	SD	VC (%)
Lymfocyten	25	18,74	6,02	32,10

Deze waarden zijn uitsluitend bedoeld als referentie. Elk laboratorium moet zijn eigen verwachte waarden bepalen op basis van de lokale populatie van normale donoren.

PRESTATIES

Prestatiegegevens worden verkregen met de hierboven beschreven procedure op minder dan 24 uur oude bloedmonsters die eerder zijn verzameld in steriele buisjes met EDTA-zout als anticoagulans. De analyse wordt uitgevoerd binnen 2 uur na immunokleuring.

SPECIFICITEIT

Het moleculair gewicht van het zwaar geglycosyleerde CD56-eiwit (NKH1-molecuul) is 200-220 kDa (10,11). Het wordt tot expressie gebracht op een subpopulatie van perifere bloedlymfocyten die niet-MHC-beperkte cytotoxiciteit aantonen (10,12). Het N901 (NKH-1) monoklonale antilichaam reageert met het merendeel van de NK-cellen (10,11). Het reageert ook met een kleine subpopulatie van CD3-positieve T-cellen die verminderde cytotoxische activiteit overbrengt (12). Dit antilichaam reageert niet met monocyten, granulocyten, erytrocyten of B-lymfocyten. Het N901 (NKH-1)-antilichaam werd toegeschreven aan de CD56-differentiatiecluster tijdens de 4e International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (4e HLDA workshop over differentiatie-antigenen van humane leukocyten), gehouden in Wenen, Oostenrijk, in 1989 (13).

PRECISIE

De procentuele positieve waarden werden bepaald met behulp van volbloed. Elk monster werd 4 maal getest, tweemaal per dag gedurende 1 dag op 2 instrumenten, waarbij gebruik werd gemaakt van 2 batches CD56-PE monoklonale antilichaamreagentia. Metingen (% positief) werden uitgevoerd op de Navios-flowcytometer. Analyse werd uitgevoerd op basis van de CLSI-methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluatie van de precisie van kwantitatieve meetmethoden).

Onze acceptatiecriteria zijn afhankelijk van het aantal positieve gebeurtenissen dat voor elke populatie wordt gemeten:

- In het geval van een positieve gebeurtenis <1500, VC <15%
- In het geval van een positieve gebeurtenis >1500, VC <10%

Lymfocyten							
Aantal positieve gebeurtenissen (gemiddelde) = 1083							
	Tussen gebruikers	Tussen cytometers	Van dezelfde batch	Tussen batches	Tussen runs	Tijdens run	Totaal
VC (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
RESULTATEN	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NAUWKEURIGHEID

De nauwkeurigheid van CD56-PE werd beoordeeld door de resultaten te vergelijken met een referentiereagens als het vergelijkbare hulpmiddel op een reeks volbloedmonsters die op een Navios-flowcytometer werden uitgevoerd. De afwijking tussen test- en referentiereagens werd bepaald op basis van het verschil tussen de testresultaten. Als de afwijking binnen het toegestane foutbereik ligt of de p-waarde geen significant verschil (>0,05) aangeeft, worden de testresultaten voor de twee reagentia als gelijkwaardig beschouwd.

De resultaten worden samengevat in de onderstaande tabel:

Aantal donoren = 25				
Positieve target	Gemiddelde Δ	Δ % Celcriteria	p-waarde	RESULTATEN
Lymfocyten	-0,25	<5	0,262	PASS

BLANCOLIMIET EN DETECTIELIMIET

Een studie is uitgevoerd in overeenstemming met CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluatie van detectiecapaciteit voor meetprocedures in klinische laboratoria). Het detectielimiet (LOD) is de laagste concentratie analiet die consistent kan worden gedetecteerd. De verkregen resultaten worden samengevat in de volgende tabel:

Positive Target	Blancolimiet (cel/µL)	Detectielimiet (cel/µL)
Lymfocyten	4	6

BEPERKINGEN

1. Flowcytometrie kan leiden tot verkeerde resultaten indien de cytometer niet perfect is uitgelijnd, indien fluorescentielekken niet juist zijn gecompenseerd en indien de gebieden niet zorgvuldig zijn gepositioneerd.
2. Gebruik bij voorkeur een RBC-lyseertechniek met een wasstap, aangezien dit reagens niet is geoptimaliseerd voor lyseertechnieken zonder wassen.
3. Nauwkeurige en reproduceerbare resultaten worden verkregen zolang de gebruikte procedures in overeenstemming zijn met de technische brochure en compatibel met goede laboratoriumpraktijken.
4. Het geconjugeerde antilichaam van dit reagens wordt gekalibreerd om de beste verhouding van specifiek signaal/niet-specifiek signaal te bieden. Daarom is het belangrijk dat de verhouding van reagensvolume/monstervolume in acht wordt genomen bij elke test.
5. In het geval van een hyperleukocytose verdunt u het bloed in PBS om een waarde van ongeveer 5 x 10^9 leukocyten/L te verkrijgen (14).

6. In sommige stadia van een aandoening, zoals ernstig nierfalen of hemoglobinopathieën, kan de ontbinding van rode cellen traag verlopen, onvolledig of zelfs onmogelijk zijn. In dit geval wordt het aanbevolen om cellen met één kern te isoleren met een dichtheidsgradiënt (bijvoorbeeld Ficoll) voorafgaand aan de kleuring (15).
7. Bij patiënten die worden behandeld met anti-humane monoklonale antilichaamtherapieën kan de detectie van de specifieke doelantigenen verminderd of afwezig zijn als gevolg van een gedeeltelijke of volledige blokkering door het therapeutische antilichaam.
8. De CD56-PE-resultaten moeten worden geïnterpreteerd in het licht van het totale klinische beeld van de patiënt, met onder meer: symptomen, klinische anamnese, gegevens van aanvullende tests en andere relevante informatie.

Zie de bijlage voor voorbeelden en referenties.

Handelsmerken

Beckman Coulter, het gestileerde logo en de merken van Beckman Coulter-producten en -services in dit document zijn handelsmerken of gedeponeerde handelsmerken van Beckman Coulter, Inc. in de Verenigde Staten en andere landen.

AANVULLENDE INFORMATIE

Voor patiënten/gebruikers/derden in de EU en in landen met soortgelijke regelgeving (Verordening 2017/746/EU inzake in-vitro diagnostische medische apparaten); als er zich tijdens of als gevolg van het gebruik van dit apparaat een ernstig incident voordoet, dient u dit te melden bij de fabrikant en/of diens bevoegde vertegenwoordiger en bij uw nationale autoriteiten.

Het overzicht van de veiligheid en prestaties is beschikbaar in de database EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed

REVISIEGESCHIEDENIS

REVISIE AD:	Uitgiftedatum: September 2019

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AW	Februari 2022
Bijgewerkt om te voldoen aan het wereldwijde etiketteringsbeleid van Beckman Coulter en volgens de vereisten van IVD-R (EU)2017/746:	
Toegevoegde paragrafen	BSI 2797-nummer, Beoogde gebruiker, Klinische relevantie, Concentratie, Precisie, Nauwkeurigheid, Blancolimiet en detectiegrens, Aanvullende informatie, Revisiegeschiedenis.
Toegevoegde informatie	Zie paragraaf Beperkingen
Bijgewerkte formulering of typografie	Zie paragrafen Procedure, Prestaties, Beperkingen, Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen, Opslag en Stabiliteit.
Verwijderde paragrafen	Voorbeeld van klinische toepassingen, Reagentia, Reproduceerbaarheid intra-laboratoria, Lineariteit
Bijgewerkte paragrafen	Beoogd gebruik, GHS-gevarenclassificatie, Bewijs van bederf, Procedure, Bijlage.

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AX	April 2023
Bijgewerkte paragrafen	Toevoegen Kazachs
Bijgewerkte paragrafen	Opslag en stabiliteit

Bijgewerkte versie	AY
Herzieningsdatum	Mei 2024
Bijgewerkte vertalingen	**Klinische relevantie:**
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Bijgewerkte versie	AZ
Herzieningsdatum	Juli 2024
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Verklaring van symbolen

Overzicht met verklaring van symbolen is beschikbaar op beckman.com/techdocs (documentnummer B60062)

	Thông số kỹ thuật
Độ đặc hiệu	CD56
Dòng vô tính	N901 (NKH-1)
Tế bào lai	NS1 x balb/c
Chất sinh miễn dịch	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Globulin miễn dịch	IgG1
Các loài	Chuột
Tinh chế	Sắc ký ái lực
Chất nhuộm huỳnh quang	R Phycoerythrin (PE)
Tỷ lệ mol	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Kích thích λ	488 nM
Đỉnh phát xạ	575 nM
Dung dịch đệm	PBS pH 7,2 cộng với 2 mg/mL BSA và 0,1% NaN_3

Kháng thể cộng hợp IOTest CD56-PE

REF A07788 100 xét nghiệm; 2 mL,
20 µL/xét nghiệm

Dùng để chẩn đoán *In Vitro*

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Kháng thể cộng hợp chất nhuộm huỳnh quang này cho phép xác định theo phương thức định tính và không tự động các quần thể tế bào biểu hiện kháng nguyên CD56 có trong mẫu sinh học của người bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy (xem phần “Mẫu” bên dưới).

NGUYÊN TẮC

Xét nghiệm này dựa trên khả năng liên kết của kháng thể đơn dòng đặc hiệu với yếu tố quyết định kháng nguyên biểu hiện bởi bạch cầu.

Nhuộm đặc hiệu bạch cầu bằng cách ủ mẫu với thuốc thử IOTest. Sau đó, loại bỏ tế bào hồng cầu bằng cách ly giải và tế bào bạch cầu không bị ảnh hưởng bởi quá trình này sẽ được phân tích bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy.

Máy đếm tế bào dòng chảy đo mức khuếch tán ánh sáng và phát huỳnh quang của các tế bào. Điều này giúp phân định được quần thể quan tâm trong cửa sổ điện tử được xác định trên biểu đồ, tương quan với sự khuếch tán trực giao ánh sáng (Tán xạ góc bên hay SS) và khuếch tán ánh sáng góc hẹp (Tán xạ góc thẳng hay FS). Có thể dùng các biểu đồ khác (kết hợp hai trong các thông số có sẵn trên máy đếm tế bào) để hỗ trợ trong giai đoạn khoanh vùng tùy thuộc vào ứng dụng mà người dùng chọn.

Huỳnh quang của các tế bào đã phân định được phân tích để phân biệt các sự kiện nhuộm dương tính với các sự kiện không nhuộm. Kết quả được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm số sự kiện dương tính so với tất cả sự kiện thu được từ việc khoanh vùng.

ĐỐI TƯỢNG SỬ DỤNG

Sản phẩm này chỉ dùng cho mục đích chuyên môn trong phòng xét nghiệm.

TÍNH THÍCH HỢP VỀ LÂM SÀNG

CD56-PE là một kháng thể CD56 dùng để nhận dạng và xác định đặc điểm của các tế bào biểu thị kháng nguyên CD56 bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy. Chỉ riêng sản phẩm này không thể và không nhằm tạo ra bất kỳ kết luận chẩn đoán nào.

Khi kết hợp với các chỉ dấu khác, có thể dùng sản phẩm này trong một hoặc nhiều chức năng sau:

- Để hỗ trợ chẩn đoán phân biệt những bệnh nhân bị bất thường về huyết học nghi ngờ mắc ung thư máu và để theo dõi những bệnh nhân đã được xác định là mắc ung thư máu.
- Để hỗ trợ chẩn đoán bệnh nhân bị nghi ngờ suy giảm miễn dịch và theo dõi bệnh nhân đã xác định là bị suy giảm miễn dịch.
- Để hỗ trợ tiên lượng những bệnh nhân bị ung thư máu.
- Để theo dõi quá trình cấy ghép hoặc kết quả.

Xem tài liệu tham khảo sau đây:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

MẪU

Phải lấy mẫu máu tĩnh mạch vào ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA.

Phải bảo quản mẫu ở nhiệt độ phòng (18–25°C) và không lắc mẫu. Phải khuấy nhẹ mẫu trước khi lấy mẫu xét nghiệm để mẫu có trạng thái đồng nhất.

Phải phân tích các mẫu trong vòng 24 giờ sau khi lấy từ tĩnh mạch.

NỒNG ĐỘ

Xem Giấy chứng nhận phân tích theo lô cụ thể tại www.beckman.com.

CẢNH BÁO VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG NGỪA

1. Không dùng thuốc thử đã hết hạn sử dụng.
2. Không làm đông lạnh.
3. Để dung dịch trở về nhiệt độ phòng (18–25°C) trước khi sử dụng.
4. Giảm thiểu tiếp xúc với ánh sáng.

5. Tránh làm thuốc thử bị nhiễm khuẩn, nếu không, có thể dẫn đến kết quả sai.
6. Phải xử lý cẩn thận dung dịch kháng thể chứa natri azit (NaN_3). Không được uống và tránh mọi tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.

   Ngoài ra, trong môi trường axit, natri azit có thể tạo thành axit hydrazoic nguy hiểm. Nếu cần phải thải bỏ, bạn nên pha loãng thuốc thử trong nhiều nước trước khi thải vào hệ thống thoát nước để tránh tích tụ natri azide trong ống kim loại và để tránh nguy cơ nổ.
7. Phải coi tất cả mẫu máu là có nguy cơ lây nhiễm và xử lý cẩn thận (cụ thể: đeo găng tay, mặc áo choàng và đeo kính bảo vệ).
8. Tuyệt đối không dùng pipet bằng miệng và tránh để mẫu tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.
9. Phải bỏ ống máu và vật liệu dùng một lần đã dùng để xử lý trong thùng chứa đặc biệt cho mục đích thiêu hủy.
10. Phải thải bỏ thuốc thử và chất thải theo yêu cầu của địa phương.

PHÂN LOẠI MỐI NGUY HIỂM THEO GHS

Không được phân loại là chất nguy hiểm

SDS Phiếu dữ liệu an toàn có sẵn tại beckmancoulter.com/techdocs

BẢO QUẢN VÀ ĐỘ ỔN ĐỊNH

Phải bảo quản thuốc thử này ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng, trước và sau khi mở ống.

Hạn sử dụng của ống khi chưa mở nắp theo nghiên cứu về độ ổn định: 1095 ngày.

Độ ổn định của ống đã mở: thuốc thử ổn định trong 180 ngày.

BẰNG CHỨNG BIẾN CHẤT

Mọi sự biến đổi về vẻ ngoài của thuốc thử có thể là dấu hiệu suy giảm chất lượng và bạn không nên dùng thuốc thử đó.

Để biết thêm thông tin hoặc nếu bạn nhận được sản phẩm bị hỏng, hãy gọi điện cho Dịch vụ khách hàng của Beckman Coulter theo số 8007422345 (Hoa Kỳ hoặc Canada) hoặc liên hệ với Đại diện của Beckman Coulter tại địa phương bạn.

HÀM LƯỢNG

Chất bảo quản natri azit có thể hình thành hợp chất nổ trong ống dẫn bằng kim loại. Xem Thông Báo của Viện quốc gia về an toàn và sức khỏe nghề nghiệp (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Nguy cơ nổ azit) (16/8/76).
Để tránh khả năng tích tụ hợp chất azit, hãy xả sạch các ống thải bằng nước sau khi xử lý vứt bỏ thuốc thử chưa pha loãng. Phải xử lý vứt bỏ natri azit theo đúng quy định sở tại.

VẬT LIỆU CẦN DÙNG (KHÔNG KÈM THEO BỘ THUỐC THỬ):

- Ống lấy mẫu và vật liệu cần dùng để lấy mẫu.
- Pipet tự động có đầu hút dùng một lần để lấy mẫu có thể tích 20, 100 và 500 µL.
- Ống chứa mẫu tan huyết bằng nhựa.
- Thuốc thử ly giải hồng cầu với bước rửa sau khi ly giải. Ví dụ: VersaLyse (Số tham chiếu A09777).
- Thuốc thử cố định Leucocyte. Ví dụ: Dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800).
- Mẫu chứng âm PE: Thuốc thử IOTest (Số tham chiếu: A07796).
- Dung dịch đệm (PBS: 0,01 Mol natri photphat; 0,145 Mol natri clorua; pH 7,2).
- Máy ly tâm.
- Máy trộn tự động (loại khuấy).
- Máy đếm tế bào dòng chảy.

QUY TRÌNH VỚI THUỐC THỬ VERSALYSE

Đối với mỗi mẫu phân tích, ngoài ống xét nghiệm, có thể thêm một ống kiểm chuẩn, trong đó tế bào được trộn với mẫu chứng âm (Số tham chiếu A07796).

1. Thêm 20 µL kháng thể cộng hợp IOTest đặc hiệu vào mỗi ống xét nghiệm và nếu cần, 20 µL mẫu chứng âm vào từng ống kiểm chuẩn.
2. Thêm 100 µL mẫu xét nghiệm vào từng ống. Lắc nhẹ các ống.
3. Ủ trong 15 đến 20 phút ở nhiệt độ phòng (18–25°C), tránh ánh sáng.
4. Sau đó, ly giải hồng cầu. Tham khảo tờ hướng dẫn về VersaLyse (Số tham chiếu A09777) và tốt nhất là làm theo quy trình tên là “có cố định đồng thời”, bao gồm thêm 1 mL hỗn hợp “Cố định và ly giải” được chuẩn bị tùy ứng. Lắc ngay trong một giây và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.
5. Quay ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 150 x g tại nhiệt độ phòng.
6. Hút bỏ dịch nổi.
7. Tái huyền phù viên tế bào bằng 3 mL PBS.
8. Lặp lại bước 5.
9. Hút bỏ dịch nổi và tái huyền phù viên tế bào bằng:

- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS cộng với 0,1% formaldehyde nếu sử dụng chế phẩm trong vòng chưa đến 24 giờ. (Có thể thu được PBS chứa 0,1% formaldehyde bằng cách pha loãng 12,5 µL dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800) ở nồng độ 10X trong 1 mL PBS).
- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS không có formaldehyde, nếu phân tích các chế phẩm trong vòng 2 giờ.

Ghi chú: Trong mọi trường hợp, phải bảo quản chế phẩm ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng.

GIÁ TRỊ DỰ KIẾN

Trong phòng xét nghiệm của chúng tôi, mẫu máu toàn phần của 25 người hiến khỏe mạnh được điều trị bằng thuốc thử mô tả ở trên. Bảng dưới đây trình bày kết quả đếm số lượng sự kiện dương tính quan tâm với thuốc thử này:

Mục tiêu dương tính	Số	Giá trị trung bình (%)	SD	CV (%)
Tế bào lympho	25	18,74	6,02	32,10

Các giá trị sau chỉ có tính chất đại diện. Mỗi phòng xét nghiệm phải thiết lập giá trị dự kiến riêng từ quần thể người hiến bình thường của mình.

HIỆU SUẤT

Dữ liệu hiệu suất thu được bằng cách sử dụng quy trình mô tả ở trên với các mẫu máu được thu thập dưới 24 giờ trong các ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA. Phân tích trong vòng 2 giờ sau khi nhuộm hóa mô miễn dịch.

ĐỘ ĐẶC HIỆU

Trọng lượng phân tử của protein glycosyl hóa nặng CD56 (phân tử NKH1) là 200–220 kDa (10,11). CD56 biểu hiện trên một quần thể phụ tế bào lympho máu ngoại vi cho thấy hoạt tính gây độc tế bào bị hạn chế bởi phức hợp tương thích mô phụ (10,12). Kháng thể đơn dòng N901 (NKH-1) phản ứng với phần lớn các tế bào NK (10,11). Kháng thể này cũng phản ứng với quần thể phụ tế bào T dương tính với CD3 làm trung gian cho hoạt tính gây độc tế bào suy giảm (12). Kháng thể này không phản ứng với bạch cầu đơn nhân, bạch cầu hạt, hồng cầu hoặc tế bào lympho B. Kháng thể N901 (NKH-1) đã được chỉ định cho cụm biệt hóa CD56 trong International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Hội thảo quốc tế về Kháng nguyên biệt hóa bạch cầu ở người) lần thứ 4 tại Vienna, Áo, năm 1989 (13).

ĐỘ CHỤM

Tỷ lệ phần trăm của các giá trị dương tính được xác định bằng cách sử dụng máu toàn phần. Mỗi mẫu được chạy 4 lần, hai lần một ngày trong 1 ngày trên 2 thiết bị sử dụng 2 lô thuốc thử kháng thể đơn dòng CD56-PE. Các phép đo (% dương tính) được thực hiện trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Phân tích được tiến hành theo phương pháp EP5-A2 của CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Đánh giá hiệu suất độ chụm của phương pháp đo định lượng).

Tiêu chí chấp nhận của chúng tôi phụ thuộc vào số lượng sự kiện dương tính đo được cho mỗi quần thể:

- Nếu sự kiện dương tính <1.500, CV <15%
- Nếu sự kiện dương tính >1.500, CV <10%

Tế bào lympho							
Số sự kiện dương tính (Giá trị trung bình) = 1083							
	Giữa những người thao tác	Giữa các máy đếm tế bào	Trong lô	Giữa các lô	Giữa các lần chạy	Trong lần chạy	Toàn phần
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
KẾT QUẢ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ĐỘ CHÍNH XÁC

Độ chính xác của CD56-PE được đánh giá bằng cách so sánh kết quả với thuốc thử tham chiếu để khẳng định trên một tập hợp các mẫu máu toàn phần chạy trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Độ lệch giữa xét nghiệm và thuốc thử tham chiếu được xác định dựa trên sự chênh lệch giữa các kết quả xét nghiệm. Nếu độ lệch nằm trong phạm vi sai số cho phép hoặc giá trị p cho thấy không có sự khác biệt đáng kể (> 0,05), thì kết quả xét nghiệm cho hai thuốc thử được coi là tương đương.

Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Số người hiến = 25				
Mục tiêu dương tính	Giá trị trung bình Δ	Tiêu chí tế bào Δ %	giá trị p	KẾT QUẢ
Tế bào lympho	-0,25	<5	0,262	PASS

GIỚI HẠN TRỐNG VÀ GIỚI HẠN PHÁT HIỆN

Một nghiên cứu đã được thực hiện theo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Đánh giá khả năng phát hiện cho các quy trình đo lường trong phòng xét nghiệm lâm sàng). Giới hạn phát hiện (LOD) là nồng độ thấp nhất của chất phân tích có thể phát hiện một cách nhất quán. Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Positive Target	Giới hạn trống (tế bào/µL)	Giới hạn phát hiện (tế bào/µL)
Tế bào lympho	4	6

GIỚI HẠN

1. Phương pháp đếm tế bào dòng chảy có thể cho kết quả sai nếu điều chỉnh máy đếm tế bào không phù hợp, nếu mức bù huỳnh quang rò rỉ không phù hợp và nếu định vị các vùng không cẩn thận.
2. Tốt nhất là sử dụng kỹ thuật ly giải RBC có bước rửa vì thuốc thử này chưa được tối ưu hóa cho các kỹ thuật ly giải "không rửa".
3. Sẽ thu được kết quả chính xác và có thể tái lặp nếu sử dụng quy trình theo tờ hướng dẫn kỹ thuật và phù hợp với biện pháp xét nghiệm hợp lý.
4. Kháng thể cộng hợp của thuốc thử này được hiệu chuẩn để đưa ra tỷ lệ tín hiệu đặc hiệu/tín hiệu không đặc hiệu tốt nhất. Do đó, điều quan trọng là phải tuân thủ tỷ lệ thể tích thuốc thử/thể tích mẫu trong mỗi xét nghiệm.
5. Trong trường hợp tăng bạch cầu, hãy pha loãng máu trong PBS để thu được giá trị xấp xỉ 5 x 10^9 bạch cầu/L (14).
6. Trong một số tình trạng bệnh, chẳng hạn như suy thận nặng hoặc bệnh rối loạn máu, hồng cầu có thể ly giải chậm, ly giải không hoàn toàn, hoặc thậm chí là không thể ly giải. Trong trường hợp này, bạn nên phân lập tế bào đơn nhân bằng phương pháp ly tâm phân lớp theo tỷ trọng (ví dụ: Ficoll) trước khi nhuộm (15).

7. Ở những bệnh nhân được điều trị bằng các liệu pháp kháng thể đơn dòng kháng người, khả năng phát hiện các kháng nguyên mục tiêu đặc hiệu có thể giảm đi hoặc không xảy ra do bị kháng thể điều trị chặn một phần hoặc toàn bộ.
8. Phải diễn giải kết quả CD56-PE dựa trên toàn bộ các dấu hiệu lâm sàng của bệnh nhân, bao gồm: triệu chứng, tiền sử lâm sàng, dữ liệu từ các xét nghiệm khác và thông tin thích hợp khác.

Xem Phụ lục để biết ví dụ và tài liệu tham khảo.

NHÃN HIỆU

Beckman Coulter, logo cách điệu và các nhãn hiệu sản phẩm cũng như dịch vụ của Beckman Coulter nêu trong tài liệu này là nhãn hiệu hoặc nhãn hiệu đã đăng ký của Beckman Coulter, Inc. ở Hoa Kỳ và các quốc gia khác.

THÔNG TIN BỔ SUNG

Đối với bệnh nhân/người dùng/bên thứ ba tại Liên minh Châu Âu và ở các quốc gia có chế độ quản lý giống nhau (Quy định 2017/746/EU về Thiết bị y tế chẩn đoán In vitro); nếu xảy ra sự cố nghiêm trọng trong quá trình sử dụng thiết bị này hoặc do sử dụng thiết bị này, vui lòng báo cáo cho nhà sản xuất và/hoặc đại diện ủy quyền của nhà sản xuất cũng như cơ quan có thẩm quyền tại quốc gia của bạn.

Summary of Safety and Performance (Tóm tắt về an toàn và hiệu suất) có trong cơ sở dữ liệu EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

LỊCH SỬ SỬA ĐỔI

PHIÊN BẢN AD:	Ngày phát hành: Tháng 09 năm 2019

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AW	Tháng 02 năm 2022
Cập nhật để tuân thủ Chính sách ghi nhãn toàn cầu của Beckman Coulter và theo các yêu cầu IVD-R (EU) 2017/746:	
Bổ sung các phần	Số BSI 2797, Đối tượng sử dụng, Tính thích hợp về lâm sàng, Nồng độ, Độ chụm, Độ chính xác, Giới hạn trống và giới hạn phát hiện, Thông tin bổ sung, Lịch sử sửa đổi.
Bổ sung thông tin	Xem các phần Giới hạn
Cập nhật cách diễn đạt hoặc câu chữ	Xem các phần Quy trình, Hiệu suất, Giới hạn, Cảnh báo và Biện pháp phòng ngừa, Bảo quản và Độ ổn định.
Các phần bị xóa	Ví dụ về các ứng dụng lâm sàng, Thuốc thử, Khả năng tái lập trong phòng xét nghiệm, Độ tuyến tính
Các phần cập nhật	Mục đích sử dụng, Phân loại mối nguy hiểm theo GHS, Bằng chứng biến chất, Quy trình, Phụ lục.

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AX	Tháng 4 2023
Các phần cập nhật	Thêm tiếng Kazakh
Các phần cập nhật	Bảo quản và độ ổn định

Phiên bản sửa đổi	AY
Ngày sửa đổi	Tháng 5 2024
Đã cập nhật bản dịch	**Tính thích hợp về lâm sàng:**
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Phiên bản sửa đổi	AZ
Ngày sửa đổi	Tháng 7 2024
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Bảng chú giải các ký hiệu

Danh mục thuật ngữ ký hiệu có sẵn tại beckman.com/techdocs (số tài liệu B60062)

	Сипаттамалары
Ерекшелік	CD56
Клон	N901 (NKH-1)
Гибридома	NS1 x balb/c
Иммуноген	Human chronic myeloid leukemia (hCML) cells
Иммунды глобулин	IgG1
Түрлері	Тышқан
Тазарту	Үйірлік хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin (PE)
Молярлық қатынасы	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ қозу	488 нм
Эмиссияның жоғарғы шегі	575 нм
Буфер	PBS pH 7,2 + 2 мг / мл BSA және 0,1% NaN_3

Конъюгацияланған
IOTest антиденесі
CD56-PE

REF A07788 100 сынақ; 2 мл, 20 мкл / сынақ

***In Vitro* диагностикасында пайдалануға арналған**

ПАЙДАЛАНУ МАҚСАТЫ

Бұл флуорохроммен конъюгацияланған антидене адамның биологиялық үлгілерінде CD56 антигеннің болуын көрсететін жасуша популяциясын ағын цитометриясы көмегімен сапалы және автоматтандырылмаған анықтауға мүмкіндік береді (төмендегі «Үлгілер» бөлімін қараңыз).

ҚАҒИДА

Бұл сынақ нақты моноклоналды антиденелердің лейкоциттер айқындайтын антигендік детерминанттармен байланысу қабілетіне негізделген.

Лейкоциттердің арнайы бояуы үлгіні IOTest реагентімен инкубациялау арқылы жүзеге асады. Сол кезде эритроциттер лизис арқылы шығарылады, ал осы процесс әсер етпейтін лейкоциттерге ағын цитометриясы арқылы талдау жасалады.

Ағын цитометрі жарық диффузиясы мен жасушалардың флуоресценттенуін өлшейді. Бұл гистограммада анықталған электронды терезеде қызығушылық популяциясын ажыратуға мүмкіндік береді, ол жарықтың ортогональды диффузиясын (бүйірлік шашырау немесе SS) және тар бұрышты жарықтың диффузиясын (тікелей шашырау немесе FS) байланыстырады. Цитометрде қолжетімді екі түрлі параметрді біріктіретін басқа гистограммаларды пайдаланушы таңдаған қолданбаға байланысты гейтинг кезеңінде тірек ретінде пайдалануға болады.

Оң боялған оқиғаларды боялмаған оқиғалардан ажырату үшін шектеулі жасушалардың флуоресценттенуіне талдау жүргізілді. Оның нәтижесі оң оқиғалардың гейтинг арқылы алынған барлық оқиғаларға қатынасының пайыздық көрсеткіші ретінде көрсетіледі.

МАҚСАТТЫ ПАЙДАЛАНУШЫ

Бұл өнім зертханалық жағдайда кәсіби пайдалануға арналған.

КЛИНИКАЛЫҚ МАҢЫЗЫ

CD56-PE – ағын цитометриясы арқылы CD56 антигенін экспрессиялайтын жасушаларды сәйкестендіру және сипаттау үшін пайдаланылатын CD56 антиденесі. Бұл өнімді жалғыз өзін пайдаланып қандай да бір диагностикалық қорытынды жасау мүмкін емес және жасауға арналмаған.

Басқа маркерлермен бірлесіп пайдаланылғанда, бұл өнімді келесі функциялардың біреуінде немесе бірнешеуінде пайдалануға болады:

- Гемопоэтикалық неоплазмаға күдікті гематологиялық аномальды пациенттерді дифференциалды диагностикалауға көмектесу және белгілі гемопоэтикалық неоплазмасы бар пациенттерді бақылау үшін.
- Иммундық тапшылыққа күдікті емделушілерді диагностикалауға көмектесу және белгілі иммун тапшылығы бар емделушілерді бақылау.
- Гемопоэтикалық жаңа ісігі бар пациенттерге болжау жасауға көмектесу.
- Трансплантация процесін немесе нәтижелерін бақылау.

Келесі анықтамаларды қараңыз:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

ҮЛГІЛЕР

Көктамыр қанын антикоагулянт ретінде EDTA тұзы бар стерильді түтіктердің көмегімен алу керек.

Үлгілерді бөлме температурасында (18–25°C) сақтау керек және оларды шайқауға болмайды. Үлгілерді сынақ үлгісін алмастан бұрын жеңіл араластыру жолымен гомогендеу керек.

Үлгілерді көк тамырды тескен соң 24 сағат ішінде талдау қажет.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Нақты топтама бойынша талдау сертификатын мына сайттан қараңыз www.beckman.com.

ЕСКЕРТУ ЖӘНЕ САҚТЫҚ ШАРАЛАРЫ

1. Жарамдылық мерзімі өткеннен кейін реагентті қолдануға болмайды.
2. Қатыруға болмайды.
3. Оны пайдаланбас бұрын, температурасының бөлме температурасына (18–25°C) жетуін күтіңіз.

4. Жарық әсерін азайтыңыз.
5. Реагенттердің микробтармен ластануына жол бермеңіз немесе жалған нәтижелер орын алуы мүмкін.
6. Құрамында натрий азиды бар антидене ерітінділермен (NaN_3) жұмыс істегенде абай болу керек. Ішке қабылдамаңыз. Теріге, шырышты қабыққа және көзге тигізбеңіз.

   Оған қоса, қышқылды ортада натрий азиды ықтимал қауіпті азотты сутек қышқылын түзуі мүмкін. Оны жою қажет болған жағдайда реагентті алдымен судың көп мөлшерінде сұйылтып, артынан кәріз жүйесіне төгуге кеңес беріледі. Осылайша, натрий азидының металл құбырларда жиналуын болдырмай, жарылыс қаупінің алдын алуға болады.
7. Қанның барлық үлгілері ықтимал жұқпалы деп есептелуі және сақтықпен өңделуі (атап айтқанда: қорғаныс қолғабын, халат және көзілдірік кию) керек.
8. Ешқашан оны аузыңызға құймаңыз және үлгілерді теріге, шырышты қабыққа және көзге тигізбеңіз.
9. Өңдеу үшін пайдаланылатын қан түтіктері мен бір реттік материалдарды өртеуге арналған арнайы контейнерлерге тастау керек.
10. Реагенттер мен қалдықтар жергілікті талаптарға сәйкес жойылуы тиіс.

GHS ҚАУІПТЕР КЛАССИФИКАЦИЯСЫ

Қауіпті деп жіктелмейді

SDS Қауіпсіздік парағы beckmancoulter.com/techdocs мекенжайы бойынша қолжетімді

САҚТАУ ЖӘНЕ ТҰРАҚТЫЛЫҚ

Құтыны ашпай тұрып және оны ашқаннан кейін, бұл реагентті 2–8°C температурада жарықтан қорғалған жерде сақтау керек.

Тұрақтылық зерттеуіне сәйкес жабық күйіндегі сауыт сөресінің жарамдылық мерзімі: 1095 күндер.

Ашық құтының тұрақтылығы: реагент 180 күн бойы тұрақты болады.

ЗАҚЫМДАЛУ БЕЛГІЛЕРІ

Реагенттердің сыртқы түрінің кез келген өзгерісі олардың зақымдалғандығын көрсетуі мүмкін және реагентті пайдаланбаған жөн.

Қосымша ақпарат алу үшін немесе зақымдалған өнімді алған жағдайда 800-742-2345 (АҚШ немесе Канада) арқылы Beckman Coulter тұтынушыларға қызмет көрсету орталығына қоңырау шалыңыз немесе жергілікті Beckman Coulter компаниясының өкіліне хабарласыңыз.

МАЗМҰНЫ

Натрий азиді консерванты металдан жасалған құбыр желілерінде жарылғыш қосылыстар түзуі мүмкін. NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76) (NIOSH бюллетенін қараңыз: азидтердің жарылу қаупі (16.08.1976)).
Азид қосылыстарының ықтимал түзілуін болдырмау үшін сұйылтылмаған реагентті жойғаннан кейін су құбырларын шайыңыз. Натрий азидін жою тиісті жергілікті ережелерге сәйкес жүзеге асырылуы тиіс.

ҚАЖЕТТІ, БІРАҚ ЖИНАҚПЕН БІРГЕ ЖЕТКІЗІЛМЕГЕН МАТЕРИАЛДАР

- Үлгі алу түтіктері және үлгі алу үшін қажетті материал.
- 20, 100 және 500 мкл ерітінділерге арналған бір реттік ұшы бар автоматты тамызғыштар.
- Эритроциттер гемолизіне арналған пластикалық түтіктер.
- Лизистен кейін жуу әдісі пайдаланылатын эритроцит лизисінің реагенті. Мысалы: VersaLyse (Сілт A09777).
- Лейкоцит фиксация реагенті. Мысалы: IOTest 3 бекіту ерітіндісі (A07800 қараңыз).
- Изотиптік бақылау PE: IOTest реагенті (анық. A07796).
- Буфер (PBS: 0,01 М натрий фосфаты; 0,145 М натрий хлориді; pH 7,2).
- Центрифугалау
- Автоматты араластырғыш (араластырғыш түрі).
- Ағын цитометрі.

VERSALYSE РЕАГЕНТІ КӨМЕГІМЕН ОРЫНДАЛАТЫН ПРОЦЕДУРА

Әрбір талданатын үлгі үшін сынақ түтігіне қосымша, жасушалар изотиптік бақылаудың қатысуымен араласатын бір бақылау түтігін пайдалану ұсынылады (анық. A07796).

1. Әрбір түтікке 20 мкл арнайы конъюгацияланған IOTest антиденесін және, қажет болса, әрбір сынақ түтігіне 20 мкл изотиптік бақылауды қосыңыз.
2. Әр түтікке сынақ үлгісінің 100 мкл қосыңыз. Түтіктерді абайлап араластырыңыз.
3. Жарықтан қорғалған бөлме температурасында (18–25°C) 15–20 минут инкубациялаңыз.
4. Содан соң қызыл жасушалардың лизисін орындаңыз. VersaLyse (анық. A09777) парақшасын қарап, жоспардан тыс дайындалған 1 мл «Бекіту және еріту» қоспасын қосудан тұратын «ілеспе бекітумен» деп аталатын процедураны орындаңыз. Бір секунд дереу араластырыңыз және жарықтан қорғалған бөлме температурасында 10 минут бойы инкубациялаңыз.
5. 150 x г шамасында 5 минут бойы бөлме температурасында центрифугалаңыз.
6. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастаңыз.
7. 3 мл PBS ерітіндісін пайдаланып, жасуша массасын қайта ерітіңіз.
8. 5-қадамды қайталаңыз.
9. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастап, жасуша массасын төмендегіні қолдану арқылы қайта ерітіңіз:

- Егер препараттар 24 сағаттан аз сақталатын болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне 0,1% формальдегид қосылады. (0,1% формальдегидті PBS ерітіндісі 12,5 мкл IOTest 3 бекіту ерітіндісін (анық. A07800) 10 еселік концентрациясында 1 мл PBS ерітіндісін сұйылту арқылы алуға болады).
- Егер 2 сағат ішінде талдануы керек болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне формальдегид қосылмайды.

Ескертпе: барлық жағдайда препараттарды 2–8°C температурада, күн көзінен алыс жерде сақтау керек.

КҮТІЛЕТІН МӘНДЕР

Біздің зертханаларда 25 тиісті дені сау донорлардан жаңа алынған қан үлгілері жоғарыда сипатталған реагентпен өңделді. Осы реагентпен қызығушылық тудыратын оң оқиғаларды санау үшін алынған нәтижелер төмендегі кестеде келтірілген:

Оңтайлы нысана	Сан	Орташа мән (%)	SD	CV (%)
Лимфоциттер	25	18,74	6,02	32,10

Бұл мәндер тек ұсыну үшін арналған. Әр зертхана қалыпты донорлардың жергілікті популяциясынан күтілетін өзіндік мәндерді белгілеуі керек.

ӨНІМДІЛІК

Өнімділік жөніндегі деректер 24 сағаттық үлгілерді пайдаланып, жоғарыда сипатталған процедура арқылы алынады. Бұл үлгілер алдын ала антикоагулянт ретінде EDTA тұзы арқылы стерильді түтіктерге жиналады. Талдау иммундық бояудан соң 2 сағат ішінде жасалады.

ЕРЕКШЕЛІГІ

CD56 аса көп гликозилденген протеинінің (NKH1 молекуласы) молекулалық салмағы 200-220 кДа мәнін құрайды (10,11). Ол тін үйлесімділігі кешенімен шектелген негізгі емес цитоуыттылықты көрсететін перифериялық қан лимфоциттерінің субпопуляциясында көрінеді (10,12). N901 (NKH-1) моноклоналды антиденесі көптеген NK жасушаларымен әрекеттеседі (10,11). Ол сонымен қатар цитотоксикалық белсенділіктің төмендеуіне делдал болатын CD3 оң T жасушаларының шамалы субпопуляциясымен әрекеттеседі (12). Бұл антидене моноциттермен, гранулоциттермен, эритроциттермен немесе B лимфоциттерімен әрекеттеспейді. N901 (NKH-1) антиденесі 1989 жылы Австрияның Вена қаласында өткен 4th International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens («Адам лейкоциттерінің дифференциация антигендері» атты 4-халықаралық семинар) кезінде CD56 дифференциация кластеріне жатқызылды (13).

ДӘЛДІК

Оң мәндердің пайызы жаңа алынған қанды қолдану арқылы анықталды. Әрбір үлгі CD56-PE моноклоналды антидене реагентінің 2 топтамасын пайдаланып 2 аспапта 1 күн бойы күніне екі рет 4 рет талданды. Өлшемдер (% оң) Navios ағын цитометрінде жүргізілді. Талдау CLSI EP5-A2 әдісі негізінде жүргізілді: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Сандық өлшеу әдістерінің дәлдік өнімділігін бағалау).

Біздің қабылдау критерийлері әрбір популяция үшін өлшенген оң оқиғалардың санына байланысты:

- Оң оқиға болса <1500, CV <15%
- Оң оқиға болса >1500, CV <10%

Лимфоциттер							
Оң оқиғалар саны (Орташа мән) = 1083							
	Аралық оператор	Цитометраралық	Топтама ішілік	Топтама аралық	Жүгіру арасында	Жүгіру ішінде	Жалпы
CV (%)	1,52	0,67	2,98	0,69	0,67	2,48	3,14
НӘТИЖЕЛЕР	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ДҰРЫСТЫҚ

CD56-PE дұрыстығы Navios ағын цитометрінде өңделген жаңа алынған қан үлгілерінің жинағындағы, предикат ретінде анықтамалық реагентпен нәтижелерді салыстыру арқылы бағаланған. Сынақ пен анықтамалық реагент арасындағы ауытқу, сынақ нәтижелері арасындағы айырмашылық негізінде анықталған. Егер қателік рұқсат етілген қателер ауқымында болса немесе p-мәні айтарлықтай айырмашылықты көрсетпесе (>0,05), онда екі реагенттің сынау нәтижелері баламалы болып саналады.

Алынған нәтижелер келесі кестеде толық көрсетілген:

Донорлар саны = 25				
Оңтайлы нысана	Орташа мән Δ	Δ % Жасуша критерийлері	p-мәні	НӘТИЖЕЛЕР
Лимфоциттер	-0,25	<5	0,262	PASS

БОС СЫНАМА ШЕГІ ЖӘНЕ АНЫҚТАУ ШЕГІ

Зерттеу CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, клиникалық зертханалық өлшеу процедураларын анықтау мүмкіндігін бағалау) нұсқауына сәйкес жүргізілді. Анықтау шегі (LOD) – бұл рет-ретімен анықтауға болатын аналиттің ең төмен концентрациясы. Алынған нәтижелер келесі кестеде жинақталған:

Positive Target	Бос сынама шегі (жасуша/мкл)	Анықтау шегі (жасуша/мкл)
Лимфоциттер	4	6

ШЕКТЕУЛЕР

1. Цитометр дұрыс бапталмаған, флуоресценттенудің ағып кетуі дұрыс өтелмеген және аймақтар мұқият орналастырмаған жағдайда, ағын цитометриясы қате нәтижелер беруі мүмкін.
2. RBC лизис әдісін жуу қадамымен пайдаланған жөн, себебі бұл реагент «жуусыз» лизис әдістері үшін оңтайландырылмаған.
3. Жүргізілген процедуралар техникалық нұсқау брошюрасына сәйкес және тиісті зертханалық тәжірибемен үйлесімді болған жағдайда ғана дұрыс, әрі жаңғыртылуы мүмкін нәтижелерді алуға болады.
4. Осы реагенттің конъюгацияланған антиденесі арнайы сигнал мен арнайы емес сигналдың ең жақсы қатынасын қамтамасыз ететіндей калибрленген. Сондықтан әрбір сынақты жүргізгенде реагент көлемінің үлгі көлеміне қатынасын сақтау маңызды.

5. гиперлейкоцитоз жағдайында шамамен 5 x 10^9 лейкоцит/л (14) мәнін алу үшін PBS ерітіндісінде қанды сұйылтыңыз.
6. Кейбір жіті бүйрек жеткіліксіздігі немесе гемоглобинопатия сияқты аурулар жағдайында, эритроциттер лизисі баяу, толық емес немесе тіпті мүмкін емес болуы мүмкін. Бұл жағдайда бояудан бұрын тығыздық градиентін (мысалы, Ficoll) пайдаланып мононуклеарлы жасушаларды оқшаулап алу ұсынылады (15).
7. Адамға қарсы моноклоналды антиденелер терапиясымен емделген пациенттерде арнайы мақсатты антигендерді анықтау емдік антиденеңің ішінара немесе толық бұғатталуына байланысты төмендеуі немесе болмауы мүмкін.
8. Нәтижелер CD56-PE пациенттің жалпы клиникалық деректері тұрғысынан түсіндірілуге тиіс, соның ішінде: симптомдар, клиникалық анамнез, қосымша сынақтардың деректері және басқа тиісті ақпарат.

Мысалдар мен анықтамалар алу үшін қосымшаны қараңыз.

САУДА БЕЛГІЛЕРІ

Beckman Coulter, стильденген логотип, сонымен қатар Beckman Coulter өнім мен қызмет көрсету белгілері — бұл АҚШ және басқа елдердегі Beckman Coulter, Inc. сауда белгілері немесе тіркелген сауда белгілері.

ҚОСЫМША АҚПАРАТ

Еуропалық Одақтағы және бірдей реттеу режимі (зертханалық жағдайдағы медициналық диагностикалық құрылғылар туралы 2017/746/ЕО қаулысы) бар елдердегі пациент/пайдаланушы/үшінші тарап үшін; егер осы құрылғыны пайдалану кезінде немесе оны пайдалану нәтижесінде елеулі оқиға орын алса, өндірушіге және/немесе оның уәкілетті өкіліне және ұлттық органыңызға хабарлаңыз.

Қауіпсіздік пен өнімділік бойынша қорытынды мәліметтер EUDAMED дерекқорында қолжетімді: ec.europa.eu/tools/eudamed.

Өзгерту тарихы

AD ҚАЙТА ҚАРАУ:	Шығарылған күні: Қыркүйек 2019

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AW	Ақпан 2022 ж.
Beckman Coulter ғаламдық таңбалау саясатына және IVD-R (ЕО) 2017/746 талаптарына сәйкес жасалған жаңартулар:	
Қосылған бөлімдер	«BSI 2797 нөмірі», «Мақсатты пайдаланушы», «Клиникалық маңызы», «Концентрациясы», «Анықтық», «Дұрыстық», «Бос сынама шегі және анықтау шегі», «Қосымша ақпарат», «Өзгерту тарихы».
Қосылған ақпарат	«Шектеулер» бөлімінен қараңыз
Фразалар және типографиялық жаңартулар	«Процедура», «Өнімділік», «Шектеулер», «Ескерту және сақтық шаралары» «Сақтау және тұрақтылық» бөлімдерін қараңыз.
Жойылған бөлімдер	«Клиникалық қолдану мысалы», «Реагенттер», «Зертханаішілік жаңғыртылу», «Сызықтық»
Жаңартылған бөлімдер	«Пайдалану мақсаты», «GHS қауіптер классификациясы», «Зақымдалу белгілері», «Процедура», «Қосымша».

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AX	Сәуір 2023
Жаңартылған бөлімдер	Қазақ тілін қосу
Жаңартылған бөлімдер	Сақтау және тұрақтылық

Қайта қаралған нұсқасы	AY
Қайта қаралған күні	Мамыр 2024
Жаңартылған аудармалар	**Клиникалық маңызы:**
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Қайта қаралған нұсқасы	AZ
Қайта қаралған күні	Шілде 2024
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Таңбалар пернесі

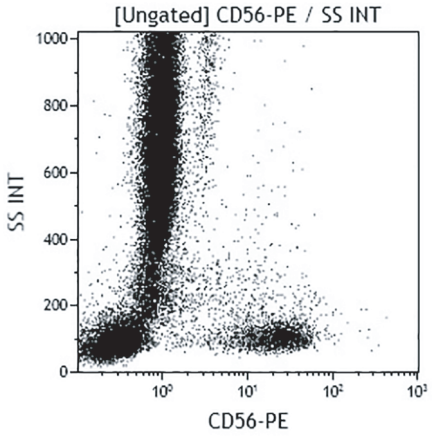
Таңбалар глоссарийі beckman.com/techdocs сайтында (құжат нөмірі: B60062) қолжетімді

APPENDIX

- EXAMPLES

Whole blood samples stained with IOTest CD56-PE Conjugated Antibody.

Acquisition is performed with a Beckman Coulter Navios flow cytometer equipped with the Navios analysis software.



REFERENCES

1. R. Suzuki, S. Ohtake, J. Takeuchi, M. Nagai, Y. Kodera, M. Hamaguchi, S. Miyawaki, T. Karasuno, S. Shimodaira, R. Ohno, S. Nakamura, T. Naoe, "The clinical characteristics of CD7+ CD56+ acute myeloid leukemias other than M0.", Int. J. Hematol. 91, 303–309 (2010).
2. S. Bhardwaj, F. Ahmad, H. Wedemeyer, M. Cornberg, J. Schulze zur Wiesch, J. van Lunzen, S. K. Sarin, R. E. Schmidt, D. Meyer-Olson, "Increased CD56bright NK cells in HIV-HCV co-infection and HCV mono-infection are associated with distinctive alterations of their phenotype.", Virol J. 13, 67 (2016).
3. P. Mantegani, G. Tambussi, L. Galli, C. T. Din, A. Lazzarin, C. Fortis, "Perturbation of the natural killer cell compartment during primary human immunodeficiency virus 1 infection primarily involving the CD56 bright subset.", Immunology. 129, 220–233 (2010).
4. F. Angelot-Delettre, S. Biichle, C. Ferrand, E. Seilles, B. Gaugler, V. Harrivel, M. A. Rosenthal-Allieri, E. Deconinck, P. Saas, F. Garnache-Ottou, "Intracytoplasmic detection of TCL1–but not ILT7-by flow cytometry is useful for blastic plasmacytoid dendritic cell leukemia diagnosis.", Cytometry A. 81, 718–724 (2012).
5. W. Cui, D. Zhang, M. T. Cunningham, L. Tilzer, "Leukemia-associated aberrant immunophenotype in patients with acute myeloid leukemia: changes at refractory disease or first relapse and clinicopathological findings.", Int J Lab Hematol. 36, 636–649 (2014).
6. L. Shang, X. Chen, Y. liu, X. Cai, "The immunophenotypic characteristics and flow cytometric scoring system of acute myeloid leukemia with t(8;21) (q22;q22); RUNX1-RUNX1T1.", International Journal of Laboratory Hematology, 41, 23–31 (2019).
7. Theodorakos I, Paterakis G, Papadakis V, Vicha A, Topakas G, Jencova P, Karchilaki E, Taparkou A, Tsagarakis NJ, Polychronopoulou S, "Interference of bone marrow CD56(+) mesenchymal stromal cells in minimal residual disease investigation of neuroblastoma and other CD45(-) /CD56(+) pediatric malignancies using flow cytometry.", Pediatr Blood Cancer. 2019 Aug;66(8):e27799. doi: 10.1002/pbc.27799. Epub 2019 May 7.
8. Hong HS, Eberhard JM, Keudel P, Bollmann BA, Ahmad F, Ballmaier M, Bhatnagar N, Zielinska-Skowronek M, Schmidt RE, Meyer-Olson D, "Phenotypically and functionally distinct subsets contribute to the expansion of CD56-/CD16+ natural killer cells in HIV infection.", AIDS, 2010 Jul 31;24(12):1823-34. doi: 10.1097/QAD.0b013e32833b556f.
9. B. H. Davis, J.T. Holden, M. C. Bene, et al. "2006 Bethesda International Consensus Recommendations on the Flow Cytometric Immunophenotypic Analysis of Hematolymphoid Neoplasia: Medical Indications." Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 72B:S5-S13 (2007).
10. Griffin, J.D., Hercend, T., Beveridge, R., Schlossman, S.F., "Characterization of an antigen expressed by human natural killer cells", 1983, J. Immunol., 130, 2947-2951.
11. Hercend, T., Griffin, J.D., Bensussan, A., Schmidt, R.E., Edson, M.A., Brennan, A., Murray, C., Daley, J.F., Schlossman, S.F., Ritz, J., "Generation of monoclonal antibodies to a human natural killer clone: characterization of two natural killer-associated antigens, NKH1A and NKH2, expressed on subsets of large granular lymphocytes", 1985, J. Clin. Invest., 75, 932-943.
12. Lanier, L.L., Le, A.M., Civin, C.I., Loken, M.R., Phillips, J.H., "The relationship of CD16 (Leu-11) and Leu-19 (NKH-1) antigen expression on human peripheral blood NK cells and cytotoxic T lymphocytes", 1986, J. Immunol., 136, 4480-4486.
13. Schubert, J., Lanier, L.L., Schmidt, R.E., "Cluster report: CD56", 1989, Leucocyte Typing IV, White Cell Differentiation Antigens. W. Knapp, et al., Eds., Oxford University Press, 699-702.
14. H42-A2 Vol.27 No. 16. P30. Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry; Approved Guideline - Second Edition.
15. Ibrahim FF, Ghannam MM, Ali FM., "Effect of dialysis on erythrocyte membrane of chronically hemodialyzed patients"., 2002. Ren Fail., Nov;24(6):779-90.

IMMUNOTECH SAS 是贝克曼库尔特公司的旗下公司，地址：130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France，电话：+(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda
Alameda Rio Negro, 500, 15 andar, Torre B Alphaville Industrial
CEP 06.454-000 Barueri, São Paulo, Brasil
CNPJ: 42.160.812/0001-44 Telefone: 0800-771-8818

製造販売業者: ベックマン·コールター株式会社
〒135-0063
東京都江東区有明三丁目5 番7号
TOC有明ウエストタワー

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

 IMMUNOTECH SAS A Beckman Coulter Company, 130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France, +(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

BECKMAN COULTER
MADE IN France

CE 2797

IOTest
Conjugated Antibody
CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

TABLE OF CONTENTS

English . . . 2
Français (France) (fr-fr) . . . 6
Deutsche (de-de) . . . 10
Italiano (it-it) . . . 14
Español (es-es) . . . 18
Português (Portugal) (pt-pt) . . . 22
Dansk (da-dk) . . . 26
Svenska (sv-se) . . . 30
Norsk (nb-no) . . . 34
Suomi (fi-fi) . . . 38
Ελληνικά (el-gr) . . . 42
日本語 (ja-jp) . . . 46
中文（中国）(zh-cn) . . . 50
Lietuvių (lt-lt) . . . 54
Magyar (hu-hu) . . . 58
Polski (pl-pl) . . . 62
Čeština (cs-cz) . . . 66
Slovák (sk-sk) . . . 70
한국어 (ko-kr) . . . 74
Türkçe (tr-tr) . . . 78
Русский (ru-ru) . . . 82
Eestlane (et-ee) . . . 86
Hrvatski (hr-hr) . . . 90
Български (bg-bg) . . . 94
中文（台灣）(zh-tw) . . . 98
Română (ro-ro) . . . 102
Slovenščina (sl-si) . . . 106
Srpski (sr-rs) . . . 110
Latviešu (lv-lv) . . . 114
Українська (uk-ua) . . . 118
Português (Brasil) (pt-br) . . . 122
Nederlands (nl-nl) . . . 126
Tiếng Việt (vi-vn) . . . 130
Қазақша (kk-kz) . . . 134
APPENDIX . . . 138
REFERENCES . . . 139

© 2024 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

	Specifications
Specificity	CD5
Clone	BL1a
Hybridoma	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobulin	IgG2a
Species	Mouse
Purification	Affinity Chromatography
Fluorochrome	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molar ratio	FITC / Ig: 4.0-6.5
λ excitation	488 nm
Emission Peak	525 nm
Buffer	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA and 0.1% NaN_3

IOTest
Conjugated Antibody
CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

For *In Vitro* Diagnostic Use

INTENDED USE

This fluorochrome-conjugated antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the CD5 antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

PRINCIPLE

This test is based on the ability of specific monoclonal antibodies to bind to the antigenic determinants expressed by leucocytes.

Specific staining of the leucocytes is performed by incubating the sample with the IOTest reagent. The red cells are then removed by lysis and the leucocytes, which are unaffected by this process, are analyzed by flow cytometry.

The flow cytometer measures light diffusion and the fluorescence of cells. It makes possible the delimitation of the population of interest within the electronic window defined on a histogram, which correlates the orthogonal diffusion of light (Side Scatter or SS) and the diffusion of narrow-angle light (Forward Scatter or FS). Other histograms combining two of the different parameters available on the cytometer can be used as supports in the gating stage depending on the application chosen by the user.

The fluorescence of the delimited cells is analyzed in order to distinguish the positively-stained events from the unstained ones. The results are expressed as a percentage of positive events in relation to all the events acquired by the gating.

INTENDED USER

This product is intended for laboratory professional use.

CLINICAL RELEVANCE

The CD5-FITC is a CD5 antibody used to identify and characterize cells expressing the CD5 antigen by flow cytometry. This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.

When used in combination with other markers, this product can be used in one or more of the following functions:

- To aid in the differential diagnosis of hematologically abnormal patients suspected of having hematopoietic neoplasm and to monitor patients with known hematopoietic neoplasm.
- To aid in the prognosis of patients having hematopoietic neoplasm.

See following references :

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

SAMPLES

Venous blood must be taken using sterile tubes containing an EDTA salt as the anticoagulant.

The samples should be kept at room temperature (18 – 25°C) and not shaken. The samples should be homogenized by gentle agitation prior to taking the test sample.

The samples must be analyzed within 24 hours of venipuncture.

CONCENTRATION

See lot specific Certificate of Analysis at www.beckman.com.

WARNING AND PRECAUTIONS

1. Do not use the reagent beyond the expiry date.
2. Do not freeze.
3. Let it come to room temperature (18 – 25°C) before use.
4. Minimize exposure to light.
5. Avoid microbial contamination of the reagents, or false results may occur.

6. Antibody solutions containing sodium azide (NaN_3) should be handled with care. Do not take internally and avoid all contact with the skin, mucosa and eyes.

   Moreover, in an acid medium, sodium azide can form the potentially dangerous hydrazoic acid. If it needs to be disposed of, it is recommended that the reagent be diluted in a large volume of water before pouring it into the drainage system so as to avoid the accumulation of sodium azide in metal pipes and to prevent the risk of explosion.
7. All blood samples must be considered as potentially infectious and must be handled with care (in particular: the wearing of protective gloves, gowns and goggles).
8. Never pipet by mouth, and avoid all contact of the samples with the skin, mucosa and eyes.
9. Blood tubes and disposable material used for handling should be disposed of in ad hoc containers intended for incineration.
10. Reagents and waste should be eliminated according to local requirements.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

SDS Safety Data Sheet is available at beckmancoulter.com/techdocs

STORAGE AND STABILITY

This reagent must be kept at between 2 and 8°C and protected from light, before and after the vial has been opened.

Closed vial shelf life per stability study: 1095 days.

Stability of opened vial: the reagent is stable for 180 days.

EVIDENCE OF DETERIORATION

Any change in the physical appearance of the reagents may indicate deterioration and the reagent should not be used.

For additional information, or if damaged product is received, call Beckman Coulter Customer Service at 800-742-2345 (USA or Canada) or contact your local Beckman Coulter Representative.

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).
To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

MATERIALS NEEDED BUT NOT SUPPLIED WITH KIT:

- Sampling tubes and material necessary for sampling.
- Automatic pipettes with disposable tips for 20, 100 and 500 µL.
- Plastic haemolysis tubes.
- Red cell lysis reagent with washing stage after lysis. For example: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leucocyte fixation reagent. For example : IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800).
- Isotype control FITC : IOTest reagent (Ref. A12689).
- Buffer (PBS: 0.01 M sodium phosphate; 0.145 M sodium chloride; pH 7.2).
- Centrifuge.
- Automatic agitator (Vortex type).
- Flow cytometer.

PROCEDURE WITH VERSALYSE REAGENT

For each sample analyzed, in addition to the test tube, one control tube can be added in which the cells are mixed in the presence of the isotype control (Ref. A12689).

1. Add 20 µL of specific IOTest conjugated antibody to each test tube and if necessary, 20 µL of the isotype control to each control tube.
2. Add 100 µL of the test sample to each tube. Vortex the tubes gently.
3. Incubate for 15 to 20 minutes at room temperature (18 – 25°C), protected from light.
4. Then perform lysis of the red cells. Refer to VersaLyse (Ref. A09777) leaflet and follow preferably the procedure called “with concomitant fixation”, which consists of adding 1 mL of the “Fix-and-Lyse” mixture prepared extemporaneously. Vortex immediately for one second and incubate for 10 minutes at room temperature, protected from light.
5. Centrifuge for 5 minutes at 150 x g at room temperature.
6. Remove the supernatant by aspiration.
7. Resuspend the cell pellet using 3 mL of PBS.
8. Repeat step 5.
9. Remove the supernatant by aspiration and resuspend the cell pellet using:

- 0.5 mL or 1 mL of PBS plus 0.1% of formaldehyde if the preparations are to be kept less than 24 hours. (A 0.1% formaldehyde PBS can be obtained by diluting 12.5 µL of the IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800) at its 10X concentration in 1 mL of PBS).
- 0.5 mL or 1 mL of PBS without formaldehyde, if the preparations are to be analyzed within 2 hours.

Note: In all cases, keep the preparations between 2 and 8°C and protected from light.

EXPECTED VALUES

In our laboratories, the whole blood samples of 25 apparently healthy donors were treated using the reagent described above. The results obtained for the count of the positive events of interest with this reagent are given in the table below :

Positive Target	Number	Mean (%)	SD	CV (%)
Lymphocytes	25	71.12	10.38	14.60

These values are intended to be representative only. Each laboratory should establish its own expected values from the local population of normal donors.

PERFORMANCE

Performance data are obtained using the procedure described above on less than 24 hour-old blood samples previously collected in sterile tubes with EDTA salt as anticoagulant. Analysis is performed within 2 hours following immunostaining.

SPECIFICITY

The CD5 molecule is expressed at the surface of mature T lymphocytes, by the majority of thymocytes and by a sub-population of B lymphocytes (11,12,13). CD5 is expressed in a subset of IgM secreting B cells due to the lack of the enzyme terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) appearing to mitigate the activation of BSR and therefore reducing auto reactivity (autoimmune-reaction). On the contrary, T cells express higher levels of CD5 than B cells. CD5 is up regulated on T cells upon strong activation. In the thymus, there is a correlation with CD5 expression and strength of the interaction of the T cell towards self-peptides. CD5 expression is not found in granulocytes, monocytes and platelets (13). The monoclonal antibody BL1a was assigned to CD5 during the 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens, held in Oxford, England, in 1986 (Code WS: 520, Section T) (11,12).

PRECISION

The percent positive values were determined using Whole Blood. Each sample was run 4 times, twice a day for 1 day on 2 instruments using 2 lots of CD5-FITC Monoclonal Antibody Reagents. Measurements (% positive) were made on Navios flow cytometer. Analysis was conducted based on the CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.

Our acceptance criteria is dependent on the number of positive events measured for each population:

- If positive event <1500, CV <15%
- If positive event >1500, CV <10%

Lymphocytes							
Number of positive events (Mean) = 1468							
	Inter-Operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-run	Intra-run	Total
CV (%)	1.75	1.79	5.51	2.04	1.99	4.83	6.14
RESULTS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURACY

The accuracy of CD5-FITC was assessed by comparing the results with a reference reagent as the predicate on a set of whole blood samples run on a Navios flow cytometer. The bias between test and reference reagent was determined based on the difference between test results. If the bias is within the allowable error range or the p-value indicates no significant difference (> 0.05), then test results for the two reagents are considered as equivalent.

The results obtained are summarized in the following table below:

Number of donors = 25				
Positive Target	Mean Δ	Δ % Cell criteria	p-value	RESULTS
Lymphocytes	0.73	<5	0.032	PASS

LIMIT OF BLANK AND LIMIT OF DETECTION

A study was conducted in accordance with CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures. The Limit of Detection (LOD) is the lowest concentration of analyte that can be consistently detected. Results obtained are summarized in the following table:

Positive Target	Limit of Blank (cell/µL)	Limit of Detection (cell/µL)
Lymphocytes	1	2

LIMITATIONS

1. Flow cytometry may produce false results if the cytometer has not been aligned perfectly, if fluorescence leaks have not been correctly compensated for and if the regions have not been carefully positioned.
2. It is preferable to use a RBC lysis technique with a washing step, as this reagent has not been optimized for "no wash" lysis techniques.
3. Accurate and reproducible results will be obtained as long as the procedures used are in accordance with the technical insert leaflet and compatible with good laboratory practices.
4. The conjugated antibody of this reagent is calibrated so as to offer the best specific signal/non-specific signal ratio. Therefore, it is important to adhere to the reagent volume/sample volume ratio in every test.
5. In the case of a hyperleucocytosis, dilute the blood in PBS so as to obtain a value of approximately 5 x 10^9 leucocytes/L (14).
6. In certain disease states, such as severe renal failure or haemoglobinopathies, lysis of red cells may be slow, incomplete or even impossible. In this case, it is recommended to isolate mononucleated cells using a density gradient (Ficoll, for example) prior to staining (15).
7. In patients treated with anti-human monoclonal antibody therapies, detection of the specific targeted antigens may be diminished or absent due to partial or complete blocking by the therapeutic antibody.
8. The CD5-FITC results should be interpreted in light of the total clinical presentation of the patient, including: symptoms, clinical history, data from additional tests, and other appropriate information.

See the Appendix for examples and references.

TRADEMARKS

Beckman Coulter, the stylized logo, and the Beckman Coulter product and service marks mentioned herein are trademarks or registered trademarks of Beckman Coulter, Inc. in the United States and other countries.

ADDITIONAL INFORMATION

For a patient/user/third party in the European Union and in countries with identical regulatory regime (Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices); if, during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorized representative and to your national authority.

The Summary of Safety and Performance is available from the EUDAMED database: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISION HISTORY

REVISION AF:	Release date : August 2020

REVISION	**Release Date**
AW	May 2022
Updates to comply with the Beckman Coulter Global labelling Policy and according to IVD-R (EU)2017/746 requirements:	
Added sections	BSI 2797 Number, Intended User, Clinical Relevance, Concentration, Precision, Accuracy, Limit of blank and limit of detection, Additional Information, Revision History.
Added information	See sections Limitations
Phrasing or typographic updates	See sections Procedure, Performance, Limitations, Warning and Precautions, Storage and Stability.
Removed sections	Example of clinical applications, Reagents, Intra-laboratory reproducibilty, Linearity
Updated sections	Intended Use, GHS Hazard Classification, Evidence of deterioration, Procedure, Appendix.

REVISION	**Release Date**
AX	April 2023
Updated sections	Add Kazakh
Updated sections	Storage and stability

Revised Version	AY
Revised Date	May 2024
Updated Translations	**Clinical relevance :**
Updated sections	Revision History

Revised Version	AZ
Revised Date	July 2024
Updated sections	Revision History

Symbols Key

Glossary of Symbols is available at beckman.com/techdocs (document number B60062)

	Spécifications
Spécificité	CD5
Clone	BL1a
Hybridome	SP2/0 x balb/c
Immunogène	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobuline	IgG2a
Espèce	Souris
Purification	Chromatographie d'affinité
Fluorochrome	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Rapport molaire	FITC/Ig : 4,0-6,5
Excitation λ	488 nm
Pic d'émission	525 nm
Solution tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA et 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticorps conjugué CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Pour une utilisation en Diagnostic *In Vitro*

UTILISATION

Cet anticorps conjugué-fluorochrome permet l'identification qualitative non automatisée des populations de cellules exprimant l'antigène CD5 présent dans les échantillons biologiques humains à l'aide d'une cytométrie en flux (voir la section « Échantillons » ci-dessous).

PRINCIPE

Ce test est fondé sur la capacité d'anticorps monoclonaux spécifiques de se lier à des déterminants antigéniques exprimés par les leucocytes.

Une coloration spécifique des leucocytes est effectuée en incubant l'échantillon avec le réactif IOTest. Les globules rouges sont ensuite supprimés par lyses et les leucocytes, qui ne sont pas affectés par cette procédure, sont analysés par cytométrie en flux.

Le cytomètre en flux mesure la diffusion de la lumière et la fluorescence des cellules. Il rend possible la délimitation de la population d'intérêt au sein de la fenêtre électronique définie sur un histogramme, qui met en corrélation la diffusion orthogonale de la lumière (diffusion latérale ou SS) et la diffusion de la lumière en angle étroit (dispersion avant ou FS). D'autres histogrammes combinant deux des différents paramètres disponibles sur le cytomètre peuvent être utilisés comme supports dans la phase de gating en fonction de l'application choisie par l'utilisateur.

La fluorescence des cellules délimitées est analysée de manière à distinguer les événements colorés positifs de ceux qui ne le sont pas. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'événements positifs par rapport à tous les événements acquis grâce à la méthode de gating.

UTILISATEUR PRÉVU

Ce produit est destiné à un usage professionnel en laboratoire.

PERTINENCE CLINIQUE

Le CD5-FITC est un anticorps CD5 utilisé pour identifier et caractériser les cellules exprimant l'antigène CD5 par cytométrie en flux. Ce produit seul ne peut pas et n'est pas destiné à générer une quelconque conclusion diagnostique.

Lorsqu'il est utilisé conjointement avec d'autres marqueurs, ce produit peut être utilisé pour l'une ou plusieurs des fonctions suivantes :

- Aider au diagnostic différentiel des patients ayant une hématologie anormale et suspectés d'être atteints d'un néoplasme hématopoïétique et surveiller les patients atteints d'un néoplasme hématopoïétique connu.
- Faciliter le prognostic des patients ayant un néoplasme hématopoïétique.

Voir les références suivantes :

1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 ; 7 ; 8 ; 9 ; 10

ÉCHANTILLONS

Le sang veineux doit être prélevé avec des tubes stériles contenant un sel EDTA comme anticoagulant.

Les échantillons doivent être conservés à température ambiante (18–25 °C) et ne doivent pas être agités. Les échantillons doivent être homogénéisés par agitation douce avant de prélever l'échantillon de test.

Les échantillons doivent être analysés dans les 24 heures qui suivent la ponction veineuse.

CONCENTRATION

Voir le certificat d'analyse du lot spécifique sur www.beckman.com.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Ne pas utiliser le réactif au-delà de la date de péremption.
2. Ne pas congeler.
3. Laisser le réactif passer à la température ambiante (18–25 °C) avant de l'utiliser.
4. Minimiser l'exposition à la lumière.
5. Éviter la contamination microbienne des réactifs, ou des résultats erronés peuvent se produire.
6. Les solutions d'anticorps contenant de l'azide de sodium (NaN_3) doivent être manipulées avec précautions. Ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau, les muqueuses et les yeux.

En outre, dans un milieu acide, l'azide de sodium peut former le potentiellement dangereux acide hydrazoïque. S'il doit être éliminé, il est recommandé de diluer le réactif dans un grand volume d'eau avant de le verser dans le système de drainage afin d'éviter l'accumulation d'azide de sodium dans les tubes métalliques et de prévenir le risque d'explosion.

7. Tous les échantillons de sang doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés avec soin (en particulier : port de gants, de blouses et de lunettes de protection).
8. Ne jamais pipetter avec la bouche et éviter tout contact des échantillons avec la peau, les muqueuses et les yeux.
9. Les tubes de prélèvement sanguin et les matériaux jetables utilisés pour la manipulation doivent être éliminés dans des conteneurs appropriés prévus pour incinération.
10. Les réactifs et les déchets doivent être éliminés conformément aux exigences locales.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux

SDS La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVATION ET STABILITÉ

Ce réactif doit être conservé entre 2 et 8 °C, à l'abri de la lumière, avant et après l'ouverture du flacon.

Durée de conservation du flacon fermé selon l'étude de stabilité : 1095 jours.

Stabilité du flacon ouvert : le réactif est stable pendant 180 jours.

PREUVE DE DÉTÉRIORATION

Tout changement de l'apparence physique des réactifs peut indiquer une détérioration et le réactif ne doit pas être utilisé.

Pour plus de renseignements ou si un produit défectueux est livré, appeler le service client de Beckman Coulter au 800-742-2345 (USA ou Canada), ou votre représentant de Beckman Coulter local.

CONTENU

Les agents de conservation à base d'azide de sodium peuvent former des composés explosifs dans les conduites d'évacuation métalliques. Voir le bulletin NIOSH : Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Dangers d'explosion de l'azide).
Pour éviter l'accumulation potentielle des composés d'azide, rincer les tuyaux d'évacuation à l'eau après l'élimination de réactifs non dilués. L'élimination de l'azide de sodium doit se faire conformément aux réglementations locales en vigueur.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI AVEC CE COFFRET:

- Les tubes d'échantillonnage et le matériel nécessaires pour l'échantillonnage.
- Pipettes automatiques aux embouts jetables pour 20, 100 et 500 µL.
- Tubes d'hémolyse en plastique.
- Réactif de lyse des érythrocytes avec étape de lavage post-lyse. Par exemple : VersaLyse (Réf. A09777).
- Réactif de fixation de leucocyte. Par exemple : Solution fixative IOTest 3 (Réf. A07800).
- Contrôle d'isotype FITC : Réactif IOTest (Réf. A12689).
- Tampon (PBS : 0,01 M phosphate de sodium ; 0,145 M chlorure de sodium ; pH 7,2).
- Centrifugeuse.
- Agitateur automatique (type vortex).
- Cytomètre en flux.

PROCÉDURE AVEC RÉACTIF VERSALYSE

Pour chaque échantillon analysé, en plus du tube de test, un tube de contrôle peut être ajouté dans lequel les cellules sont mélangées en présence du contrôle isotypique (Réf. A12689).

1. Ajouter 20 µL d'anticorps conjugué spécifique IOTest à chaque tube de test et si nécessaire,20 µL de contrôle isotypique dans chaque tube de contrôle.
2. Ajouter 100 µL de l'échantillon à tester dans chaque tube. Vortexer doucement les tubes.
3. Incuber pendant 15 à 20 minutes à température ambiante (18–25 °C), à l'abri de la lumière.
4. Puis effectuer la lyse des globules rouges. Consulter la notice VersaLyse (Réf. A09777) et suivre de préférence la procédure appelée « with concomitant fixation » (avec fixation concomitante), qui consiste à ajouter 1 mL du mélange « Fixer et Lyser » préparé à n'importe quel moment. Vortexer immédiatement pendant une seconde et incuber pendant 10 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière.
5. Centrifuger pendant 5 minutes à 150 x g à température ambiante.
6. Retirer le surnageant par aspiration.
7. Remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant 3 mL de PBS.
8. Répéter l'étape 5.
9. Éliminer le liquide surnageant par aspiration et remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant :

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS plus 0,1 % de formaldéhyde si les préparations doivent être conservées moins de 24 heures. (Un PBS à 0,1 % de formaldéhyde peut être obtenu en diluant 12,5 µL de solution de fixation IOTest 3 (Réf. A07800) à 10 fois sa concentration dans 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sans formaldéhyde, si les préparations doivent être analysées dans les 2 heures.

Remarque : dans tous les cas, conserver les préparations entre 2 et 8 °C et à l'abri de la lumière.

VALEURS ATTENDUES

Dans nos laboratoires, les échantillons de sang total de 25 donneurs apparemment sains ont été traités à l'aide du réactif décrit ci-dessus. Les résultats obtenus pour le compte des événements positifs d'intérêt pour ce réactif sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Cible positive	Nombre	Moyenne (%)	ET (Écart type)	CV (%)
Lymphocytes	25	71,12	10,38	14,60

Ces valeurs sont censées être uniquement représentatives. Chaque laboratoire doit établir ses valeurs attendues à partir d'une population locale de donneurs normaux.

PERFORMANCE

Les données de performance sont obtenues à l'aide de la procédure décrite ci-dessus sur des échantillons de sang de moins de 24 heures préalablement collectés dans des tubes stériles contenant du sel EDTA comme anticoagulant. L'analyse est effectuée dans les 2 heures suivant l'immunocoloration.

SPÉCIFICITÉ

La molécule CD5 est exprimée à la surface de lymphocytes T matures, par la majorité des thymocytes et par une sous-population de lymphocytes B (11,12,13). Le CD5 est exprimé dans un sous-ensemble de cellules B secrétant de l'IgM en raison du déficit en enzyme désoxynucléotidyl transférase terminale (TdT) qui semble atténuer l'activation de BSR et réduisant, par conséquent, l'autoréactivité (réaction auto-immune). À l'inverse, les cellules T expriment des niveaux plus élevés de CD5 que les cellules B. Le CD5 est soumis à une régulation positive sur les cellules T lors d'une forte activation. Dans le thymus, il existe une corrélation entre l'expression du CD5 et le niveau de l'interaction de la cellule T envers les peptides du soi. Aucune expression du CD5 n'est détectée dans les granulocytes, monocytes et plaquettes (13). L'anticorps monoclonal BL1a a été assigné au CD5 au cours de 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3e HLDA Workshop sur les Antigènes de Différenciation des Leucocytes Humains), qui s'est tenu à Oxford, en Angleterre, en 1986 (Code WS : 520, Section T) (11,12).

PRÉCISION

Les valeurs de percentile positives ont été déterminées à l'aide de sang total. Chaque échantillon a été analysé 4 fois, deux fois par jour pendant 1 jour sur 2 instruments à l'aide de 2 lots de réactifs d'anticorps monoclonal CD5-FITC. Les mesures (% positif) ont été effectuées sur le cytomètre en flux Navios. L'analyse a été conduite conformément au document CLSI Méthode EP5-A2 : Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Évaluation de la performance de précision des méthodes de mesures quantitatives).

Notre critère d'acceptation est dépendant du nombre d'événements positifs mesurés pour chaque population :

- Si événement positif < 1 500, CV < 15 %
- Si événement positif > 1 500, CV < 10 %

Lymphocytes							
Nombre d'événements positifs (Moyenne) = 1468							
	Inter-opérateur	Inter-cytomètre	Intra-lot	Inter-lot	Inter-analyse	Intra-analyse	Total
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
RÉSULTATS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUDE

L'exactitude de CD5-FITC a été évaluée en comparant les résultats avec un réactif de référence comme prédicat sur un ensemble d'échantillons de sang total analysé sur un cytomètre en flux Navios. L'écart systématique entre le test et le réactif de référence a été déterminé en fonction de la différence entre les résultats du test. Si l'écart systématique se situe dans la plage d'erreurs autorisée ou que la valeur p n'indique aucune différence significative (> 0,05), alors les résultats du test pour les deux réactifs sont considérés comme équivalent.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Nombre de donneurs = 25				
Cible positive	Moyenne Δ	Critères de cellules Δ %	Valeur-p	RÉSULTATS
Lymphocytes	0,73	<5	0,032	PASS

LIMITE DU BLANC ET LIMITE DE DÉTECTION

Une étude a été conduite conformément au document CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Évaluation des capacités de détection des procédures de mesures biologiques cliniques). La limite de détection (LOD) est la concentration la plus basse d'analyte qui peut être systématiquement détectée. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Positive Target	Limite du blanc (cellules/µL)	Limite de détection (cellules/µL)
Lymphocytes	1	2

LIMITES

1. La cytométrie en flux peut produire des résultats erronés si le cytomètre n'a pas été parfaitement aligné, si les fuites de fluorescence n'ont pas été correctement compensées et si les régions n'ont pas été soigneusement positionnées.
2. Il est préférable d'utiliser une technique de lyse des GR comprenant une étape de lavage, comme ce réactif n'a pas été optimisé pour les techniques de lyse « sans lavage ».
3. Des résultats précis et reproductibles seront obtenus tant que les procédures utilisées sont en conformité avec la notice technique et compatibles avec les bonnes pratiques de laboratoire.
4. L'anticorps conjugué de ce réactif est étalonné de manière à offrir le meilleur ratio de signal spécifique/signal non spécifique. Par conséquent, il est important de respecter le ratio de volume de réactif/volume d'échantillon à chaque test.
5. En cas d'hyperleucocytose, diluer le sang dans du PBS de façon à obtenir une valeur d'approximativement 5 x 10^9 leucocytes/L (14).

6. Dans certains états pathologiques, tels qu'une grave insuffisance rénale ou une hémoglobinopathie, la lyse des globules rouges peut être lente, incomplète ou même impossible. Dans ce cas, il est recommandé d'isoler les cellules mononucléées à l'aide d'un gradient de densité (Ficoll, par exemple) avant la coloration (15).
7. Chez les patients traités par thérapie d'anticorps monoclonal anti-humain, la détection d'antigènes ciblés spécifiques peut être diminuée ou absente en raison d'un blocage partiel ou total par l'anticorps thérapeutique.
8. Les résultats de CD5-FITC doivent être interprétés à la lumière du tableau clinique complet du patient, y compris : les symptômes, l'anamnèse, les résultats de tests supplémentaires et toute autre information appropriée.

Voir l'annexe pour des exemples et des références.

MARQUES

Beckman Coulter, le logo stylisé et les marques des produits et des services Beckman Coulter mentionnées ici sont des marques ou des marques déposées de Beckman Coulter, Inc. aux États-Unis et dans d'autres pays.

INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES

Pour un patient/utilisateur/tiers de l'Union européenne et des pays ayant le même régime réglementaire (Règlement 2017/746/UE relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro) ; si, lors de l'utilisation de ce dispositif ou suite à son utilisation, un incident important se produit, veuillez le rapporter au fabricant et/ou à son représentant autorisé et à l'autorité nationale de votre pays.

Le Summary of Safety and Performance (Résumé de sécurité et de performance) est disponible sur la base de données EUDAMED : ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

RÉVISION AF :	Date de publication : Août 2020

RÉVISION	**Date de publication**
AW	Mai 2022
Mises à jour pour se conformer aux exigences de la politique d'étiquetage générale de Beckman Coulter et aux exigences IVD-R (UE)2017/746 :	
Ajout de sections	Numéro BSI 2797, Utilisateur prévu, Pertinence clinique, Concentration, Exactitude, Précision, Limite du blanc et limite de détection, Informations supplémentaires, Historique de révisions.
Ajout d'informations	Voir les sections Limites
Mises à jour typographiques et de formulations	Voir les sections Procédure, Performance, Limites, Avertissement et précautions, Conservation et stabilité.
Suppression de sections	Exemple d'applications cliniques, réactifs, reproductibilité intra-laboratoire, linéarité
Sections mises à jour	Utilisation, Classification des risques SGH, Preuve de détérioration, Procédure, Annexe.

RÉVISION	**Date de publication**
AX	Avril 2023
Sections mises à jour	Ajouter le kazakh
Sections mises à jour	Conservation et stabilité

Version révisée	AY
Date de révision	Mai 2024
Traductions mises à jour	**Pertinence clinique :**
Sections mises à jour	Historique des révisions

Version révisée	AZ
Date de révision	Juillet 2024
Sections mises à jour	Historique des révisions

Légende des symboles

Un glossaire des symboles est disponible sur beckmancoulter.com/techdocs (document numéro B60062)

	Spezifikationen
Spezifität	CD5
Klon	BL1a
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunglobulin	IgG2a
Spezies	Maus
Aufreinigung	Affinitätschromatografie
Fluorochrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molverhältnis	FITC/Ig: 4,0-6,5
λ-Anregung	488 nm
Emissionspeak	525 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA und 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugierter Antikörper CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20 µL/Test

Zur Verwendung als *In vitro*-Diagnostikum

VERWENDUNGSZWECK

Dieser mit einem Fluorochrom konjugierte Antikörper ermöglicht mithilfe der Durchflusszytometrie eine qualitative und nicht automatisierte Identifikation von Zellpopulationen, die das CD5-Antigen exprimieren, das in biologischen Proben menschlicher Herkunft vorhanden ist (siehe den Abschnitt „Proben“ unten).

PRINZIP

Dieser Test basiert auf der Fähigkeit bestimmter monoklonaler Antikörper, an die durch Leukozyten exprimierten antigenen Determinanten zu binden.

Die spezifische Färbung der Leukozyten erfolgt durch Inkubation der Probe mit dem IOTest-Reagenz. Die Erythrozyten können dann mittels Lyse entfernt werden. Die von diesem Vorgang unberührten Leukozyten werden mittels Durchflusszytometrie analysiert.

Das Durchflusszytometer misst die Lichtstreuung und die Fluoreszenz der Zellen. Es ermöglicht die Abgrenzung der gewünschten Population innerhalb des auf einem Histogramm definierten elektronischen Fensters, welches die orthogonale Lichtstreuung (Seitwärtsstreuung, SW) und die Streuung des Lichts im flachen Winkel (Vorwärtsstreuung, VW) in Beziehung zueinander setzt. Andere Histogramme, die zwei der auf dem Zytometer verfügbaren Parameter kombinieren, können zur Unterstützung beim Gating eingesetzt werden, je nachdem welche Anwendung der Benutzer ausgewählt hat.

Die Fluoreszenz der einzelnen Zellen wird analysiert, um die positiv angefärbten Ereignisse von den nicht angefärbten zu unterscheiden. Die Ergebnisse werden als Prozentsatz positiver Ereignisse relativ zu allen durch das Gating erfassten Ereignissen angegeben.

VORGESEHENER BENUTZER

Dieses Produkt ist für den Einsatz durch Laborfachkräfte vorgesehen.

KLINISCHE RELEVANZ

CD5-FITC ist ein CD5-Antikörper zur durchflusszytometrischen Identifikation und Charakterisierung von Zellen, die das CD5-Antigen exprimieren. Es ist weder möglich noch vorgesehen, alleine anhand dieses Produkts zu einer diagnostischen Schlussfolgerung zu kommen.

Bei Verwendung in Verbindung mit anderen Markern kann dieses Produkt für einen oder mehrere der folgenden Zwecke eingesetzt werden:

- Als Hilfsmittel zur Differenzialdiagnose von hämatologisch anormalen Patienten mit Verdacht auf ein hämatopoetisches Neoplasma und zur Überwachung von Patienten mit bestätigtem hämatopoetischem Neoplasma.
- Als Hilfsmittel bei der Prognose für Patienten mit hämatopoetischem Neoplasma.

Siehe die nachstehenden Literaturhinweise:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROBEN

Venöses Blut muss mit sterilen Röhrchen entnommen werden, die ein EDTA-Salz als Antikoagulanz enthalten.

Die Proben bei Raumtemperatur (18–25 °C) aufbewahren und nicht schütteln. Die Proben vor Entnahme der Testprobe durch vorsichtiges Schütteln homogenisieren.

Die Proben müssen innerhalb von 24 Stunden analysiert werden.

KONZENTRATION

Siehe das chargenspezifische Analysezertifikat unter www.beckman.com.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Das Reagenz nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden.
2. Nicht einfrieren.
3. Vor der Verwendung auf Raumtemperatur (18–25 °C) bringen.
4. Vor Licht schützen.
5. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien muss vermieden werden, damit kein falsches Ergebnis erzielt wird.
6. Antikörperlösungen, die Natriumazid (NaN_3) enthalten, vorsichtig handhaben. Nicht einnehmen und Berührungen mit Haut, Schleimhäuten und Augen vermeiden.

Zudem kann Natriumazid in einem sauren Medium zur Bildung potenziell gefährlicher Stickstoffwasserstoffsäure führen. Zur Entsorgung des Reagenzes wird empfohlen, das Reagenz mit viel Wasser zu verdünnen, bevor es in das Abwassersystem gegossen wird, um einer Ansammlung von Natriumazid in den Metallrohren und dem Risiko einer Explosion vorzubeugen.

7. Blutproben sind als potenziell infektiös zu betrachten und müssen mit Vorsicht gehandhabt werden (insbesondere durch Tragen von Schutzhandschuhen, -kittel und -brille).
8. Niemals mit dem Mund pipettieren und jeglichen Kontakt der Proben mit Haut, Schleimhaut und Augen vermeiden.
9. Blutröhrchen und Einwegmaterial, das zur Handhabung verwendet wird, müssen in dafür vorgesehenen, für die Verbrennung bestimmten Behältern entsorgt werden.
10. Reagenzien und Abfälle sind entsprechend den örtlichen Anforderungen zu entsorgen.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft

SDS Das Sicherheitsdatenblatt ist auf beckmancoulter.com/techdocs verfügbar.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Dieses Reagenz muss vor und nach dem Öffnen des Fläschchens lichtgeschützt zwischen 2 und 8 °C gelagert werden.

Haltbarkeit der geschlossenen Durchstechflasche gemäß Stabilitätsstudie: 1095 Tage.

Stabilität geöffneter Fläschchen: Das Reagenz ist 180 Tage lang stabil.

VERFALLSANZEICHEN

Ein verändertes Aussehen der Reagenzien kann ein Verfallsanzeichen sein. Entsprechende Reagenzien dürfen nicht verwendet werden.

Wenn Sie weitere Informationen wünschen oder falls das Produkt beschädigt bei Ihnen eintrifft, setzen Sie sich (innerhalb der USA und Kanada) unter der Rufnummer 800-742-2345 mit dem Kundendienst von Beckman Coulter bzw. außerhalb dieser Länder mit dem für Sie zuständigen Beckman Coulter-Mitarbeiter in Verbindung.

INHALT

Natriumazid als Konservierungsmittel kann in metallischen Abflussleitungen explosive Verbindungen bilden. Siehe NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (NIOSH-Bulletin: Gefahr durch explosive Azide).
Um eine mögliche Akkumulation von Azidverbindungen zu vermeiden, die Abwasserrohre nach der Entsorgung von unverdünntem Reagenz mit Wasser spülen. Natriumazid muss entsprechend den örtlichen behördlichen Vorschriften entsorgt werden.

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT IM KIT ENTHALTENE ARTIKEL:

- Probenahmeröhrchen und für die Probenahme benötigte Materialien.
- Automatische Pipetten mit Einwegspritzen für 20, 100 und 500 µL.
- Hämolyseröhrchen aus Kunststoff.
- Reagenz zur Lyse der Erythrozyten mit Waschstufe nach der Lyse. Beispiel: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagenz zur Leukozytenfixierung. Beispiel: IOTest 3-Fixierungslösung (Ref. A07800).
- Isotypkontrolle FITC: IOTest-Reagenz (Ref. A12689).
- Puffer (PBS: 0,01 M Natriumphosphat; 0,145 M Natriumchlorid; pH 7,2).
- Zentrifuge.
- Automatisches Mischgerät (Typ Vortex-Mischer).
- Durchflusszytometer.

VERFAHREN MIT VERSALYSE-REAGENZ

Für jede analysierte Probe kann zusätzlich zum Teströhrchen noch ein Kontrollröhrchen verwendet werden, in dem die Zellen in Gegenwart der Isotypkontrolle (Ref. A12689) gemischt werden.

1. 20 µL des spezifischen konjugierten IOTest-Antikörpers in jedes Teströhrchen und bei Bedarf 20 µL der Isotypkontrolle in jedes Kontrollröhrchen geben.
2. 100 µL der Testprobe in jedes Röhrchen geben. Die Röhrchen sachte mittels Vortex-Mischer mischen.
3. Bei Raumtemperatur (18–25 °C) 15 bis 20 Minuten lang lichtgeschützt inkubieren.
4. Im Anschluss die Erythrozyten lysieren. Das Merkblatt für VersaLyse (Ref. A09777) beachten und vorzugsweise das Verfahren mit dem Titel „with concomitant fixation“ (mit gleichzeitiger Fixierung) befolgen, das eine Zugabe von 1 mL des spontan zubereiteten „Fix-and-Lyse“(Fixierung und Lyse)-Gemisches vorsieht. Sofort eine Sekunde lang auf dem Vortex-Mischer mischen und 10 Minuten lang lichtgeschützt bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Bei 150 x g 5 Minuten lang bei Raumtemperatur zentrifugieren.
6. Den Überstand absaugen.
7. Das Zellpellet in 3 mL PBS resuspendieren.
8. Schritt 5 wiederholen.
9. Den Überstand absaugen und das Zellpellet resuspendieren mit:

- 0,5 mL oder 1 mL PBS plus 0,1 % Formaldehyd, wenn die Präparate weniger als 24 Stunden aufbewahrt werden sollen. (Ein 0,1%iges Formaldehyd-PBS-Gemisch kann hergestellt werden, indem 12,5 µL der IOTest 3-Fixierlösung (Ref. A07800) bei 10-facher Konzentration in 1 mL PBS verdünnt werden.)
- 0,5 mL oder 1 mL PBS ohne Formaldehyd, wenn die Präparate innerhalb von weniger als 2 Stunden analysiert werden sollen.

Hinweis: Die Präparate in jedem Fall zwischen 2 und 8 °C und vor Licht geschützt aufbewahren.

ERWARTETE WERTE

In unseren Laboren wurden die Vollblutproben von 25 scheinbar gesunden Spendern unter Verwendung des oben beschriebenen Reagenzes behandelt. Die Ergebnisse für die Anzahl der positiven Ereignisse von Interesse, die mit diesem Reagenz erzielt wurden, sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt:

Positives Ziel	Nummer	Mittelwert (%)	SD	VK (%)
Lymphozyten	25	71,12	10,38	14,60

Die Werte dienen nur zu Veranschaulichungszwecken. Jedes Labor muss anhand der örtlichen Population normaler Spender eigene erwartete Werte festlegen.

LEISTUNG

Leistungsdaten werden unter Anwendung des oben beschriebenen Verfahrens mit weniger als 24 Stunden alten Blutproben ermittelt, die zuvor in sterile Röhrchen mit EDTA-Salz als Antikoagulanz entnommen wurden. Die Analyse erfolgt innerhalb von 2 Stunden nach der Immunfärbung.

SPEZIFITÄT

Das CD5-Molekül wird auf der Oberfläche von reifen T-Lymphozyten, durch die Mehrheit der Thymozyten und durch eine Unterpopulation von B-Lymphozyten exprimiert (11,12,13). CD5 wird aufgrund eines Mangels des terminalen Desoxyribonukleotidyltransferase-Enzyms (TdT–Enzym) in einer Untergruppe von IgM-ausscheidenden B-Zellen exprimiert und scheint die Aktivierung von BSR zu vereinfachen und daher die Autoreaktivität (Autoimmun-Reaktion) zu reduzieren. Im Gegensatz dazu exprimieren T-Zellen höhere Mengen an CD5 als B-Zellen. Bei starker Aktivierung wird CD5 in T-Zellen nach oben reguliert. Im Thymus besteht ein Zusammenhang zwischen der CD5-Expression und der Stärke der Interaktion der T-Zelle mit Selbst-Peptiden. In Granulozyten, Monozyten und Blutplättchen ist keine CD5-Expression festzustellen (13). Der monoklonale Antikörper Blatt wurde 1986 auf dem 3. HILDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (HILDA-Workshop über die Differenzierungsantigene der menschlichen Leukozyten) in Oxford, England (WS Code: 520, Sektion T) dem Molekül CD5 zugeordnet (11,12).

PRÄZISION

Die prozentualen positiven Werte wurden unter Verwendung von Vollblut bestimmt. Jede Probe wurde zweimal täglich 1 Tag lang unter Verwendung von 2 Chargen der Reagenzien mit dem monoklonalen Antikörper CD5-FITC 4 Mal auf 2 Instrumenten analysiert. Messungen (% positiv) wurden mit dem Navios-Durchflusszytometer vorgenommen. Die Analyse folgte den Vorgaben der CLSI-Methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Beurteilung der Präzisionsleistung von quantitativen Messmethoden).

Unsere Akzeptanzkriterien sind abhängig von der Anzahl an positiven Ereignissen, die für jede Population gemessen werden:

- Wenn positives Ereignis < 1 500, VK < 15 %
- Wenn positives Ereignis > 1 500, VK < 10 %

Lymphozyten							
Anzahl der positiven Ereignisse (Mittelwert) = 1468							
	Zwischen Bedienern	Zwischen Durchflusszytometern	Innerhalb einer Charge	Zwischen Chargen	Zwischen Läufen	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
VK (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
ERGEBNISSE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit von CD5-FITC wurde anhand eines Vergleichs der Ergebnisse mit einem Referenzreagenz als Prädikat für einen Satz aus Vollblutproben bewertet, die auf einem Navios-Durchflusszytometer analysiert wurden. Die Abweichung zwischen Test- und Referenzreagenz wurde auf der Grundlage der Differenz zwischen Testergebnissen bestimmt. Sollte die Abweichung innerhalb des zulässigen Fehlerbereichs liegen oder der p-Wert keine signifikante Differenz (> 0,05) nahelegen, gelten die Testergebnisse für die beiden Reagenzien als gleichwertig.

Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Anzahl der Spender = 25				
Positives Ziel	Mittelwert Δ	Δ % Zellkriterien	p-Wert	ERGEBNISSE
Lymphozyten	0,73	<5	0,032	PASS

GRENZWERT FÜR LEERWERT UND NACHWEISGRENZE

Es wurde eine Studie gemäß CLSI-Dokument EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluierung des Detektionsvermögens von klinischen Labormessverfahren), durchgeführt. Die Nachweisgrenze (LOD) ist die niedrigste Konzentration des Analyten, die durchweg nachgewiesen werden kann. Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Positive Target	Grenzwert für Leerwert (Zelle/µL)	Nachweisgrenze (Zelle/µL)
Lymphozyten	1	2

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Die Durchflusszytometrie kann falsche Ergebnisse liefern, wenn das Zytometer nicht perfekt ausgerichtet wurde, wenn Fluoreszenzlecks nicht korrekt kompensiert wurden und wenn die Bereiche nicht sorgfältig positioniert wurden.
2. Vorzugsweise sollte eine ERY-Lysetechnik mit einem Waschschritt angewandt werden, da dieses Reagenz nicht für Lysetechniken ohne Waschen optimiert wurde.
3. Genaue und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, sofern die verwendeten Verfahren der technischen Packungsbeilage entsprechen und mit der guten Laborpraxis kompatibel sind.
4. Der konjugierte Antikörper dieses Reagenzes ist so kalibriert, dass er das beste Verhältnis von spezifischem zu unspezifischem Signal bietet. Daher ist es wichtig, das Verhältnis Reagenzvolumen/Probenvolumen bei jedem Test einzuhalten.

5. Im Falle einer Hyperleukozytose das Blut in PBS verdünnen, um einen Wert von ungefähr 5 x 10^9 Leukozyten/L zu erhalten(14).
6. Bei bestimmten Krankheitszuständen, beispielsweise einem schweren Nierenversagen oder Hämoglobinopathien, kann die Lyse der Erythrozyten möglicherweise nur langsam oder unvollständig erfolgen oder sogar unmöglich sein. In diesem Fall empfiehlt es sich, vor dem Färben einkernige Zellen mittels eines Dichtegradienten (beispielsweise Ficoll) zu isolieren (15).
7. Bei Patienten, die sich Therapien mit anti-humanen monoklonalen Antikörpern unterziehen, kann das Nachweisvermögen für die spezifischen anvisierten Antigene aufgrund einer teilweisen oder vollständigen Blockierung durch die therapeutischen Antikörper vermindert sein oder gänzlich ausbleiben.
8. Die Ergebnisse für CD5-FITC müssen unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde für den Patienten interpretiert werden, einschließlich Symptomen, klinischer Vorgeschichte, Daten zusätzlicher Tests sowie sonstiger relevanter Informationen.

Beispiele und Literaturhinweise siehe Anhang.

MARKEN

Beckman Coulter, das stilisierte Logo und die in diesem Dokument erwähnten Beckman Coulter-Produkt- und Dienstleistungsmarken sind in den USA und anderen Ländern Marken oder eingetragene Marken von Beckman Coulter, Inc.

WEITERE INFORMATIONEN

Für einen Patienten/Benutzer/Dritten in der Europäischen Union und in Ländern mit identischer Regulierungspraxis (Verordnung 2017/746/EU über In-vitro-Diagnostika) gilt Folgendes: Sollte es im Rahmen der Verwendung dieses Produktes oder infolge der Verwendung dieses Produktes zu einem schwerwiegenden Zwischenfall gekommen sein, ist dieser dem Hersteller und/oder dessen Bevollmächtigten sowie der nationalen Behörde zu melden.

Die „Summary of Safety and Performance“ (Bericht über Sicherheit und Leistung) kann aus der EUDAMED-Datenbank abgerufen werden: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSVERLAUF

REVISION AF:	Freigabedatum: August 2020

REVISION	**Freigabedatum**
AW	Mai 2022
Aktualisierungen vorgenommen, um den Vorgaben der globalen Etikettierungsrichtlinie von Beckman Coulter und den Vorgaben nach IVD-R (EU) 2017/746 zu entsprechen:	
Abschnitte hinzugefügt	Nummer nach BSI 2797; Vorgesehener Benutzer; Klinische Anwendung; Konzentration; Präzision; Genauigkeit; Grenzwert für Leerwert und Nachweisgrenze; Weitere Informationen; Revisionsübersicht.
Informationen hinzugefügt	Siehe Abschnitt Einschränkungen
Formulierung oder Typografie aktualisiert	Siehe die Abschnitte Verfahren; Leistung; Einschränkungen; Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen; Lagerung und Stabilität.
Abschnitte gestrichen	Beispiel für klinische Anwendungen; Reagenzien; Reproduzierbarkeit innerhalb des Labors; Linearität
Aktualisierte Abschnitte	Verwendungszweck; GHS-Gefahrstoffklassifizierung; Verfallsanzeichen; Verfahren; Anhang.

REVISION	**Freigabedatum**
AX	April 2023
Aktualisierte Abschnitte	Kasachisch hinzufügen
Aktualisierte Abschnitte	Lagerung und Stabilität

Überarbeitete Version	AY
Überarbeitungsdatum	Mai 2024
Aktualisierte Übersetzungen	**Klinische Relevanz:**
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Überarbeitete Version	AZ
Überarbeitungsdatum	Juli 2024
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Liste der Symbole

Das Glossar der Symbole ist auf beckman.com/techdocs (Dokumentnummer B60062) verfügbar.

	Specifiche
Specificità	CD5
Clone	BL1a
Ibridoma	SP2/0 x balb/c
Immunogeno	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobulina	IgG2a
Specie	Topo
Purificazione	Cromatografia di affinità
Fluorocromo	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Rapporto molare	FITC / Ig: 4,0-6,5
Eccitazione λ	488 nm
Picco di emissione	525 nm
Tampone	PBS pH 7,2 più 2 mg/mL di BSA e NaN_3 0,1%

IOTest

Anticorpo coniugato CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Per uso diagnostico *in vitro*

USO PREVISTO

Questo anticorpo coniugato con fluorocromo consente l'identificazione qualitativa e non automatizzata di popolazioni cellulari che esprimono l'antigene CD5 presente nei campioni biologici umani mediante citometria a flusso (vedere la sezione "Campioni" di seguito).

PRINCIPIO

Questo test si basa sulla capacità di specifici anticorpi monoclonali di legarsi ai determinanti antigenici espressi dai leucociti.

La colorazione specifica dei leucociti viene eseguita incubando il campione con il reagente IOTest. Gli eritrociti vengono quindi rimossi tramite lisi e i leucociti, non interessati da questo processo, vengono analizzati tramite citometria a flusso.

Il citometro a flusso misura la diffusione di luce e la fluorescenza delle cellule. Ciò consente la delimitazione della popolazione di interesse con la finestra elettronica definita in un istogramma, che correla la diffusione ortogonale della luce (scattering laterale o SS) e la diffusione della luce ad angolo stretto (scattering frontale o FS). Altri istogrammi che combinano due dei diversi parametri disponibili sul citometro possono essere usati come supporti nella fase di determinazione del gate in base alle applicazioni scelte dall'utente.

La fluorescenza delle cellule delimitate viene analizzata per distinguere gli eventi colorati in modo positivo e quelli non colorati. I risultati sono espressi come percentuale di eventi positivi in relazione a tutti gli eventi acquisiti mediante determinazione del gate.

UTENTE PREVISTO

Questo prodotto è destinato all'uso professionale in laboratorio.

RILEVANZA CLINICA

CD5-FITC è un anticorpo CD5 utilizzato per identificare e caratterizzare le cellule che esprimono l'antigene CD5 mediante citometria a flusso. Questo prodotto da solo non può e non intende generare alcuna conclusione diagnostica.

Se impiegato in combinazione con altri marcatori, questo prodotto può essere utilizzato con una o più delle seguenti funzioni:

- Come supporto nella diagnosi differenziale di pazienti con anomalie ematologiche e sospetta neoplasia ematopoietica e nel monitoraggio di pazienti con neoplasia ematopoietica nota.
- Come supporto nella prognosi di pazienti con neoplasia ematopoietica.

Vedere i riferimenti seguenti:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

CAMPIONI

I campioni di sangue venoso devono essere prelevati utilizzando provette sterili contenenti un sale EDTA come anticoagulante.

I campioni devono essere conservati a temperatura ambiente (18-25 °C) e non devono essere agitati. I campioni devono essere omogeneizzati agitandoli con delicatezza prima di prelevare il campione per il test.

I campioni devono essere analizzati entro 24 ore dalla venipuntura.

CONCENTRAZIONE

Vedere il Certificato di analisi specifico del lotto sul sito www.beckman.com.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza.
2. Non congelare.
3. Prima dell'uso, portare a temperatura ambiente (18-25 °C).
4. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce.
5. Evitare la contaminazione microbica dei reagenti, poiché potrebbe falsare i risultati.
6. Le soluzioni di anticorpi che contengono sodio azide (NaN_3) devono essere maneggiate con cura. Non ingerire ed evitare qualsiasi contatto con cute, mucose e occhi.

Inoltre, in un mezzo acido, il sodio azide può formare acido idrazoico, che è potenzialmente pericoloso. Per lo smaltimento, si consiglia di diluire il reagente in un grande volume di acqua prima di versarlo nell'impianto di scarico, in modo da evitare l'accumulo di sodio azide nelle tubazioni metalliche ed evitare il rischio di esplosione.

7. Tutti i campioni di sangue devono essere considerati potenzialmente infetti e devono essere maneggiati con cura (in particolare, indossando guanti, camici e occhiali protettivi).
8. Non pipettare mai usando la bocca ed evitare il contatto dei campioni con la pelle, le mucose e gli occhi.
9. Le provette per il sangue e i materiali monouso usati per la manipolazione devono essere smaltiti in appositi contenitori destinati all'inceneritore.
10. I reagenti e i rifiuti devono essere smaltiti conformemente alla normative locali.

CLASSIFICAZIONE DEI PERICOLI GHS

Classificato come non pericoloso

SDS La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile all'indirizzo beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Questo reagente deve essere mantenuto a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce, prima e dopo l'apertura della fiala.

Durata di conservazione della fiala chiusa secondo studi di stabilità: 1095 giorni.

Stabilità di una fiala aperta: il reagente è stabile per 180 giorni.

INDICI DI DETERIORAMENTO

Qualsiasi cambiamento dell'aspetto fisico dei reagenti può indicare un deterioramento. In tale caso, non utilizzare il reagente.

Per ulteriori informazioni, o nel caso in cui il prodotto ricevuto risulti danneggiato, rivolgersi all'assistenza clienti Beckman Coulter al numero 800-742-2345 (USA o Canada) o mettersi in contatto con il rappresentante locale Beckman Coulter.

SOMMARIO

Il conservante sodio azide può formare composti esplosivi nelle tubazioni metalliche di scarico. Vedere il bollettino NIOSH: Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Bollettino dell'Istituto Nazionale per la Sicurezza e la Salute sul Lavoro: Rischio di esplosione del sodio azide).
Per evitare il possibile accumulo di azidi, lavare i tubi di scarico con acqua dopo lo smaltimento del reagente puro. Il sodio azide deve essere eliminato conformemente alle normative locali applicabili.

COMPONENTI NECESSARI MA NON FORNITI CON IL KIT:

- Provette per campioni e materiale necessario per il campionamento.
- Pipette automatiche con punte monouso per 20, 100 e 500 µL.
- Provette per emolisi in plastica.
- Reagente per lisi degli eritrociti con fase di lavaggio successiva alla lisi. Ad esempio: VersaLyse (Rif. A09777).
- Reagente di fissaggio dei leucociti. Ad esempio: Soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800).
- Controllo di isotipo FITC: reagente IOTest (Rif. A12689).
- Tampone (PBS: 0,01 M di fosfato di sodio, 0,145 M di cloruro di sodio, pH 7,2).
- Centrifugare.
- Agitatore automatico (tipo Vortex).
- Citometro a flusso.

PROCEDURA CON REAGENTE VERSALYSE

Per ogni campione analizzato, oltre alla provetta del test, si può aggiungere una provetta di controllo in cui miscelare le cellule in presenza di controllo di isotipo (Rif. A12689).

1. Aggiungere 20 µL di anticorpo coniugato IOTest specifico in ogni provetta del test e, se necessario, 20 µL di controllo di isotipo in ogni provetta di controllo.
2. Aggiungere 100 µL di campione del test in ogni provetta. Agitare delicatamente le provette con Vortex.
3. Incubare a temperatura ambiente (18-25 °C) per 15-20 minuti, al riparo dalla luce.
4. Quindi eseguire la lisi degli eritrociti. Consultare il foglietto illustrativo di VersaLyse (Rif. A09777) e seguire preferibilmente la procedura denominata "with concomitant fixation" (con fissazione concomitante), che consiste nell'aggiungere 1 mL della miscela fissante e lisante preparata estemporaneamente. Miscelare immediatamente con Vortex per un secondo e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente, al riparo dalla luce.
5. Centrifugare per 5 minuti a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Rimuovere il surnatante mediante aspirazione.
7. Risospendere il pellet cellulare utilizzando 3 mL di PBS.
8. Ripetere il passaggio 5.
9. Eliminare il surnatante tramite aspirazione e risospendere il pellet cellulare tramite:

- 0,5 mL o 1 mL di PBS più 0,1% di formaldeide, se i preparati devono essere conservati per meno di 24 ore. È possibile ottenere PBS con formaldeide allo 0,1% diluendo 12,5 µL di soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800) alla sua concentrazione di 10X in 1 mL di PBS.
- 0,5 mL o 1 mL di PBS senza formaldeide, se i preparati devono essere analizzati entro 2 ore.

Nota: in tutti i casi, mantenere i preparati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce.

VALORI ATTESI

Nei nostri laboratori, i campioni di sangue intero di donatori apparentemente sani 25 sono stati trattati utilizzando il reagente descritto sopra. I risultati ottenuti dal conteggio degli eventi positivi pertinenti a questo reagente sono riportati nella tabella di seguito:

Target positivo	Numero	Media (%)	SD	CV (%)
Linfociti	25	71,12	10,38	14,60

Tali valori sono forniti unicamente a scopo indicativo. Ogni laboratorio deve definire i propri valori attesi a partire dalla popolazione locale di donatori normali.

PRESTAZIONI

I dati delle prestazioni si ottengono adottando la procedura descritta in precedenza su campioni di sangue raccolti da meno di 24 ore in provette sterili con anticoagulante EDTA. L'analisi viene eseguita entro 2 ore dall'immunocolorazione.

SPECIFICITÀ

La molecola CD5 è espressa sulla superficie dei linfociti T maturi dalla maggioranza dei timociti e da una sottopopolazione di linfociti B (11,12,13). CD5 è espresso da un sottogruppo di cellule B che secernono IgM a causa della mancanza dell'enzima deossinucleotidil transferasi terminale (TdT) che sembra mitighi l'attivazione di BSR riducendo quindi l'autoreattività (reazione autoimmune). Al contrario, le cellule T esprimono livelli più elevati di CD5 rispetto alle cellule B. CD5 è sovraregolato sulle cellule T dopo forte attivazione. Nel timo esiste una correlazione tra l'espressione di CD5 e la forza di interazione delle cellule T verso i propri peptidi. Non si è osservata espressione di CD5 nei granulociti, nei monociti e nelle piastrine (13). L'anticorpo monoclonale BL1a è stato riconosciuto come specifico per l'antigene CD5 nel corso del 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3° workshop HLDA sugli antigeni di differenziazione dei leucociti umani), tenutosi a Oxford, Inghilterra, nel 1986 (Codice WS: 520, Sezione T) (11,12).

PRECISIONE

I valori percentuali positivi sono stati determinati utilizzando sangue intero. Ogni campione è stato analizzato 4 volte, due volte al giorno per 1 giorno su 2 strumenti utilizzando 2 lotti di reagenti per anticorpi monoclonali CD5-FITC. Le misurazioni (% positive) sono state eseguite sul citometro a flusso Navios. L'analisi è stata condotta secondo il metodo EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Valutazione delle prestazioni di precisione dei metodi di misurazione quantitativa).

I nostri criteri di accettazione dipendono dal numero di eventi positivi misurati per ogni popolazione:

- Se evento positivo < 1.500, CV < 15%
- Se evento positivo > 1.500, CV < 10%

Linfociti							
Numero di eventi positivi (media) = 1468							
	Inter-operatore	Inter-citometro	Intra-lotto	Inter-lotto	Inter-analisi	Intra-analisi	Totale
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
RISULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURATEZZA

L'accuratezza di CD5-FITC è stata valutata confrontando i risultati con un reagente di riferimento come predicato su una serie di campioni di sangue intero eseguiti su un citometro a flusso Navios. La distorsione tra il reagente in esame e quello di riferimento è stata determinata in base alla differenza tra i risultati del test. Se la distorsione rientra nell'intervallo di errore consentito o il valore p indica che non vi è una differenza significativa (> 0,05), allora i risultati dei test per i due reagenti sono considerati equivalenti.

I risultati ottenuti sono riepilogati nella tabella seguente:

Numero di donatori = 25				
Target positivo	Δ medio	Criteri cellulari Δ %	Valore p	RISULTATI
Linfociti	0,73	<5	0,032	PASS

LIMITE DEL BIANCO E LIMITE DI RILEVAZIONE

È stato effettuato uno studio in conformità al documento EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Valutazione delle capacità di rilevamento delle procedure di misurazione del laboratorio clinico). Il limite di rilevazione (LoD) è la più bassa concentrazione di analita che può essere costantemente rilevata. I risultati ottenuti sono riepilogati nella seguente tabella:

Positive Target	Limite del bianco (cellula/µL)	Limite di rilevazione (cellula/µL)
Linfociti	1	2

LIMITAZIONI

1. La citometria a flusso può produrre falsi risultati se il citometro non viene allineato perfettamente, le perdite di fluorescenza non vengono correttamente compensate e le regioni non vengono posizionate attentamente.
2. È preferibile utilizzare una tecnica di lisi RBC con una fase di lavaggio, in quanto il reagente non è stato ottimizzato per tecniche di lisi "senza lavaggio".
3. Seguendo le procedure descritte nel foglietto illustrativo con le informazioni tecniche, compatibili con le buone pratiche di laboratorio, è possibile ottenere risultati accurati e riproducibili.
4. L'anticorpo coniugato di questo reagente è calibrato in modo da offrire un rapporto segnale specifico/segnale non specifico ottimale. Di conseguenza, è importante rispettare il rapporto fra volume di reagente e volume di campione in tutti i test.
5. In caso di iperleucocitosi, diluire il sangue in PBS in modo da ottenere un valore di circa 5 x 10^9 leucociti/L (14).
6. In alcuni stati patologici, come insufficienza renale grave o emoglobinopatie, la lisi degli eritrociti può risultare lenta, incompleta o persino impossibile. In questo caso, è consigliabile isolare le cellule mononucleate usando un gradiente di densità (ad esempio, Ficoll) prima della colorazione (15).
7. In pazienti trattati con terapie a base di anticorpi monoclonali anti-umani, il rilevamento di antigeni specifici può essere minore o assente a causa del blocco parziale o completo da parte dell'anticorpo terapeutico.

8. I risultati CD5-FITC devono essere interpretati alla luce del quadro clinico completo del paziente che comprende: sintomatologia, anamnesi clinica, risultati di altri test e altre informazioni appropriate.

Per esempi e riferimenti, vedere l'appendice.

MARCHI COMMERCIALI

Beckman Coulter, il logo stilizzato ed i marchi commerciali dei prodotti e servizi di Beckman Coulter menzionati qui, sono marchi commerciali o marchi commerciali registrati di Beckman Coulter, Inc., negli Stati Uniti e in altri paesi.

INFORMAZIONI AGGIUNTIVE

Per un paziente/utente/terza parte nell'Unione Europea e in paesi con identico regime normativo (Regolamento 2017/746/UE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro): se, durante l'utilizzo di questo dispositivo o in seguito al suo utilizzo, si fosse verificato un incidente grave, si prega di segnalarlo al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e all'autorità nazionale competente.

Il Summary of Safety and Performance (Sintesi relativa alla sicurezza e alle prestazioni) è disponibile nel database EUDAMED all'indirizzo: ec.europa.eu/tools/eudamed.

CRONOLOGIA REVISIONI

REVISIONE AF:	Data di pubblicazione: Agosto 2020

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AW	Maggio 2022
Aggiornamenti conformi alla politica sull'etichettatura globale di Beckman Coulter e ai requisiti IVD-R (UE)2017/746:	
Sezioni aggiunte	Numero BSI 2797, Utente previsto, Rilevanza clinica, Concentrazione, Precisione, Accuratezza, Limite del bianco e limite di rilevazione, Informazioni aggiuntive, Cronologia revisioni.
Aggiunta di informazioni	Vedere le sezioni Limitazioni
Aggiornamenti testuali o tipografici	Vedere le sezioni Procedura, Prestazioni, Limitazioni, Avvertenze e precauzioni, Conservazione e stabilità.
Sezioni rimosse	Esempio di applicazioni cliniche, Reagenti, Riproducibilità intra-laboratorio, Linearità
Sezioni aggiornate	Uso previsto, Classificazione pericoli GHS, Indici di deterioramento, Procedura, Appendice.

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AX	Aprile 2023
Sezioni aggiornate	Aggiungere la lingua kazaka
Sezioni aggiornate	Conservazione e stabilità

Versione revisionata	AY
Data di revisione	Maggio 2024
Traduzioni aggiornate	**Rilevanza clinica:**
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Versione revisionata	AZ
Data di revisione	Luglio 2024
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Legenda dei simboli

Il Glossario dei simboli è disponibile all'indirizzo beckman.com/techdocs (documento numero B60062)

	Especificaciones
Especificidad	CD5
Clon	BL1a
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Inmunógeno	Lymphocytes from human thoracic duct
Inmunoglobulina	IgG2a
Especie	Ratón
Purificación	Cromatografía de afinidad
Fluorocromo	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Proporción molar	FITC / Ig: 4,0-6,5
Excitación λ	488 nm
Pico de emisión	525 nm
Tampón	PBS pH 7,2 más 2 mg/mL BSA y 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticuerpo conjugado CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20 µL/prueba

Para uso diagnóstico *in vitro*

USO PREVISTO

Este anticuerpo conjugado con un fluorocromo permite la identificación cualitativa y no automatizada de poblaciones de células que expresan el antígeno CD5 presente en muestras biológicas humanas mediante citometría de flujo (véase la sección «Muestras» más adelante).

PRINCIPIO

Esta prueba se basa en la capacidad de anticuerpos monoclonales específicos para unirse a los determinantes antigénicos expresados por leucocitos.

La tinción específica de los leucocitos se realiza incubando la muestra con el reactivo IOTest. A continuación, se eliminan los eritrocitos mediante lisis y los leucocitos, que no se ven afectados por este proceso, se analizan mediante citometría de flujo.

El citómetro de flujo mide la dispersión de la luz y la fluorescencia de las células. Permite acotar la población de interés dentro de una ventana electrónica, definida en un histograma que correlaciona la dispersión lateral de luz (Side Scatter o SS) con la dispersión frontal de la luz (Forward Scatter o FS). Se pueden utilizar otros histogramas que combinen dos de los distintos parámetros disponibles en el citómetro como apoyo para la fase de selección en función de la aplicación utilizada por el usuario.

La fluorescencia de las células acotadas se analiza para distinguir los eventos con tinción positiva de los eventos sin teñir. Los resultados se expresan como un porcentaje de eventos positivos en relación con todos los eventos adquiridos mediante la selección.

USUARIO PREVISTO

Este producto está diseñado para su uso en un laboratorio profesional.

IMPORTANCIA CLÍNICA

El reactivo CD5-FITC es un anticuerpo frente a CD5 utilizado para identificar y caracterizar células que expresan el antígeno CD5 mediante citometría de flujo. Este producto por sí solo no puede y no está diseñado para generar una conclusión diagnóstica.

Cuando se usa en combinación con otros marcadores, este producto puede utilizarse en una o más de las siguientes funciones:

- Ayudar al diagnóstico diferencial de pacientes con anomalías hematológicas en los que se sospecha la presencia de una neoplasia hematopoyética y realizar el seguimiento de pacientes con una neoplasia hematopoyética conocida.
- Ayudar en el pronóstico de pacientes que padecen una neoplasia hematopoyética.

Consulte las siguientes referencias:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MUESTRAS

La sangre venosa debe recogerse en tubos de muestra estériles que contengan una sal de EDTA como anticoagulante.

Las muestras deben mantenerse a temperatura ambiente (18-25 °C) y no agitarse. Antes de tomar la muestra de prueba, es necesario homogeneizarla mediante una agitación suave.

Las muestras deben analizarse en el plazo de 24 horas tras la venopunción.

CONCENTRACIÓN

Consulte el certificado de análisis específico del lote en www.beckman.com.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. No use el reactivo después de la fecha de caducidad.
2. No lo congele.
3. Déjelo a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su utilización.
4. Minimice el tiempo de exposición a la luz.
5. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, ya que esto puede provocar resultados falsos.
6. Las soluciones de anticuerpo que contienen azida sódica (NaN_3) deben manipularse con precaución. No ingerir y evitar todo contacto con la piel, la mucosa y los ojos.

Asimismo, en un medio ácido, la azida sódica puede formar ácido hidrazoico potencialmente peligroso. Cuando se vaya a desechar, se recomienda diluir el reactivo en abundante agua antes de verterlo en el sistema de drenaje para evitar la acumulación de azida sódica en tubos metálicos y el riesgo de explosión.

7. Todas las muestras sanguíneas deben considerarse posiblemente infecciosas y deben manipularse con cuidado (en especial, hay que llevar guantes, bata y gafas de protección).
8. No pipetee nunca con la boca y evite todo contacto de las muestras con la piel, las mucosas y los ojos.
9. Los tubos para sangre y el material desechable utilizados para la manipulación deben eliminarse en recipientes especiales previstos para la incineración.
10. Los reactivos y los desechos deben eliminarse de acuerdo con los requisitos locales.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico

SDS La ficha de datos de seguridad está disponible en beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Este reactivo debe conservarse entre 2 y 8 °C en un lugar protegido de la luz, antes y después de abrir el vial.

Vida útil del vial cerrado según estudio de estabilidad: 1095 días.

Estabilidad del vial abierto: el reactivo es estable durante 180 días.

SIGNOS DE DETERIORO

Cualquier cambio en el aspecto físico de los reactivos puede indicar un deterioro, por lo que no debe utilizarse el reactivo.

Para obtener información adicional o si el producto está dañado, llame al servicio de atención al cliente de Beckman Coulter en el 800-742-2345 (EE. UU. o Canadá) o póngase en contacto con su representante local de Beckman Coulter.

CONTENIDO

El conservante de azida sódica puede formar compuestos explosivos en las tuberías metálicas del desagüe. Véase el NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Boletín de NIOSH: Peligro de explosión con la azida) (16/8/76).
Para evitar la posible acumulación de compuestos de azida, limpie con agua los tubos de desagüe tras la eliminación del reactivo sin diluir. Para desechar la azida sódica deben seguirse las normativas locales adecuadas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS CON EL KIT:

- Tubos y material de muestras necesarios para el muestreo.
- Pipetas automáticas para puntas desechables de 20, 100 y 500 µL.
- Tubos de hemólisis de plástico.
- Reactivo de lisis de glóbulos rojos con estado de lavado después de la lisis. Por ejemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reactivo de fijación de leucocitos. Por ejemplo: Solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800).
- Control de isotipo FITC: Reactivo IOTest (Ref. A12689).
- Tampón (PBS: 0,01 M de fosfato de sodio; 0,145 M de cloruro sódico; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de flujo.

PROCEDIMIENTO CON EL REACTIVO VERSALYSE

Para cada muestra analizada, además del tubo de ensayo, se puede añadir un tubo de control en el que se mezclan las células en presencia de los controles de isotipo (Ref. A12689).

1. Añadir 20 µL de anticuerpos conjugados específicos IOTest a cada tubo de muestra problema y, si es necesario, 20 µL del control de isotipo a cada tubo de control.
2. Añadir 100 µL de la muestra problema a cada tubo. Mezclar suavemente los tubos en el Vórtex.
3. Incube entre 15 y 20 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C) y protegido de la luz.
4. A continuación, lleve a cabo la lisis de los eritrocitos. Consulte la ficha técnica VersaLyse (Ref. A09777) y siga preferiblemente el procedimiento denominado «with conconmitant fixation» (con fijación concomitante), que consiste en añadir 1 mL de la mezcla «Fijar y lisar» preparada extemporáneamente. Agite inmediatamente con vórtex durante un segundo e incube durante 10 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Elimine el sobrenadante mediante aspiración.
7. Vuelva a suspender el sedimento celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita el paso 5.
9. Retire el sobrenadante mediante aspiración y vuelva a suspender el sedimento celular con:

- 0,5 mL o 1 mL de PBS más el 0,1 % de formaldehído si las preparaciones deben conservarse menos de 24 horas. (Se puede obtener un 0,1 % de PBS de formaldehído mediante la dilución de 12,5 µL de la solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800) a su concentración de 10x en 1 mL de PBS).
- 0,5 mL o 1 mL de PBS sin formaldehído si las preparaciones deben analizarse en un plazo de 2 horas.

Nota: En todos los casos, mantenga las preparaciones protegidas de la luz entre 2 y 8 °C.

VALORES ESPERADOS

Se trataron en nuestros laboratorios las muestras de sangre total de 25 donantes aparentemente sanos utilizando el reactivo descrito. Los resultados obtenidos del recuento de eventos de interés positivos con este reactivo se proporcionan en la siguiente tabla:

Objetivo positivo	Cantidad	Media (%)	DE	CV (%)
Linfocitos	25	71,12	10,38	14,60

Estos valores tienen carácter meramente ilustrativo. Cada laboratorio deberá establecer sus valores esperados según la población local de donantes normales.

RENDIMIENTO

Los datos de rendimiento se obtuvieron utilizando el procedimiento descrito anteriormente en muestras de sangre con menos de 24 horas desde su extracción en tubos estériles con sal de EDTA como anticoagulante. El análisis se realizó en el plazo de 2 horas desde su inmunotinción.

ESPECIFICIDAD

La molécula CD5 se expresa en la superficie de los linfocitos T maduros mediante la mayoría de los timocitos y una subpoblación de linfocitos B (11,12,13). La CD5 se expresa en un subconjunto de células B secretoras de IgM debido a la ausencia de la enzima desoxinucleotidil transferasa terminal (TdT) que aparece para reducir la activación de BSR y, por tanto, reducir la autorreactividad (reacción autoinmune). Por el contrario, las células T expresan niveles más altos de CD5 que las células B. La CD5 se regula en las células T mediante una activación intensa. En el timo, existe una correlación con la expresión de CD5 y la intensidad de la interacción de la célula T con los autopéptidos. La expresión de CD5 no se encuentra en los granulocitos, los monocitos y las plaquetas (13). El anticuerpo monoclonal BL1a fue asignado a la CD5 en el transcurso del 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3er Taller de HLDA sobre los Antígenos de Diferenciación de los Leucocitos Humanos), Oxford, Inglaterra, en 1986 (Código WS: 520, Sección T) (11,12).

PRECISIÓN

Los valores porcentuales positivos se determinaron utilizando sangre total. Cada muestra se procesó 4 veces, dos veces al día durante 1 día en 2 instrumentos utilizando 2 lotes de reactivos de anticuerpo monoclonal CD5-FITC. Las mediciones (% de positivos) se realizaron en un citómetro de flujo Navios. El análisis se realizó según el método EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluación del rendimiento de la precisión de los métodos de medición cuantitativos).

Nuestro criterio de aceptación depende del número de eventos positivos determinado en cada población:

- Si el número de eventos positivos es < 1500, CV < 15 %
- Si el número de eventos positivos es > 1500, CV < 10 %

Linfocitos							
Número de eventos positivos (media) = 1468							
	Entre operadores	Entre citómetros	Intralote	Entre lotes	Entre análisis	Intraanálisis	Total
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUD

La exactitud de CD5-FITC se evaluó comparando los resultados con un reactivo de referencia como valor previsto en un conjunto de muestras de sangre total procesadas en un citómetro de flujo Navios. El sesgo entre la muestra problema y el reactivo de referencia se determinó en función de la diferencia entre los resultados de la prueba. Si el sesgo está dentro del rango de error permitido o el valor p indica una diferencia no significativa (> 0,05), entonces los resultados de la prueba de los dos reactivos se consideran equivalentes.

Los resultados obtenidos se resumen en la tabla que se muestra a continuación:

Número de donantes = 25				
Objetivo positivo	Δ medio	Criterios de Δ % de células	Valor p	RESULTADOS
Linfocitos	0,73	<5	0,032	PASS

LÍMITE DE BLANCO Y LÍMITE DE DETECCIÓN

Se realizó un estudio conforme a la norma EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluación de la capacidad de detección para procedimientos de medición en laboratorios clínicos). El límite de detección (LD) es la concentración de analito más baja que se puede detectar sistemáticamente. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla siguiente:

Positive Target	Límite de Blanco (células/µL)	Límite de Detección (células/µL)
Linfocitos	1	2

LIMITACIONES

1. La citometría de flujo puede producir resultados falsos si el citómetro no se ha alineado a la perfección, si las fugas de fluorescencia no se han compensado correctamente y si las regiones no se han colocado con atención.
2. Es preferible utilizar una técnica de lisis de ERIT con un paso de lavado, ya que este reactivo no se ha optimizado para técnicas de lisis «sin lavado».
3. Se obtendrán resultados exactos y reproducibles siempre que los procedimientos utilizados sean conformes al folleto técnico y compatibles con las prácticas correctas de laboratorio.
4. El anticuerpo conjugado de este reactivo se calibra para ofrecer la mejor relación de señal específica/señal no específica. Por lo tanto, es importante cumplir la relación de volumen del reactivo/volumen de la muestra en cada prueba.
5. En caso de hiperleucocitosis, diluya la sangre en PBS para obtener un valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucocitos/L (14).
6. En algunos estados de la enfermedad, como el fallo renal grave o las hemoglobinopatías, la lisis de los eritrocitos puede ser lenta, incompleta o incluso imposible. En este caso, se recomienda aislar las células mononucleares por gradiente de densidad (por ejemplo, Ficoll) antes de la tinción (15).

7. En pacientes tratados con terapias con anticuerpos monoclonales anti-humanos, la detección de los antígenos diana específicos puede estar disminuida o ausente debido al bloqueo parcial o completo por el anticuerpo terapéutico.
8. Los resultados de CD5-FITC deben interpretarse a la luz del cuadro clínico total del paciente, incluidos: síntomas, historial clínico, datos de pruebas adicionales y demás información pertinente.

Consulte el anexo para ver ejemplos y referencias.

MARCAS COMERCIALES

Beckman Coulter, el logotipo estilizado y las marcas de productos y servicios de Beckman Coulter aquí mencionadas son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de Beckman Coulter, Inc. en Estados Unidos y otros países.

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para pacientes/usuarios/terceros de la Unión Europea y países con el mismo régimen normativo (Reglamento 2017/746/UE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro); si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produjese un incidente grave, informe al fabricante y/o a su representante autorizado y a la autoridad nacional.

El Summary of Safety and Performance (Resumen de seguridad y rendimiento) está disponible en la base de datos EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIAL DE REVISIONES

REVISIÓN AF:	Fecha de publicación: Agosto de 2020

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AW	Mayo de 2022
Actualizaciones para cumplir con la política de etiquetado global de Beckman Coulter y conforme a los requisitos del Reglamento (UE)2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro:	
Se han añadido secciones	Número BSI 2797, Usuario previsto, Rendimiento clínico, Concentración, Precisión, Exactitud, Límite de blanco y límite de detección, Información adicional, Historial de revisiones.
Información añadida	Véase la sección Limitaciones
Actualizaciones de redacción y tipográficas	Véanse las secciones Procedimiento, Rendimiento, Limitaciones, Advertencias y precauciones, Conservación y Estabilidad.
Se han eliminado secciones	Ejemplo de aplicaciones clínicas, Reactivos, Reproducibilidad intralaboratorio, Linealidad
Se han actualizado las secciones	Uso previsto, Clasificación de material peligroso según el SGA, Signos de deterioro, Procedimiento, Anexo.

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AX	Abril 2023
Se han actualizado las secciones	Añadir kazajo
Se han actualizado las secciones	Conservación y Estabilidad

Versión revisada	AY
Fecha de revisión	Mayo 2024
Traducciones actualizadas	**Relevancia clínica:**
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Versión revisada	AZ
Fecha de revisión	Julio 2024
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Lista de símbolos

El glosario de símbolos está disponible en beckman.com/techdocs (número de documento B60062)

	Especificações
Especificidade	CD5
Clone	BL1a
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunogénio	Lymphocytes from human thoracic duct
Imunoglobulina	IgG2a
Espécie	Rato
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Razão molar	FITC/Ig: 4,0-6,5
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	525 nm
Tampão	PBS com pH 7,2 mais 2 mg/mL de ASB e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20 µL/teste

Para fins de diagnóstico *in vitro*

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Este anticorpo conjugado com fluorocromos permite a identificação qualitativa e não automatizada de populações de células que expressam o antigénio CD5 presente em amostras biológicas humanas utilizando citometria de fluxo (consulte a secção «Amostras» abaixo).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade de os anticorpos monoclonais específicos se ligarem aos determinantes antigénicos expressados por leucócitos.

A coloração específica dos leucócitos é realizada incubando a amostra com o reagente IOTest. Em seguida, os glóbulos vermelhos são removidos por lise e os leucócitos, que não são afetados por este processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citómetro de fluxo mede a difusão de luz e a fluorescência das células. Permite delimitar a população de interesse dentro da janela eletrónica definida num histograma que correlaciona a difusão ortogonal de luz (dispersão lateral ou DL) e a difusão de luz em ângulos estreitos (dispersão frontal ou DF). É possível utilizar outros histogramas que combinam dois dos vários parâmetros disponíveis no citómetro como suporte na fase de delimitação, consoante a aplicação escolhida pelo utilizador.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são apresentados como uma percentagem de eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos por meio da delimitação.

UTILIZADOR PREVISTO

Este produto destina-se a ser utilizado por profissionais de laboratório.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD5-FITC é um anticorpo de CD5 utilizado para identificar e caracterizar células que expressam o antigénio CD5 por citometria de fluxo. Este produto, por si só, não pode e não se destina a gerar qualquer conclusão de diagnóstico.

Quando utilizado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser utilizado numa ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com alterações hematológicas, suspeitos de padecerem de neoplasia hematopoiética, e para monitorizar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.
- Para auxiliar no prognóstico de pacientes com neoplasia hematopoiética.

Consulte as seguintes referências:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

AMOSTRAS

O sangue venoso deve ser recolhido utilizando tubos estéreis que contenham um sal de AEDT como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas à temperatura ambiente (18–25 °C) e não devem ser agitadas. As amostras devem ser homogeneizadas, agitando-as levemente, antes de a amostra de teste ser retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a punção venosa.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o Certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não utilize o reagente depois da data de validade.
2. Não congele.
3. Aguarde que fique à temperatura ambiente (18–25 °C) antes da utilização.
4. Evite a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, caso contrário, poderão ocorrer falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos que contêm azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não ingira e evite qualquer contacto com a pele, as mucosas e os olhos.

Adicionalmente, num meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazóico potencialmente perigoso. Se a sua eliminação for necessária, é recomendável que o reagente seja diluído num grande volume de água antes de ser vertido no sistema de drenagem, para evitar a acumulação de azida sódica em tubos metálicos e prevenir o risco de explosão.

7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas potencialmente infeciosas e manuseadas com cuidado (em especial, devem ser usados óculos, batas e luvas de proteção).
8. Nunca pipete com a boca e evite qualquer contacto das amostras com a pele, as mucosas e os olhos.
9. Os tubos de sangue e os materiais descartáveis utilizados para manuseamento devem ser eliminados em recipientes específicos destinados a incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Ficha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido a uma temperatura entre 2 e 8 °C e protegido da luz, antes e após a abertura do frasco.

Vida útil em frasco fechado para estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente permanece estável durante 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DEGRADAÇÃO

Uma alteração no aspeto físico dos reagentes poderá indicar deterioração, pelo que o reagente não deve ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, contacte a assistência ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou contacte o seu representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em sistemas de canalizações metálicas. Consulte o boletim do NIOSH: Explosive Azide Hazards (Perigos de explosão da azida) (16-8-76).
Para evitar a possível acumulação de compostos de azida, enxague as condutas de resíduos com água após a eliminação do reagente não diluído. A eliminação de azida sódica deve ser efetuada de acordo com os regulamentos locais adequados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostras e materiais necessários para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 20, 100 e 500 µL.
- Tubos de plástico para hemólise.
- Reagente de lise de glóbulos vermelhos com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controlo de isotipo FITC de : reagente IOTest (Ref. A12689).
- Tampão (PBS: 0,01 M de fosfato de sódio; 0,145 M de cloreto de sódio; pH 7,2).
- Centrifugue.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM REAGENTE VERSALYSE

Além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controlo a cada amostra analisada, no qual as células são misturadas na presença do controlo de isotipo (Ref. A12689).

1. Adicione 20 µL de anticorpo conjugado com IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 20 µL dos controlos de isotipo a cada tubo de controlo.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos à temperatura ambiente (18–25 °C), protegido da luz.
4. Em seguida, realize a lise dos glóbulos vermelhos. Consulte o folheto VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento denominado «with concomitant fixation» (com fixação concomitante) que consiste em adicionar 1 mL da mistura de «Fixação e lise» preparada extemporaneamente. Agite imediatamente em vórtex durante um segundo e incube durante 10 minutos à temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g à temperatura ambiente.
6. Remova o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular com 3 mL de PBS.
8. Repita o passo 5.
9. Remova o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular com o seguinte:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído se as preparações se destinarem a ser mantidas por menos de 24 horas. (É possível obter PBS com 0,1% de formaldeído diluindo 12,5 µL de solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na respetiva concentração de 10X em 1 mL de SSTF).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído se as preparações se destinarem a ser analisadas no prazo de 2 horas.

Nota: Mantenha sempre as preparações entre 2 e 8 °C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Nos nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 dadores aparentemente saudáveis foram tratadas utilizando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos de interesse positivos com este reagente são fornecidos na tabela abaixo:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP	CV (%)
Linfócitos	25	71,12	10,38	14,60

Estes valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores esperados a partir da população local de dadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos utilizando o procedimento descrito acima em amostras de sangue colhidas há menos de 24 horas em tubos de amostra estéreis com sal de AEDT como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

A molécula CD5 é expressa na superfície de linfócitos T maduros, pela maioria dos timócitos e por uma subpopulação de linfócitos B (11,12,13). O CD5 é expresso num subconjunto de células B secretoras de IgM devido à falta da enzima deoxinucleotidil transferase terminal (TdT), presente para mitigar a ativação de BSR e, assim, reduzir a autorreatividade (reação autoimune). Por outro lado, as células T apresentam níveis mais elevados de CD5 do que células B. O CD5 é suprarregulado em células T após uma forte ativação. No timo, existe uma correlação entre a expressão de CD5 e a intensidade da interação da célula T com peptídeos próprios. A expressão de CD5 não existe em granulócitos, monócitos e plaquetas (13). O anticorpo monoclonal BL1a foi atribuído a CD5 durante o 3.º HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Workshop HLDA sobre antigénios de diferenciação de leucócitos humanos), em Oxford, Inglaterra, em 1986 (Código WS: 520, Secção T) (11,12).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados utilizando sangue total. Cada amostra foi executada 4 vezes, duas vezes por dia para 1 dia em 2 instrumentos, utilizando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD5-FITC. As medições (% de positivos) foram realizadas no citómetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação do desempenho de precisão dos métodos de medição quantitativos).

Os nossos critérios de aceitação estão dependentes do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Em caso de eventos positivos <1500, CV <15%
- Em caso de eventos positivos >1500, CV <10%

Linfócitos							
Número de eventos positivos (média) = 1468							
	Interoperador	Intercitómetro	Intralote	Interlote	Interprocessamento	Intraprocessamento	Total
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD5-FITC foi avaliada através da comparação dos resultados com um reagente de referência como equivalente, num conjunto de amostras de sangue total executadas num citómetro de fluxo Navios. A tendência entre o teste e o reagente de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados do teste. Se a tendência se encontrar dentro do intervalo de erro permitido ou o valor p não indicar uma diferença significativa (>0,05), os resultados do teste de ambos os reagentes são considerados equivalentes.

Os resultados obtidos encontram-se resumidos na tabela abaixo:

Número de dadores = 25				
Alvo positivo	Δ médio	Critérios celulares de % Δ	Valor p	RESULTADOS
Linfócitos	0,73	<5	0,032	PASS

LIMITE DO BRANCO E LIMITE DE DETEÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com o CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de deteção para procedimentos de medição em laboratórios clínicos). O Limite de deteção (LD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detetada consistentemente. Os resultados obtidos são resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite do branco (célula/µL)	Limite de deteção (célula/µL)
Linfócitos	1	2

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo poderá produzir falsos resultados se o citómetro não tiver sido perfeitamente alinhado, se as fugas de fluorescência não tiverem sido compensadas corretamente e se as regiões não tiverem sido cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível utilizar uma técnica de lise de RBC com um passo de lavagem, uma vez que este reagente não foi otimizado para técnicas de lise «sem lavagem».
3. Serão obtidos resultados exatos e reprodutíveis desde que os procedimentos utilizados estejam de acordo com o folheto técnico e cumpram as boas práticas laboratoriais.
4. O anticorpo conjugado deste reagente é calibrado para proporcionar a melhor relação entre sinal específico/sinal não específico. Por conseguinte, é importante respeitar a relação entre volume do reagente/volume da amostra em todos os testes.
5. No caso de uma hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (14).
6. Em determinados estados de doença, como insuficiência renal grave ou hemoglobinopatias, a lise de glóbulos vermelhos poderá ser lenta, incompleta ou até impossível. Neste caso, recomenda-se isolar células mononucleadas utilizando um gradiente de densidade (por exemplo, Ficoll) antes da coloração (15).

7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a deteção dos antigénios específicos visados pode ser reduzida ou inexistente devido ao bloqueio parcial ou total causado pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de CD5-FITC devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, historial clínico, dados de testes adicionais e outras informações relevantes.

Consulte o Anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logótipo estilizado e as marcas de produtos e serviços da Beckman Coulter mencionadas neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e noutros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/utilizador/terceiro na União Europeia e em países com um regime regulamentar idêntico (Regulamento 2017/746/UE relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico in vitro): se, durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, ocorrer um incidente grave, comunique-o ao fabricante e/ou ao respetivo representante autorizado e à autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível a partir da base de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÕES

REVISÃO AF:	Data de lançamento: Agosto de 2020

REVISÃO	**Data de lançamento**
AW	Maio de 2022
Atualizações no sentido de cumprir a política de rotulagem da Beckman Coulter Global e os requisitos do regulamento IVD-R (UE)2017/746:	
Secções adicionadas	Número BSI 2797, Utilizador previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite do branco e limite de deteção, Informações adicionais, Histórico de revisões.
Informações adicionadas	Consulte as secções Limitações
Atualizações à fraseologia ou tipografia	Consulte as secções Procedimento, Realização, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Secções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Secções atualizadas	Utilização prevista, Classificação de perigo GHS, Indícios de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de lançamento**
AX	Abril 2023
Secções atualizadas	Adicionar cazaque
Secções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revista	AY
Data de revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Versão revista	AZ
Data de revisão	Julho 2024
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (número do documento B60062)

	Specifikationer
Specificitet	CD5
Klon	BL1a
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobulin	IgG2a
Arter	Mus
Oprensning	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molarforhold	FITC/Ig: 4,0-6,5
λ-magnetisering	488 nm
Emissionsspids	525 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA og 0,1% NaN_3

IOTest

Konjugeret antistof CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Til *in vitro*-diagnostisk brug

TILSIGTET BRUG

Dette fluorokromkonjugerede antistof muliggør, ved hjælp af flowcytometri, kvalitativ og ikke-automatiseret identifikation af cellepopulationer, der udtrykker CD5-antigenet, som findes i humane biologiske prøver (se afsnittet "Prøver" forneden).

PRINCIP

Denne test er baseret på specifikke monoklonale antistoffers evne til at binde sig til de antigene determinanter, der udtrykkes af leukocytter.

Den specifikke farvning af leukocytterne udføres ved inkubation af prøven med IOTest-reagenset. Erytrocytterne fjernes derefter med lysering, og leukocytterne, som ikke påvirkes af denne proces, analyseres ved flowcytometri.

Flowcytometeret måler lysets diffusion og cellernes fluorescens. Dette gør det muligt at afgrænse interessepopulationen inden for det elektroniske vindue, der defineres på et histogram, som korrelerer den ortogonale diffusion af lys (Side Scatter (sidespredning) eller SS) og diffusionen af lys med en snæver vinkel (Forward Scatter (forlæns spredning) eller FS). Andre histogrammer, der kombinerer to af de forskellige parametre, der er til rådighed på cytometret, kan benyttes som støtte under gating-trinnet, afhængig af den af brugeren valgte applikation.

De afgrænsede cellers fluorescens analyseres med henblik på at kunne skelne de positive farvningshændelser fra de ufarvede. Resultaterne udtrykkes som en procentdel af positive hændelser i relation til alle de hændelser, som erhverves ved gatingen.

TILSIGTET BRUGER

Dette produkt er beregnet til professionel brug i laboratoriet.

KLINISK RELEVANS

CD5-FITC er et CD5-antistof, der anvendes til at identificere og karakterisere celler, der udtrykker CD5-antigenet ved flowcytometri. Dette produkt, anvendt alene, kan ikke og er ikke beregnet til at generere nogen diagnostisk konklusion.

Anvendt i kombination med andre markører kan dette produkt benyttes i en eller flere af følgende funktioner:

- Til hjælp ved differentialdiagnosticering af hæmatologisk unormale patienter ved formodning om hæmatopoietisk neoplasme, samt til overvågning af patienter med kendt hæmatopoietisk neoplasme.
- Til hjælp ved prognosticering af patienter med hæmatologisk neoplasi.

Se følgende referencer:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PRØVER

Prøver af venøst blod skal udtages i sterile prøverør, der indeholder et EDTA-salt som antikoagulant.

Prøverne skal opbevares ved stuetemperatur (18-25 °C) og må ikke rystes. Prøverne skal homogeniseres ved forsigtig omrysten før udtagning af analyseprøven.

Prøverne skal behandles inden for 24 timer efter venepunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analysecertifikat på www.beckman.com.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Brug ikke reagenset efter udløbsdatoen.
2. Må ikke nedfryses.
3. Bring det til stuetemperatur (18-25 °C) før brug.
4. Minimér eksponering for lys.
5. Undgå mikrobiel kontaminering reagenserne, idet det kan føre til fejlagtige resultater.
6. Antistofopløsninger, der indeholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsigtighed. Må ikke indtages, og undgå enhver kontakt med hud, slimhinder og øjne.

I syremedier kan natriumazid desuden danne den potentielt farlige hydrogenazid. Hvis det skal bortskaffes, anbefales det, at reagenset fortyndes i en stor mængde vand, inden det hældes i kloakken, for at undgå ophobning af natriumazid i metalrør og dermed forebygge risikoen for eksplosioner.

7. Alle blodprøver skal anses som potentielt smittefarlige og skal behandles forsigtigt (husk især at bruge beskyttelseshandsker, forklæde og beskyttelsesbriller).
8. Sug aldrig med munden, og undgå at prøverne kommer i kontakt med hud, slimhinde og øjne.
9. Blodprøvetagningsrør og engangsmateriale, der bruges i forbindelse med håndteringen, skal bortskaffes i ad hoc-beholdere, der er beregnet til bortskaffelse.
10. Reagenser og affald skal bortskaffes i henhold til gældende lokale krav.

GHS FAREKLASSIFIKATION

Ikke klassificeret som farlig

SDS Sikkerhedsdatablad er tilgængelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Dette reagens skal opbevares ved mellem 2 og 8 °C og beskyttes mod lys før og efter, at hætteglasset er åbnet.

Stabilitet i lukket hætteglas: 1095 dage.

Stabilitet i åbent hætteglas: Reagenset er stabilt i 180 dage.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Ændringer i den måde, reagenset ser ud på, kan være tegn på forringelse, og reagenset må ikke anvendes.

Ring til Beckman Coulters kundeservice på 800-742-2345 (USA eller Canada), eller kontakt den lokale Beckman Coulter-repræsentant for at få flere oplysninger, eller hvis du modtager et beskadiget produkt.

INDHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive forbindelser i drænledninger af metal. Se NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (Fare for eksplosiv azid). For at undgå en eventuel akkumulering af azidforbindelser, skylles afløbsrør med vand efter bortskaffelse af ufortyndet reagens. Natriumazid skal bortskaffes i overensstemmelse med relevante lokale forskrifter.

PÅKRÆVEDE MATERIALER, SOM IKKE LEVERES MED SÆT:

- Prøvetagningsrør og materiale, der er påkrævet til prøvetagning.
- Automatiske pipetter med engangsspidser til 20, 100 og 500 µL.
- Plasthæmolyserør.
- Reagens til lysering af erytrocytter med vaskefase efter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens til leukocytfiksering. For eksempel: IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800).
- IsotypekontrolFITC: IOTest-reagens (ref. A12689).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumphosphat; 0,145 M natriumchlorid; pH 7,2).
- Centrifuge
- Automatisk omrører (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MED VERSALYSE-REAGENS

Der kan tilføjes et kontrolrør for hvert prøverør, der analyseres, hvormed cellerne blandes under isotype-kontrollerne (ref. A12689).

1. Tilføj 20 µL specifikt IOTest-konjugeret antistof til hvert prøverør og, om nødvendigt, 20 µL negativ kontrol til hvert kontrolprøverør.
2. Tilføj 100 µL af prøven til hvert prøverør. Vortex rørene forsigtigt.
3. Inkubér i 15 til 20 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C), beskyttet mod lys.
4. Udfør derefter analyse af de røde celler. Se brochure fra VersaLyse (ref. A09777) og følg den foretrukne procedure kaldet “med sideløbende fiksering”, som består i at tilsætte 1 mL af blandingen “Fix-and-Lyse”, der fremstilles samtidig. Vortex øjeblikkeligt i et sekund, og inkubér i 10 minutter ved stuetemperatur, beskyttet imod lys.
5. Centrifugér i 5 minutter ved 150 x g ved stuetemperatur.
6. Fjern supernatanten via aspiration.
7. Resuspender cellepelleten med 3 mL PBS.
8. Gentag trin 5.
9. Fjern supernatanten vha. aspiration, og resuspender cellepelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyd, hvis præparaterne skal opbevares mindre end 24 timer. (En formaldehyd-PBS på 0,1% kan opnås ved fortynding af 12,5 µL af IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800) ved dets 10X koncentration i 1 mL af PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uden formaldehyd, hvis præparaterne skal analyseres inden for 2 timer.

Bemærk: Præparaterne skal under alle omstændigheder beskyttes mod lys og opbevares ved 2-8 °C.

FORVENTEDE VÆRDIER

I vores laboratorier blev fuldblodsprøver, fra 25 umiddelbart raske donorer, behandlet med det ovenfor beskrevne reagens. De opnåede resultater for optælling af relevante positive hændelser med dette reagens er angivet i nedenstående tabel:

Positivt mål	Antal	Middelværdi (%)	SD	CV (%)
Lymfocytter	25	71,12	10,38	14,60

Disse værdier er beregnet til kun at være repræsentative. Hvert laboratorium bør fastlægge deres egne forventede værdier fra den lokale population af raske donorer.

YDEEVNE

Præstationsdata opnås, når proceduren beskrevet foroven, anvendes på mindre end 24 timer gamle blodprøver, tidligere indsamlet i sterile prøverør med EDTA-salt som antikoagulant. Analyse skal foretages senest 2 timer efter immunfarvning.

SPECIFICITET

CD5-molekylet udtrykkes på overfladen af modne T-lymfocytter af de fleste thymocytter og af en underpopulation af B-lymfocytter (11,12,13). CD5 udtrykkes i en delmængde af IgM-udskillende B-celler på grund af manglen af enzymet TdT (terminal deoxynukleotidyl-transferase), der synes at mildne aktiveringen af BSR og dermed reducere autoreaktiviteten (autoimmunreaktionen). Derimod udtrykker T-celler højere niveauer af CD5 end B-celler. CD5 opreguleres på T-celler ved stærk aktivering. Der er i thymus en korrelation med CD5-udtrykket og styrken af T-cellens interaktion mod selvpeptider. CD5-udtryk ses ikke i granulocytter, monocytter og trombocytter (13). Det monoklonale antistof BL1a blev tildelt CD5 under den 3. HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (HLDA-workshop om differentiering af humane leukocyt-antigener), der blev afholdt i Oxford, England, i 1986 (WS-kode: 520, afsnit T) (1112).

PRÆCISION

De procentvise positive værdier blev bestemt ved anvendelse af fuldblod. Hver prøve blev kørt 4 gange, to gange dagligt i 1 dag, på 2 instrumenter med CD5-FITC monoklonale antistofreagenser fra 2 lots. Målingerne (% positiv) blev foretaget på Navios-flowcytometer. Analysen blev udført i henhold til CLSI-protokollen EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering af kvantitative målemetoders præcisionsevne).

Vores acceptkriterier afhænger af antallet af positive hændelser målt for hver population:

- Hvis positiv hændelse < 1500, CV < 15%
- Hvis positiv hændelse > 1500, CV < 10%

Lymfocytter							
Antal positive hændelser (middelværdi) = 1468							
	Inter-operatør	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-kørsel	Intra-kørsel	I alt
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØJAGTIGHED

Nøjagtigheden af CD5-FITC blev vurderet ved sammenligning af resultaterne med et referencereagens som prædikat på et sæt fuldblodsprøver, kørt på et Navios-flowcytometer. Bias mellem test- og referencereagens blev bestemt på basis af forskellen mellem testresultaterne. Hvis bias er inden for det tilladte fejlområde, eller hvis p-værdien ikke indikerer nogen signifikant forskel (> 0,05), anses testresultaterne for de to reagenser for at være ækvivalente.

De opnåede resultater opsummeres i nedenstående tabel:

Antal donorer = 25				
Positivt mål	Middelværdi Δ	Δ % cellekriterie	p-værdi	RESULTATER
Lymfocytter	0,73	<5	0,032	PASS

GRÆNSE FOR BLANK OG DETEKTIONSGRÆNSE

En undersøgelse blev gennemført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering af detektionsevne for kliniske laboratoriemåleprocedurer). Detektionsgrænsen (LOD) er den laveste koncentration af analyt, der kan detekteres konsekvent. De opnåede resultater er opsummeret i nedenstående tabel:

Positive Target	Grænse for blank (celle/µL)	Detektionsgrænse (celle/µL)
Lymfocytter	1	2

BEGRÆNSNINGER

1. Flowcytometri kan give forkerte resultater, hvis cytometeret ikke er perfekt justeret, hvis der ikke er blevet kompenseret korrekt for fluorescenslækager, eller hvis områderne ikke er blevet placeret omhyggeligt.
2. Det anbefales at anvende en RBC-lyseringsteknik med et vasketrin, da dette reagens ikke er blevet optimeret til ”no wash”-lyseringsteknikker.
3. Der genereres nøjagtige og reproducerbare resultater, så længe de anvendte procedurer er i overensstemmelse med de tekniske anvisninger på indlæsgssedlen og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerede antistof for dette reagens kalibreres for at kunne tilbyde det bedste specifikke forhold mellem signal/ikke-specifikt signal. Det er derfor vigtigt at overholde forholdet mellem reagensvolumen og prøvevolumen i hver enkelt test.
5. I tilfælde af en hyperleukocytose skal blodet fortyndes i PBS for at opnå en værdi på ca. 5×10^9 leukocytter/L (14).
6. I visse sygdomstilstande, f.eks. alvorligt nyresvigt eller hæmoglobinopatier, kan lysering af røde celler være langsom, ufuldstændig eller endog umulig. I dette tilfælde anbefales det at isolere enkernede celler ved hjælp af en densitetsgradient (f.eks. Ficoll) forud for farvningen (15).
7. Hos patienter behandlet med anti-humane monoklonale antistofterapier, kan påvisning af de respektive specifikke antigener være formindsket eller fraværende, på grund af delvis eller fuldstændig blokering af det terapeutiske antistof.
8. CD5-FITC-resultaterne bør fortolkes i lyset af patientens samlede kliniske præsentation, herunder symptomer, sygehistorie, data fra andre tests samt anden relevant information.

Se Tillæg for eksempler og referencer.

VAREMÆRKER

Beckman Coulter, det stiliserede logo og de Beckman Coulter produkt- og servicemærker, der er omtalt heri, er varemærker eller registrerede varemærker tilhørende Beckman Coulter, Inc. i USA og andre lande.

YDERLIGERE OPLYSNINGER

For en patient/bruger/tredjepart i Den Europæiske Union og i lande med identisk lovgivningsmæssig reguleringsordning (forordning 2017/746/EU om medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik); hvis der er sket en alvorlig hændelse under brugen af dette apparat eller som et resultat af dens anvendelse, skal du rapportere den til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og til din nationale myndighed.

Summary of Safety and Performance (Sammenfatning af Sikkerhed og Ydeevne) er tilgængeligt fra EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVISION AF:	Frigivelsesdato: August 2020

REVISION	**Udgivelsesdato**
AW	Maj 2022
Opdateringer for at sikre overholdelse af Beckman Coulters globale mærkningspolitik og overensstemmelse med IVD-R (EU)2017/746:	
Tilføjede afsnit	BSI 2797-nummer, Tilsigtet bruger, Klinisk relevans, Koncentration, Præcision, Nøjagtighed, Grænse for blank og detektionsgrænse, Yderligere oplysninger, Revisionshistorik.
Tilføjet information	Se afsnittet Begrænsninger
Opdatering af formulering eller typografi	Se afsnittene Procedure, Præstation, Begrænsninger, Advarsel og forholdsregler, Opbevaring og Holdbarhed.
Fjernede afsnit	Eksempel på klinisk anvendelse, Reagenser, Intra-laboratorie reproducerbarhed, Linearitet
Opdaterede afsnit	Tilsigtet brug, GHS-fareklassifikation, Tegn på forringelse, Procedure, Tillæg.

REVISION	**Udgivelsesdato**
AX	April 2023
Opdaterede afsnit	Kasakhisk er blevet tilføjet
Opdaterede afsnit	Opbevaring og holdbarhed

Revideret version	AY
Revisionsdato	Maj 2024
Opdaterede oversættelser	**Klinisk relevans:**
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Revideret version	AZ
Revisionsdato	Juli 2024
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Symbolnøgle

En ordliste over symboler findes på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Specifikationer
Specificitet	CD5
Klon	BL1a
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunglobulin	IgG2a
Arter	Mus
Rening	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molförhållande	FITC/Ig: 4,0-6,5
λ excitering	488 nm
Emissionstopp	525 nm
Buffert	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA och 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugerad antikropp CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

För *in vitro*-diagnostik

AVSEDD ANVÄNDNING

Denna fluorokromkonjugerade antikropp möjliggör kvalitativ och ej automatiserad identifiering av cellpopulationer som uttrycker CD5-antigenet som förekommer i humana biologiska prover med användning av flödescytometri (se avsnittet ”Prov” nedan).

PRINCIP

Detta test är baserat på förmågan hos specifika monoklonala antikroppar att bindas till de antigena determinanter som uttrycks av leukocyter.

Specifik färgning av leukocyterna utförs genom att inkubera provet med IOTest-reagenset. De röda cellerna avlägsnas sedan via lysering och leukocyterna, som inte påverkas av denna process, analyseras med flödescytometri.

Flödescytometern mäter ljusdiffusion och fluorescens av celler. Det möjliggör avgränsningen av populationen av intresse i det elektroniska fönstret definierat i ett histogram, som korrelerar den rätvinkliga ljusspridningen (sidospridning eller SS) och spridningen av snävt ljus (framåtspridning eller FS). Andra histogram som kombinerar två av de tillgängliga parametrarna på cytometern, kan användas som stöd i gating-skedet beroende på tillämpningen som användaren har valt.

Fluorescensen av de begränsade cellerna analyseras för att skilja ut positivt färgade händelser från ofärgade händelser. Resultaten uttrycks som en procentandel av positiva händelser i relation till alla händelser som samlats in med hjälp av gating.

AVSEDD ANVÄNDARE

Denna produkt är avsedd för yrkesmässig laboratorieanvändning.

KLINISK RELEVANS

CD5-FITC är en CD5-antikropp som används för att identifiera och egenskapsbestämma celler som uttrycker CD5-antigenen med hjälp av flödescytometri. Denna produkt kan inte och är inte avsedd för att ta fram en diagnostisk slutsats.

Vid användning i kombination med andra markörer kan denna produkt användas i en eller flera av följande funktioner:

- Som hjälp vid differentialdiagnostisering av hematologiskt onormala patienter som misstänks ha en hematopoetisk tumör eller för övervakning av patienter med känd hematopoetisk tumör.
- Som hjälp vid prognostisering av patienter med blodsjukdomar.

Se följande referenser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROV

Venblod måste tas i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant.

Proverna bör förvaras i rumstemperatur (18–25 °C) och inte skakas. Prover bör vara homogeniserade genom försiktig omrörning innan provet tas.

Proverna måste analyseras inom 24 timmar efter venpunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analyscertifikat på www.beckman.com.

VARNING OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Använd inte reagenset efter utgångsdatumet.
2. Får ej frysas.
3. Låt den komma till rumstemperatur (18–25 °C) före användning.
4. Minimera exponering för ljus.
5. Undvik mikrobiell kontaminering av reagens. Det kan leda till felaktiga resultat.
6. Antikroppslösningar som innehåller natriumazid (NaN_3) bör hanteras med försiktighet. Inta inte internt och undvik all kontakt med hud, slemhinnor och ögon.

I syramedium kan natriumazid dessutom bilda potentiellt farlig hydrazinsyra. Om reagensen måste kasseras rekommenderar vi att den späds ut med en stor volym vatten innan den hälls ut i avloppssystemet för att undvika explosionsrisk och att natriumazid ackumuleras i metallrören.

7. Alla blodprover måste betraktas som potentiellt smittsamma och ska hanteras med försiktighet (i synnerhet vad gäller användande av skyddshandskar, rockar och skyddsglasögon).
8. Pipettera aldrig med munnen och se till att proverna inte kommer i kontakt med hud, slemhinnor och ögon.
9. Blodprovsrör och engångsmaterial som används för hantering ska kasseras i särskilda behållare avsedda för förbränning.
10. Reagens och avfall ska kasseras i enlighet med lokala krav.

RISKKLASSIFICERING ENLIGT GHS

Ej klassat som farligt

SDS Säkerhetsdatablad finns tillgängligt på beckmancoulter.com/techdocs

FÖRVARING OCH STABILITET

Detta reagens måste hållas mellan 2 och 8 °C och skyddas mot ljus, före och efter att ampullen öppnats.

Hållbarhet för sluten ampull per stabilitetsstudie: 1095 dagar.

Stabilitet i öppen ampull: reagenset är stabilt i 180 dagar.

TECKEN PÅ FÖRSÄMRING

Alla förändringar i reagensens fysiska utseende kan indikera försämring och att reagenset inte ska användas.

För mer information eller om en skadad produkt tas emot, ring Beckman Coulter kundtjänst på 800-742-2345 (USA eller Kanada) eller kontakta din lokala Beckman Coulter-representant.

INNEHÅLL

Konserveringsmedlet natriumazid kan bilda explosiva föreningar i avloppsledningar av metall. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (76-8-16) (Bulletin från den amerikanska motsvarigheten till arbetsmiljöverket: Fara för azidexplosion).
För att undvika risken för ansamling av azidföreningar ska avloppsrören spolas igenom med vatten efter att outspädda reagenser har kasserats. Kassering av natriumazid måste ske i enlighet med tillämpliga lokala regler.

MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE FÖLJER MED KITET:

- Provrör och nödvändigt material för provtagning.
- Automatiska pipetter med engångsspetsar för 20, 100 och 500 µL.
- Hemolysrör av plast.
- Lyseringsreagens för röda blodceller med tvätt efter lyseringen. Till exempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens för leukocytfixering. Till exempel: IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800).
- Isotyp-kontroll FITC: IOTest-reagens (ref. A12689).
- Buffert (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Centrifugera.
- Automatisk omrörare (Vortex-typ).
- Flödescytometer.

PROCEDUR MED VERSALYSE-REAGENS

För varje analyserat prov kan förutom provröret ett kontrollprovrör läggas till i vilket cellerna blandas i närvaro av isotypkontrollerna (ref. A12689).

1. Tillsätt 20 µL av specifik IOTest-konjugerad antikropp till varje provrör och vid behov 20 µL av isotypkontroll till varje kontrollprovrör.
2. Tillsätt 100 µL av testprovet i varje provrör. Vortexblanda provrören försiktigt.
3. Inkubera i 15 till 20 minuter vid rumstemperatur (18–25 °C) och skyddat mot ljus.
4. Utför sedan lysering av de röda blodkropparna. Se bladet VersaLyse (ref. A09777) och följ företrädesvis proceduren som benämns ”med samtidig fixering”, som består av att tillsätta 1 mL av ”Fixera-och-lysera”-blandningen som beretts strax innan. Vortexblanda omedelbart i en sekund och inkubera i 10 minuter vid rumstemperatur och skyddat mot ljus.
5. Centrifugera i 5 minuter vid 150 x g vid rumstemperatur.
6. Avlägsna ytskiktet genom aspiration.
7. Återsuspendera cellpelleten med 3 mL PBS.
8. Upprepa steg 5.
9. Avlägsna ytskiktet genom aspiration och återsuspendera cellpelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL av PBS plus 0,1 % formaldehyd om preparaten är avsedda att förvaras mindre än 24 timmar. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan erhållas genom spädning av 12,5 µL av IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800) i dess 10X-koncentration i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS utan formaldehyd, om preparaten är avsedda att analyseras inom 2 timmar.

Anmärkning: Behåll i samtliga fall beredningarna vid 2 till 8 °C och skyddade från ljus.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

I våra laboratorier behandlades helblodsprov från 25 till synes friska donatorer med den reagens som beskrivs ovan. Erhållna resultat för antalet positiva händelser av intresse med denna reagens anges i tabellen nedan:

Positivt mål	Nummer	Medelvärde (%)	SD	CV (%)
Lymfocyter	25	71,12	10,38	14,60

Dessa värden är endast avsedda att vara representativa. Varje laboratorium ska fastställa sina egna förväntade värden utifrån den lokala populationen med normala donatorer.

PRESTANDA

Prestandadata erhålls med proceduren som beskrivs ovan på blodprov som är färskare än 24 timmar som tagits i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant. Analys utförs inom 2 timmar efter immunfärgning.

SPECIFICITET

CD5-molekylen uttrycks på ytan av mogna T-lymfocyter, av de flesta tymocyter och en undergrupp av B-lymfocyter (11,12,13). CD5 uttrycks i en delmängd av B-celler som utsöndrar IgM på grund av brist på enzymet terminal deoxinukleotidyltransferas (TdT) som ser ut att minska aktivering av BSR och därmed minska autoreaktivitet (autoimmun reaktion). Däremot uttrycker T-celler högre nivåer av CD5 än B-celler. CD5 uppregleras på T-celler vid stark aktivering. I tymus finns det en korrelation med CD5-uttryck och styrkan i T-cellens interaktion mot självpeptider. CD5-uttryck återfinns inte i granulocyter, monocyter och blodplättar (13). Den monoklonala antikroppen BL1a tilldelades till CD5 under 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3:e HLDA workshop om differentieringsantigener på humana leukocyter) som hölls i Oxford, England, 1986 (kod WS: 520, sektion T) (11,12).

PRECISION

Procentvärdet för positiva värden bestämdes med helblod. Varje prov kördes 4 gånger, två gånger om dagen under 1 dag på 2 instrument med 2 loter CD5-FITC monoklonala antikroppsreagens. Mätningar (% positiva) utfördes på Navios flödescytometer. Analys utfördes baserat på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Utvärdering av precisionsprestanda för kvantitativa mätmetoder).

Våra acceptanskriterier beror på antalet positiva händelser som uppmäts för varje population:

- Om positiv händelse < 1 500, CV < 15 %
- Om positiv händelse > 1 500, CV < 10 %

Lymfocyter							
Antal positiva händelse (medelvärde) = 1468							
	Mellan operatörer	Mellan cytometrar	Inom lot	Mellan loter	Mellan körningar	Inom körning	Totalt
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
RESULTAT	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NOGGRANNHET

Noggrannheten hos CD5-FITC bedömdes genom att jämföra resultaten med en referensreagens som predikat på en uppsättning helblodsprov körda på en Navios flödescytometer. Bias mellan test- och referensreagens bestämdes baserat på skillnaden mellan testresultat. Om bias ligger inom tillåtet felintervall eller p-värdet anger att det inte finns någon signifikant skillnad (> 0,05), så anses testresultaten för de två reagenserna vara likvärdiga.

Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell nedan:

Antal donatorer = 25				
Positivt mål	Medelvärde Δ	Δ % cellkriterier	p-värde	RESULTAT
Lymfocyter	0,73	<5	0,032	PASS

BLANKGRÄNS OCH DETEKTIONSGRÄNS

En studie genomfördes i enlighet med CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Utvärdering av detekteringsförmåga för kliniska laboratoriemätningsprocedurer). Detektionsgräns (LoD) är den lägsta analytkoncentrationen som konsekvent kan detekteras. Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell:

Positive Target	Blankgräns (cell/µL)	Detektionsgräns (cell/µL)
Lymfocyter	1	2

BEGRÄNSNINGAR

1. Flödescytometri kan ge falska resultat om cytometern inte har justerats perfekt, om fluorescensläckor inte har kompenserats korrekt och om regionerna inte har placerats noggrant.
2. Det är bäst att använda en RBC-lyseringsteknik med ett tvättsteg, eftersom denna reagens inte optimerats för lyseringstekniker ”utan tvätt”.
3. Noggranna och reproducerbara resultat kommer att erhållas så länge de förfaranden som används är i enlighet med den tekniska bipacksedeln och förenliga med god laboratoriepraxis.
4. Den konjugerade antikroppen för detta reagens är kalibrerad för att erbjuda det bästa specifik signal/icke-specifik signal-förhållandet. Därför är det viktigt att följa reagensvolym/provvolym-förhållandet i varje test.
5. Vid hyperleukocytos, späd blodet i PBS för att erhålla ett värde på cirka 5 x 10^9 leukocyter/L (14).
6. Vid vissa sjukdomstillstånd, såsom vid mycket svår njursvikt eller hemoglobinopatier, kan lysering av röda celler vara långsam, ofullständig eller till och med omöjlig. I detta fall är det rekommenderat att isolera mononukleära celler med användning av en densitetsgradient (till exempel Ficoll) innan färgningen (15).
7. Hos patienter som behandlas med anti-human monoklonala antikroppar kan detektering av de specifika eftersökta antigenerna minska eller utebli på grund av delvis eller fullständig blockering från behandlingens antikropp.
8. Resultat för CD5-FITC bör tolkas med tanke på patientens totala kliniska bild, inklusive: symptom, anamnes, information från övriga test och annan lämplig information.

Se bilagan för exempel och referenser.

VARUMÄRKEN

Beckman Coulter, den stiliserade logotypen och Beckman Coulters produkt- och tjänstmärken som nämns häri är varumärken eller registrerade varumärken som tillhör Beckman Coulter, Inc. i USA eller andra länder.

YTTERLIGARE INFORMATION

För en patient/användare/tredje part inom EU och i länder med identiskt regelsystem (förordning 2017/746/EU om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik); om, vid användning av denna enhet eller som ett resultat av dess användning, en allvarlig incident inträffat ska den rapporteras till tillverkaren och/eller till dess auktoriserade representant och till den nationella myndigheten.

Summary of Safety and Performance (Sammanfattning av säkerhet och prestanda) finns tillgänglig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVIDERING AF:	Publiceringsdatum: Augusti 2020

REVISION	**Publiceringsdatum**
AW	Maj 2022
Uppdateringar för att uppfylla Beckman Coulter globala etiketteringspolicy och kraven i IVD-R (EU)2017/746:	
Tillagda avsnitt	BSI 2797 Nummer, Avsedd användare, Klinisk relevans, Koncentration, Precision, Noggrannhet, Blankgräns och detektionsgräns, Ytterligare information, Revisionshistorik.
Tillagd information	Se avsnittet Begränsningar
Ordval eller typografiska uppdateringar	Se avsnitten Procedur, Prestanda, Begränsningar, Varningar och försiktighetsåtgärder, Förvaring och stabilitet.
Borttagna avsnitt	Exempel på kliniska tillämpningar, Reagens, Reproducerbarhet inom laboratorium, Linearitet
Uppdaterade avsnitt	Avsedd användning, Faroklassificering enligt GHS, Tecken på försämring, Procedur, Bilaga.

REVISION	**Publiceringsdatum**
AX	April 2023
Uppdaterade avsnitt	Lägg till kazakiska
Uppdaterade avsnitt	Förvaring och hållbarhet

Reviderad version	AY
Datum för revidering	Maj 2024
Uppdaterade översättningar	**Klinisk relevans:**
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Reviderad version	AZ
Datum för revidering	Juli 2024
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Teckenförklaring för symboler

Ordlista för symboler finns på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Spesifikasjoner
Spesifisitet	CD5
Klon	BL1a
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobulin	IgG2a
Art	Mus
Rensing	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molart forhold	FITC/Ig: 4,0-6,5
λ-eksitasjon	488 nm
Strålingstopp	525 nm
Buffer	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/mL BSA og 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugert antistoff CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

For *in vitro*-diagnostisk bruk

TILTENKT BRUK

Dette fluorokromkonjugerte antistoffet muliggjør kvalitativ og ikke-automatisert identifisering av cellepopulasjoner som uttrykker CD5-antigenet som finnes i humane biologiske prøver, ved hjelp av flowcytometri (se avsnittet «Prøver» nedenfor).

PRINSIPP

Denne testen er basert på evnen spesifikke monoklonale antistoffer har til å binde seg til antigendeterminantene uttrykt av leukocytter.

Spesifikk farging av leukocyttene utføres ved inkubering av prøven med IOTest-reagenset. De røde cellene fjernes deretter ved lysering, og leukocyttene, som er uberørt av denne prosessen, analyseres ved flowcytometri.

Flytcytometeret måler lysdiffusjon og cellenes fluorescens. Det gjør det mulig å avgrense populasjonen som skal undersøkes innenfor det elektroniske vinduet som er definert på et histogram, og som korrelerer den ortogonale lysspredningen (sidespredning eller SS) og spredningen av trangvinklet lys (foroverpredning eller FS). Andre histogrammer som kombinerer to av de ulike parametrene på cytometeret kan brukes som støtte ved gatingstadiet, avhengig av programmet som velges av brukeren.

Fluorescensen i de avgrensede cellene analyseres for å skille de positivt fargede hendelsene fra de ufargede. Resultatene er uttrykt som en prosentandel positive hendelser i forhold til alle hendelser innhentet ved gatingen.

TILTENKT BRUKER

Dette produktet skal brukes av profesjonelle brukere på laboratorier.

KLINISK RELEVANS

CD5-FITC er et CD5-antistoff som brukes til å identifisere og karakterisere celler som uttrykker CD5-antigenet, ved hjelp av flowcytometri. Dette produktet alene kan ikke og er ikke ment å generere en diagnostisk konklusjon.

Når dette produktet brukes i kombinasjon med andre markører, kan det brukes i én eller flere av følgende funksjoner:

- For å bistå ved differensialdiagnostisering av hematologisk unormale pasienter med mistenkt hematopoietisk neoplasi og følge opp pasienter med kjent hematopoietisk neoplasi.
- For å bidra ved prognostisering av pasienter med hematopoietisk neoplasi.

Se følgende referanser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PRØVER

Veneblod må tas ved bruk av sterile rør som inneholder EDTA-salt som antikoagulant.

Prøvene skal oppbevares i romtemperatur (18–25 °C) og ikke ristes. Prøvene skal homogeniseres ved forsiktig risting før du tar testprøven.

Prøvene må analyseres innen 24 timer etter venepunksjon.

KONSENTRASJON

Se lot-spesifikt analysesertifikat på www.beckman.com.

ADVARSEL OG FORHOLDSREGLER

1. Reagenset må ikke brukes etter utløpsdatoen.
2. Må ikke fryses.
3. La det nå romtemperatur (18–25 °C) før bruk.
4. Bør ikke utsettes for lys.
5. Unngå mikrobiell kontaminering av reagensene, ellers kan det gi feil resultater.
6. Antistoffløsninger som inneholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsiktighet. Ikke til innvortes bruk. Unngå all kontakt med hud, slimhinner og øyne.

Videre kan natriumazid i et syremedium danne potensielt farlig hydrogenazid. Hvis reagenset må kasseres, anbefales det at det fortynnes i store mengder vann før det tømmes i avløpssystemet, slik at man unngår opphopning av natriumazid i metallrør, og for å hindre eksplosjonsfare.

7. Alle blodprøver må betraktes som potensielt smittefarlige og må håndteres med forsiktighet (gjelder spesielt: bruk av vernehansker, laboratoriefrakk og vernebriller).
8. Pipetter aldri med munnen, og unngå at prøvene kommer i kontakt med huden, slimhinnene og øynene.
9. Blodprøverør og engangsmateriale som brukes til håndtering, skal kastes i beholdere beregnet for forbrenning.
10. Reagenser og avfall skal kastes i henhold til lokale krav.

GHS-FAREKLASSIFISERING

Ikke klassifisert som farlig

SDS Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPPBEVARING OG STABILITET

Dette reagenset må oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttes mot lys før og etter at flasken er åpnet.

Holdbarhet i lukket flaske ifølge stabilitetsstudie: 1095 dager.

Stabilitet for åpnet flaske: reagenset er stabilt i 180 dager.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Endringer i reagensenes fysiske utseende kan være tegn på redusert kvalitet, og slike reagenser skal ikke brukes.

For ytterligere informasjon eller hvis produktet mottas skadet, kan Beckman Coulter kundeservice 800-742-2345 (USA og Canada) eller den lokale Beckman Coulter-representanten kontaktes.

INNHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive blandinger i metalliske avløpsrør. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Fare for eksplosive azider) (16.8.76). For å unngå mulig opphopning av azidforbindelser må avløpsrør skylles med vann etter avhending av ufortynnet reagens. Avfallshåndtering av natriumazid må skje i samsvar med relevante lokale forskrifter.

NØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE FØLGER MED SETTET:

- Prøvetakingsrør og materiale nødvendig for prøvetaking.
- Automatiske pipetter med engangsspisser til 20, 100 og 500 µL.
- Hemolyserør av plast.
- Rød cellelyseringsreagens med vasketrinn etter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Leukocytt-fikseringsreagens. For eksempel: IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800).
- -isotypekontroll FITC: IOTest-reagens (ref. A12689).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Sentrifuger.
- Automatisk omrører (vortekstype).
- Flytcytometer.

PROSEDYRE MED VERSALYSE-REAGENS

For hver prøve som analyseres, kan det i tillegg til testrøret legges til ett kontrollrør hvor cellene er blandet med tilstedeværelse av isotypekontrollen (ref. A12689).

1. Tilsett 20 µL spesifikt IOTest-konjugert antistoff i hvert testrør og ved behov 20 µL av isotypekontrollen i hvert kontrollrør.
2. Tilsett 100 µL av testprøven i hvert rør. Vorteks rørene forsiktig.
3. Inkuber i 15 til 20 minutter ved romtemperatur (18–25 °C), beskyttet mot lys.
4. Utfør deretter lysering av de røde blodcellene. Les brosjyren VersaLyse (ref. A09777), og prøv å følge prosedyren kalt «with concomitant fixation» (med samtidig fiksering) som består av å tilsette 1 mL av «fikserings- og lyseringsblandingen» som klargjøres prompte. Bland på vorteksmikser umiddelbart i ett sekund, og inkuber i 10 minutter ved romtemperatur, beskyttet mot lys.
5. Sentrifugeres i 5 minutter ved 150 x g ved romtemperatur.
6. Fjern supernatanten ved aspirasjon.
7. Resuspender cellepelleten i 3 mL PBS.
8. Gjenta trinn 5.
9. Fjern supernatanten ved aspirasjon, og resuspender cellepelleten ved hjelp av:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS pluss 0,1 % formaldehyd hvis preparatene skal oppbevares i mindre enn 24 timer. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan oppnås ved å fortynne 12,5 µL IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800) ved 10X konsentrasjon i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uten formaldehyd hvis preparatene skal analyseres innen 2 timer.

Merk: I alle tilfeller skal preparatene oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttet mot lys.

FORVENTEDE VERDIER

I våre laboratorier ble fullblodsprøvene fra 25 tilsynelatende friske donorer behandlet med reagenset beskrevet over. Resultatene som ble oppnådd for telling av de aktuelle positive hendelsene med dette reagenset, er angitt i tabellen nedenfor:

Positivt mål	Nummer	Gjennomsnitt (%)	SD	VK (%)
Lymfocytter	25	71,12	10,38	14,60

Disse verdiene er bare representative. Hvert enkelt laboratorium bør fastsette egne forventede verdier ut fra den lokale populasjon av normaldonorer.

YTELSE

Ytelsesdata er fremskaffet ved bruk av prosedyren som er beskrevet ovenfor på mindre enn 24 timer gamle blodprøver som tidligere er samlet i sterile rør med EDTA-salt som antikoagulant. Analysen utføres innen 2 timer etter immunfarging.

SPESIFISITET

CD5-molekylet uttrykkes på overflaten av modne T-lymfocytter, av flertallet av thymocytter og av en underpopulasjon av B-lymfocytter (11,12,13). CD5 uttrykkes i en undergruppe av IgM-utskillende B-celler på grunn av mangel på enzymet terminal deoksynukleotidyltransferase (TdT) som synes å redusere aktiveringen av BSR og derfor redusere autoreaktivitet (autoimmunreaksjon). Tvert imot uttrykker T-celler høyere nivåer av CD5 enn B-celler. CD5 er oppregulert på T-celler ved sterk aktivering. I thymus er det en korrelasjon med CD5-uttrykk og styrken av interaksjonen av T-cellen mot selvpeptider. CD5-uttrykk er ikke blitt funnet i granulocytter, monocytter og blodplater (13). Det monoklonale antistoffet BL1a ble tildelt til CD5 under 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3. HLDA-workshop for humane leukocyttdifferenseringsantigener), avholdt i Oxford, England, i 1986 (kode WS: 520, avsnitt T) (11,12).

PRESISJON

Prosentandelen positive verdier ble bestemt med fullblod. Hver prøve ble kjørt 4 ganger, to ganger om dagen i 1 dag på 2 instrumenter med 2 partier CD5-FITC monoklonale antistoffreagenser. Målinger (% positiv) ble foretatt på et Navios-flytcytometer. Analysen ble utført basert på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering av presisjonsytelse ved kvantitative målemetoder).

Våre godkjenningskriterier er avhengige av antall positive hendelser som måles for hver populasjon:

- Hvis positiv hendelse < 1 500, VK < 15 %
- Hvis positiv hendelse > 1 500, VK < 10 %

Lymfocytter							
Antall positive hendelser (gjennomsnitt) = 1468							
	Mellom operatører	Mellom cytometere	Innenfor samme lot	Mellom loter	Mellom kjøringer	Innenfor samme kjøring	Total
VK (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØYAKTIGHET

Nøyaktigheten til CD5-FITC ble vurdert ved å sammenligne resultatene med et referansereagens som predikatet på et sett med fullblodsprøver kjørt på et Navios-flytcytometer. Skjevheten mellom test- og referansereagens ble bestemt basert på forskjellen mellom testresultater. Hvis skjevheten er innenfor det tillatte feilområdet eller p-verdien angir ingen vesentlig forskjell (> 0,05), anses testresultatene for de to reagensene som tilsvarende.

De oppnådde resultatene er oppsummert i den følgende tabellen:

Antall donorer = 25				
Positivt mål	Gjennomsnittlig Δ	Δ % cellekriterier	p-verdi	RESULTATER
Lymfocytter	0,73	<5	0,032	PASS

GRENSE FOR BLANKPRØVE OG DETEKSJONSGRENSE

En studie ble gjennomført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering av deteksjonsevne for måleprosedyrer på kliniske laboratorier). Deteksjonsgrensen (LOD) er den laveste analyttkonsentrasjonen som kan detekteres konsekvent. Resultatene som ble oppnådd, er oppsummert i tabellen nedenfor:

Positive Target	Grense for blankprøve (celle/µL)	Deteksjonsgrense (celle/µL)
Lymfocytter	1	2

BEGRENSNINGER

1. Flowcytometri kan gi falske resultater hvis cytometeret ikke har blitt justert nøyaktig, hvis fluorescenslekkasjer ikke er kompensert riktig, og hvis regionene ikke er nøye plassert.
2. Det er best å bruke en RBC-lyseringsteknikk med et vasketrinn, ettersom dette reagenset ikke er optimert for lyseringsteknikker uten vask.
3. Nøyaktige og reproduserbare resultater vil oppnås så lenge de anvendte prosedyrene er i samsvar med det tekniske pakningsvedlegget og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerte antistoffet til dette reagenset er kalibrert for å oppnå best mulig forhold mellom spesifikt signal og ikke-spesifikt signal. Derfor er det viktig å overholde forholdet mellom reagensvolum og prøvevolum i hver test.
5. Ved hyperleukocytose fortynnes blodet i PBS for å oppnå en verdi på omtrent 5 x 10^9 leukocytter/L (14).
6. Ved visse sykdomstilstander, for eksempel alvorlig nyresvikt eller hemoglobinopatier, kan lyseringen av røde celler være langsom, ufullstendig eller til og med umulig. I dette tilfellet anbefales det å isolere mononukleærerte celler ved hjelp av en densitetsgradient (for eksempel Ficoll) før farging (15).
7. Hos pasienter som behandles med antihumane, monoklonale antistoffbehandlinger, kan deteksjon av bestemte målantigener reduseres eller være fraværende på grunn av delvis eller fullstendig blokkering av det terapeutiske antistoffet.
8. CD5-FITC-resultatene skal tolkes i lys av den totale kliniske vurderingen av pasienten, inkludert: symptomer, klinisk historie, data fra flere tester og annen aktuell informasjon.

Se vedlegget for eksempler og referanser.

VAREMERKER

Beckman Coulter, den stiliserte logoen og vare- og servicemerkene til Beckman Coulter som er omtalt her, er varemerker eller registrerte varemerker som tilhører Beckman Coulter, Inc. i USA og andre land.

TILLEGGSINFORMASJON

For pasient/bruker/tredjepart i EU og land med identisk regelverk (EUs forordning nr. 2017/746 om in vitro-diagnostisk medisinsk utstyr); hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av dette utstyret, eller som et resultat av bruken, skal dette rapporteres til produsenten og/eller den autoriserte representanten samt til nasjonal myndighet.

Summary of Safety and Performance (Sammendrag av sikkerhet og ytelse) er tilgjengelig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISJONSHISTORIE

REVISJON AF:	Utgivelsesdato: August 2020

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AW	Mai 2022
Oppdateringer skal overholde de globale merkingsreglene til Beckman Coulter og være i samsvar med krav iht. IVD-R (EU)2017/746:	
Innsatte avsnitt	BSI 2797-nummer, Tiltenkt bruker, Klinisk relevans, Konsentrasjon, Presisjon, Nøyaktighet, Grense for blankprøve og deteksjonsgrense, Tilleggsinformasjon, Revisjonshistorie.
Innsatt informasjon	Se avsnittet Begrensninger
Oppdatering av formulering eller typografi	Se avsnittene Prosedyre, Ytelse, Begrensninger, Advarsler og forholdsregler, Oppbevaring og stabilitet.
Fjernede avsnitt	Eksempel på kliniske bruksområder, Reagenser, Reproduserbarhet innenfor samme laboratorium, Linearitet
Oppdaterte avsnitt	Tiltenkt bruk, GHS-fareklassifisering, Tegn på nedbryting, Prosedyre, Vedlegg.

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AX	april 2023
Oppdaterte avsnitt	Lagt til kasakhisk
Oppdaterte avsnitt	Oppbevaring og stabilitet

Revidert versjon	AY
Revisjonsdato	mai 2024
Oppdatert oversettelser	**Klinisk relevans:**
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Revidert versjon	AZ
Revisjonsdato	juli 2024
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Symbolforklaring

Symbolordliste er tilgjengelig på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Tekniset tiedot
Spesifisyys	CD5
Klooni	BL1a
Hybridooma	SP2/0 x balb/c
Immunogeeni	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobuliini	IgG2a
Lajit	Hiiri
Puhdistus	Affiniteettikromatografia
Fluorokromi	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Moolisuhde	FITC/Ig: 4,0-6,5
λ-viritys	488 nm
Säteilyhuippu	525 nm
Puskuri	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA:ta ja 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugoitunut vasta-aine CD5-FITC

REF A08932 100 testiä; 2 ml, 20 µl / testi

Diagnostiseen *In Vitro* -käyttöön

KÄYTTÖTARKOITUS

Tämän fluorokromikonjugoidun vasta-aineen avulla voidaan kvalitatiivisesti ja muilla kuin automaattisilla tavoilla tunnistaa solupopulaatioita, jotka ilmentävät ihmisen biologisissa näytteissä esiintyvää CD5-antigeeniä virtaussytometriaa käyttämällä (katso jäljempää kohta Näytteet).

PERIAATE

Testi perustuu tiettyjen monoklonaalisten vasta-aineiden kykyyn sitoutua leukosyyttien ilmentämiin antigeenideterminantteihin.

Leukosyyttien spesifinen värjäys tehdään inkuboimalla näyte IOTest-reagenssilla. Punasolut poistetaan sen jälkeen lyysaamalla, ja leukosyytit, joihin tämä prosessi ei vaikuta, analysoidaan virtaussytometrialla.

Virtaussytometri mittaa valonhajontaa ja solujen fluoresenssia. Sen avulla on mahdollista rajata kiinnostuksen kohteena olevan populaatio pylväskaavioon määritetyssä elektronisessa ikkunassa, jossa ortogonaalinen valonhajonta (sivusironta eli SS) vastaa kapean kulman valonhajontaa (eteenpäinsironta eli FS). Muita sytometrin kahta eri parametria yhdistäviä pylväskaavioita voidaan käyttää rajaamisvaiheen tukena käyttäjän valitseman sovelluksen mukaan.

Rajattujen solujen fluoresenssi analysoidaan, jotta positiivisesti värjäytyneet tapahtumat voidaan erottaa värjäytymättömistä tapahtumista. Tulokset ilmaistaan positiivisten tapahtumien prosenttimääränä suhteessa kaikkiin rajauksella kerättyihin tapahtumiin.

AIOTTU KÄYTTÄJÄ

Tämä tuote on tarkoitettu ammattimaiseen laboratoriokäyttöön.

KLIININEN RELEVANSSI

CD5-FITC on CD5-vasta-aine, jonka avulla tunnistetaan ja karakterisoidaan CD5-antigeenia ilmentävät solut virtaussytometrialla. Tämä tuote yksinään ei voi eikä sen ole tarkoitus tuottaa mitään diagnostisia johtopäätöksiä.

Kun sitä käytetään yhdessä muiden merkkiaineiden kanssa, tuotetta voidaan käyttää yhteen tai useaan seuraavista toiminnoista:

- Erotusdiagnostiikan tueksi hematologisesti poikkeavilla potilailla, joilla epäillään olevan hematopoieettisia kasvaimia, ja sellaisten potilaiden seurantaan, joilla tiedetään olevan hematopoieettisia kasvaimia.
- Avuksi ennusteen tekemiseen potilaista, joilla on hematopoieettinen neoplasma.

Katso seuraavat viitteet:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

NÄYTTEET

Laskimoverinäytteet on otettava käyttäen steriilejä putkia, joissa on antikoagulanttina EDTA-suolaa.

Näytteet on säilytettävä huoneenlämmössä (18–25 °C), eikä niitä saa ravistaa. Näytteet on homogenoitava sekoittamalla hellävaraisesti ennen testinäytteen ottamista.

Näytteet on analysoitava 24 tunnin sisällä laskimopunktiosta.

PITOISUUS

Katso eräkohtainen analyysitodistus osoitteesta www.beckman.com.

VAROITUS JA VAROTOIMET

1. Älä käytä reagenssia viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
2. Ei saa jäätyä.
3. Anna sen lämmetä huoneenlämpöiseksi (18–25 °C) ennen käyttöä.
4. Minimoi altistuminen valolle.
5. Vältä reagenssien mikrobikontaminaatiota, muutoin vaarana ovat virheelliset tulokset.
6. Natriumatsidia (NaN_3) sisältäviä vasta-aineliuoksia tulee käsitellä varoen. Sitä ei saa niellä, ja sen joutumista iholle, limakalvoille ja silmiin on vältettävä.

Lisäksi happamassa liuoksessa natriumatsidi voi muodostaa mahdollisesti vaarallista hydratsoehappoa. Jos reagenssi on hävitettävä, se on suositeltavaa laimentaa suureen vesimäärään ennen sen kaatamista viemäriin, jotta natriumatsidia ei pääse kertymään metalliputkiin ja vältetään räjähdysvaara.

7. Kaikkia verinäytteitä on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina, ja niitä on käsiteltävä varovaisesti (erityisesti on muistettava suojakäsineiden, -pukujen ja -lasien käyttö).
8. Älä koskaan pipetoi suulla ja vältä näytteiden kaikkea kosketusta ihoon, limakalvoihin ja silmiin.
9. Veriputket ja käsittelyyn käytetyt kertakäyttöiset materiaalit on hävitettävä poltettaviksi tarkoitetuissa ad hoc -astioissa.
10. Reagenssit ja jätteet on hävitettävä paikallisten vaatimusten mukaisesti.

GHS-VAARALUOKITUS

Ei luokiteltu vaaralliseksi

SDS Käyttöturvallisuustiedote on saatavana osoitteessa beckmancoulter.com/techdocs

SÄILYTYS JA STABILITEETTI

Tätä reagensseja on säilytettävä 2–8 °C:n lämpötilassa ja suojattava valolta ennen ampullin avaamista ja sen jälkeen.

Suljetun ampullin säilyvyysaika stabiliteettitutkimuksen mukaan: 1095 päivää.

Avatun ampullin stabiliteetti: reagenssi on stabiili 180 päivän ajan.

MERKIT PILAANTUMISESTA

Mahdolliset muutokset reagenssin fyysisessä ulkonäössä voivat viitata huonontumiseen, eikä reagenssia saa tällöin käyttää.

Jos tarvitset lisätietoja tai jos sait vahingoittuneen tuotteen, soita Beckman Coulter -asiakaspalveluun numeroon 800 742 2345 (USA ja Kanada) tai ota yhteyttä Beckman Coulterin paikalliseen edustajaan.

SISÄLTÖ

Natriumatsidi-säilöntäaine saattaa muodostaa räjähtäviä yhdisteitä metallisissa viemäriputkissa. Katso NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.08.1976). Huuhtele viemäriputket vedellä laimentamattoman reagenssin poiston jälkeen mahdollisen atsidiyhdisteiden kerääntymisen estämiseksi. Hävitä natriumatsidi asianmukaisten paikallismääräysten mukaisesti.

TARVITTAVAT MATERIAALIT, JOITA EI TOIMITETA SARJAN MUKANA:

- Näytteenottoon tarvittavat näytteenottoputket ja materiaalit.
- Automaattiset pipetit, joissa kertakäyttökärjet 20, 100 ja 500 µl.
- Muoviset hemolyysiputket.
- Punasolujen lyysireagenssi ja pesuvaihe lyysin jälkeen. Esimerkiksi: VersaLyse (viite A09777).
- Leukosyyttien kiinnitysreagenssi. Esimerkiksi: IOTest 3 -fiksatiiviliuos (viite A07800).
- Isotyyppinen kontrolli FITC: IOTest-reagenssi (viite A12689).
- Puskuri (PBS: 0,01 M natriumfosfaattia, 0,145 M natriumkloridia, pH 7,2).
- Sentrifugi.
- Automaattinen sekoitin (Vortex-/pyörretyyppinen).
- Virtaussytometri.

VERSALYSE-REAGENSSIN MENETTELY

Jokaiselle analysoidulle näytteelle voidaan lisätä testiputken lisäksi yksi kontrolliputki, jossa solut sekoitetaan käyttämällä isotyyppistä kontrollia (ref. A12689).

1. Lisää 20 µl spesifisiä IOTest-konjugoituja vasta-aineita jokaiseen testiputkeen ja tarvittaessa 20 µl isotyyppistä kontrollia jokaiseen kontrolliputkeen.
2. Lisää 100 µl testinäytettä kuhunkin putkeen. Sekoita putkia vorteksilla varovaisesti.
3. Inkuboi 15–20 minuuttia huoneenlämmössä (18–25 °C), valolta suojattuna.
4. Tee sitten punasolujen lyysaus. Tutustu VersaLyse (viite A09777) -selosteeseen ja noudata mieluiten menettelyä, jonka nimessä on maininta ”rinnakkaiskiinnityksen kanssa” ja johon sisältyy ohje lisätä 1 ml kiinnitys- ja lyysiseosta, joka on valmistettu kyseistä tapausta varten. Sekoita välittömästi vorteksilla yhden sekunnin ajan ja inkuboi 10 minuuttia huoneenlämmössä, valolta suojattuna.
5. Sentrifugoi 150 x g 5 minuutin ajan huoneenlämmössä.
6. Poista supernatantti aspiroimalla.
7. Suspendoi solupelletti uudelleen käyttämällä 3 ml PBS:ää.
8. Toista vaihe 5.
9. Poista supernatantti aspiroimalla ja suspendoi solupelletti käyttämällä:

- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää plus 0,1 % formaldehydiä, jos valmisteet aiotaan säilyttää alle 24 tuntia. (0,1 % formaldehydiä sisältävä PBS saadaan laimentamalla 12,5 µl IOTest 3 -fiksatiiviliuosta (viite A07800) sen 10-kertaisella pitoisuudella 1 ml:aan PBS:ää).
- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää ilman formaldehydiä, jos valmisteet tullaan analysoimaan 2 tunnin sisällä.

Huomautus: Pidä valmisteet kaikissa tapauksissa 2–8 °C:n lämpötilassa ja valolta suojattuna.

ODOTETUT ARVOT

Laboratorioissamme 25 ilmeisesti terveen luovuttajan kokoverinäytteet käsiteltiin edellä kuvatulla reagenssilla. Seuraavassa taulukossa esitetään tällä reagenssilla saadut tulokset, kun kiinnostuksen kohteena olleet positiiviset tapahtumat laskettiin:

Positiivinen kohde	Lukumäärä	Keskiarvo (%)	SD	CV (%)
Lymfosyytit	25	71,12	10,38	14,60

Nämä arvot on tarkoitettu vain esimerkeiksi. Jokaisen laboratorion tulee luoda omat odotetut arvonsa paikallisen normaalien luovuttajien populaation mukaan.

SUORITUSKYKY

Suorituskykytiedot saadaan edellä kuvatulla menetelmällä käyttämällä alle 24 tunnin ikäisistä näytteistä, jotka on aiemmin kerätty steriileihin putkiin, joissa antikoagulanttina on EDTA-suola. Analyysi suoritetaan 2 tunnin kuluessa immunovärjäyksestä.

SPESIFISYYS

CD5-molekyyliä ilmennetään kypsien T-lymfosyyttien pinnalla, useimmissa tymosyyteissä ja B-lymfosyyttien alipopulaatiossa (11,12,13). CD5-antigeeniä ilmennetään IgM:ää erittävien B-solujen alijoukossa entsyymiterminaalisen deoksinukleotiditransferaasin (TdT) puuttumisen vuoksi, mikä vaikuttaa lieventävän BSR-solujen aktivointia ja näin ollen vähentää autoreaktiivisuutta (autoimmuunireaktio). Sitä vastoin T-solut ilmentävät korkeampia CD5-pitoisuuksia kuin B-solut. CD5:n määrä lisääntyy T-soluissa voimakkaan aktivoinnin yhteydessä. Kateenkorvassa CD5:n ilmentäminen korreloi T-solujen omapeptideihin kohdistuvan vuorovaikutuksen voimakkuuden kanssa. CD5-antigeeniä ei ilmennetä granulosyyteissä, monosyyteissä ja verihiutaleissa (13). Monoklonaalinen vasta-aine BL1a määritettiin kuuluvaksi ryhmään CD5 kolmannessa ihmisleukosyyttien differentiaatioantigeenejä käsitelleessä seminaarissa (Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens, HLDA), joka pidettiin Oxfordissa, Englannissa, vuonna 1986 (WS-koodi: 520, kohta T) (11,12).

TARKKUUS

Prosentuaaliset positiiviset arvot määritettiin käyttämällä kokoverta. Jokainen näyte käsiteltiin 4 kertaa, kahdesti päivässä päivänä 1 2 laitteessa käyttämällä 2 erää CD5-FITC monoklonaalisia vasta-ainereagensseja. Mittaukset (% positiivisia) tehtiin Navios-virtaussytometrillä. Analyysi tehtiin perustuen CLSI:n menetelmään EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivisten mittausmenetelmien tarkkuussuorituskyvyn arviointi).

Hyväksyntäkriteerimme on riippuvainen kussakin populaatiossa mitattujen positiivisten tapahtumien määrästä:

- Jos tapahtuma on positiivinen < 1 500, CV < 15 %
- Jos tapahtuma on positiivinen > 1 500, CV < 10 %

Lymfosyytit							
Positiivisten näytteiden lukumäärä (keskiarvo) = 1468							
	Käyttäjien välinen	Sytometrin sisäinen	Erän sisäinen	Erien välinen	Ajojen välinen	Ajon sisäinen	Yhteensä
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
TULOKSET	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ULKOINEN TARKKUUS

Kohteen CD5-FITC tarkkuus arvioitiin vertaamalla tuloksia viitereagenssiin, joka toimi Navios-virtaussytometrilla käsitellyn kokoverinäytesarjan predikaattina. Testireagenssin ja vertailureagenssin välinen poikkeama määritettiin testitulosten välisen eron perusteella. Jos poikkeama on sallitun virhealueen rajoissa tai p-arvo ei osoita merkityksellistä eroa (> 0,05), näiden kahden reagenssin testituloksia pidetään vastaavina.

Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Luovuttajien määrä = 25				
Positiivinen kohde	Keskiarvo Δ	Δ % -solukriteeri	p-arvo	TULOKSET
Lymfosyytit	0,73	<5	0,032	PASS

NOLLAMITTAUKSEN YLÄRAJA JA MITTAUKSEN ALARAJA

Tutkimus tehtiin CLSI EP17-A2:n mukaisesti, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Detektiokyvyn arviointi kliinisissä laboratoriomittausmenettelyissä). Mittauksen alaraja (LoD) on analyytin alhaisin pitoisuus, joka voidaan havaita johdonmukaisesti. Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Positive Target	Nollamittauksen yläraja (solu/µl)	Mittauksen alaraja (solu/µl)
Lymfosyytit	1	2

RAJOITUKSET

1. Virtaussytometrialla saadut tulokset voivat olla virheellisiä, jos sytometri on kohdistettu epätarkasti, jos fluoresenssivuotoja ei ole kompensoitu oikein ja jos alueita ei ole sijoitettu tarkasti.
2. On suositeltavaa käyttää punasolujen lyysaukseen pesuvaiheen sisältävää tekniikkaa, koska tätä reagenssia ei ole optimoitu lyysaustekniikoille, joihin ei sisälly pesua.
3. Tulokset oivat tarkkoja ja toistettavissa, kunhan käytetyt menetelmät ovat teknisen selosteen mukaisia ja noudattavat hyviä laboratoriokäytäntöjä.
4. Tämän reagenssin konjugoitu vasta-aine kalibroidaan siten, että saadaan paras spesifisen signaalin ja epäspesifisen signaalin suhde. Siksi on tärkeää noudattaa reagenssin tilavuuden / näytteen suhdetta jokaisessa testissä.
5. Jos kyseessä on hyperleukosytoosi, laimenna veri PBS:ään siten, että saat arvoksi noin 5 x 10^9 leukosyyttiä/l (14).
6. Tietyissä sairaustiloissa, kuten vaikeassa munuaisten vajaatoiminnassa tai hemoglobinopatioissa, punasolujen hajoaminen voi olla hidasta, epätäydellistä tai jopa mahdotonta. Tässä tapauksessa yksitumaiset solut on suositeltavaa eristää käyttämällä tiheysgradienttia (esimerkiksi Ficoll) ennen värjäystä (15).
7. Potilailla, joita on hoidettu muun kuin ihmisen monoklonaalisilla vasta-aineilla, kohdeantigeenin havaitseminen voi heikentyä tai estyä osittain tai kokonaan hoidossa käytetyn vasta-aineen vaikutuksesta.
8. CD5-FITC-tulosten tulkinnassa on otettava huomioon potilaan kaikki kliiniset tiedot, mukaan lukien oireet, kliininen historia, lisätestien tiedot ja muut asianmukaiset tiedot.

Katso esimerkkejä ja viitteitä liitteestä.

TAVARAMERKIT

Beckman Coulter, tyylitelty logo ja tässä mainitut Beckman Coulter -tuotteiden ja palveluiden merkit ovat Beckman Coulter, Inc:in tavaramerkkejä tai rekisteröityjä tavaramerkkejä Yhdysvalloissa ja muissa maissa.

LISÄTIETOJA

Potilaalle / käyttäjälle / kolmannelle osapuolelle Euroopan unionin alueella ja maissa, joissa on samanlainen sääntelyjärjestelmä (in vitro -diagnostiikkaan tarkoitettuja lääkinnällisiä laitteita koskeva asetus 2017/746/EU): jos tämän laitteen käytön aikana tai sen käytön seurauksena on tapahtunut vakava tapahtuma, ilmoita siitä valmistajalle ja/tai valmistajan valtuutetulle edustajalle sekä kansalliselle viranomaiselle.

Turvallisuutta ja suorituskykyä koskeva yhteenveto on saatavilla EUDAMED-tietokannasta osoitteesta ec.europa.eu/tools/eudamed.

TARKISTUSHISTORIA

VERSIO AF:	Julkaisupäivä: Elokuu 2020

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AW	Toukokuu 2022
Päivitetty noudattamaan Beckman Coulterin maailmanlaajuista merkintämenettelyä ja IVD-R (EU)2017/746 -standardin vaatimuksia:	
Lisätyt osat	BSI 2797 -numero, Käyttötarkoituksen mukainen käyttäjä, Kliininen relevanssi, Pitoisuus, Tarkkuus, Ulkoinen tarkkuus, Nollamittauksen yläraja ja mittauksen alaraja, Lisätietoja, Tarkistushistoria.
Lisätyt tiedot	Katso kohta Rajoitukset
Sanamuodot tai typografiset päivitykset	Katso kohdat Menettely, Suorituskyky, Rajoitukset, Varoitus ja varotoimet, Säilytys ja stabiliteetti.
Poistetut osat	Esimerkki kliinisistä käyttötarkoituksista, Reagenssit, Laboratorionsisäinen toistettavuus, Lineaarisuus
Päivitetyt osat	Käyttötarkoitus, GHS-vaaraluokitus, Merkit pilaantumisesta, Menettely, Liite.

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AX	Huhtikuu 2023
Päivitetyt osat	Lisää kazakki
Päivitetyt osat	Säilytys ja stabiliteetti

Tarkistettu versio	AY
Tarkistuksen päivämäärä	Toukokuu 2024
Päivitetyt käännökset	**Kliininen merkitys:**
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Tarkistettu versio	AZ
Tarkistuksen päivämäärä	Heinäkuu 2024
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Symboliluettelo

Symbolisanasto on saatavana osoitteessa beckman.com/techdocs (asiakirjan numero B60062)

	Προδιαγραφές
Ειδικότητα	CD5
Κλώνος	BL1a
Υβρίδωμα	SP2/0 x balb/c
Ανοσογόνο	Lymphocytes from human thoracic duct
Ανοσοσφαιρίνη	IgG2a
Είδος	Μυς
Κάθαρση	Χρωματογραφία συγγένειας
Φθορόχρωμα	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Γραμμομοριακή αναλογία	FITC/Ig: 4,0-6,5
διέγερση λ	488 nm
Μέγιστη τιμή εκπομπών	525 nm
Ρυθμιστικό Διάλυμα	PBS pH 7,2 συν 2 mg/mL BSA και 0,1% NaN_3

IOTest
Συζευγμένο αντίσωμα
CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20 µL/εξέταση

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Αυτό το συζευγμένο με φθοροχρώματα αντίσωμα επιτρέπει την ποιοτική και μη αυτοματοποιημένη ταυτοποίηση των κυτταρικών πληθυσμών που εκφράζουν το αντιγόνο CD5 που απαντάται σε ανθρώπινα βιολογικά δείγματα, με χρήση κυτταρομετρίας ροής (δείτε την παρακάτω ενότητα «Δείγματα»).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Αυτή η εξέταση βασίζεται στην ικανότητα συγκεκριμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων να δεσμεύονται στους αντιγονικούς καθοριστές που εκφράζονται από τα λευκοκύτταρα.

Η ειδική χρώση των λευκοκυττάρων πραγματοποιείται μέσω της επώασης του δείγματος με το αντιδραστήριο IOTest. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια αφαιρούνται στη συνέχεια με λύση και τα λευκοκύτταρα, τα οποία δεν επηρεάζονται από αυτήν τη διαδικασία, αναλύονται με κυτταρομετρία ροής.

Το κυτταρόμετρο ροής μετρά τη διάχυση φωτός και τον φθορισμό των κυττάρων. Καθιστά δυνατή την οριοθέτηση του πληθυσμού ενδιαφέροντος εντός του ηλεκτρονικού παραθύρου που ορίζεται σε ένα ιστόγραμμα, το οποίο συσχετίζει την ορθογώνια διάχυση φωτός (πλάγια σκέδαση ή SS) και τη διάχυση φωτός κλειστής γωνίας (πρόσθια σκέδαση ή FS). Άλλα ιστογράμματα που συνδυάζουν δύο από τις διαθέσιμες διαφορετικές παραμέτρους του κυτταρόμετρου μπορούν να χρησιμοποιηθούν υποστηρικτικά κατά το στάδιο της οριοθέτησης, ανάλογα με την εφαρμογή που επιλέγει ο χρήστης.

Ο φθορισμός των οριοθετημένων κυττάρων αναλύεται προκειμένου να είναι δυνατή η διάκριση μεταξύ των θετικά σημασμένων συμβάντων και των μη σημασμένων συμβάντων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ποσοστό των θετικών συμβάντων σε σχέση με το σύνολο των συμβάντων που ελήφθησαν από την οριοθέτηση.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΟΣ ΧΡΗΣΤΗΣ

Αυτό το προϊόν προορίζεται για επαγγελματική εργαστηριακή χρήση.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΝΑΦΕΙΑ

Το CD5-FITC είναι ένα αντίσωμα CD5 που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό κυττάρων που εκφράζουν το αντιγόνο CD5 με κυτταρομετρία ροής. Αυτό το προϊόν από μόνο του δεν μπορεί να παράγει οποιοδήποτε διαγνωστικό συμπέρασμα και δεν προορίζεται για αυτήν τη χρήση.

Όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλους δείκτες, αυτό το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μία ή περισσότερες από τις ακόλουθες λειτουργίες:

- Ως βοήθημα στη διαφορική διάγνωση μη φυσιολογικών αιματολογικά ασθενών με υποψία αιμοποιητικής νεοπλασίας και για την παρακολούθηση ασθενών με γνωστή αιμοποιητική νεοπλασία.
- Ως βοήθημα στην πρόγνωση ασθενών με αιμοποιητική νεοπλασία.

Δείτε τις ακόλουθες παραπομπές:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Τα δείγματα φλεβικού αίματος πρέπει να διατηρούνται σε αποστειρωμένα σωληνάρια που περιέχουν άλας EDTA ως αντιπηκτικό.

Τα δείγματα θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) και δεν θα πρέπει να ανακινούνται. Πριν από τη λήψη του δείγματος προς εξέταση, τα δείγματα πρέπει να ομογενοποιούνται με ήπια ανάδευση.

Τα δείγματα πρέπει να αναλύονται εντός 24 ωρών από τη φλεβοκέντηση.

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ

Δείτε το ειδικό για την παρτίδα πιστοποιητικό ανάλυσης στη διεύθυνση www.beckman.com.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

1. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης.
2. Μην καταψύχετε.
3. Αφήστε το να περιέλθει σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) πριν από τη χρήση.
4. Ελαχιστοποιήστε την έκθεση στο φως.
5. Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διαφορετικά ενδέχεται να προκύψουν ψευδή αποτελέσματα.

6. Να χειρίζεστε τα διαλύματα αντισωμάτων που περιέχουν αζίδιο του νατρίου (NaN_3) με προσοχή. Μην εισπνέετε και αποφεύγετε κάθε επαφή με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.

   Επιπλέον, σε όξινο μέσο, το αζίδιο του νατρίου μπορεί να σχηματίσει ένα δυνητικά επικίνδυνο υδραζωτικό οξύ. Αν χρειαστεί να απορριφθεί, συνιστάται η αραίωση του αντιδραστηρίου με μεγάλη ποσότητα νερού πριν από την έκχυση στο αποχετευτικό σύστημα, προκειμένου να αποφευχθεί η συσσώρευση αζιδίου του νατρίου στις μεταλλικές σωληνώσεις και να αποτραπεί ο κίνδυνος έκρηξης.
7. Πρέπει να θεωρείτε όλα τα δείγματα αίματος δυνητικά μολυσματικά και να τα χειρίζεστε με προσοχή (ειδικότερα: να φοράτε προστατευτικά γάντια, ποδιές και γυαλιά).
8. Μην χρησιμοποιείτε ποτέ πιπέτα με το στόμα και αποφεύγετε κάθε επαφή των δειγμάτων με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.
9. Τα σωληνάρια αίματος και το υλικό μίας χρήσης που χρησιμοποιούνται για τον χειρισμό πρέπει να απορρίπτονται σε ειδικά δοχεία που προορίζονται για αποτέφρωση.
10. Τα αντιδραστήρια και τα απόβλητα πρέπει να απομακρύνονται σύμφωνα με τις τοπικές απαιτήσεις.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ GHS

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο

SDS Το δελτίο δεδομένων ασφάλειας διατίθεται στη διεύθυνση beckmancoulter.com/techdocs

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Πρέπει να φυλάσσετε αυτό το αντιδραστήριο σε θερμοκρασία 2 έως 8 °C και να το προστατεύετε από το φως πριν και μετά το άνοιγμα του φιαλιδίου.

Διάρκεια ζωής κλειστού φιαλιδίου ανά μελέτη σταθερότητας: 1095 ημέρες.

Σταθερότητα ανοιχτού φιαλιδίου: το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό για 180 ημέρες.

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ

Οποιαδήποτε μεταβολή στην εμφάνιση των αντιδραστηρίων είναι πιθανό να υποδεικνύει αλλοίωση και το αντιδραστήριο δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται.

Για επιπλέον πληροφορίες ή σε περίπτωση παραλαβής ελαττωματικού προϊόντος, επικοινωνήστε με την υπηρεσία εξυπηρέτησης πελατών της Beckman Coulter στο 800-742-2345 (για ΗΠΑ και Καναδά) ή με τον τοπικό αντιπρόσωπο της Beckman Coulter.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Το συντηρητικό αζιδίου του νατρίου μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικές ενώσεις στους μεταλλικούς αποχετευτικούς αγωγούς. Δείτε το ενημερωτικό δελτίο του NIOSH: Explosive Azide Hazard (Κίνδυνος έκρηξης αζιδίου) (16/8/76)
Για να αποφύγετε την ενδεχόμενη συσσώρευση ενώσεων αζιδίου, να εκπλένετε τους σωλήνες αποβλήτων με νερό μετά την απόρριψη μη αραιωμένου αντιδραστηρίου. Η απόρριψη του αζιδίου του νατρίου πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους αντίστοιχους τοπικούς κανονισμούς.

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ KIT:

- Σωλήνες δειγματοληψίας και υλικό που είναι απαραίτητο για τη δειγματοληψία.
- Αυτόματες πιπέτες με ρύγχη μιας χρήσης για 20, 100 και 500 µL.
- Πλαστικά σωληνάρια αιμόλυσης.
- Αντιδραστήριο λύσης ερυθροκυττάρων με στάδιο πλύσης μετά τη λύση. Για παράδειγμα: VersaLyse (Ref. A09777).
- Αντιδραστήριο μονιμοποίησης λευκοκυττάρων. Για παράδειγμα: Διάλυμα μονιμοποίησης IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ισοτυπικός μάρτυρας FITC: Αντιδραστήριο IOTest (Ref. A12689).
- Ρυθμιστικό διάλυμα (PBS: 0,01 M φωσφορικό νάτριο, 0,145 M χλωριούχο νάτριο, pH 7,2).
- Φυγόκεντρος.
- Αυτόματος αναδευτήρας (τύπου περιδίνησης).
- Κυτταρόμετρο ροής.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ VERSALYSE

Για κάθε δείγμα που αναλύεται, εκτός του σωληναρίου εξέτασης, μπορεί να προστεθεί ένα σωληνάριο μάρτυρα μέσα στο οποίο αναμειγνύονται τα κύτταρα παρουσία του ισοτυπικού μάρτυρα (Ref. A12689).

1. Προσθέστε 20 µL ειδικού συζευγμένου αντισώματος IOTest σε κάθε δοκιμαστικό σωληνάριο και, εάν απαιτείται, 20 µL του ισοτυπικού μάρτυρα σε κάθε σωληνάριο μάρτυρα.
2. Προσθέστε 100 µL του αναλυόμενου δείγματος σε κάθε σωληνάριο. Περιδινήστε απαλά τα σωληνάρια.
3. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) για 15 έως 20 λεπτά, προστατεύοντας από το φως.
4. Στη συνέχεια, πραγματοποιήστε λύση των ερυθροκυττάρων. Ανατρέξτε στο φύλλο οδηγιών του VersaLyse (Ref. A09777) και ακολουθήστε κατά προτίμηση τη διαδικασία «με ταυτόχρονη μονιμοποίηση», που περιλαμβάνει την προσθήκη 1 mL μείγματος «μονιμοποίησης και λύσης», το οποίο παρασκευάστηκε πρόχειρα. Περιδινήστε αμέσως επί ένα δευτερόλεπτο και επωάστε επί 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, προστατεύοντας από το φως.
5. Φυγοκεντρήστε για 5 λεπτά στα 150 x g σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση.
7. Πραγματοποιήστε επαναιώρηση του κυτταρικού ιζήματος με 3 mL PBS.
8. Επαναλάβετε το βήμα 5.
9. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση και επαναιωρήστε το κυτταρικό ίζημα με:

- 0,5 mL ή 1 mL PBS συν 0,1% φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να φυλαχθούν για λιγότερο από 24 ώρες. (Μπορείτε να παρασκευάσετε διάλυμα 0,1% φορμαλδεΰδης/PBS με αραίωση 12,5 μL του μονιμοποιητικού διαλύματος IOTest 3 (Ref. A07800) 10πλάσιας συγκέντρωσης σε 1 mL PBS).
- 0,5 mL ή 1 mL PBS χωρίς φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να αναλυθούν εντός 2 ωρών.

Σημείωση: Σε κάθε περίπτωση, φυλάσσετε τα παρασκευάσματα προστατευμένα από το φως, σε θερμοκρασία μεταξύ 2 και 8 °C.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Στα εργαστήριά μας, τα δείγματα ολικού αίματος από 25 φαινομενικά υγιείς δότες υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με χρήση του αντιδραστηρίου που περιγράφεται παραπάνω. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν για την καταμέτρηση των θετικών συμβάντων ενδιαφέροντος με αυτό το αντιδραστήριο παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

Θετικός στόχος	Αριθμός	Μέση τιμή (%)	SD	CV (%)
Λεμφοκύτταρα	25	71,12	10,38	14,60

Οι τιμές αυτές παρέχονται αποκλειστικά για ενδεικτικούς σκοπούς. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να ορίσει τις δικές του αναμενόμενες τιμές βάσει του τοπικού πληθυσμού των φυσιολογικών δοτών.

ΑΠΟΔΟΣΗ

Τα δεδομένα απόδοσης λαμβάνονται με χρήση της διαδικασίας που περιγράφηκε παραπάνω σε δείγματα αίματος ηλικίας μικρότερης των 24 ωρών που συλλέχθηκαν προηγουμένως σε αποστειρωμένα σωληνάρια με άλας EDTA ως αντιπηκτικό. Η ανάλυση εκτελείται εντός 2 ωρών από την ανοσοχρώση.

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Το μόριο CD5 εκφράζεται στην επιφάνεια των ώριμων Τ λεμφοκυττάρων από τα περισσότερα θυμοκύτταρα και από έναν υποπληθυσμό των Β λεμφοκυττάρων (11,12,13). Το CD5 εκφράζεται σε μια υποομάδα Β κυττάρων που εκκρίνουν IgM, λόγω έλλειψης του ενζύμου τελική δεοξυνουκλεοτιδυλοτρανσφεράση (TdT) που φαίνεται ότι περιορίζει την ενεργοποίηση της BSR και κατά συνέπεια ελαττώνει την αυτοαντιδραστικότητα (αυτοάνοση αντίδραση). Τα Τ κύτταρα, αντιθέτως, εκφράζουν υψηλότερα επίπεδα CD5 από τα Β κύτταρα. Η έκφραση του CD5 από τα Τ κύτταρα αυξάνεται μετά από ισχυρή ενεργοποίηση. Στον θύμο αδένα παρατηρείται συσχέτιση της έκφρασης του CD5 με την ένταση της αλληλεπίδρασης των Τ κυττάρων με τα ίδια πεπτίδια. Έκφραση του CD5 δεν παρατηρείται στα κοκκιοκύτταρα, τα μονοκύτταρα και τα αιμοπετάλια (13). Το μονοκλωνικό αντίσωμα BL1a αντιστοιχίστηκε στο CD5 κατά τη διάρκεια του 3ου συνεδρίου HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Συνάντηση εργασίας για τα αντιγόνα διαφοροποίησης των ανθρώπινων λευκοκυττάρων), που πραγματοποιήθηκε στην Οξφόρδη του Ηνωμένου Βασιλείου το 1986 (Κώδικας WS: 520, ενότητα Τ) (11,12).

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Οι ποσοστιαίες θετικές τιμές προσδιορίστηκαν με χρήση ολικού αίματος. Κάθε δείγμα αναλύθηκε 4 φορές, δύο φορές την ημέρα για 1 ημέρα σε 2 όργανα με χρήση 2 παρτίδων αντιδραστηρίων μονοκλωνικού αντισώματος CD5-FITC. Οι μετρήσεις (% θετικών) πραγματοποιήθηκαν σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με βάση τη μέθοδο CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Αξιολόγηση της απόδοσης ακρίβειας για μεθόδους ποσοτικής μέτρησης).

Τα κριτήρια έγκρισης εξαρτώνται από τον αριθμό των θετικών συμβάντων που μετρώνται για κάθε πληθυσμό:

- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος <1.500, <15% CV
- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος >1.500, <10% CV

Λεμφοκύτταρα							
Αριθμός θετικών συμβάντων (μέσος όρος) = 1468							
	Μεταξύ χειριστών	Μεταξύ κυτταρόμετρων	Εντός παρτίδας	Μεταξύ παρτίδων	Μεταξύ αναλύσεων	Εντός ανάλυσης	Σύνολο
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ακρίβεια του CD5-FITC αξιολογήθηκε με σύγκριση των αποτελεσμάτων με ένα αντιδραστήριο αναφοράς ως μέσο πρόγνωσης, σε ένα σύνολο δειγμάτων ολικού αίματος που αναλύθηκε σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Το συστηματικό σφάλμα μεταξύ εξέτασης και αντιδραστηρίου αναφοράς προσδιορίστηκε με βάση τη διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δοκιμής. Εάν το συστηματικό σφάλμα βρίσκεται εντός του επιτρεπόμενου εύρους σφαλμάτων ή η τιμή p δεν υποδεικνύει καμία σημαντική διαφορά (>0,05), τα αποτελέσματα δοκιμών για τα δύο αντιδραστήρια θεωρούνται ισοδύναμα.

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον πίνακα που ακολουθεί:

Αριθμός δοτών = 25				
Θετικός στόχος	Μέση τιμή Δ	Κριτήρια κυττάρων Δ %	Τιμή p	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
Λεμφοκύτταρα	0,73	<5	0,032	PASS

ΟΡΙΟ ΤΥΦΛΟΥ ΚΑΙ ΟΡΙΟ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

Διεξήχθη μια μελέτη με βάση τις οδηγίες του CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Αξιολόγηση της ικανότητας ανίχνευσης για διαδικασίες μέτρησης κλινικών εργαστηρίων). Το όριο ανίχνευσης (ΟΑ) είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση αναλυόμενης ουσίας που μπορεί να ανιχνευτεί σταθερά. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Positive Target	Όριο τυφλού (κύτταρο/μL)	Όριο ανίχνευσης (κύτταρο/μL)
Λεμφοκύτταρα	1	2

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Η κυτταρομετρία ροής ενδέχεται να παράγει ψευδή αποτελέσματα αν το κυτταρόμετρο δεν είναι σωστά ευθυγραμμισμένο, αν οι διαρροές φθορισμού δεν έχουν αντισταθμιστεί σωστά και αν οι περιοχές δεν έχουν τοποθετηθεί προσεκτικά.
2. Η τεχνική λύσης RBC είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται με ένα βήμα πλύσης, καθώς το συγκεκριμένο αντιδραστήριο δεν έχει βελτιστοποιηθεί για τεχνικές λύσης «χωρίς πλύση».

3. Ακριβή και επαναλήψιμα αποτελέσματα προκύπτουν στο μέτρο που οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι σύμφωνες με το ένθετο τεχνικών οδηγιών και συμβατές με τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές.
4. Το συζευγμένο αντίσωμα αυτού του αντιδραστηρίου είναι βαθμονομημένο ώστε να προσφέρει την καλύτερη αναλογία ειδικής σήμανσης/μη ειδικής σήμανσης. Γι' αυτό είναι σημαντικό να τηρείτε την αναλογία όγκου αντιδραστηρίου/όγκου δείγματος σε κάθε εξέταση.
5. Σε περίπτωση υπερλευκοκυττάρωσης, αραιώστε το αίμα σε PBS ώστε να επιτευχθεί τιμή περίπου 5 x 10^9 λευκοκύτταρα/L (14).
6. Σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις, όπως η σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια ή οι αιμοσφαιρινοπάθειες, η λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων ενδέχεται να είναι αργή, ατελής ή και ανέφικτη. Σε αυτήν την περίπτωση, συνιστάται η απομόνωση των μονοπύρηνων κυττάρων με διαβάθμιση πυκνότητας (για παράδειγμα Ficoll) πριν από τη χρώση (15).
7. Σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπείες με αντι-ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα, η ανίχνευση των ειδικών στοχευόμενων αντιγόνων ενδέχεται να είναι μειωμένη ή να απουσιάζει λόγω μερικού ή πλήρους αποκλεισμού από το θεραπευτικό αντίσωμα.
8. Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων του CD5-FITC θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η συνολική κλινική εικόνα του ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων των συμπτωμάτων, του κλινικού ιστορικού, των δεδομένων πρόσθετων εξετάσεων και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Δείτε το Παράρτημα για παραδείγματα και παραπομπές.

ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ

Η επωνυμία Beckman Coulter, το τυποποιημένο λογότυπο και τα σήματα προϊόντων και υπηρεσιών της Beckman Coulter που αναφέρονται στο παρόν είναι εμπορικά σήματα ή σήματα κατατεθέντα της Beckman Coulter, Inc. στις Ηνωμένες Πολιτείες και σε άλλες χώρες.

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Για ασθενή/χρήστη/τρίτους στην Ευρωπαϊκή Ένωση και σε χώρες με όμοιο ρυθμιστικό καθεστώς (Οδηγία 2017/746/ΕΕ σχετικά με τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα), εάν, κατά τη χρήση αυτής της συσκευής ή ως αποτέλεσμα της χρήσης της, προκύψει σοβαρό περιστατικό, πρέπει να το αναφέρετε στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στις εθνικές αρχές της χώρας στην οποία κατοικείτε.

Το Summary of Safety and Performance (Σύνοψη ασφάλειας και απόδοσης) είναι διαθέσιμο στη βάση δεδομένων EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΕΩΝ

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ AF:	Ημερομηνία έκδοσης: Αύγουστος 2020

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AW	2022. május
Ενημερώσεις για την επίτευξη συμμόρφωσης με την παγκόσμια πολιτική σήμανσης της Beckman Coulter και σύμφωνα με τις απαιτήσεις IVD-R (ΕΕ)2017/746:	
Προσθήκη ενοτήτων	Αριθμός BSI 2797, προβλεπόμενος χρήστης, κλινική συνάφεια, συγκέντρωση, πιστότητα, ακρίβεια, όριο τυφλού και όριο ανίχνευσης, πρόσθετες πληροφορίες, ιστορικό αναθεωρήσεων.
Προσθήκη πληροφοριών	Δείτε τις ενότητες «Περιορισμοί»
Εκφραστικές ή τυπογραφικές ενημερώσεις	Δείτε τις ενότητες «Διαδικασία», «Απόδοση», «Περιορισμοί», «Προειδοποίηση και προφυλάξεις», «Αποθήκευση και σταθερότητα».
Αφαίρεση ενοτήτων	Παράδειγμα κλινικών εφαρμογών, αντιδραστήρια, διεργαστηριακή επαναληψιμότητα, γραμμικότητα
Ενημερωμένες ενότητες	Προβλεπόμενη χρήση, Ταξινόμηση επικινδυνότητας κατά GHS, Ενδείξεις αλλοίωσης, Διαδικασία, Παράρτημα.

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AX	Απρίλιος 2023
Ενημερωμένες ενότητες	Προσθήκη Καζακικών
Ενημερωμένες ενότητες	Φύλαξη και σταθερότητα

Αναθεωρημένη έκδοση	AY
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Μάιος 2024
Ενημέρωση μεταφράσεων	**Κλινική συνάφεια:**
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθεωρημένη έκδοση	AZ
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Ιούλιος 2024
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Υπόμνημα συμβόλων

Το γλωσσάριο συμβόλων είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση beckman.com/techdocs (αριθμός εγγράφου B60062)

	仕様
特異性	CD5
クローン	BL1a
ハイブリドーマ	SP2/0 x balb/c
免疫原	Lymphocytes from human thoracic duct
免疫グロブリン	IgG2a
動物種	マウス
精製	アフィニティークロマトグラフィー
蛍光色素	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
モル比	FITC / Ig： 4.0-6.5
λ励起	488 nm
発光のピーク	525 nm
緩衝化剤	PBS(pH 7.2) + 2 mg/mL BSAおよび0.1% NaN_3

IOTest

コンジュゲート抗体
CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20 µL/テスト

***体外*診断用医薬品**

用途

この蛍光色素結合抗体混合物により、フローサイトメトリーを用いてヒト生物検体に存在するCD5抗原を発現する細胞集団の定性的かつ非自動での同定が可能になります（以下の「検体」の項を参照）。

原理

このテストは、白血球が発現する抗原決定因子に対する特異的モノクローナル抗体の結合能に基づいています。

白血球の特異的染色は、検体をIOTest試薬とインキュベートすることによって行います。次に、赤血球を溶解によって除去し、このプロセスの影響を受けない白血球をフローサイトメトリーによって分析します。

フローサイトメーターは、細胞の光拡散および蛍光を測定します。これにより、直角散乱光（側方散乱、SS）および鋭角散乱光（前方散乱、FS）と相関するヒストグラム上で規定した電子枠内で対象集団の限界設定が可能になります。ユーザーが選択したアプリケーションに依存して、サイトメーターで利用可能な種々のパラメーターの2つを組み合わせたその他のヒストグラムが、ゲーティング段階の補助として利用できます。

陽性染色イベントと未染色イベントを鑑別するために、区分した細胞の蛍光を測定します。結果は、ゲーティングで得られた全イベントに対する陽性イベントの比率として表します。

対象ユーザー

本製品は、検査室での専門的な使用を目的としています。

臨床的妥当性

CD5-FITCは、フローサイトメトリーでCD5抗原を発現する細胞を同定および特性評価するために使用する抗体です。CD5この製品だけで診断の結論を下すことはできず、そのように意図されていません。

本製品は、他のマーカーと組み合わせて使用する場合、次の機能の1つまたは複数で使用できます。

- 造血系新生物が疑われる血液学的に異常な患者の鑑別診断を補助し、既知の造血系新生物を有する患者をモニタリングするため。
- 造血系新生物を有する患者の予後を支援するため。

以下の参考文献を参照してください。

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

検体

静脈血は、抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブを用いて採取しなければなりません。

検体は室温（18～25°C）で保管し、揺らさないようにする必要があります。検体は、テスト検体を採取する前に、穏やかな撹拌によって均質化する必要があります。

この検体は、静脈穿刺から24時間以内に分析する必要があります。

濃度

www.beckman.comでロット固有の分析証明書を参照してください。

警告および注意

1. 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
2. 凍結しないでください。
3. 使用前に室温（18～25°C）にしてください。
4. 露光をできるだけ避けてください。
5. 試薬の微生物汚染を避けてください。誤った結果の原因となる場合があります。
6. アジ化ナトリウム（NaN_3）を含む抗体溶液は慎重に扱う必要があります。体内に摂取してはならず、皮膚、粘膜および眼との接触はすべて避けてください。

また、酸性媒体では、アジ化ナトリウムから潜在的危険性のあるアジ化水素酸が生成されることがあります。アジ化ナトリウムを含む試薬を廃棄する必要がある場合、金属製のパイプにアジ化ナトリウムが蓄積しないように、また爆発の危険性を防ぐために、試薬を多量の水で希釈してから排水システムに廃棄することを推奨します。

7. すべての血液検体は感染性の可能性があるとみなして慎重に取り扱う必要があります（特に保護手袋、実験着、ゴーグルの着用）。
8. 絶対に口でピペットを吸わないでください。また、皮膚、粘膜、目に検体が接触しないようにしてください。
9. 使用済みの採血管およびディスポーザブル製品は、焼却用の専用容器に入れて廃棄してください。
10. 試薬や廃棄物は地方自治体の要件に従って廃棄してください。

GHSハザード分類

危険有害物質には分類されない

SDS　安全性データシートは、beckmancoulter.com/techdocsで入手できます。

保管および安定性

この試薬は、バイアル開封の前後に2～8℃で保管し、遮光する必要があります。

各安定性試験におけるクローズドバイアルの保存期間：1095日間

開封後のバイアル：試薬は180日間安定しています。

変質や劣化の兆候

試薬の物理的な外観の変化は劣化の徴候である場合があり、その試薬を使用してはなりません。

追加情報に関して、または損傷している製品をお受け取りになった場合、ベックマン・コールターのカスタマーサービス800-742-2345（米国またはカナダ）にお電話をくださるか、最寄りの代理店に連絡してください。

内容

保存剤のアジ化ナトリウムは、金属製排水管内で爆発性化合物を生成するおそれがあります。 NIOSH Bulletinを参照してください: アジド爆発危険性（76/8/16）
アジド化合物が蓄積する可能性を回避するため、未希釈の試薬を廃棄した後は排水管を水で洗い流します。アジ化ナトリウムは地方自治体の規定に従い適切に廃棄してください。

ご用意いただくもの:

- サンプリングに必要なサンプリングチューブと材料。
- 使い捨てチップ付き自動ピペット（100および500 µL用）。20
- プラスチックの溶血チューブ。
- 溶血処理後に洗浄操作した赤血球溶血試薬。例：VersaLyse（製品番号A09777）。
- 白血球固定試薬。例：IOTest 3固定液（製品番号A07800）。
- アイソタイプ対照FITC：IOTest試薬（製品番号A12689）。
- 緩衝化剤（PBS：0.01 Mリン酸ナトリウム、0.145 M塩化ナトリウム、pH 7.2）。
- 遠心機
- 自動アジテーター（ボルテックスタイプ）。
- フローサイトメーター

VERSALYSE試薬による手順

測定する各検体について、テストチューブのほか、アイソタイプ対照存在下で細胞を混合した対照チューブ1本を追加することができます（製品番号A12689）。

1. 各テストチューブに20 µLの特異的IOTest結合抗体を加え、必要に応じて20 µLのアイソタイプ対照を各対照チューブに加えます。
2. 各チューブに100 µLのテスト検体を添加します。チューブを穏やかに攪拌します。
3. 遮光した状態で、室温（18～25°C）で15～20分間インキュベートします。
4. 次に、赤血球の溶解を行います。VersaLyse(製品番号A09777)のリーフレットを参照し、できれば「同時固定」と呼ばれる手順に従います。この手順では、その場で調製した「固定/溶解」混合液1 mLを加えます。直ちに1秒間撹拌し、室温、遮光下で10分間インキュベートします。
5. 室温で5分間遠心分離（150 x g）します。
6. 吸引により上清を除去します。
7. 3 mLのPBSを用いて細胞ペレットを懸濁します。
8. ステップ5を繰り返します。
9. 吸引により上清を除去し、以下により細胞ペレットを再懸濁します。

- 調製液の保存期間が24時間未満の場合、ホルムアルデヒド0.1％を含むPBS 0.5 mLまたは1 mL。（0.1%ホルムアルデヒドを含むPBSは、12.5 µLの10倍濃度のIOTest 3固定液（製品番号A07800）を1 mLのPBSに希釈して作製できます）。
- 調製液を2時間以内に分析する場合、ホルムアルデヒドを含まないPBS 0.5 mLまたは1 mL。

注記：いかなる場合でも、調製液は2～8°Cに保ち、遮光してください。

期待値

弊社検査室では、上記の試薬を用いて見かけ上健常なドナー25名の全血検体を処理しました。本試薬による陽性イベント数測定で得た結果を以下の表に示します。

陽性標的細胞	番号	平均（%）	SD	CV（%）
リンパ球	25	71.12	10.38	14.60

これらの値は、代表的な値であることのみを意図しています。各検査室は、正常なドナーの現地の集団から独自の期待値を確立してください。

性能

性能データは、以前に抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブに採取した24時間未満経過した血液検体を対象に、上述の手順を用いて取得しなければなりません。分析は、免疫染色後2時間以内に行います。

特異性

CD5分子は、大部分の胸腺細胞およびBリンパ球の部分集団において、成熟Tリンパ球表面に発現しています（11、12、13）。CD5は、ターミナルデオキシヌクレオチジルトランスフェラーゼ（TdT）酵素の欠損に起因して、IgM分泌B細胞のサブセットにおいて発現し、BSRの活性化を緩和し、したがって自己反応性（自己免疫反応）を低減すると思われます。逆に、T細胞では、B細胞よりも高レベルのCD5が発現しています。CD5は、強力に活性化した際に、T細胞上で上方制御されます。胸腺中では、CD5発現とT細胞 - 自己ペプチド相互作用強度との間で相関関係が認められます。CD5の発現は、果粒球、単球、および血小板では認められません（13）。1986年に、英国のオックスフォードで開催された3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens（第3回ヒト白血球分化抗原に関するHLDAワークショップ）において、モノクロナール抗体BL1aが、CD5にアサインされました（WSコード：520、セクションT）（11、12）。

精密性

陽性値の割合は、全血を使用して決定しました。各検体について、2つの装置で各4回を1日に2回、2ロットのCD5-FITCモノクローナル抗体試薬を使用して測定しました。Naviosフローサイトメーターで測定（%陽性）しました。CLSIメソッドEP5-A2に基づいて分析しました。Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.（定量的測定メソッドの精密性性能の評価。）

当社の判定基準は、各集団について測定された陽性イベントの数によって異なります。

- 陽性イベント< 1,500の場合、CV< 15%
- 陽性イベント> 1,500の場合、CV< 10%

リンパ球							
陽性イベント数（平均）= 1468							
	オペレータ間	血球計算器間	ロット内	ロット間	測定間	測定内	総計
CV（%）	1.75	1.79	5.51	2.04	1.99	4.83	6.14
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

正確性

CD5-FITCの正確度は、一連の全血検体についてNaviosフローサイトメーターで測定した規準としての参照試薬と、結果を比較して評価しました。テスト試薬と参照試薬との間のバイアスは、テスト結果の差に基づいて決定しました。バイアスが許容誤差範囲内にある場合、またはp値が有意差を示さない場合（> 0.05）、2つの試薬のテスト結果は同等と見なされます。

得られた結果を、下表にまとめます。

ドナー数 = 25				
陽性標的細胞	平均Δ	Δ % 細胞基準	p値	結果
リンパ球	0.73	<5	0.032	PASS

ブランク上限と検出限界

試験は、CLSI EP17-A2、Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（臨床検査室測定手順の検出能力の評価）に基づいて実施されました。検出限界（LoD）とは、一貫して検出可能な分析物の最小濃度です。取得した結果は、下表に表示されています。

Positive Target	ブランク上限（細胞/µL）	検出限界（細胞/µL）
リンパ球	1	2

制限事項

1. フローサイトメトリーは、血球計数器が完全に配列されていない場合、蛍光リークが正しく相殺されていない場合、および領域が慎重に配置されていない場合、誤った結果を示す可能性があります。
2. この試薬は「洗浄なし」溶解手法用に最適化されていないため、洗浄ステップでRBC溶解法を使用することをお勧めします。
3. 取扱説明書および対応する検査室の実施基準に従って作業する限り、正確かつ再現性のある結果が得られます。
4. この試薬の結合抗体は、特異的シグナル/非特異的シグナル比が最適となるようにキャリブレーションされています。そのため、各テストでは、試薬量/検体量比を順守することが重要です。
5. 白血球増加症の場合、白血球数がおよそ5 x 10^9個/Lとなるよう、血液をPBSで希釈してください（14）。
6. 重度の腎不全やヘモグロビン異常など、特定の疾患状態では、赤血球の溶解が遅くなったり、不完全になったり、あるいは溶解できないことさえあります。この場合、染色する前に密度勾配（Ficollなど）を使用して単核細胞を分離することを推奨します（15）。
7. 抗ヒトモノクローナル抗体療法で治療を受けた患者では、治療用抗体による部分的または完全な遮断により、特定の標的抗原の検出が減少または消失する場合があります。
8. CD5-FITCの結果は、患者の総合的な臨床像、例えば諸症状、病歴、他のテストデータ、その他の該当情報などを踏まえて解釈する必要があります。

附録にある例および参考文献を参照してください。

商標

ここに記載されているBeckman Coulter、ロゴマーク、ならびにベックマン・コールターの製品およびサービスマークは、ベックマン・コールターの米国およびその他の国における商標と登録商標です。

その他

欧州連合、および規制制度が欧州連合と同一の国の患者/ユーザー/第三者（体外診断医療機器規制2017/746/EU）については、本機器の使用中または使用の結果、重大な事故が発生した場合、製造元および/または認定代理店ならびに所管の行政機関に報告してください。

「安全性および性能の概要」はEUDAMEDデータベース：ec.europa.eu/tools/eudamedより入手できます。

改訂履歴

改訂番号 AF：	公開日：2020年8月

改訂	**発行日**
AW	2022年5月
ベックマン・コールターのグローバルラベリングポリシーおよびIVD-R（EU）2017/746の要件に準拠するための更新：	
セクションの追加	BSI 2797番号、対象ユーザー、臨床関連性、濃度、精度、正確度、ブランク上限および検出限界、その他、改訂履歴。
情報を追加	「制限事項」のセクションを参照してください
言い回しまたはタイプミスの更新	「手順」、「性能」、「制限」、「警告および注意」、「保管および安定性」のセクションを参照してください。
セクションの削除	臨床応用の例、試薬、検査室内再現性、直線性
セクションの更新	用途、GHSハザード分類、変質や劣化の兆候、手順、附録。

改訂	**発行日**
AX	4月 2023
セクションの更新	カザフ語を追加
セクションの更新	コントロールの調製

改訂版	AY
改訂日	5月 2024
更新された翻訳	**臨床的妥当性：**
セクションの更新	保管および安定性

改訂版	AZ
改訂日	7月 2024
セクションの更新	保管および安定性

記号凡例

記号一覧は、beckman.com/techdocsで入手できます（文書番号B60062）

	规格
特异性	CD5
克隆	BL1a
杂交瘤	SP2/0 x balb/c
免疫原	Lymphocytes from human thoracic duct
免疫球蛋白	IgG2a
种类	小鼠
纯化	亲和色谱法
荧光染料	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
摩尔比率	FITC/Ig： 4.0-6.5
λ 激励	488 nm
辐射峰值	525 nm
缓冲液	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 和 0.1% NaN_3

IOTest
结合抗体
CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20 µL/测试

供体外 *诊断* 使用

预期用途

此种荧光染料结合抗体可通过流式细胞术对人体生物样本中存在的 CD5 抗原表达细胞群进行定性和非自动化鉴别（参阅下文“样本”部分）。

原理

该测试以特异性单克隆抗体能够与白细胞表达的抗原决定簇相结合这一特性为基础。

将样本与 IOTest 试剂一起培育，以便进行白细胞的特异性染色。然后通过裂解去除红细胞，再使用流式细胞术分析不受裂解过程影响的白细胞。

流式细胞仪可测定细胞的光漫射和荧光。这样可以限定直方图上定义的电子窗口内的感兴趣群体，直方图可以关联光的正交漫射（侧向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。细胞仪上可用的结合两个不同参数的其他直方图可以用于支持设门阶段，具体取决于用户所选的应用。

为了区分阳性染色事件和未染色事件，我们对划定细胞的荧光进行了分析。结果表示为阳性事件相对于设门获得的所有事件的百分比。

预期用户

本产品的预期用户为实验室专业人员。

临床意义

CD5-FITC 是一种 CD5 抗体，这些抗体用于通过流式细胞术鉴定和表征表达 CD5 抗原的细胞。单独使用此产品不能产生任何诊断结论，这也并非其预期用途。

与其他标志物结合使用时，本产品可用于以下一种或多种用途：

- 对疑似有造血系统肿瘤的血液学异常患者进行辅助鉴别诊断，并对已知患有造血系统肿瘤的患者进行监测。
- 辅助造血系统肿瘤患者的预后诊断。

参阅以下参考文献：

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

样本

必须使用含有 EDTA 盐作为抗凝血剂的无菌试管采集静脉血。

样本应保存在室温 (18-25°C) 条件下，并注意避免摇动。在吸取测试样本之前，应通过轻轻搅动使样本均质化。

样本必须在静脉采血后的 24 小时内分析。

浓度

请参阅 www.beckman.com 上的特定批次分析证书。

警告和注意事项

1. 请勿使用已过失效日期的试剂。
2. 切勿冷冻。
3. 使用前使其达到室温 (18–25°C)。
4. 尽量减少曝光。
5. 避免试剂受到微生物污染，否则可能出现错误结果。
6. 应小心处理含有叠氮化钠 (NaN_3) 的抗体溶液。请勿内服，并避免接触皮肤、粘膜和眼睛。

   此外，在中度酸性条件下，叠氮化钠可形成具有潜在危害的叠氮酸。若需要对其进行处置，建议您在将试剂倒入排污系统前用大量清水将其稀释，以避免叠氮化钠在金属管中累积并预防爆炸。
7. 所有血样都必须被视为具有潜在传染性，并且必须小心处理（具体地讲：穿戴防护手套、防护服和护目镜）。
8. 不得通过嘴巴移液，并避免样本以任何方式接触皮肤、黏膜和眼睛。

9. 用于处理的血液试管和一次性材料应丢弃于专门用于焚化的容器中。
10. 应根据当地要求处置试剂和废物。

GHS 危险等级分类

未被归为危险品

SDS 化学品安全技术说明书发布在 beckmancoulter.com/techdocs 上

存储和稳定性

在开瓶前后，必须将此试剂保存在 2-8°C 环境下，并注意避免光照。

根据稳定性研究的开封前保质期：1095 天。

已开瓶试剂的稳定性：试剂可稳定保存 180 天。

变质的迹象

试剂物理外观的任何变化都可能表明试剂变质，此时不应使用试剂。

有关其他信息，或者如果收到受损产品，请致电贝克曼库尔特公司客服：800-742-2345（美国或加拿大），或联系您当地的贝克曼库尔特代表。

目录

叠氮化钠防腐剂可在金属下水管道中形成易爆化合物。 请参阅 NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76)（美国国家职业安全与卫生研究所公报：易爆的叠氮化物危险品 [76/8/16]）。
为避免可能产生的叠氮化合物堆积，请在丢弃未经稀释的试剂后用水冲洗排污管。对叠氮化钠的丢弃必须符合当地的相关规定。

试剂盒中未提供的必需材料：

- 采样所需的采样管和材料。
- 可吸取 20100 和 500 µL 试剂的带有一次性吸头的自动移液器。
- 塑料溶血管。
- 红细胞溶解试剂在溶解后清洗。例如：VersaLyse（REF A09777）。
- 白细胞固定剂。例如：IOTest 3 固定剂（REF A07800）。
- 同型质控品 FITC：IOTest 试剂（REF A12689）。
- 缓冲液（PBS：0.01 M 磷酸钠；0.145 M 氯化钠；pH 7.2）。
- 离心处理。
- 自动搅动器（旋涡型）。
- 流式细胞仪。

VERSALYSE 试剂的使用程序

对于分析的每种样本，除使用分析测试试管外，还可增加一个质控品试管，以在其中混合细胞与同型质控品（REF A12689）。

1. 将 20 µL 特异性 IOTest 结合抗体添加到每个分析测试试管中，并视需要将 20 µL 同型质控品添加到每个质控品试管中。
2. 添加 100 µL 测试样本到每个试管中。轻轻摇动试管。
3. 在室温 (18–25°C) 下避光孵育 15-20 分钟。
4. 然后进行红细胞裂解。请参阅 VersaLyse（REF A09777）说明书，最好按照名为“同时固定”的程序实施：加入 1 mL 临时配制的“固定-裂解”混合液。立即摇动 1 秒，并在室温条件下培育 10 分钟，注意避光。
5. 在室温下以 150 x g 离心处理 5 分钟。
6. 通过吸样去除上层清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新悬浮细胞微粒。
8. 重复第 5 步。
9. 通过吸样去除上层清液并使用以下溶液重新悬浮细胞微粒：

- 0.5 mL 或 1 mL PBS 与 0.1% 甲醛，若备品的保存时间低于 24 小时。（可通过在 1 mL PBS 中稀释 10 倍浓度的 12.5 µL IOTest 3 固定剂 [REF A07800] 获取含 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 0.5 mL 或 1 mL PBS，无甲醛，若制剂将在 2 小时内分析。

注释：任何情况下，制备试剂均需在 2-8°C 下避光保存。

预计值

我们在实验室中采用上述试剂处理了 25 名表观健康供体的全血样本。使用该试剂进行阳性目标颗粒计数得到的结果如下表所示：

阳性目标	数量	平均值 (%)	标准差	CV (%)
淋巴细胞	25	71.12	10.38	14.60

这些值仅供参考。各实验室应通过当地正常供体群体确定自己的预期值。

性能

使用上文描述的程序，通过分析之前采集在无菌试管（含有 EDTA 盐作为抗凝血剂）中未达 24 小时的血液样本获得了性能数据。在免疫染色后的 2 小时内进行分析。

特异性

CD5 分子由大多数胸腺细胞和一部分 B 淋巴细胞在成熟 T 淋巴细胞表面表达 (11,12,13)。CD5 因缺乏末端脱氧核苷酸转移酶 (TdT) 而在一部分 IgM 分泌 B 细胞中表达，此举会降低 BSR 的活化，进而降低自身反应性（自身免疫反应）。相反，T 细胞比 B 细胞表达的 CD5 水平更高。强活化后，CD5 在 T 细胞上被上调。在胸腺中，CD5 表达与 T 细胞对自身肽的相互作用强度有关。粒细胞、单核细胞和血小板中未发现 CD5 表达 (13)。在 1986 年于英国牛津举办的 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens（第 3 届 HLDA 人类白细胞分化抗原会议）上，单克隆抗体 BL1a 被分配到 CD5（WS代码：520，T 部分）(11,12)。

精度

阳性百分比值用全血测定。每份样本使用 2 个批次的 CD5-FITC 单克隆抗体试剂，在 2 台仪器上运行 4 次，每天 2 次，持续 1 天。使用 Navios 流式细胞仪进行测量（阳性 %）。分析基于 CLSI method EP5-A2：Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：定量测量方法精度性能的评估）。

我们的接受限取决于针对每个群体所测得的阳性颗粒数：

- 如果阳性颗粒数 < 1,500，则 CV < 15%
- 如果阳性颗粒数 > 1,500，则 CV < 10%

淋巴细胞							
阳性颗粒数（平均值） = 1468							
	操作人员间	细胞仪间	批次内	批次间	运行间	运行内	总数
CV (%)	1.75	1.79	5.51	2.04	1.99	4.83	6.14
结果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

准确性

评估 CD5-FITC 的准确性的方法为：将其与参考试剂分别应用于一组全血样本，然后用 Navios 流式细胞仪进行检测，之后比较结果。该测试与参考试剂之间的偏差根据测试结果的差异而确定。如果偏差在允许的错误范围内，或者 p 值没有显著差异 (> 0.05)，则认为这两种试剂的测试结果是等效的。

所得结果如下表所示：

献血人次 = 25				
阳性目标	平均值 Δ	Δ % 细胞标准	p 值	结果
淋巴细胞	0.73	<5	0.032	PASS

空白检测限和检测限

研究人员根据 CLSI EP17-A2 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2 临床实验室测量程序检测能力的评估）进行了一项研究。检测限 (LOD) 指可被一致检出的最低分析物浓度。所得结果如下表所示：

Positive Target	空白检测限（个细胞/µL）	检测限（个细胞/µL）
淋巴细胞	1	2

限制

1. 若流式细胞术未完全校准、荧光泄漏未得到正确补偿或未在该区域谨慎定位，则流式细胞术可能会产生错误结果。
2. 最好使用包含洗涤步骤的 RBC 裂解技术，因为该试剂未针对“无洗涤”裂解技术进行优化。
3. 只要所使用的程序符合技术插页说明书并遵守实验室管理规范，就可以获得准确和可重现的结果。
4. 校准该试剂的结合抗体，以提供最佳的特异性信号/非特异性信号比率。因此，在每次测试中都务必遵从此试剂体积/样本体积比率。
5. 如果白细胞过多，请在 PBS 中稀释血液，使白细胞浓度降低到约 5 x 10^9 个/L (14)。
6. 在严重肾衰竭、血红蛋白病等特定疾病状态中，红细胞裂解会变得缓慢、不完全，甚至无法实现。在这种情况下，建议在染色前通过密度梯度（例如聚蔗糖）隔离单核细胞 (15)。
7. 接受抗人单克隆抗体治疗的患者可能会因治疗抗体的部分或完全阻断而难以或无法检测特定的靶抗原。
8. 在判读 CD5-FITC 结果时，需参照患者的整体临床表现，包括：症状、临床病史、其他检查数据和其他适用的信息。

请参阅附录中的示例和参考文献。

商标

Beckman Coulter、标志以及文中提及的贝克曼库尔特产品和服务标记均是美国贝克曼库尔特有限公司在美国和其他国家/地区的商标或注册商标。

其他信息

对于欧盟及具有相同监管制度的国家/地区的患者/用户/第三方（Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices [有关体外诊断医疗装置的法规 2017/746/EU]）：如果在使用本装置期间或由于使用本装置而发生严重事件，请向制造商和/或其授权代表以及当地国家主管部门报告。

Summary of Safety and Performance（安全和性能摘要）提供在 EUDAMED 数据库中：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修订历史

修订版本 AF：	发布日期：2020 年 8 月

修订	**发布日期**
AW	2022 年 5 月
更新文档以符合贝克曼库尔特公司全球标签政策和 IVD-R (EU)2017/746 的要求：	

新增章节	BSI 2797 编号、预期用户、临床意义、浓度、精度、准确性、空白检测限和检测限、其他信息、修订记录。
添加了信息	参阅“限制”章节
更新了措辞或版面	参阅程序、性能、限制、警告和注意事项、储存和稳定性章节。
删除了几个章节	临床应用示例、试剂、实验室内重复性、线性度
更新后章节	预期用途、GHS 危险等级分类、变质的迹象、程序、附录。

修订	**发布日期**
AX	4 月 2023
更新后章节	添加哈萨克语
更新后章节	储存及稳定性

修订版本	AY
修订日期	5 月 2024
更新的翻译	**临床意义**：
更新后章节	修订历史

修订版本	AZ
修订日期	7 月 2024
更新后章节	修订历史

符号注解

符号词汇表发布于 beckman.com/techdocs（文档编号 B60062）

	Specifikacijos
Specifiškumas	CD5
Klonas	BL1a
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunogenas	Lymphocytes from human thoracic duct
Imunoglobulinas	IgG2a
Rūšis	Pelė
Išgryninimas	Gimininguмo chromatografija
Fluorochromas	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molinis santykis	FITC/Ig: 4,0-6,5
λ žadinimas	488 nm
Spinduliuotės smailė	525 nm
Buferinis tirpalas	7,2 pH fosfato buferinis tirpalas plius 2 mg/ml GSA ir 0,1 % NaN_3

„IOTest“
Konjuguotas antikūnas CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 ml, 20 µl vienam tyrimui

***In vitro* diagnostiniam naudojimui**

NAUDOJIMO PASKIRTIS

Naudojant šį su fluorochromu konjuguotą antikūną, srauto citometrijos būdu galima kokybiškai ir neautomatizuotu būdu identifikuoti ląstelių populiacijas, išreiškiančias CD5 antigeną, esantį žmogaus biologiniuose mėginiuose (žr. paskesnį skyrių „Mėginiai“).

PRINCIPAS

Šis tyrimas pagrįstas specifinių monokloninių antikūnų gebėjimu jungtis prie antigenų determinantų, kuriuos ekspresuoja leukocitai.

Specifinis leukocitų dažymo procesas atliekamas mėginį inkubuojant reagentu „IOTest“. Tada lizuojant pašalinami eritrocitai ir srauto citometrijos būdu analizuojami leukocitai, kurie per šį etapą nepaveikiami.

Srauto citometru matuojama ląstelių šviesos sklaida ir fluorescencija. Šiuo būdu galima tiriamąją populiaciją apriboti histogramoje apibrėžtu elektroniniu langu, kuris koreliuoja su šviesos sklaida stačiu kampu (šonine sklaida arba ŠS) ir šviesos sklaida smailu kampu (priekine sklaida arba FS). Kitos citometre įdiegtos histogramos, kuriose derinami du skirtingi parametrai, gali būti naudojamos kaip papildoma priemonė nustatant atrankos intervalus, žiūrint, kokį naudojimo būdą pasirinko naudotojas.

Analizuojant apribotų ląstelių fluorescenciją, teigiamai nudažyti įvykiai atskiriami nuo neigiamai nudažytų. Rezultatai išreiškiami kaip teigiamų įvykių procentinė dalis visų įvykių, gautų nustačius atrankos intervalą, atžvilgiu.

NUMATOMAS NAUDOTOJAS

Šis gaminys skirtas naudoti specialistams laboratorijose.

KLINIKINĖ SVARBA

CD5-FITC yra CD5 antikūnas, naudojamas CD5 antigeną ekspresuojančioms ląstelėms identifikuoti ir charakterizuoti srauto citometrijos būdu. Naudojant vien šį gaminį negalima padaryti jokios diagnostinės išvados ir jis nėra tam skirtas.

Kartu su kitais žymenimis naudojamas šis gaminys gali būti naudojamas vienu ar keliais iš toliau nurodytų tikslų.

- Hematologiškai nenormalių pacientų, kuriems įtariama kraujodaros sistemos neoplazma, diferencinei diagnozei palengvinti ir pacientams, kuriems jau nustatyta kraujodaros sistemos neoplazma, stebėti.
- Kraujodaros sistemos neoplazma sergančių pacientų prognozės numatymui palengvinti.

Žr. šias nuorodas:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MĖGINIAI

Veninio kraujo mėginius reikia imti į sterilius mėgintuvėlius su EDTA druska kaip antikoaguliantu.

Mėginius reikia laikyti kambario temperatūroje (18–25 °C) ir nekratyti. Prieš paimant tiriamąjį mėginį reikia atsargiai sujudinti mėginus, kad jie taptų vienalyčiai.

Mėginiai turi būti išanalizuoti per 24 valandas po venų punkcijos.

KONCENTRACIJA

Žr. konkrečios partijos analizės sertifikatą, pateikiamą interneto svetainėje www.beckman.com.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. Reagento nenaudoti pasibaigus galiojimo laikui.
2. Neužšaldyti.
3. Prieš naudojant reikia leisti sušilti iki kambario temperatūros (18–25 °C).
4. Laikykite kuo mažiau apšviestoje vietoje.
5. Saugokite, kad reagentai nebūtų užteršti mikrobais, nes antraip gali būti gaunami klaidingi rezultatai.

6. Su antikūnų tirpalais, kurių sudėtyje yra natrio azido (NaN_3), reikia elgtis atsargiai. Nevartokite į vidų ir saugokitės, kad nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.

   Be to, rūgščioje terpėje natrio azidas gali išskirti potencialiai pavojingą hidrazo rūgštį. Jei jį reikia pašalinti, prieš pilant į nutekėjimo sistemą, reagentą rekomenduojama praskiesti dideliu vandens kiekiu, kad būtų išvengta natrio azido kaupimosi metaliniuose vamzdžiuose ir išvengta sprogimo pavojaus.
7. Visi kraujo mėginiai turi būti laikomi potencialiai užkrečiamais ir su jais turi būti elgiamasi atsargiai (itin svarbu dėvėti apsaugines pirštines, apsiaustus ir akinius).
8. Jokiu būdu nesiurbkite burna ir saugokitės, kad mėginių nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.
9. Panaudoti kraujo mėgintuvėliai ir vienkartinės medžiagos turėtų būti išmetami į sudeginamas ad hoc talpyklas.
10. Reagentai ir atliekos turi būti šalinami pagal vietinius reikalavimus.

GHS PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Neklasifikuojama kaip pavojinga

SDS Saugos duomenų lapą galima gauti interneto svetainėje beckmancoulter.com/techdocs

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Prieš atidarant ir atidarius buteliuką reagentas turi būti laikomas 2–8 °C temperatūroje ir saugomas nuo šviesos.

Uždaryto buteliuko tinkamumo naudoti laikas pagal stabilumo tyrimą: 1095 d.

Atidaryto buteliuko stabilumas: reagentas lieka stabilus 180 d.

KOKYBĖS PABLOGĖJIMO POŽYMIAI

Bet koks reagentų fizinės išvaizdos pokytis gali reikšti pablogėjusias gaminio savybes, todėl tokio reagento naudoti negalima.

Prireikus papildomos informacijos arba gavę sugadintą gaminį skambinkite į „Beckman Coulter“ klientų aptarnavimo skyrių telefonu 800-742-2345 (JAV arba Kanadoje) arba susisiekite su vietiniu „Beckman Coulter“ atstovu.

TURINYS

Natrio azido konservantas metalo vamzdynuose gali sudaryti sprogiuosius junginius. Žr. „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (Nacionalinio darbų saugos ir sveikatos instituto biuletenį: sprogstamojo azido pavojus) (76-8-16).
Norėdami išvengti galimo azido junginių susikaupimo, išpylę į kanalizacijos sistemą neatskiesto reagento, vandeniu praplaukite nutekamuosius vamzdžius. Natrio azidas turi būti šalinamas pagal taikomų vietos reglamentų reikalavimus.

REIKALINGOS, BET SU RINKINIU NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS

- Mėginiams imti reikalingi mėginių ėmimo mėgintuvėliai ir medžiagos.
- Automatinės pipetės su vienkartiniais antgaliais, skirtos 20, 100 ir 500 µl tūrio mėginiams.
- Plastikiniai hemolizės mėgintuvėliai.
- Raudonųjų kraujo kūnelių lizavimo reagentas su plovimo etapu baigus lizuoti. Pavyzdys: „VersaLyse“ (kat. nr. A09777).
- Leukocitų fiksavimo reagentas. Pavyzdys: fiksavimo tirpalas „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800).
- Izotipų kontrolinė medžiaga FITC: „IOTest“ reagentas (kat. Nr. A12689).
- Buferinis tirpalas (fosfato buferinis tirpalas: 0,01 M natrio fosfato; 0,145 M natrio chlorido; pH 7,2).
- Nucentrifuguokite.
- Automatinis maišytuvas (sūkurinio tipo).
- Srauto citometras.

PROCEDŪRA NAUDOJANT REAGENTĄ „VERSALYSE“

Analizuojant kiekvieną mėginį, be tiriamojo mėgintuvėlio galima naudoti vieną kontrolinį mėgintuvėlį, kuriame ląstelės sumaišytos su izotipine kontroline medžiaga (kat. Nr. A12689).

1. Į kiekvieną tiriamąjį mėgintuvėlį įpilkite po 20 µl specifinio su „IOTest“ konjuguoto antikūno ir prireikus į kiekvieną kontrolinį mėgintuvėlį įpilkite po 20 µl kiekvieno izotipo kontrolinės medžiagos.
2. Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite po 100 µl tiriamojo mėginio. Mėgintuvėlius atsargiai išmaišykite sūkuriniu būdu.
3. 15–20 minučių inkubuokite kambario temperatūroje (18–25 °C), saugodami nuo šviesos.
4. Tai padarę sulizuokite eritrocitus. Žr. „VersaLyse“ (kat. Nr. A09777) informacinį lapelį; rekomenduojama laikytis procedūros, vadinamos „su vienalaikiu fiksavimu“, kurios metu įpilama 1 ml prieš pat naudojant paruošto fiksavimo ir lizavimo mišinio. Tuojau pat vieną sekundę maišykite sūkuriniu būdu ir 10 minučių inkubuokite kambario temperatūroje, saugodami nuo šviesos.
5. 5 minutes centrifuguokite veikiant 150 x g jėgai kambario temperatūroje.
6. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą.
7. Iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami 3 ml fosfato buferinį tirpalą.
8. Pakartokite 5 veiksmą.
9. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą ir iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami toliau nurodytas medžiagas.

- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo ir 0,1 % formaldehido, jeigu preparatai bus laikomi mažiau nei 24 val. (0,1 % formaldehido fosfato buferinio tirpalo galima gauti 12,5 µl 10X koncentracijos fiksavimo tirpalo „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800) atskiedus 1 ml fosfato buferinio tirpalo.)
- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo be formaldehido, jeigu preparatai bus analizuojami per 2 val.

Pastaba. Visais atvejais preparatus laikykite 2–8 °C temperatūroje ir saugodami nuo šviesos.

TIKĖTINOS VERTĖS

Mūsų laboratorijose 25 tariamai sveikų donorų viso kraujo mėginiai buvo apdoroti pirmiau aprašytu reagentu. Toliau pateiktoje lentelėje nurodyti dominančių teigiamų įvykių skaičiaus rezultatai, gauti naudojant šį reagentą.

Teigiamas taikinys	Skaičius	Vidurkis (%)	SN	VK (%)
Limfocitai	25	71,12	10,38	14,60

Šios vertės tėra reprezentacinės. Kiekviena laboratorija turi iš vietinės normalių donorų populiacijos nustatyti savo numatomas vertes.

VEIKIMAS

Veikimo duomenys gauti, pirmiau aprašytą procedūrą atliekant su mažiau nei 24 val. senumo mėginiais, kurie buvo anksčiau paimti į sterilius mėgintuvėlius su antikoaguliantu EDTA druska. Analizė atliekama ne vėliau kaip 2 val. po imunodažymo.

SPECIFIŠKUMAS

CD5 molekulę subrendusių T limfocitų paviršiuje ekspresuoja dauguma timocitų ir B limfocitų subpopuliacija (11,12,13). IgM išskiriančių B ląstelių poaibyje CD5 ekspresuojama dėl fermento terminalinės deoksinukleotidiltransferazės (TdT) trūkumo, kompensuojant BSR aktyvinimą ir todėl mažinant autoreaktingumą (autoimuninę reakciją). Priešingai, T ląstelės ekspresuoja daugiau CD5 nei B ląstelės. Esant stipriam aktyvinimui, ant T ląstelių CD5 reguliuojamas didėjimo kryptimi. Čiobrialiaukėje yra koreliacija tarp CD5 raiškos ir T ląstelės sąveikos su savaisiais peptidais stiprio. CD5 raiškos neaptinkama granulocituose, monocituose ir trombocituose (13). Monokloninis antikūnas BL1a grupei CD5 buvo priskirtas per „3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens“ (3-iąją konferenciją dėl žmogaus leukocitų diferencijavimo antigenų (ŽLDA), vykusią Oksforde, Anglijoje, 1986 m. (WS kodas: 520, T skyrius) (11,12).

GLAUDUMAS

Procentinės teigiamosios vertės nustatytos naudojant visą kraują. Kiekvienas mėginys buvo analizuojamas 4 kartus: 1 dieną, po du kartus, naudojant 2 prietaisus ir 2 CD5-FITC monokloninių antikūnų reagentų partijas. Matavimai (% teigiamų) buvo atlikti srauto citometru „Navios“. Analizė atlikta pagal „CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods“ (CLSI metodą EP5-A2 „Kiekybinių matavimo metodų glaudumo veikimo vertinimas“).

Mūsų priėmimo kriterijai priklauso nuo kiekvienoje populiacijoje nustatyto teigiamų įvykių skaičiaus:

- jeigu teigiamų įvykių < 1 500, VK < 15 %
- Jeigu teigiamų įvykių > 1 500, VK < 10 %

Limfocitai							
Teigiamų įvykių skaičius (vidurkis) = 1468							
	Skirtingų operatorių	Skirtingų citometrų	Tos pačios partijos	Skirtingų partijų	Skirtingų analizių	Tos pačios analizės	Iš viso
VK (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
REZULTATAI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TIKSLUMAS

CD5-FITC tikslumas vertintas palyginant rezultatus su etaloniniu reagentu kaip patvirtinamąja priemone, srauto citometru „Navios“ analizuojant viso kraujo mėginių rinkinį. Bandomojo ir etaloninio reagentų paklaida nustatyta pagal tyrimo rezultatų skirtumą. Jeigu paklaida neviršija leidžiamojo paklaidų diapazono arba p reikšmė nerodo reikšmingo skirtumo (> 0,05), abiejų reagentų tyrimo rezultatai laikomi lygiaverčiais.

Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Donorų skaičius = 25				
Teigiamas taikinys	Vidurkis Δ	Δ % ląstelių kriterijai	p reikšmė	REZULTATAI
Limfocitai	0,73	<5	0,032	PASS

RUOŠINIO RIBA IR APTIKIMO RIBA

Pagal CLSI EP17-A2 dokumentą „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Klinikinių laboratorinių matavimų procedūrų aptikimo pajėgumų vertinimas) atliktas mokslinis tyrimas. Aptikimo riba (LOD) yra mažiausioji analitės koncentracija, kurią galima nuolat aptikti. Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Positive Target	Ruošinio riba (ląst./µl)	Aptikimo riba (ląst./µl)
Limfocitai	1	2

RIBOJIMAI

1. Atliekant srauto citometriją klaidingi rezultatai gali būti gauti tuo atveju, jei citometras nebuvo tiksliai sureguliuotas, fluorescencijos nuotėkiai nebuvo tinkamai kompensuoti ar regionai nebuvo kruopščiai išdėstyti.
2. Pageidautina taikant RBC lizavimo metodą atlikti plovimo etapą, nes šis reagentas nėra optimizuotas lizavimo „be plovimo“ metodikoms.
3. Tikslūs ir atkuriami rezultatai bus gaunami tol, kol naudojamos procedūros atitiks techniniame lapelyje pateiktą informaciją ir bus atliekamos laikantis geros laboratorijos praktikos.
4. Šio reagento konjuguotas antikūnas sukalibruotas taip, kad būtų gaunamas geriausias specifinio ir nespecifinio signalų santykis. Dėl šios priežasties atliekant kiekvieną tyrimą svarbu tiksliai laikytis nurodyto reagento ir mėginio tūrių santykio.
5. Hiperleukocitozės atveju kraują atskieskite fosfato buferiniu tirpalu, kad gautumėte maždaug 5 x 10^9 leukocitų/l koncentraciją (14).
6. Sergant kai kuriomis ligomis, pavyzdžiui, sunkiu inkstų nepakankamumu arba hemoglobinopatijomis, eritrocitai gali būti lėtai arba nevisiškai sulizuojami arba jų visai neįmanoma lizuoti. Tokiu atveju rekomenduojama prieš dažant atskirti vienbranduoles ląsteles tankio gradiento būdu (pavyzdžiui, Ficollo) (15).
7. Jeigu pacientams atliekama žmogaus monokloninių antikūnų terapija, specifiniai tiksliniai antigenai gali būti aptinkami prasčiau arba visai neaptinkami dėl dalinio arba visiško terapinio antikūno blokavimo.

8. CD5-FITC rezultatai turi būti interpretuojami remiantis bendra paciento klinikine būkle, atsižvelgiant į: simptomus, klinikinę anamnezę, papildomų tyrimų duomenis ir kitą atitinkamą informaciją.

Pavyzdžiai ir nuorodos pateikti priede.

PREKIŲ ŽENKLAI

„Beckman Coulter“, stilizuotas logotipas ir kiti šiame dokumente nurodyti „Beckman Coulter“ gaminių ir prekių ženklai yra „Beckman Coulter, Inc.“ prekių ženklai arba registruotieji prekių ženklai Jungtinėse Amerikos Valstijose ir kitose šalyse.

PAPILDOMA INFORMACIJA

Pacientams / naudotojams / trečiosioms šalims Europos Sąjungoje ir šalyse, kuriose galioja identiški reguliaciniai reikalavimai (Reglamentas (ES) 2017/746 dėl in vitro diagnostikos medicinos priemonių): jeigu naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko sunkus incidentas, apie jį praneškite gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui ir savo šalies nacionalinei institucijai.

„Summary of Safety and Performance“ (Saugos ir veikimo suvestinė) pateikiama EUDAMED interneto svetainėje ec.europa.eu/tools/eudamed.

PERŽIŪRŲ ISTORIJA

PERŽIŪRA AF:	Leidimo data: 2020 m. rugpjūtis

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AW	2022 m. gegužė
Atnaujinta pagal „Beckman Coulter“ visuotinių ženklinimo taisyklių ir IVD-R (ES)2017/746 reikalavimus.	
Pridėti skyriai	BSI 2797 numeris, „Numatomas naudotojas“, „Klinikinė svarba“, „Koncentracija“, „Glaudumas“, „Tikslumas“, „Ruošinio riba ir aptikimo riba“, „Papildoma informacija“, „Peržiūrų istorija“.
Pridėta informacija	Žr. skyrių „Ribojimai“
Frazavimo arba tipografiniai atnaujinimai	Žr. skyrius „Procedūra“, „Veikimas“, „Ribojimai“, „Įspėjimai ir atsargumo priemonės“, „Laikymas ir stabilumas“.
Pašalinti skyriai	„Klinikinio naudojimo pavyzdys“, „Reagentai“, „Laboratorijos vidaus atkartojamumas“, „Tiesiškumas“
Atnaujinti skyriai	„Paskirtis“, „Visuotiniai suderintos sistemos (GHS) pavojingumo klasifikacija“, „Kokybės pablogėjimo požymiai“, „Procedūra“, priedas.

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AX	Balandis 2023
Atnaujinti skyriai	Pridėta kazachų kalba
Atnaujinti skyriai	Laikymas ir stabilumas

Peržiūrėta versija	AY
Peržiūros data	Gegužė 2024
Atnaujintas vertimas	**Klinikinė svarba:**
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Peržiūrėta versija	AZ
Peržiūros data	Liepa 2024
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Simbolių sutartiniai ženklai

Simbolių terminų žodynas pateikiamas interneto svetainėje beckman.com/techdocs (dokumento numeris B60062).

	Specifikációk
Specificitás	CD5
Klón	BL1a
Hibridóma	SP2/0 x balb/c
Immunogén	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunglobulin	IgG2a
Faj	Egér
Tisztítás	Affinitáskromatográfia
Fluorokróm	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Moláris arány	FITC / Ig: 4,0-6,5
λ gerjesztés	488 nm
Kibocsátási csúcs	525 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plusz 2 mg/mL BSA és 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugált antitest
CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20 µL/teszt

***In vitro* diagnosztikai használatra.**

RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

Ez a fluorokrómmal konjugált antitest lehetővé teszi a humán biológiai mintákban a(z) CD5 antigént expresszáló sejtpopulációk áramlási citometriával végzett kvalitatív és nem automatizált azonosítását (lásd a „Minták” című alábbi fejezet).

MŰKÖDÉSI ELV

A vizsgálat azon alapul, hogy a specifikus monoklonális antitestek képesek-e kötődni a leukociták által expresszált antigén-determinánsokhoz.

A leukociták specifikus festése a mintának az IOTest reagenssel való inkubálásával történik. Az eritrocitákat ezután lízissel eltávolítják, és a leukocitákat, amelyekre nincs hatással ez a művelet, analizálni lehet áramlási citometriával.

Az áramlási citométer a sejtek fényszórását és fluoreszcenciáját méri. Ez lehetővé teszi a vizsgált populáció elhatárolását egy olyan elektronikus ablakon belül, amelyet a derékszögben szórt fény (oldalszóródás vagy SS) és a hegyes szögben szórt fény (előreszóródás vagy FS) intenzitását összehasonlító hisztogramon határoztak meg. Más, a citométer által mértek közül két paramétert kombináló hisztogramok használhatók kiegészítésként a kapuzási fázisban, a felhasználó által választott alkalmazástól függően.

Az elkülönített sejtek fluoreszcenciáját a rendszer elemzi a pozitívan festődött események megkülönböztetésére a nem festődöttektől. Az eredmények kifejezése a pozitív események százalékos arányaként történik a kapuzás által regisztrált összes eseményhez képest.

CÉLFELHASZNÁLÓ

Ez a termék laboratóriumi szakemberek általi használatra készült.

KLINIKAI JELENTŐSÉG

A CD5-FITC egy CD5 antitest, amely a(z) CD5 antigént expresszáló sejtek áramlási citometriás azonosítására és jellemzésére szolgál. Ez a termék önmagában nem képes arra, és nem is arra a célra lett kialakítva, hogy bármilyen diagnosztikai következtetést generáljon.

Más markerekkel kombinált használata esetén ez a termék az alábbiak közül egy vagy több célra használható:

- Segít azon rendellenes vérképű betegek differenciáldiagnózisában, akiknél hemopoetikus neoplasia gyanítható, valamint segít az ismerten hemopoetikus neoplasiaval rendelkező betegek monitorozásában.
- Segít a hemopoetikus neoplasiaban szenvedő betegek prognózisának felállításában.

Lásd a következő hivatkozásokat:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MINTÁK

A vénás vért steril, alvadásgátlóként EDTA sóját tartalmazó csövekbe kell gyűjteni.

A mintákat szobahőmérsékleten (18–25 °C között) kell tárolni, és nem szabad felrázni. A tesztminta vétele előtt a mintákat homogenizálni kell óvatos rázással.

A minták elemzését a vénaszúráshoz képest 24 órán belül el kell végezni.

KONCENTRÁCIÓ

Lásd: www.beckman.com, tételspecifikus analitikai bizonylat.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

1. Ne használja a reagenst a lejárati időn túl.
2. Fagyasztani tilos.
3. Használat előtt hagyja felmelegedni szobahőmérsékletre (18–25 °C).
4. Minimalizálja a fényexpozíciót.
5. Kerülje el a reagensek mikrobiális kontaminációját, ebben az esetben hamis eredményeket kaphat.
6. A nátrium-azidot (NaN_3) tartalmazó antitestoldatokat körültekintően kell kezelni. A terméket nem szabad lenyelni, és nem érintkezhet bőrrel, nyálkahártyával vagy a szemmel.

Sőt, savas közegben a nátrium-azid potenciálisan robbanékony nitrogén-hidrogénsavat képez. Ha ártalmatlanítani kell, javasolt a reagenst nagy mennyiségű vízzel hígítani a szennyvízcsatornába öntés előtt, hogy ne halmozódhasson fel nátrium-azid a fémcsövekben, és ne keletkezzen robbanásveszély.

7. Minden vérmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és óvatosan kell kezelni (azaz védőkesztyűt, köpenyt és szemüveget viselve).
8. Soha ne pipettázzon szájjal, és a minták soha ne érintkezzenek szemmel, bőrrel vagy nyálkahártyával!
9. A vércsöveket és a kezeléshez használt, egyszer használatos anyagokat olyan ad hoc tartóedényben kell kidobni, amely égetésre szolgál.
10. A reagenseket és a hulladékot a helyi követelmények szerint kell ártalmatlanítani.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Nincs veszélyes anyagként besorolva

SDS A biztonsági adatlap megtalálható a következő weboldalon: beckmancoulter.com/techdocs

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A reagenst a fiola kibontása előtt és után is 2 és 8 °C között, fénytől védve kell tárolni.

A lezárt fiola eltarthatósági ideje a stabilitási vizsgálat alapján: 1095 nap.

A felbontott fiola stabilitása: a reagens 180 napig stabil.

A MINŐSÉGROMLÁS JELEI

A reagensek fizikai megjelenésének bármilyen megváltozása megromlásra utalhat, és a reagenst nem szabad felhasználni.

További információkért, illetve sérült termék kézhezvétele esetén hívja a Beckman Coulter ügyfélszolgálatát a 800-742-2345-es számon (az Amerikai Egyesült Államokban és Kanadában), vagy lépjen kapcsolatba a Beckman Coulter területileg illetékes képviselőjével.

A CSOMAG TARTALMA

A nátrium-azid tartósítószer robbanékony vegyületeket képezhet a fém lefolyócsövekben. Lásd az alábbi NIOSH-közleményt: Explosive Azide Hazard (Robbanékony azidokkal kapcsolatos veszélyek) (76. 8. 16.).
Az azidvegyületek esetleges felhalmozódásának elkerülése érdekében a hígítatlan reagens szennyvízlefolyóba történő kiöntése után a szennyvízvezetéket vízzel át kell öblíteni. A nátrium-azid ártalmatlanítását a vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell végezni.

SZÜKSÉGES, DE A KÉSZLETTEL NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK:

- Mintacsövek és a mintavételhez használt anyagok.
- Automata pipetták eldobható hegyekkel 20, 100 és 500 µL-hez.
- Műanyag hemolíziscsövek.
- Vörösvértesteket lizáló reagens, a lízis után mosási fázissal. Például: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leukocitafixáló reagens. Például: IOTest 3 fixálóoldat (Ref. A07800).
- Izotípus-kontroll FITC: IOTest reagens (Ref. A12689).
- Puffer (PBS: 0,01 M nátrium-foszfát; 0,145 M nátrium-klorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automata keverő (vortex típusú).
- Áramlási citométer.

ELJÁRÁS VERSALYSE REAGENS ESETÉN

Mindegyik analizált minta esetében a vizsgált mintacsövön kívül a vizsgálatot ki lehet egészíteni egy kontrollmintacsővel is, amelyben a sejtek az izotípus-kontroll jelenlétében vannak összekeverve (Ref. A12689).

1. Adjon mindegyik mintacsőhöz 20 µL specifikus IOTest konjugált antitestet, és szükség esetén mindegyik kontrollmintacsőhöz 20 µL izotípuskontrollt.
2. Adjon 100 µL tesztmintát mindegyik mintacsőhöz. Óvatosan vortexelje a mintacsöveket.
3. Inkubálja 15–20 percig szobahőmérsékleten (18–25 °C), fénytől védett helyen.
4. Ezután végezze el a vörösvértestek lízisét. Kövesse a VersaLyse (Ref. A09777) füzet utasításait és lehetőség szerint a „konkomittáns fixációval” nevű eljárást alkalmazza, amelynek során 1 mL, akkor és ott elkészített „Fix-and-Lyse” keveréket kell hozzáadni a mintához. Azonnal vortexelje egy másodpercig, majd inkubálja 10 percig szobahőmérsékleten, fénytől védve.
5. Centrifugálja 5 percig szobahőmérsékleten, 150 x g-vel.
6. Felszívás segítségével távolítsa el a felülúszót.
7. Reszuszpendálja a sejtpelletet 3 mL PBS-ben.
8. Ismételje meg az 5. lépést.
9. Felszívással távolítsa el a felülúszót, és reszuszpendálja a sejtpelletet az alábbi reagenssel:

- 0,1% formaldehidet tartalmazó 0,5 mL vagy 1 mL PBS, ha a készítményt kevesebb mint 24 óráig fogják tárolni. (0,1% formaldehidet tartalmazó PBS készítéséhez hígítson 12,5 µL IOTest 3 fixálóoldatot (Ref. A07800) a 10X koncentrációra 1 mL PBS-ben.)
- 0,5 mL vagy 1 mL PBS formaldehid nélkül, ha a preparátum elemzése 2 órán belül fog történni.

Megjegyzés: A készítményeket fénytől védve, 2 és 8 °C között kell tárolni.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

A laboratóriumainkban látszólag egészséges 25 donorok teljesvér-mintáit kezeltük a fent ismertetett reagenssel. Az ezzel a reagenssel kapott vizsgált pozitív események számolási eredményeit az alábbi táblázat tartalmazza:

Pozitív cél	Szám	Átlag (%)	SD	CV (%)
Limfociták	25	71,12	10,38	14,60

Ezek az értékek csak tájékoztatásul szolgálnak. Az egyes laboratóriumoknak meg kell határozniuk a saját várt értékeiket a helyi egészséges donorok populációjából.

TELJESÍTMÉNY

A teljesítményadatokat a fent leírt eljárás segítségével lehet megkapni az alvadásgátlóként EDTA-sót tartalmazó steril csövekbe levett vérmintákból a vérvételt követő kevesebb mint 24 órán belül. Az analízist az immunfestést követő 2 órán belül kell elvégezni.

SPECIFICITÁS

A CD5 molekula az érett T-limfociták felszínén, a timociták többségén és a B-limfociták egyik alcsoportján expresszálódik (11,12,13). A CD5 expresszálódik az IgM-termelő B-sejtek egyik alcsoportjában, mert a terminális dezoxinukleotid-transzferáz enzim (TdT) hiánya úgy tűnik, hogy csökkenti a BSR aktiválódását, és ezzel csökkenti az autoreaktivitást (az autoimmun reakciót). A T-sejteken viszont nagyobb mennyiségben expresszálódik a CD5, mint a B-sejteken. A T-sejteken erőteljes aktiváció hatására növekszik a CD5 expressziója. A thymusban összefüggés áll fenn a CD5 expressziója és a T-sejtek saját peptidekkel való kölcsönhatásának erőssége között. A CD5 nem expresszálódik a granulocitákon, a monocitákon és a vérlemezkéken (13). A BL1a monoklonális antitestet hozzárendelték a CD5-höz a 3. HLDA Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens (humán leukocita-differenciálódási antigén kutatási műhely) alkalmával (1986, Oxford, Nagy-Britannia) (WS kód: 520, T szekció) (11,12).

PRECIZITÁS

A százalékos pozitív értékeket teljes vér felhasználásával határozták meg. Mindegyik mintát 4-szer futtatták, naponta kétszer 1 napig, 2 berendezésen, a CD5-FITC monoklonális antitest reagensek 2 gyártási tételének felhasználásával. A méréseket (pozitív %) Navios áramlási citométerrel végezték. Az analízist a CLSI által közzétett EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (A kvantitatív mérési módszerek precizitási teljesítményének értékelése) módszer alapján végezték.

Az elfogadhatósági kritériumaink az egyes populációknál mért pozitív események számától függ:

- Ha a pozitív esemény < 1500, CV < 15%
- Ha a pozitív esemény > 1500, CV < 10%

Limfociták							
Pozitív események száma (átlag) = 1468							
	Felhasználók közötti	Citométerek közötti	Egy gyártási tételen belüli	Eltérő gyártási tételek közötti	Futtatások közötti	Egy futtatáson belüli	Összes
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
EREDMÉNYEK	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PONTOSSÁG

A CD5-FITC pontosságának értékeléséhez összevetették egy referencia reagens és a Navios áramlási citométeren futtatott teljesvér-minták eredményeit. A teszt- és a referenciareagens közötti torzítást a teszteredmények közötti különbségek alapján határozták meg. Ha a torzítás a megengedhető hibatartományon belül maradt, vagy ha a p-érték nem jelzett szignifikáns különbséget (> 0,05), akkor a két reagenssel kapott teszteredményeket egyenértékűnek tekintették.

Az eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Donorok száma = 25				
Pozitív cél	Átlag Δ	Δ % sejt kritériumok	p-érték	EREDMÉNYEK
Limfociták	0,73	<5	0,032	PASS

VAK HATÁRÉRTÉK ÉS KIMUTATHATÓSÁGI HATÁRÉRTÉK

Vizsgálatot végeztek a CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (A klinikai laboratóriumi mérési eljárások kimutatási képességének értékelése) útmutatónak megfelelően. Kimutathatósági határérték (LOD) – a vizsgált anyag következetesen kimutatható legalacsonyabb koncentrációja. A kapott eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Positive Target	Vak határérték (sejt/µL)	Kimutathatósági határérték (sejt/µL)
Limfociták	1	2

KORLÁTOZÁSOK

1. Az áramlási citometria hamis eredményeket adhat, ha a citométert nem igazítják tökéletesen, ha nem kompenzálják megfelelően a fluoreszcenciaszivárgást és ha a régiókat nem pozicionálják elég gondosan.
2. Érdemes egy mosási lépést is tartalmazó vörösvértest lizáló módszert alkalmazni, mivel ezt a reagenst nem optimalizálták „mosás nélküli” lizáló módszerekhez.
3. Pontos és megismételhető eredmények születnek, amennyiben az eljárásokat a műszaki tájékoztató szerint és a helyes laboratóriumi gyakorlattal összhangban végzik el.
4. A reagens konjugált antitestjét úgy kalibrálták, hogy a legjobb specifikus jel/nem specifikus jel arányt produkálja. Ezért fontos, hogy minden tesztnél betartsa a reagenstérfogat/mintatérfogat arányt.
5. Emelkedett leukocitaszám esetén hígítsa a vért annyi PBS hozzáadásával, hogy a fehérvérsejtek koncentrációja körülbelül 5 x 10^9 leukocita/L legyen (14).

6. Bizonyos betegségek, például súlyos veseelégtelenség vagy hemoglobinopátiák esetében előfordulhat, hogy a vörösvértestek lízise lassú, részleges, vagy akár lehetetlen. Ilyenkor javasolt a festés előtt a mononukleáris sejtek elkülönítése egy sűrűséggradiens alapján működő eljárással (ilyen például a Ficoll) (15).
7. A humán antigén elleni monoklonális antitest terápiában részesülő betegek esetében a specifikus célantigén kimutatásának mértéke csökkenhet vagy sikertelen lehet az alkalmazott terápiás antitest által okozott részleges vagy teljes gátlás miatt.
8. Az CD5-FITC eredményeket a beteg teljes klinikai képének fényében kell értelmezni, figyelembe véve a tüneteket, a kórtörténetet, más tesztek eredményeit és egyéb releváns adatokat.

A példákért és az irodalomjegyzékért lásd a Függeléket.

VÉDJEGYEK

A Beckman Coulter, a stilizált logó, valamint az itt említett Beckman Coulter termék- és szolgáltatásjegyek a Beckman Coulter, Inc. védjegyei vagy bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és más országokban.

TOVÁBBI INFORMÁCIÓK

Az Európai Unióban, illetve az EU-val azonos szabályozási rendszerrel (lásd: az EU 2017/746 rendelete az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökről) rendelkező országokban élő beteg/felhasználó/harmadik fél esetében: ha a jelen eszköz használata során vagy használata eredményeként súlyos váratlan esemény történik, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy hivatalos területi képviselőjének, valamint az illetékes nemzeti hatóságnak.

A Summary of Safety and Performance (A biztonság és a teljesítmény összefoglalása) című dokumentum elérhető az EUDAMED adatbázisban: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ÁTDOLGOZÁSOK

AF ÁTDOLGOZÁS:	Közzététel dátuma: 2020. augusztus

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AW	2022. május
A Beckman Coulter globális címkézési szabályzatának megfelelő, valamint az IVD-R (EU) 2017/746 követelmények szerinti frissítések:	
Hozzáadott szakaszok	BSI 2797 szám, Célfelhasználó, Klinikai jelentőség, Koncentráció, Precizitás, Pontosság, Vak határérték és kimutathatósági határérték, További információk, Átdolgozások.
Új információk	Lásd a Korlátozások című részeket
Megfogalmazási vagy tipográfiai frissítések	Lásd az Eljárás, Teljesítmény, Korlátozások, Figyelmeztetések és óvintézkedések, Tárolás és stabilitás című részeket.
Eltávolított szakaszok	Példa klinikai alkalmazásra, Reagensek, Laboratóriumon belüli reprodukálhatóság, Linearitás
Frissített szakaszok	Rendeltetésszerű használat, GHS szerinti veszélyességi besorolás, A minőségromlás jelei, Eljárás, Függelék.

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AX	Április 2023
Frissített szakaszok	Kazak nyelv hozzáadása
Frissített szakaszok	Tárolás és stabilitás

Átdolgozott verzió	AY
Átdolgozás dátuma	Május 2024
Frissített fordítások	**Klinikai jelentőség:**
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Átdolgozott verzió	AZ
Átdolgozás dátuma	július 2024
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Szimbólumok listája

A szimbólumok jegyzéke elérhető a következő weboldalon: beckman.com/techdocs (dokumentumszám: B60062)

	Specyfikacje
Swoistość	CD5
Klon	BL1a
Hybrydoma	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobulina	IgG2a
Gatunek	Mysz
Oczyszczanie	Chromatografia powinowactwa
Fluorochrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Stosunek molowy	FITC / Ig: 4,0-6,5
Wzbudzenie λ	488 nm
Pik emisji	525 nm
Bufor	PBS o pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Przeciwciało skoniugowane CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

PRZEZNACZENIE

To przeciwciało skoniugowane z fluorochromem umożliwia jakościową i niezautomatyzowaną identyfikację populacji komórek wykazujących ekspresję antygenu CD5 obecnego w ludzkich próbkach biologicznych metodą cytometrii przepływowej (zobacz część „Próbki" poniżej).

ZASADA DZIAŁANIA

Ten test jest oparty na zdolności swoistych przeciwciał monoklonalnych do wiązania się z determinantami antygenowymi ekspresjonowanymi przez lekukocyty.

Barwienie swoiste leukocytów jest wykonywane poprzez inkubację próbki z odczynnikiem IOTest. Krwinki czerwone są następnie usuwane poprzez lizę, a leukocyty, na które ta liza nie wpływa, są analizowane metodą cytometrii przepływowej.

Cytometr przepływowy mierzy rozpraszanie światła i fluorescencję komórek. Umożliwia to odgraniczenie populacji zainteresowania w elektronicznym oknie zdefiniowanym na histogramie, który koreluje ortogonalne rozpraszanie światła (rozpraszanie boczne — Side Scatter, w skrócie SS) i rozpraszanie światła pod wąskim kątem (rozpraszanie do przodu, Forward Scatter, w skrócie FS). Na etapie bramkowania, w zależności od zastosowania wybranego przez użytkownika, można używać innych histogramów łączących dwa z różnych parametrów dostępnych w cytometrze.

Fluorescencja odgraniczonych komórek jest analizowana w celu odróżnienia zdarzeń barwionych dodatnio od zdarzeń nieulegających barwieniu. Wyniki są wyrażane jako odsetek zdarzeń dodatnich względem wszystkich zdarzeń zarejestrowanych poprzez bramkowanie.

UŻYTKOWNIK DOCELOWY

Produkt jest przeznaczony do profesjonalnego użytku w laboratoriach.

ZNACZENIE KLINICZNE

CD5-FITC to przeciwciało CD5 służące do identyfikowania i charakteryzowania komórek wykazujących ekspresję antygenu CD5 za pomocą cytometrii przepływowej. Ten produkt nie może samodzielnie generować i nie jest przeznaczony do generowania jakichkolwiek wniosków diagnostycznych.

W połączeniu z innymi markerami produkt ten może służyć do jednego lub kilku z następujących zastosowań:

- Do wspomagania diagnostyki różnicowej pacjentów z nieprawidłowym obrazem hematologicznym i podejrzeniem nowotworu układu krwiotwórczego oraz do monitorowania pacjentów ze stwierdzonym nowotworem układu krwiotwórczego.
- Jako pomoc w ustaleniu rokowania u pacjentów z nowotworem układu krwiotwórczego.

Zobacz poniższe piśmiennictwo:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PRÓBKI

Krew żylną należy pobierać do sterylnych probówek zawierających antykoagulant w postaci soli EDTA.

Próbki należy przechowywać w temperaturze pokojowej (18–25°C), bez wytrząsania. Przed pobraniem próbki do testu należy uzyskać jednorodną mieszaninę poprzez delikatne mieszanie.

Próbki muszą zostać zbadane w ciągu 24 godzin od pobrania krwi żylnej przez nakłucie.

STĘŻENIE

Zobacz świadectwo analizy właściwe dla serii pod adresem www.beckman.com.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Nie używać odczynników po upływie daty ważności.
2. Nie zamrażać.
3. Przed użyciem odczekać, aż osiągnie temperaturę pokojową (18–25°C).
4. Maksymalnie ograniczyć narażenie na działanie światła.
5. Nie dopuścić do skażenia mikrobiologicznego odczynników, gdyż może to spowodować uzyskanie fałszywych wyników.
6. Z roztworami przeciwciał zawierającymi azydek sodu (NaN_3) należy postępować ostrożnie. Nie spożywać i nie dopuszczać do kontaktu ze skórą, błoną śluzową oraz oczami.

Ponadto w środowisku kwaśnym azydek sodu może tworzyć potencjalnie niebezpieczny kwas azotowodorowy. W przypadku konieczności usunięcia zalecane jest rozcieńczenie odczynnika w dużej objętości wody przed wlaniem go do kanalizacji, aby uniknąć gromadzenia się azydku sodu w metalowych rurach i uniknąć ryzyka wybuchu.

7. Wszystkie próbki krwi należy uważać za potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi ostrożnie (w szczególności nosić ochronne rękawice, fartuchy i okulary).
8. Nigdy nie wolno pipetować ustami. Nie dopuszczać do kontaktu próbek ze skórą, błonami śluzowymi i oczami.
9. Probówki przeznaczone na krew i materiały jednorazowego użytku używane podczas procedury należy usuwać do pojemników ad hoc przeznaczonych do spalenia.
10. Odczynniki i odpady należy usuwać zgodnie z wymogami lokalnymi.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Produkt nie został sklasyfikowany jako niebezpieczny

SDS Karta charakterystyki jest dostępna pod adresem beckmancoulter.com/techdocs

MAGAZYNOWANIE I STABILNOŚĆ

Ten odczynnik musi być przechowywany w temperaturze 2–8°C z zapewnieniem ochrony przed światłem, zarówno przed otwarciem fiolki jak i po jej otwarciu.

W oparciu o wyniki badania stabilności dopuszczalny okres przechowywania w zamkniętej fiolce ustalono na: 1095 dni.

Stabilność otwartej fiolki: odczynnik zachowuje stabilność przez 180 dni.

OZNAKA POGORSZENIA WŁAŚCIWOŚCI

Wszelkie zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników mogą wskazywać na pogorszenie właściwości — odczynników takich nie należy używać.

W celu otrzymania dodatkowych informacji lub w przypadku otrzymania uszkodzonego produktu należy skontaktować się z działem obsługi klienta firmy Beckman Coulter pod numerem telefonu 800-742-2345 (USA lub Kanada) lub z miejscowym przedstawicielem firmy Beckman Coulter.

ZAWARTOŚĆ

Środek konserwujący, azydek sodu, może tworzyć związki wybuchowe w metalowych rurach kanalizacyjnych. Patrz NIOSH Bulletin (Biuletyn instytutu NIOSH): Explosive Azide Hazard (Niebezpieczeństwo wybuchu azydku) (16.8.76).
Po usunięciu nierozcieńczonego odczynnika należy przepłukać rury ściekowe wodą, aby uniknąć gromadzenia się azydków. Azydek sodu musi być usuwany zgodnie z odpowiednimi przepisami lokalnymi.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE Z ZESTAWEM:

- Probówki do pobierania próbek i materiały wymagane do pobierania próbek.
- Pipety automatyczne z jednorazowymi końcówkami na 20, 100 i 500 µL.
- Probówki z tworzywa sztucznego przeznaczone do hemolizy.
- Odczynnik do lizy erytrocytów, z etapem przemywania po etapie lizy. Przykład: VersaLyse (nr ref. A09777).
- Odczynnik do utrwalania limfocytów. Przykład: Roztwór utrwalający IOTest 3 (nr ref. A07800).
- Kontrola izotypowa FITC: Odczynnik IOTest (nr ref. A12689).
- Bufor (PBS: 0,01 M fosforan sodu; 0,145 M chlorek sodu; pH 7,2).
- Wirówka.
- Mieszadło automatyczne (typu worteks).
- Cytometr przepływowy.

PROCEDURA Z ODCZYNNIKIEM VERSALYSE

Do każdej badanej próbki, dodatkowo oprócz probówki testowej, można dodać jedną probówkę kontrolną, w której komórki są mieszane w obecności kontroli izotypowej (nr ref. A12689).

1. Dodać po 20 µL swoistego przeciwciała skoniugowanego IOTest do każdej probówki testowej i, w razie potrzeby, po 20 µL kontroli izotypowej do każdej probówki kontrolnej.
2. Do każdej probówki dodać 100 µL próbki testowej. Łagodnie worteksować probówki.
3. Inkubować przez 15–20 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C), chroniąc przed światłem.
4. Następnie przeprowadzić lizę krwinek czerwonych. Zapoznać się z ulotką VersaLyse (nr ref. A09777). Preferowane jest postępowanie zgodnie z procedurą „z towarzyszącym utrwalaniem”, która polega na dodaniu 1 mL przygotowanej wcześniej mieszaniny do utrwalania i lizy (Fix-and-Lyse). Bezzwłocznie worteksować przez jedną sekundę i inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej, chroniąc przed światłem.
5. Wirować przez 5 minut przy 150 x g w temperaturze pokojowej.
6. Usunąć supernatant poprzez zasysanie.
7. Zawiesić osad komórkowy w 3 mL PBS.
8. Powtórzyć etap 5.
9. Usunąć supernatant poprzez zasysanie i ponownie zawiesić osad komórkowy w:

- 0,5 mL lub 1 mL PBS oraz 0,1% formaldehydu, jeśli preparaty mają być przechowywane przez mniej niż 24 godz. (0,1% roztwór formaldehydu w PBS można uzyskać, rozcieńczając 12,5 µL roztworu utrwalającego IOTest 3 (nr ref. A07800) stężonego 10X w 1 mL PBS).
- 0,5 mL lub 1 mL PBS bez formaldehydu, jeśli preparaty zostaną poddane analizie w ciągu 2 godz.

Uwaga: Niezależnie od sytuacji preparaty należy przechowywać w temperaturze 2–8°C, chroniąc je przed światłem.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

W naszych laboratoriach próbki krwi pełnej od 25 dawców niewykazujących objawów chorobowych poddano obróbce z użyciem opisanego powyżej odczynnika. Uzyskane wyniki w zakresie liczby dodatnich zdarzeń zainteresowania w przypadku tego odczynnika podano w tabeli poniżej:

Dodatnie docelowe komórki	Liczba	Średnia (%)	SD	WZ (%)
Limfocyty	25	71,12	10,38	14,60

Wartości te są przeznaczone wyłącznie do celów poglądowych. Każde laboratorium powinno ustalić własne wartości oczekiwane z użyciem próbek reprezentatywnych dla lokalnej populacji zdrowych dawców.

WYDAJNOŚĆ

Dane dotyczące wydajności uzyskano z wykorzystaniem procedury opisanej powyżej na próbkach krwi mających mniej niż 24 godziny, uprzednio pobranych do sterylnych probówek z solą EDTA jako antykoagulantem. Badanie przeprowadzono w ciągu 2 godzin po barwieniu immunologicznym.

SWOISTOŚĆ

Cząsteczka CD5 występuje na powierzchni dojrzałych limfocytów T, w większości tymocytów i w podpopulacji limfocytów B (11,12,13). CD5 występuje w podzbiorze komórek B wydzielających IgM, co jest spowodowane brakiem enzymu terminalnej transferazy dezoksynukleotydowej (TdT), która prawdopodobnie osłabia aktywację BSR i z tego względu ogranicza autoreaktywność (reakcję autoimmunologiczną). Z drugiej strony w komórkach T ekspresja CD5 jest silniejsza niż w komórkach B. Na skutek silnej aktywacji ilość CD5 na komórkach T wzrasta. W grasicy występuje korelacja między ekspresją CD5 i siłą interakcji komórek T w stronę peptydów własnych. Ekspresja CD5 nie zachodzi w granulocytach, monocytach ani płytkach krwi (13). Przeciwciało monoklonalne BL1a zostało przypisane do antygenu CD5 podczas konferencji 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3. międzynarodowe warsztaty dotyczące antygenów różnicujących ludzkie leukocyty), w Oxfordzie, w Anglii, w roku 1986 (kod WS: 520, sekcja T) (11,12).

PRECYZJA

Odsetek wartości dodatnich określono przy użyciu krwi pełnej. Każdą próbkę oznaczano 4 razy, dwa razy na dobę przez 1 dzień na 2 analizatorach przy użyciu 2 serii odczynnika przeciwciała monoklonalnego CD5-FITC. Pomiary (% dodatnich) przeprowadzono na cytometrze przepływowym Navios. Badanie przeprowadzono na podstawie metody opisanej w wytycznych CLSI w dokumencie EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Ocena wydajności precyzji metody pomiarów ilościowych).

Nasze kryteria akceptacji są uzależnione od liczby zdarzeń dodatnich zmierzonych w każdej populacji:

- Jeśli zdarzenie dodatnie < 1500, WZ < 15%
- Jeśli zdarzenie dodatnie > 1500, WZ < 10%

Limfocyty							
Liczba zdarzeń dodatnich (średnia) = 1468							
	Między operatorami	Między cytometrami	W ramach serii	Między seriami	Między oznaczeniami	W ramach analizy	Łącznie
WZ (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
WYNIKI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOKŁADNOŚĆ

Dokładność odczynnika CD5-FITC oceniano poprzez porównanie wyników uzyskanych za pomocą tego odczynnika z wynikami uzyskanymi za pomocą odczynnika referencyjnego, wykorzystywanego jako odniesienie, na zestawie próbek krwi pełnej oznaczanych na cytometrze przepływowym Navios. Odchylenie między odczynnikiem testowym i referencyjnym określono na podstawie różnicy między wynikami testu. Jeśli odchylenie mieści się w dopuszczalnym zakresie błędu lub wartość p wskazuje na brak istotnej różnicy (> 0,05), wyniki testu dla dwóch odczynników są uznawane za równoważne.

W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Liczba dawców = 25				
Dodatnie docelowe komórki	Średnia Δ	Kryteria Δ % komórki	Wartość p	WYNIKI
Limfocyty	0,73	<5	0,032	PASS

GRANICA PRÓBY ŚLEPEJ I GRANICA WYKRYWALNOŚCI

Przeprowadzono badanie zgodnie z dokumentem CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zdolności wykrywania dla procedur pomiarowych w laboratoriach medycznych). Granica wykrywalności (LOD) to najniższe stężenie analitu, które może być powtarzalnie wykrywane. W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Positive Target	Granica próby ślepej (l. komórek/µL)	Granica wykrywalności (l. komórek/µL)
Limfocyty	1	2

ORGANICZENIA

1. Wyniki cytometrii przepływowej mogą być zafałszowane, jeśli osiowanie cytometru nie było dokładne, przepuszczona fluorescencja nie została prawidłowo skompensowana, a regiony nie zostały starannie upozycjonowane.
2. Preferowane jest stosowanie techniki lizy RBC z etapem przemywania, ponieważ odczynnik ten nie został zoptymalizowany dla technik lizy „bez przemywania".
3. Uzyskane wyniki będą dokładne i odtwarzalne pod warunkiem, że stosowane będą procedury zgodne z informacjami zawartymi w ulotce z danymi technicznymi oraz z dobrymi praktykami laboratoryjnymi.
4. Skoniugowane przeciwciało zawarte w tym odczynniku zostało skalibrowane tak, aby zapewniać najlepszy stosunek sygnału swoistego do nieswoistego. Dlatego ważne jest przestrzeganie stosunku objętości odczynnika do objętości próbki w każdym teście.

5. W przypadku hiperleukocytozy należy rozcieńczyć krew w PBS, aby uzyskać wartość w przybliżeniu 5 x 10^9 leukocytów/L (14).
6. W niektórych stanach chorobowych, takich jak ciężka niewydolność nerek lub hemoglobinopatie, liza krwinek czerwonych może być powolna, niepełna lub nawet niemożliwa. W takich przypadkach przed barwieniem zalecane jest wyizolowanie komórek jednojądrzastych na gradiencie gęstości (na przykład Ficoll) (15).
7. U pacjentów poddawanych terapii anty-ludzkimi przeciwciałami monoklonalnymi, wykrywanie swoistych antygenów docelowych może być osłabione lub niemożliwe z powodu częściowego lub całkowitego zablokowania przez przeciwciało terapeutyczne.
8. Wyniki oznaczenia CD5-FITC należy interpretować w świetle ogólnego obrazu klinicznego pacjenta, w tym objawów, historii klinicznej, danych z dodatkowych testów oraz innych właściwych informacji.

Przykłady i piśmiennictwo można znaleźć w załączniku.

ZNAKI TOWAROWE

Beckman Coulter, stylizowane logo oraz wymienione w tym dokumencie znaki produktów i usług firmy Beckman Coulter są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Beckman Coulter, Inc. w Stanach Zjednoczonych i innych krajach.

DODATKOWE INFORMACJE

Dotyczy pacjentów/użytkowników/stron trzecich w Unii Europejskiej i w krajach o identycznym systemie regulacyjnym (rozporządzenie 2017/746/UE w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro) — jeśli podczas lub w wyniku korzystania z tego wyrobu wystąpi poważny incydent, należy zgłosić go producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz odpowiedniemu organowi krajowemu.

Dokument The Summary of Safety and Performance (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania) jest dostępne w bazie danych EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIA ZMIAN

WERSJA AF:	Data wydania: sierpień 2020 r.

WERSJA	**Data wydania**
AW	Maj 2022 r.
Aktualizacje w celu zapewnienia zgodności z globalnymi zasadami oznakowania firmy Beckman Coulter i według wymogów rozporządzenia IVD-R (UE)2017/746:	
Dodano części	Numer BSI 2797, Użytkownik docelowy, Znaczenie kliniczne, Stężenie, Precyzja, Dokładność, Granica próby ślepej i granica wykrywalności, Informacje dodatkowe, Historia zmian.
Dodano informacje	Zobacz części Ograniczenia
Aktualizacje wyrażeń lub typograficzne	Zobacz części Procedura, Wydajność, Ograniczenia, Ostrzeżenia i środki ostrożności, Magazynowanie i stabilność.
Usunięte części	Przykłady zastosowań klinicznych, Odczynniki, Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna, Liniowość
Zaktualizowane części	Przeznaczenie, Klasyfikacja zagrożeń wg GHS, Dowód pogorszenia jakości, Procedura, Załącznik.

WERSJA	**Data wydania**
AX	Kwiecień 2023
Zaktualizowane części	Dodano język kazachski
Zaktualizowane części	Przechowywanie i stabilność

Wersja zmieniona	AY
Data zmiany	Maj 2024
Zaktualizowano tłumaczenia	**Znaczenie kliniczne:**
Zaktualizowane części	Historia zmian

Wersja zmieniona	AZ
Data zmiany	Lipiec 2024
Zaktualizowane części	Historia zmian

Legenda symboli

Słowniczek symboli jest dostępny pod adresem beckman.com/techdocs (numer dokumentu B60062)

	Specifikace
Specificita	CD5
Klon	BL1a
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Imunoglobulin	IgG2a
Druhy	Myš
Purifikace	Afinitní chromatografie
Fluorochrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molární poměr	FITC/Ig: 4,0-6,5
Excitace λ	488 nm
Emisní vrchol	525 nm
Pufr	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugovaná protilátka CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 ml, 20 µl/test

Pouze pro diagnostiku *in vitro*

URČENÉ POUŽITÍ

Tato protilátka konjugovaná s fluorochromem umožňuje kvalitativní a neautomatizovanou identifikaci buněčných populací exprimujících antigen CD5 v lidských biologických vzorcích (viz část „Vzorky“ níže) pomocí průtokové cytometrie.

PRINCIP

Tento test je založen na schopnosti monoklonálních protilátek specificky se vázat na antigenní determinanty exprimované na leukocytech.

Specifické značení leukocytů se provádí inkubováním vzorku s reagencií IOTest. Červené krvinky jsou poté odstraněny provedením lýzy a bílé krvinky, jež tímto procesem nejsou ovlivněny, jsou analyzovány na průtokovém cytometru.

Průtokový cytometr měří difúzi světla a fluorescenci buněk. Umožňuje oddělit zkoumanou populaci v rámci elektronického okna definovaného na histogramu, který je v korelaci s ortogonální difúzí světla (kolmý rozptyl) a s difúzí světla v úzkém úhlu (přímý rozptyl). Jako podporu ve fázi gatování lze, v závislosti na aplikaci zvolené uživatelem, použít další histogramy s kombinací dvou různých parametrů, které jsou v cytometru k dispozici.

Fluorescence oddělených buněk je analyzována s cílem odlišit pozitivně obarvené události od neobarvených. Výsledky jsou vyjádřeny jako procentní podíl pozitivních událostí ze všech událostí zjištěných gatováním.

ZAMÝŠLENÝ UŽIVATEL

Tento produkt je určen pro profesionální laboratorní použití.

KLINICKÁ VÝZNAMNOST

CD5-FITC je protilátka CD5 používaná k identifikaci a charakterizaci buněk exprimujících antigen CD5 pomocí průtokové cytometrie. Tento produkt sám o sobě nevytváří a nemá vytvářet žádný diagnostický závěr.

Při použití v kombinaci s dalšími markery lze tento produkt použít k jedné nebo více z následujících funkcí:

- Jako pomůcka pro diferenciální diagnostiku pacientů s hematologickými abnormalitami, u kterých je podezření na hematopoetickou neoplazii, a k monitorování pacientů se známou hematopoetickou neoplazií.
- Jako pomůcka pro stanovení prognózy u pacientů s hematopoetickou neoplazií.

Viz následující odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

VZORKY

Vzorky žilní krve musejí být odebrány do sterilních zkumavek obsahujících sůl EDTA jako antikoagulační činidlo.

Vzorky by měly být uchovávány při laboratorní teplotě (18–25 °C) a neměly by se protřepávat. Vzorek by měl být před odebráním vzorku k testování homogenizován mírným promícháním.

Vzorky je nutné analyzovat do 24 hodin od venepunkce.

KONCENTRACE

Viz certifikát o analýze specifický pro šarži na www.beckman.com.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagencii nepoužívejte po datu exspirace.
2. Nezmrazujte.
3. Před použitím nechte vytemperovat na laboratorní teplotu (18–25 °C).
4. Minimalizujte expozici světlu.
5. Zabraňte mikrobiologické kontaminaci reagencií, jinak mohou být výsledky chybné.
6. S roztoky protilátek obsahujícími azid sodný (NaN_3) je třeba manipulovat opatrně. Neužívejte vnitřně a zabraňte veškerému kontaktu s pokožkou, sliznicemi a očima.

V kyselém prostředí může azid sodný navíc vytvářet potenciálně nebezpečnou kyselinu azidovodíkovou. Při likvidaci se doporučuje před vylitím do odpadu reagencii zředit velkým objemem vody, aby nedocházelo k hromadění nebezpečného azidu sodného v kovovém potrubí a předešlo se tak riziku exploze.

7. Všechny vzorky krve je nutno považovat za potenciálně infekční a je nutné manipulovat s nimi opatrně (zvláště: používat ochranné rukavice, pláště a brýle).
8. Nikdy nepipetujte ústy a zabraňte tomu, aby se vzorky dostaly do kontaktu s kůží, sliznicí ani očima.
9. Zkumavky s krví a jednorázový materiál určený pro manipulaci je třeba likvidovat v kontejnerech ad hoc určených ke spálení.
10. Reagencie a odpad by měly být odstraňovány v souladu s místními požadavky.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Není klasifikované jako nebezpečné

SDS Bezpečnostní list je k dispozici na internetové adrese beckmancoulter.com/techdocs.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Před otevřením lahvičky a po jejím otevření musí být tato reagencie uchovávána při teplotě mezi 2 a 8 °C a chráněna před světlem.

Doba použitelnosti uzavřené lahvičky podle studie stability: 1095 dnů/dní.

Stabilita již jednou otevřené lahvičky: reagencie je stabilní po dobu 180 dní.

ZNÁMKY ZHORŠENÍ KVALITY

Jakákoli změna fyzického vzhledu reagencií může znamenat jejich znehodnocení a taková reagencie by se neměla používat.

Pokud potřebujete další informace nebo jste obdrželi poškozený produkt, zavolejte na telefonní číslo zákaznické služby společnosti Beckman Coulter 800-742-2345 (USA nebo Kanada) nebo se obraťte na místního zástupce společnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervační látka azid sodný může v kovovém odpadním potrubí vytvářet výbušné sloučeniny. Viz buletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečí výbušných azidů) (16.8.76).
Po vypuštění neředěné reagencie propláchněte odpadní potrubí vodou, aby se v něm nehromadily azidové sloučeniny. Likvidace azidu sodného musí být prováděna podle příslušných místních předpisů.

MATERIÁLY POTŘEBNÉ, ALE NEDODANÉ SE SOUPRAVOU:

- Zkumavky na odběr vzorků a materiál potřebný k odběru vzorků.
- Automatické pipety s jednorázovými špičkami pro 20, 100 a 500 µl.
- Plastové zkumavky na hemolýzu.
- Reagencie pro lýzu červených krvinek s fází promývání po lýze. Například: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagencie pro fixaci leukocytů. Například: Fixační roztok IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotypová kontrola FITC: Reagencie IOTest (ref. A12689).
- Pufr (PBS: 0,01 M fosforečnan sodný; 0,145 M chlorid sodný; pH 7,2).
- Odstředivka.
- Automatické míchadlo (typu vortex).
- Průtokový cytometr.

POSTUP S REAGENCIÍ VERSALYSE

Pro každý analyzovaný vzorek lze kromě testovací zkumavky přidat jednu kontrolní zkumavku, v níž jsou buňky promíchány v přítomnosti izotypové kontroly (ref. A12689).

1. Do každé z testovacích zkumavek přidejte 20 µl konjugované protilátky specifické pro IOTest a podle potřeby do každé ze zkumavek kontroly přidejte 20 µl kontroly izotypu.
2. Do každé zkumavky přidejte 100 µl testovaného vzorku. Zkumavky jemně promíchejte na vortexové míchačce.
3. Provádějte inkubaci po dobu 15 až 20 minut při laboratorní teplotě (18–25 °C), chraňte před světlem.
4. Poté lyzujte červené krvinky. Postupujte dle brožury VersaLyse (ref. A09777) a řiďte se, pokud možno, postupem nazvaným „s průvodní fixací“, který spočívá v přidání 1 ml fixační a lyzační směsi připravené bezprostředně před použitím. Ihned vortexujte po dobu jedné sekundy a inkubujte po dobu 10 minut při laboratorní teplotě, přičemž chraňte před světlem.
5. Odstřeďujte 5 minut při 150 x g při laboratorní teplotě.
6. Supernatant odsajte.
7. Resuspendujte buněčnou peletu pomocí 3 ml PBS.
8. Opakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte buněčnou peletu pomocí:

- 0,5 ml nebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, pokud mají být preparáty uchovány po dobu kratší než 24 hodin. (PBS s 0,1 % formaldehydu lze získat zředěním 12,5 µl fixačního roztoku IOTest 3 (ref. A07800) o koncentraci 10x v 1 ml PBS.)
- 0,5 ml nebo 1 ml PBS bez formaldehydu, pokud mají být preparáty analyzovány do 2 hodin.

Poznámka: Ve všech případech uchovávejte preparáty při teplotě mezi 2 a 8 °C a chraňte je před světlem.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratořích bylo 25 vzorků plné krve zjevně zdravých dárců zpracováno za použití výše popsané reagencie. Získané výsledné počty cílových pozitivních událostí s touto reagencií jsou uvedeny v následující tabulce:

Pozitivní nosič	Počet	Průměr (%)	SD (směrodatná odchylka)	VK (%)
Lymfocyty	25	71,12	10,38	14,60

Tyto hodnoty by měly být pouze reprezentativní. Každá laboratoř si musí stanovit vlastní očekávané hodnoty na základě místní populace normálních dárců.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Data o výkonu se získávají výše popsaným postupem na vzorcích krve starých méně než 24 hodin, které byly odebrány do sterilních zkumavek se solí EDTA jakožto antikoagulačním činidlem. Analýza se provádí do 2 hodin od imunobarvení.

SPECIFICITA

Molekula CD5 je vytvářena na povrchu zralých T-lymfocytů většinou thymocytů a podpopulací B-lymfocytů (11, 12, 13). Antigen CD5 je vytvářen v části B-buněk produkujících IgM v důsledku nedostatku enzymu terminální deoxynukleotidyltransferáza (TdT), který zřejmě usnadňuje aktivaci BSR, a tudíž redukuje autoreaktivitu (autoimunitní reakci). T-buňky naopak vytvářejí vyšší hladiny antigenu CD5 než B-buňky. Při silné aktivaci je antigen CD5 v T-buňkách regulován zvyšováním. V brzlíku dochází ke korelaci s tvorbou antigenu CD5 a intenzitou interakce T-buňky s vlastními peptidy. K tvorbě antigenu CD5 nedochází v granulocytech, monocytech a krevních destičkách (13). Specificita rozpoznání antigenu CD5 monoklonální protilátkou BL1a byla uznána v rámci 3. konference o lidských leukocytárních diferenciačních antigenech (3rd Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens), která se konala v roce 1986 v Oxfordu v Anglii (WS kód: 520, sekce T) (11, 12).

PRECIZNOST

Procentuální pozitivní hodnoty byly stanoveny použitím plné krve. Každý vzorek byl analyzován 4krát, dvakrát denně v průběhu 1 dne na 2 přístrojích pomocí 2 šarží reagencií s monoklonální protilátkou CD5-FITC. Měření (% pozitivních) byla provedena na průtokovém cytometru Navios. Analýza byla provedena na základě metody CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vyhodnocení výkonu preciznosti kvantitativních měřicích metod).

Naše kritéria přijatelnosti závisí na počtu pozitivních událostí změřených pro každou populaci:

- Pokud pozitivní událost < 1 500, VK < 15 %
- Pokud pozitivní událost > 1 500, VK < 10 %

Lymfocyty							
Počet pozitivních událostí (průměr) = 1468							
	Mezi obslužnými pracovníky	Mezi cytometry	V rámci šarže	Mezi šaržemi	Mezi cykly	V rámci cyklu	Celkem
VK (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PŘESNOST

Přesnost CD5-FITC byla vyhodnocena porovnáním výsledků s referenční reagencií sloužící jako srovnávací látka na sadě vzorků plné krve analyzované na průtokovém cytometru Navios. Na základě rozdílu mezi výsledky testů byla stanovena odchylka mezi testem a referenční reagencií. Pokud je odchylka v rámci rozsahu přípustné chyby nebo hodnota p naznačuje, že nedošlo k žádnému významnému rozdílu (> 0,05), výsledky testů daných dvou reagencií se považují za shodné.

Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Počet dárců = 25				
Pozitivní nosič	Průměr Δ	Kritéria Δ % buněk	Hodnota p	VÝSLEDKY
Lymfocyty	0,73	<5	0,032	PASS

MEZ PRÁZDNÉHO VZORKU A MEZ MĚŘITELNOSTI

Byla provedena studie v souladu se směrnicí CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnocení schopnosti detekce pro klinické laboratorní postupy měření). Mez měřitelnosti (LOD) je nejnižší koncentrace analytu, kterou lze spolehlivě detekovat. Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Positive Target	Mez prázdného vzorku (buňky/µl)	Mez měřitelnosti (buňky/µl)
Lymfocyty	1	2

OMEZENÍ

1. Průtoková cytometrie může přinést falešné výsledky, pokud cytometr nebyl dokonale seřízen, pokud nebyly správně kompenzovány úniky fluorescence a pokud oblasti nebyly pečlivě umístěny.
2. Je vhodné používat techniku lýzy RBC s promývacím krokem, protože tato reagencie není optimalizována pro techniku lýzy bez promývání.
3. Přesných a reprodukovatelných výsledků bude dosaženo, pokud jsou použité postupy v souladu s technickým příbalovým letákem a se správnou laboratorní praxí.
4. Konjugovaná protilátka této reagencie je kalibrována tak, aby poskytovala nejlepší možný poměr specifického signálu k nespecifickému signálu. Proto je důležité při každém testu dodržovat poměr objemu reagencie a objemu vzorku.
5. V případě hyperleukocytózy nařeďte krev v přípravku PBS tak, aby byla dosažena hodnota přibližně 5 x 10^9 leukocytů/l (14).
6. U určitých chorob, například závažného selhání ledvin či hemoglobinopatií, se může stát, že lýza červených krvinek bude probíhat pomalu, nedokončí se, nebo dokonce nebude možná. V tomto případě se před značením doporučuje izolovat mononukleární buňky s použitím hustotního gradientu (např. Ficoll) (15).

7. U pacientů léčených pomocí monoklonálních protilátek proti lidským antigenům může být detekce specificky cílených antigenů snížena nebo může chybět kvůli částečné nebo celkové blokaci terapeutickými protilátkami.
8. Výsledky analýzy CD5-FITC je nutné interpretovat s přihlédnutím k celkovému klinickému obrazu pacienta, včetně symptomů, klinické anamnézy, údajů z dalších testů a dalších vhodných informací.

Příklady a reference jsou uvedeny v příloze.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, stylizované logo a známky produktů a služeb společnosti Beckman Coulter uvedené v tomto dokumentu jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Beckman Coulter, Inc. ve Spojených státech amerických a dalších zemích.

DALŠÍ INFORMACE

Pro pacienty, uživatele nebo třetí osoby v Evropské unii a v zemích se stejným regulačním režimem (nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro); pokud při používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání dojde k závažné nehodě, prosím ohlaste tuto nehodu výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a kompetentnímu vnitrostátnímu orgánu.

Summary of Safety and Performance (Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti) je k dispozici v databázi EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIE REVIZÍ

REVIZE AF:	Datum uvolnění: Srpen 2020

REVIZE	**Datum vydání**
AW	Květen 2022
Aktualizace kvůli shodě s globálními zásadami označování společnosti Beckman Coulter a dle požadavků IVD-R (EU) 2017/746:	
Přidání částí	Číslo BSI 2797, Určený uživatel, Klinická významnost, Koncentrace, Preciznost, Přesnost, Mez prázdného vzorku a mez měřitelnosti, Další informace, Historie změn.
Přidány informace	Viz část Omezení
Aktualizace formulací a typografické aktualizace	Viz části Postup, Výkon, Omezení, Varování a bezpečnostní opatření, Skladování a stabilita.
Odstranění částí	Příklad klinických použití, Reagencie, Reprodukovatelnost v rámci laboratoře, Linearita
Aktualizované části	Určené použití, Klasifikace nebezpečí podle GHS, Známky znehodnocení, Postup, Příloha.

REVIZE	**Datum vydání**
AX	duben 2023
Aktualizované části	Přidání kazašského jazyka
Aktualizované části	Skladování a stabilita

Revidovaná verze	AY
Datum revize	Květen 2024
Aktualizované překlady	**Klinická významnost:**
Aktualizované části	Historie revizí

Revidovaná verze	AZ
Datum revize	cervenec 2024
Aktualizované části	Historie revizí

Klíč k symbolům

Slovníček symbolů je k dispozici na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	Špecifikácie
Špecificita	CD5
Klon	BL1a
Hybridóm	SP2/0 x balb/c
Imunogén	Lymphocytes from human thoracic duct
Imunoglobulín	IgG2a
Druhy	Myš
Purifikácia	Afinitná chromatografia
Fluorochróm	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molárny pomer	FITC/Ig: 4,0-6,5
Excitácia λ	488 nm
Vrchol emisií	525 nm
Tlmivý roztok	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugovaná protilátka CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 ml, 20 µl/test

Na diagnostické použitie *in vitro*

URČENÉ POUŽITIE

Táto protilátka konjugovaná s fluorochrómom umožňuje pomocou prietokovej cytometrie vykonávať kvalitatívnu, neautomatizovanú identifikáciu populácie buniek exprimujúcich antigén CD5 v ľudských biologických vzorkách (pozri časť „vzorky“ nižšie).

PRINCÍP

Tento test je založený na schopnosti špecifických monoklonálnych protilátok viazať sa na antigénne determinanty exprimované na leukocytoch.

Špecifické farbenie leukocytov sa vykoná inkubáciou vzorky s činidlom IOTest. Červené krvinky sa následne odstránia lýzou a leukocyty, na ktoré tento postup nemá vplyv, sa analyzujú prietokovou cytometriou.

Prietokový cytometer meria rozptyl svetla a fluorescenciu buniek. Umožňuje vymedzenie požadovanej populácie v rámci elektronického okna zadefinovaného v histograme znázorňujúcom koreláciu ortogonálneho rozptylu svetla (bočný rozptyl, SS) a rozptylu svetla v úzkom uhle (predný rozptyl, FS). Ostatné histogramy obsahujúce kombináciu dvoch rozličných parametrov dostupných na cytometri možno použiť na podporu vo fáze gatingu v závislosti od aplikácie zvolenej používateľom.

Fluorescencia vymedzených buniek sa analyzuje s cieľom odlíšiť pozitívne sfarbené udalosti od nesfarbených. Výsledky sú vyjadrené ako percento pozitívnych udalostí vzhľadom na všetky udalosti zaznamenané gatingom.

URČENÝ POUŽÍVATEĽ

Tento produkt je určený na profesionálne laboratórne použitie.

KLINICKÝ VÝZNAM

CD5-FITC je protilátka proti CD5 používaná na identifikáciu a charakterizáciu buniek exprimujúcich antigén CD5 pomocou prietokovej cytometrie. Tento výrobok sám osebe nemôže a ani nemá slúžiť na vyvodzovanie akýchkoľvek diagnostických záverov.

Pri použití v kombinácii s inými markermi možno tento produkt použiť na jeden alebo viac z týchto účelov:

- Ako pomôcka pri diferenciálnej diagnostike hematologicky abnormálnych pacientov s podozrením na hematopoetickú neoplazmu a na monitorovanie pacientov so známou hematopoetickou neoplazmou.
- ako pomôcka pri stanovovaní prognózy u pacientov s hematopoetickou neoplazmou,

Pozrite si nasledujúce odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

VZORKY

Vzorky žilovej krvi musia byť odobraté do sterilných skúmaviek, ktoré obsahujú soľ EDTA ako antikoagulačné činidlo.

Vzorky by sa mali uchovávať pri izbovej teplote (18 – 25 °C) a nemalo by sa nimi triasť. Vzorky by sa mali pred odobratím testovacej vzorky homogenizovať jemným pretrepaním.

Vzorky sa musia analyzovať do 24 hodín od odberu.

KONCENTRÁCIA

Pozrite si certifikát analýzy pre konkrétnu šaržu na adrese www.beckman.com.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

1. Činidlo nepoužívajte po dátume exspirácie.
2. Nezamrazujte.
3. Pred použitím nechajte zahriať na izbovú teplotu (18 – 25 °C).
4. Minimalizujte vystavenie svetlu.
5. Zabráňte mikrobiálnej kontaminácii činidiel, inak môže dôjsť k falošným výsledkom.

6. S roztokmi protilátok obsahujúcimi azid sodný (NaN_3) by sa malo zaobchádzať opatrne. Nepožívajte ich a vyhýbajte sa akémukoľvek kontaktu s kožou, sliznicami a očami.

   V médiu s obsahom kyseliny môže navyše azid sodný vytvárať potenciálne nebezpečnú kyselinu azidovodíkovú. Ak je činidlo potrebné zlikvidovať, odporúča sa ho pred vyliatím do kanalizácie zriediť vo veľkom objeme vody, aby sa predišlo riziku explózie v dôsledku hromadenia azidu sodného v kovovom potrubí.
7. Všetky vzorky krvi sa musia považovať za potenciálne infekčné, a preto sa s nimi musí narábať opatrne (predovšetkým: používajte ochranné rukavice, plášte a okuliare).
8. Nikdy nepipetujte ústami a zabráňte akémukoľvek kontaktu vzoriek s pokožkou, sliznicami a očami.
9. Skúmavky na krv a jednorazový materiál používané pri manipulácii sa musia zlikvidovať do schválených nádob určených na spálenie.
10. Činidlá a odpad by sa mali eliminovať v súlade s miestnymi požiadavkami.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Nie je klasifikované ako nebezpečné

SDS Bezpečnostný list je dostupný na adrese beckmancoulter.com/techdocs

SKLADOVANIE A STABILITA

Toto činidlo sa musí skladovať pri teplote od 2 do 8 °C a chrániť pred svetlom pred aj po otvorení fľaštičky.

Doba použiteľnosti uzavretej fľaštičky podľa štúdie stability: 1095 dní.

Stabilita otvorenej fľaštičky: činidlo je stabilné 180 dní.

ZNÁMKY ZNEHODNOTENIA

Akákoľvek zmena fyzického vzhľadu činidla môže svedčiť o zhoršení kvality a takéto činidlo by sa nemalo používať.

Ak potrebujete ďalšie informácie alebo ak je výrobok poškodený, kontaktujte stredisko zákazníckych služieb spoločnosti Beckman Coulter na telefónnom čísle 800-742-2345 (ak sa nachádzate v USA alebo Kanade) alebo kontaktujte miestneho zástupcu spoločnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervačné činidlo azid sodný môže v kovovej kanalizačnej sieti vytvárať výbušné zlúčeniny. Pozrite si informačný bulletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečenstvo výbušného azidu) (16. 8. 76).
Aby nedošlo k možnému nahromadeniu azidových zlúčenín, po likvidácii neriedeného činidla vypláchnite potrubie vodou. Likvidácia azidu sodného musí prebiehať v súlade s príslušnými miestnymi predpismi.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ NIE JE SÚČASŤOU SÚPRAVY:

- Vzorkovacie skúmavky a materiál potrebný na vzorkovanie.
- Automatické pipety s jednorazovými špičkami na dávkovanie objemov 20, 100 a 500 µl.
- Plastové hemolytické skúmavky.
- Činidlo na lýzu červených krviniek s umývacou fázou po lýze. Napríklad: VersaLyse (Ref. A09777).
- Činidlo na fixáciu leukocytov. Napríklad: fixačný roztok IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotypová kontrolaFITC: činidlo IOTest (Ref. A12689).
- Tlmiaci roztok (PBS: fosforečnan sodný 0,01 M; chlorid sodný 0,145 M; pH 7,2).
- Centrifúga.
- Automatické miešadlo (typ Vortex).
- Prietokový cytometer.

POSTUP S ČINIDLOM VERSALYSE

Na každú analyzovanú vzorku je možné okrem testovacej skúmavky pridať aj jednu kontrolnú skúmavku, v ktorej sa zmiešajú bunky v prítomnosti izotypovej kontroly (Ref. A12689).

1. Pridajte 20 µl špecifickej konjugovanej protilátky IOTest do každej testovacej skúmavky a v prípade potreby 20 µl izotopovej kontroly do každej kontrolnej skúmavky.
2. Do každej skúmavky pridajte 100 µl testovanej vzorky. Skúmavky jemne vortexujte.
3. Inkubujte 15 až 20 minút pri izbovej teplote (18 – 25 °C) bez prístupu svetla.
4. Potom vykonajte lýzu červených krviniek. Postupujte podľa písomnej informácie VersaLyse (Ref. A09777) a ideálne použite postup označený ako „so sprievodnou fixáciou“, ktorý zahŕňa pridanie 1 ml bezprostredne pripravenej zmesi „na fixáciu a lýzu“. Ihneď premiešajte jednu sekundu a inkubujte 10 minút pri izbovej teplote a chráňte pred svetlom.
5. Odstreďujte 5 minút pri 150 x g pri izbovej teplote.
6. Nasatím odoberte supernatant.
7. Resuspendujte bunkový pelet použitím 3 ml PBS.
8. Zopakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte bunkový pelet použitím:

- 0,5 ml alebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, ak sa preparáty budú skladovať kratšie ako 24 hodín. (Roztok PBS s 0,1 % formaldehydu možno pripraviť zriedením 12,5 µl fixačného roztoku IOTest 3 (Ref. A07800) v 10X koncentrácii v 1 ml roztoku PBS).
- 0,5 ml alebo 1 ml PBS bez formaldehydu, ak sa preparáty budú analyzovať do 2 hodín.

Poznámka: Preparáty vždy uchovávajte pri teplote 2 až 8 °C a mimo dosahu svetla.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratóriách sa vzorky plnej krvi od 25 zjavne zdravých darcov spracovali pomocou vyššie popísaného činidla. Získané výsledky pre príslušné počty skúmaných pozitívnych udalostí s týmto činidlom sú uvedené v tabuľke nižšie:

Pozitívny cieľ	Počet	Priemer (%)	SD	CV (%)
Lymfocyty	25	71,12	10,38	14,60

Tieto hodnoty slúžia len ako reprezentatívne údaje. Každé laboratórium by si malo určiť vlastné očakávané hodnoty na základe miestnej populácie normálnych darcov.

VÝKONNOSŤ

Údaje o výkonnosti boli získané pomocou vyššie opísaného postupu z menej ako 24 hodín starých vzoriek krvi odobraných do sterilných skúmaviek so soľou EDTA ako antikoagulačným činidlom. Analýza prebehla do 2 hodín od imunologického farbenia.

ŠPECIFICITA

Molekula CD5 sa exprimuje na povrchu zrelých T-lymfocytov, u väčšiny týmusových lymfocytov a u subpopulácie B-lymfocytov (11,12,13). CD5 sa exprimuje u podmnožiny B-lymfocytov vylučujúcich IgM v dôsledku nedostatku enzýmu terminálnej deoxynukleotidyl transferázy (TdT), ktorá zjavne zmierňuje aktiváciu BSR a znižuje autoreaktivitu (autoimunitná reakcia). Naopak, T-lymfocyty v porovnaní s B-lymfocytmi exprimujú vyššie hladiny CD5. Silná aktivácia T-lymfocytov reguluje hladinu CD5 smerom k vyšším hodnotám. V týmuse existuje korelácia medzi expresiou CD5 a silou interakcie T-lymfocytu s vlastnými (self) peptidmi. Expresia CD5 neprebieha na granulocytoch, monocytoch a krvných doštičkách (13). Špecificita rozpoznania CD5 monoklonálnou protilátkou BL1a bola uznaná v rámci konferencie 3rd HLDA Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens (3. konferencia HLDA o ľudských leukocytárnych diferenciačných antigénoch), ktorá sa konala v roku 1986 v anglickom Oxforde (WS kód: 520, sekcia T) (11,12).

PRESNOSŤ

Percentuálne pozitívne hodnoty boli stanovené s použitím plnej krvi. Každá vzorka bola analyzovaná 4-krát, dva razy denne počas 1 dňa na 2 prístrojoch pri použití 2 šarží činidiel s monoklonálnymi protilátkami proti CD5-FITC. Merania (% pozitívnych) sa vykonávali na prietokovom cytometri Navios. Analýza sa vykonávala podľa metódy CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Hodnotenie zhodnosti pri metódach kvantitatívneho merania).

Naše kritériá prijateľnosti závisia od počtu pozitívnych udalostí nameraného v jednotlivých populáciách:

- Ak je pozitívnych udalostí < 1500, CV < 15 %
- Ak je pozitívnych udalostí > 1500, CV < 10 %

Lymfocyty							
Počet pozitívnych udalostí (priemer) = 1468							
	Medzi operátormi	Medzi cytometrami	V rámci jednej šarže	Medzi šaržami	Medzi analýzami	V rámci jednej analýzy	Celkovo
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRESNOSŤ

Presnosť CD5-FITC bola vyhodnotená porovnaním výsledkov s porovnávacím referenčným činidlom na súbore vzoriek plnej krvi analyzovaných v prietokovom cytometri Navios. Odchýlka medzi testovaným a referenčným činidlom bola stanovená na základe rozdielu medzi výsledkami testov. Ak je odchýlka v medziach prípustného chybového rozsahu, alebo ak p-hodnota svedčí o nevýznamnom rozdiele (> 0,05), výsledky testovania daných dvoch činidiel sa považujú za rovnocenné.

Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Počet darcov = 25				
Pozitívny cieľ	Priemer Δ	Kritériá Δ % buniek	p-hodnota	VÝSLEDKY
Lymfocyty	0,73	<5	0,032	PASS

MEDZA PRÁZDNEJ VZORKY A MEDZA MERATEĽNOSTI

Bola vykonaná štúdia v súlade s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnotenie detekčnej schopnosti pre postupy klinických laboratórnych meraní). Medza merateľnosti (LoD) je najnižšia koncentrácia analytu, ktorú možno konzistentne detegovať. Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Positive Target	Medza prázdnej vzorky (buniek/µl)	Medza merateľnosti (buniek/µl)
Lymfocyty	1	2

OBMEDZENIA

1. Prietoková cytometria môže vytvárať falošné výsledky, ak cytometer nie je správne zarovnaný, ak úniky fluorescencie nie sú správne kompenzované, alebo ak nie sú oblasti správne umiestnené.
2. Vhodnejšie je používať metódu lýzy RBC s krokom premývania, keďže toto činidlo nie je optimalizované na metódy lýzy „bez premývania“.
3. Presné a reprodukovateľné výsledky sa získajú len vtedy, ak sa použijú postupy v súlade s technickými údajmi v príbalovom letáku a v súlade s osvedčenou laboratórnou praxou.
4. Konjugovaná protilátka tohto činidla sa kalibruje tak, aby ponúkala najlepší pomer špecifického signálu/nešpecifického signálu. Preto je dôležité pri každom teste dodržať pomer objem činidla/objem vzorky.
5. V prípade hyperleukocytózy zrieďte krv v PBS na koncentráciu približne 5 x 10^9 leukocytov/l (14).

6. Pri niektorých chorobných stavoch, akými sú napríklad závažné zlyhanie obličiek alebo hemoglobinopatie, môže byť lýza červených krviniek pomalá, neúplná alebo dokonca nemožná. V takom prípade sa odporúča pred farbením izolovať mononukleárne bunky pomocou hustotného gradientu (napríklad Ficoll) (15).
7. U pacientov liečených monoklonálnymi protilátkami proti ľudským protilátkam môže byť detekcia špecifických cieleným antigénom znížená alebo môže úplne chýbať v dôsledku čiastočného alebo úplného blokovania terapeutickej protilátky.
8. Pri interpretácii výsledkov CD5-FITC treba brať do úvahy celkový klinický obraz pacienta vrátane symptómov, klinickej anamnézy, výsledkov ďalších testov a iných súvisiacich informácií.

Príklady a referencie nájdete v Dodatku.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, štylizované logo a známky produktov a služieb spoločnosti Beckman Coulter spomenuté v tomto dokumente sú ochranné známky alebo registrované ochranné známky spoločnosti Beckman Coulter, Inc. v USA a ďalších krajinách.

DOPLŇUJÚCE INFORMÁCIE

Pre pacienta/používateľa/tretiu stranu v Európskej únii a v krajinách s identickým regulačným režimom (Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/746 o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro): ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne vážna nehoda, nahláste ju výrobcovi a/alebo jeho autorizovanému zástupcovi a vášmu národnému orgánu.

Summary of Safety and Performance (Súhrn informácií o bezpečnosti a výkonnosti) je k dispozícii v databáze EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRIA REVÍZIÍ

REVÍZIA AF:	Dátum vydania: August 2020

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AW	Máj 2022
Aktualizácie kvôli súladu s dokumentom Beckman Coulter Global Labelling Policy (Globálne pravidlá označovania spoločnosti Beckman Coulter) a podľa požiadaviek nariadenia IVDR (EÚ) 2017/746:	
Pridané časti	Číslo BSI 2797, Určený používateľ, Klinický význam, Koncentrácia, Zhodnosť, Presnosť, Medza prázdnej vzorky a medza merateľnosti, Doplňujúce informácie, História revízií.
Pridané informácie	Pozri časti Obmedzenia
Aktualizácie formulácií alebo typografické aktualizácie	Pozri časti Postup, Výkonnosť, Obmedzenia, Výstraha a opatrenia, Skladovanie a stabilita.
Odstránené časti	Príklad klinických aplikácií, Činidlá, Intralaboratórna reprodukovateľnosť, Linearita
Aktualizované časti	Určené použitie, Klasifikácia nebezpečenstiev podľa GHS, Známky zhoršenia kvality, Postup, Dodatok.

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AX	Apríl 2023
Aktualizované časti	Pridať kazaštinu
Aktualizované časti	Skladovanie a stabilita

Revidovaná verzia	AY
Dátum revízie	Máj 2024
Aktualizované preklady	**Klinický význam:**
Aktualizované časti	História revízií

Revidovaná verzia	AZ
Dátum revízie	Júl 2024
Aktualizované časti	História revízií

Popis symbolov

Slovník symbolov je dostupný na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	규격
특이도	CD5
클론	BL1a
하이브리도마	SP2/0 x balb/c
면역원	Lymphocytes from human thoracic duct
면역글로불린	IgG2a
종	생쥐
정제	친화성 크로마토그래피
형광색소	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
분자비	FITC/Ig: 4.0-6.5
λ 자극	488 nm
방출 피크	525 nm
완충액	PBS pH 7.2 + 2mg/mL BSA 및 0.1 % NaN_3

IOTest

복합 항체
CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20µL/검사

체외 **진단용**

사용목적

본 형광색소 결합 항체를 사용 시 유세포 분석법으로 인간의 생물학적 검체에 있는 CD5 항원을 나타내는 세포군의 정성적 동정 및 비자동 동정을 수행할 수 있습니다(아래 "검체" 섹션 참조).

원리

이 검사는 백혈구로 발현되는 항원 결정기에 특이적 단일클론 항체가 결합할 수 있는 능력에 기초합니다.

백혈구의 특이적 염색은 검체를 IOTest 시약과 함께 배양하여 수행합니다. 그런 다음 적혈구를 용해하여 제거하고 이 과정에서 영향을 받지 않은 백혈구를 유세포 분석법을 통해 분석하십시오.

유세포 분석기는 세포의 빛 확산과 형광 영역을 측정합니다. 유세포 분석기를 사용하면 빛의 직교 확산(측면 산란, SS)과 좁은 각의 광확산(전방 산란, FS)의 상호 관계를 지정하는 막대그래프상에 정의된 전자 창 내에서 관심 개체의 한계를 결정할 수 있습니다. 유세포 분석기에서 사용할 수 있는 두 가지 파라메타를 결합하는 기타 막대그래프를 사용자가 선택한 애플리케이션에 따라 게이팅 단계에서 지원 자료로 사용 가능합니다.

범위가 결정된 세포의 형광 영역을 분석하여 명확하게 염색된 이벤트와 염색되지 않은 이벤트를 구분합니다. 분석 결과는 게이팅으로 획득한 전체 이벤트와 비교한 양성 이벤트의 비율로 표현합니다.

의도된 사용자

본 제품은 실험실 전문가용입니다.

임상 관련성

CD5-FITC은(는) 유세포 분석법으로 CD5 항원을 나타내는 세포를 식별하고 특성화하는 데 사용하는 CD5 항체입니다. 본 제품만 사용하여 진단과 관련된 결론을 내릴 수 없으며, 해당 용도로 사용해서도 안 됩니다.

다른 표지자와 함께 사용하는 경우 이 제품은 다음 중 하나 이상의 기능에 사용할 수 있습니다.

- 조혈세포성 종양이 의심되고 혈액학적 이상을 동반하는 환자의 감별 진단을 위한 보조 수단으로 활용하거나 알려진 조혈세포성 종양을 가진 환자를 모니터링하는 데 사용합니다.
- 혈액암 환자 예후의 보조 수단으로 활용.

다음 참조를 살펴보십시오.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

검체

정맥혈은 EDTA 염을 항응고제로 포함한 무균 튜브를 사용하여 채취해야 합니다.

검체는 실온(18~25°C)에 보관해야 하며 흔들어서는 안 됩니다. 검사 검체를 채취하기 전에 부드럽게 교반하여 검체를 균질화해야 합니다.

검체는 정맥천자 후 24시간 이내에 분석해야 합니다.

농도

www.beckman.com에서 로트별 분석증명서를 확인할 수 있습니다.

경고 및 주의 사항

1. 유효 기간이 지난 시약은 사용하지 마십시오.
2. 냉동하지 마십시오.
3. 사용 전 실온(18~25°C)에 두십시오.
4. 빛 노출을 최소화하십시오.
5. 시약이 미생물에 오염되지 않도록 하십시오. 그러지 않으면 잘못된 결과를 얻을 수 있습니다.
6. 아지드화나트륨(NaN_3)을 함유한 항체 용액은 주의해서 다루어야 합니다. 흡입을 피하고 피부, 점막 및 눈에 절대 닿지 않도록 하십시오.

또한 산성 매질에 함유된 아지드화나트륨은 잠재적 위험 물질인 히드라조산을 만들어낼 수 있습니다. 시약을 폐기할 때는 금속 파이프 내 아지드화나트륨 축적과 폭발 위험을 방지하기 위해 다량의 물에 희석한 후 배수 시설로 흘려보내야 합니다.

7. 모든 혈액 검체는 잠재적으로 전염성이 있다고 간주하고 주의해서 다루어야 합니다(특히 보호용 장갑, 가운 및 보안경 착용).
8. 피펫을 절대 입으로 사용하지 않도록 하고 검체가 피부, 점막 및 눈에 닿지 않도록 하십시오.
9. 취급에 사용한 혈액 튜브 및 일회용 물질은 소각용 특수 용기에서 폐기해야 합니다.
10. 시약 및 폐기물은 현지 요구 사항에 따라 제거해야 합니다.

GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음

SDS 안전보건자료는 beckmancoulter.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다.

보관 및 안정성

이 시약은 바이알 개봉 전후에 2~8°C로 유지하면서 빛으로부터 보호해야 합니다.

안정성 시험에 따른 밀봉 바이알 유효 기간: 1095일.

개봉한 바이알의 안정성: 시약은 180일 동안 안정적입니다.

성능 저하 증거

시약 외관에 물리적 변화가 있는 경우 성능 저하를 나타내는 것일 수 있으므로 시약을 사용해서는 안 됩니다.

자세한 정보가 필요하거나 손상된 제품을 받은 경우에는 Beckman Coulter 고객 서비스에 800-742-2345(미국 또는 캐나다)로 또는 현지 Beckman Coulter 담당자에게 문의하십시오.

목차

소디움 아자이드 보존제는 금속 배수관에서 폭발성 화합물을 형성할 수 있습니다. NIOSH 게시판을 참조하십시오. Explosive Azide Hazard(폭발성 아지드 유해물질)(76/8/16)
아지드 화합물의 축적 가능성을 방지하려면 희석되지 않은 시약을 폐기한 다음 폐기 파이프를 물로 세척하십시오. 소디움 아자이드의 폐기는 해당 지역 규정을 따라야 합니다.

필요하지만 키트와 함께 제공되지 않는 품목:

- 검체 튜브와 검체 채취에 필요한 물질.
- 20, 100 및 500µL용 일회용 팁이 있는 자동 피펫.
- 플라스틱 용혈 튜브.
- 용해 후 세척 단계의 적혈구 용해 시약. 예: VersaLyse(참조 A09777).
- 백혈구 고정 시약. 예: IOTest 3 고정액(참조 A07800).
- 동형 정도관리물질FITC: IOTest 시약(참조 A12689).
- 완충액(PBS: 0.01M 인산나트륨, 0.145M 염화나트륨, pH 7.2).
- 원심분리기.
- 자동 교반기(교반 유형).
- 유세포 분석기.

VERSALYSE 시약을 이용한 절차

분석할 각 검체마다 검사 튜브와 더불어 동형 대조물질이 있는 상태에서 세포를 혼합하는 하나의 정도관리물질 튜브를 추가할 수 있습니다(참조 A12689).

1. 20µL의 특정 IOTest 결합 항체를 각 검사 튜브에 첨가하고, 필요에 따라 20µL의 동형 정도관리물질을 각 정도관리물질 튜브에 첨가합니다.
2. 100µL의 검사 검체를 각 튜브에 첨가합니다. 튜브를 부드럽게 교반합니다.
3. 실온(18~25°C)에서 빛을 피해 15~20분 동안 배양하십시오.
4. 그런 다음 적혈구 용해를 수행합니다. VersaLyse(참조 A09777) 책자 내용을 참조하여 즉석에서 준비한 1mL의 "고정 및 세포 용해" 혼합물을 첨가하는 "수반 고정" 절차를 따릅니다. 즉시 1초 동안 교반한 후 직사광선을 피해 상온에서 10분 동안 배양합니다.
5. 상온에서 150 x g로 5분 동안 원심분리합니다.
6. 흡입 시 상청액을 제거하십시오.
7. 3mL의 PBS를 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.
8. 5단계를 반복합니다.
9. 그런 다음 흡입 방식으로 상등액을 제거하고 다음을 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.

- 조제 물질을 24시간 미만으로 보관하려는 경우 0.1 %의 포름알데히드가 함유된 0.5mL 또는 1mL의 PBS. (0.1 % 포름알데히드 PBS는 12.5µL의 IOTest 3 고정액(참조 A07800)을 1mL의 PBS에 10X 농도로 희석하여 얻을 수 있습니다).
- 조제 물질을 2시간 이내에 분석하려는 경우 포름알데히드가 없는 0.5mL 또는 1mL의 PBS.

참고: 조제물은 항상 빛을 피해 2~8°C로 유지하십시오.

예상 수치

실험실에서 25명의 건강한 공여자의 전혈 검체를 위에 설명된 시약을 사용하여 처리했습니다. 이 시약에서 관심 대상의 양성 이벤트 수 계산을 위해 얻은 결과는 아래 표와 같습니다.

양성 표적	번호	평균(%)	표준편차	CV(%)
림프구	25	71.12	10.38	14.60

위 값은 전형적인 값으로만 참고해야 합니다. 각 실험실은 소재 지역의 정상 공여자 집단을 통해 고유한 예상값을 설정해야 합니다.

성능

성능 데이터는 위에 설명한 절차를 이용하여 이전에 EDTA 염을 항응고제로 하여 무균 튜브에서 수집한 지 24시간 미만인 혈액 검체로 획득합니다. 분석은 면역염색 후 2시간 이내에 수행됩니다.

특이도

CD5 분자는 대부분 림프구와 일부 B 림프구의 성숙 T 림프구 표면에서 발현됩니다(11,12,13). CD5는 BSR 활성화를 완화시켜 자가 반응(자가면역 반응)을 줄이는 것으로 보이는 말단 디옥시뉴클레오티딜 전이 효소(TdT) 부족으로 인해 IgM 분비 B세포의 일부에서 발현됩니다. 이와 반대로 T세포는 B세포보다 고농도의 CD5를 발현합니다. CD5는 강력한 활성화 시 T세포에서 증가합니다. 흉선에서 CD5 발현과 자가 펩티드에 대한 T세포 상호 작용의 강도 사이에 상관 관계가 있습니다. 과립구, 단핵구 및 혈소판에서는 CD5 발현이 나타나지 않습니다(13). 단일 클론 항체 BL1a는 1986년 영국 옥스포드에서 열린 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens(인간 백혈구 감별 항원에 관한 제 3차 HLDA 워크숍)에서 CD5에 할당되었습니다(WS 코드: 520, 섹션 T) (11,12).

정밀도

양성 비율 값은 전혈을 사용하여 측정되었습니다. 각 검체는 2개의 CD5-FITC 단일 클론 항체 시약 로트를 사용하여 2개의 장비에서 하루 동안 일일 2회씩 4번 실행되었습니다. 측정값(양성 비율)은 Navios 유세포 분석기로 도출했습니다. 분석은 CLSI 방법 EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods(EP5-A2: 정량적 측정 방법의 정밀도 성능 평가)를 기반으로 수행했습니다.

허용 기준은 각 집단에서 측정한 양성 이벤트 수에 따라 다릅니다.

- 양성 이벤트 수가 < 1,500인 경우 CV < 15 %
- 양성 이벤트 수가 > 1,500인 경우 CV < 10 %

림프구							
양성 이벤트 수(평균) = 1468							
	작업자 간	유세포 분석기 간	로트 내	로트 간	실행 간	실행 내	총계
CV(%)	1.75	1.79	5.51	2.04	1.99	4.83	6.14
결과	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

정확도

CD5-FITC의 정확도는 그 결과를 Navios 유세포 분석기로 처리된 전혈 검체에 공인 참조 시약을 가한 값과 비교하여 평가했습니다. 검사 시약과 참조 시약 간 바이어스는 검사 결과 간 차이를 기반으로 지정되었습니다. 바이어스가 허용 가능한 오차 범위 내에 있거나 p-값이 유의한 차이를 나타내지 않는 경우 (> 0.05) 두 시약의 검사 결과는 동일한 것으로 간주됩니다.

얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

공여자 수 = 25				
양성 표적	평균 Δ	Δ % 세포 기준	p-값	결과
림프구	0.73	<5	0.032	PASS

공시료 최저 검출한계 및 검출한계

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures(CLSI EP17-A2, 임상 실험실 측정 절차에 대한 검출 능력 평가)에 따라 연구를 실시했습니다. 검출한계(LoD)는 일관되게 검출 가능한 분석물질의 최저 농도입니다. 얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

Positive Target	공시료 최저 검출한계(세포/µL)	검출한계(세포/µL)
림프구	1	2

한계

1. 유세포 분석기가 완벽하게 정렬되지 않은 경우, 형광 누출이 올바르게 보정되지 않은 경우 또는 영역 위치를 신중하게 지정하지 않은 경우 유세포 분석법에서 잘못된 결과가 나올 수 있습니다.
2. 이 시약은 "비세척" 용해 기법에 최적화되지 않았으므로 세척 단계를 포함한 적혈구 용해법을 사용하는 것이 바람직합니다.
3. 사용한 절차가 동봉된 기술 책자의 내용을 따르고 실험실 모범 사례와 호환되는 경우 정확하고 재현 가능한 결과를 얻을 수 있습니다.
4. 이 시약의 결합 항체는 최상의 특이/비특이 신호비를 제공하도록 보정됩니다. 그러므로 모든 검사에서 시약의 용적/검체 용적 비율을 준수하는 것이 중요합니다.
5. 과백혈구 증가증의 경우 혈액을 PBS에 희석하여 대략 백혈구 5 x 10^9개/L 값을 얻어야 합니다(14).
6. 심한 신부전 또는 혈색소병증 같은 특정 질병 상태에서 적혈구의 용해는 느리거나 불완전하거나 심지어는 불가능할 수도 있습니다. 이러한 경우 염색 전에 밀도 구배(예: Ficoll)를 사용하여 단핵구 세포를 분리하는 것이 좋습니다(15).
7. 항 인간 단일 클론 항체 요법으로 치료받은 환자에서, 특이 표적 항원의 검출이 치료 항체에 의한 일부 또는 전체 차단으로 인해 감소하거나 이루어지지 않을 수 있습니다.
8. CD5-FITC 결과는 증상, 병력, 추가 검사 데이터, 기타 적절한 정보 등 환자의 모든 임상 증상을 고려하여 해석해야 합니다.

예시와 참고 자료는 부록을 참조하십시오.

상표

본 문서에 포함된 Beckman Coulter, 스타일 로고, Beckman Coulter 제품 및 서비스 마크는 미국 및 기타 국가에서 Beckman Coulter, Inc.의 상표이거나 등록 상표입니다.

추가 정보

유럽 연합 및 이와 동일한 규정 체제(EU 규정 2017/746, 체외 진단용 의료 기기 관련)를 사용하는 국가에 거주하는 환자/사용자/타사의 경우, 이 장치의 사용 중이나 사용으로 인해 심각한 상황이 발생했다면 제조업체 및/또는 공인 담당자와 해당 국가의 담당 기관에 신고하십시오.

Summary of Safety and Performance(안전성 및 성능에 관한 개요)는 ec.europa.eu/tools/eudamed 주소의 EUDAMED 데이터베이스에서 확인할 수 있습니다.

개정 이력

개정판 AF:	발행 날짜: 2020년 8월

개정	**발행 날짜**
AW	2022년 5월
Beckman Coulter 글로벌 라벨 지정 정책 및 IVD-R (EU) 2017/746 요건에 따라 업데이트했습니다.	
추가된 섹션	BSI 2797 번호, 대상 사용자, 임상적 관련성, 농도, 정밀도, 정확도, 공시료 최저 검출한계 및 검출한계, 추가 정보, 개정 이력.
추가된 정보	한계 섹션 참조
언어적 표현이나 글자 배치를 업데이트했습니다.	절차, 성능, 한계, 경고 및 주의 사항, 보관 및 안정성 섹션을 참조하십시오.
삭제된 섹션	임상 용도의 예, 시약, 실험실 내 재현성, 직선성
업데이트된 섹션	사용목적, GHS 유해물질 등급, 성능 저하 증거, 절차, 부록.

개정	**발행 날짜**
AX	4월 2023
업데이트된 섹션	카자흐어 추가
업데이트된 섹션	보관 및 안정성

개정된 버전	AY
개정 날짜	5월 2024
업데이트된 번역	**임상적 관련성:**
업데이트된 섹션	개정 이력

개정된 버전	AZ
개정 날짜	7월 2024
업데이트된 섹션	개정 이력

기호 목록

기호 용어집은 beckman.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다(문서 번호 B60062)

	Spesifikasyonlar
Özgüllük	CD5
Klon	BL1a
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
İmmünojen	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobulin	IgG2a
Türler	Fare
Arıtma	Afinite Kromatografisi
Florokrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molar oran	FITC/Ig: 4,0-6,5
λ eksitasyonu	488 nm
Emisyon piki	525 nm
Tampon	PBS pH 7,2 artı 2 mg/mL BSA ve %0,1 NaN_3

IOTest
Konjuge Antikor
CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

***İn Vitro* Diagnostik Kullanım içindir**

KULLANIM AMACI

Bu florokrom konjuge antikor, akış sitometrisi kullanılarak insan biyolojik örneklerinde var olan CD5 antijenini eksprese eden hücre popülasyonlarının otomatik olmayan ve kalitatif tanımlamasına olanak tanır (aşağıdaki "Örnekler" bölümüne bakın).

İLKE

Bu test, spesifik monoklonal antikorların lökositler tarafından eksprese edilen antijenik belirleyicilere bağlanabilmesine dayanmaktadır.

Lökositlerin spesifik boyaması, örnek, IOTest reaktifi ile inkübe edilerek gerçekleştirilir. Sonra kırmızı hücreler parçalanarak giderilir ve bu işlemden etkilenmeyen lökositler, akış sitometrisi ile analiz edilir.

Akış sitometrisi ışık difüzyonunu ve hücre floresanını ölçer. Bu durum, ilgili popülasyonun, ışığın ortogonal difüzyonu (Yana Yayılma veya SS) ve dar açılı ışığın difüzyonu (İleri Yayılma veya FS) ile ilişkilendirilen histogram üzerinde tanımlanmış elektronik pencerede sınırlanmasını sağlar. Sitometredeki farklı parametrelerden ikisini birleştiren diğer histogramlar, kullanıcının seçtiği uygulamaya bağlı olarak kapılama aşamasında destek olarak kullanılabilir.

Sınırlı hücrelerin floresanı analiz edilerek pozitif boyalı olaylar boyasızlardan ayrılır. Sonuçlar pozitif olayların geçiş ile edinilmiş tüm olaylara yüzdesi olarak ifade edilir.

HEDEF KULLANICI

Bu ürün, laboratuvarda profesyonel kullanım için tasarlanmıştır.

KLİNİK GEÇERLİLİK

CD5-FITC, akış sitometrisiyle CD5 antijenini eksprese eden hücreleri tanımlamak ve karakterize etmek amacıyla kullanılan bir CD5 antikorudur. Bu ürün tek başına, herhangi bir tanı sonucu oluşturamaz ve tanı sonucu oluşturmak üzere tasarlanmamıştır.

Bu ürün, diğer belirteçlerle birlikte kullanıldığında aşağıdaki işlevlerden biri veya daha fazlası için kullanılabilir:

- Hematopoetik neoplazmı olduğundan şüphelenilen hematolojik olarak anormal hastalarda ayırıcı tanıya yardımcı olmak ve bilinen hematopoetik neoplazmı olan hastaları izlemek için.
- Hematopoetik neoplazmı olan hastalarda prognoza yardımcı olmak için.

Şu referanslara bakın:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ÖRNEKLER

Antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüpler kullanılarak venöz kan alınmalıdır.

Örnekler oda sıcaklığında (18-25°C) tutulmalı ve çalkalanmamalıdır. Örnekler test örneği alınmadan önce hafifçe çalkalanarak homojenize edilmelidir.

Örnekler venipunktür sonrası 24 saat içinde analiz edilmelidir.

KONSANTRASYON

Lota özel Analiz Sertifikası için www.beckman.com adresine bakın.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. Reaktifi son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
2. Dondurmayın.
3. Kullanmadan önce oda sıcaklığına (18-25°C) getirin.
4. Işığa maruz kalmasını en aza indirin.
5. Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonundan kaçının yoksa yanlış sonuçlar oluşabilir.
6. Sodyum azid (NaN_3) içeren antikor solüsyonları dikkatle işlenmelidir. Yutmayın ve cilt, mukoza ve gözlerle temasından kaçının.

   Ayrıca, asit ortamında, sodyum azid potansiyel olarak tehlikeli hidrazoik asit oluşturabilir. Atılması gerekiyorsa, metal borularda sodyum azid birikmesini ve patlama riskini önlemek için, reaktifin drenaj sistemine dökülmeden önce çok miktarda suyla seyreltilmesi önerilmektedir.

7. Tüm kan örnekleri potansiyel olarak bulaşıcı olarak kabul edilmeli ve dikkatle ele alınmalıdır (özellikle koruyucu eldiven, önlük ve gözlük takılmalıdır).
8. Asla ağızla pipetleme yapmayın ve örneklerin cilt, mukoza veya gözle herhangi bir şekilde temas etmesini önleyin.
9. Taşıma için kullanılan kan tüpleri ve tek kullanımlık malzeme, yakma amacıyla özel kaplara atılmalıdır.
10. Reaktifler ve atıklar yerel gereksinimlere göre elimine edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır

SDS Güvenlik Bilgi Formuna beckmancoulter.com/techdocs adresinden ulaşılabilir

SAKLAMA VE STABİLİTE

Bu reaktifin, şişe açılmadan önce ve açıldıktan sonra 2 ile 8°C arasında tutulması ve ışıktan korunması gereklidir.

Stabilite çalışması için şişe raf ömrü: 1095 gün.

Açılan şişenin stabilitesi: reaktif 180 gün stabildir.

BOZULMA GÖSTERGESİ

Reaktiflerin fiziksel görünümündeki herhangi bir değişiklik bozulmayı gösterebilir ve reaktif kullanılmamalıdır.

Ek bilgi almak isterseniz veya aldığınız ürün hasarlı çıktıysa, 800-742-2345 numaralı telefondan (ABD veya Kanada) Beckman Coulter Müşteri Hizmetlerini arayın veya yerel Beckman Coulter Temsilcinizle temas kurun.

İÇİNDEKİLER

Sodyum azid koruyucu maddesi metal kanalizasyon hatlarında patlayıcı bileşimler oluşturabilir. NIOSH Bültenine bakın: Explosive Azide Hazard (Patlayıcı Azide Tehlikesi) (16.8.76).
Azid bileşenlerinin olası birikimini engellemek amacıyla, seyreltilmemiş reaktifi çöpe attıktan sonra atık borularını bol suyla yıkayın. Sodyum azid, uygun yerel düzenlemelere göre çöpe atılmalıdır.

GEREKLİ OLAN ANCAK KİT İLE BİRLİKTE VERİLMEYEN MALZEMELER:

- Numune alma tüpleri ve numune alma için gerekli malzemeler.
- 20, 100 ve 500 µL için tek kullanımlık uçlu otomatik pipetler.
- Plastik hemoliz tüpleri.
- Lizis sonrası yıkama aşamasıyla birlikte eritrosit lizis reaktifi. Örneğin: VersaLyse (Ref. A09777).
- Lökosit fiksasyon reaktifi. Örneğin: IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonu (Ref. A07800).
- İzotip kontrolüFITC: IOTest reaktifi (Ref. A12689).
- Tampon (PBS: 0,01 M sodyum fosfat; 0,145 M sodyum klorür; pH 7,2).
- Santrifüjleyin.
- Otomatik karıştırıcı (Vorteks tipi).
- Akış sitometresi.

VERSALYSE REAKTİFİ İLE PROSEDÜR

Analiz edilen her örnek için test tüpüne ek olarak, hücrelerin izotip kontrolü varlığında karıştırıldığı bir kontrol tüpü eklenebilir (Ref. A12689).

1. Her test tüpüne 20 µL spesifik IOTest konjuge antikor ve gerekirse, her kontrol tüpüne, 20 µL izotip kontrolü ekleyin.
2. Her bir tüpe 100 µL test örneği ekleyin. Tüpleri yavaşça vorteksleyin.
3. Oda sıcaklığında (18-25°C) ışıktan koruyarak 15-20 dakika boyunca inkübe edin.
4. Ardından kırmızı hücrelerin lizisini gerçekleştirin. VersaLyse (Ref. A09777) broşürüne bakın ve tercihen "birlikte kullanılan fiksasyon ile" adlı, doğaçlama hazırlanan 1 mL "Fiksasyon ve Lizis" karışımını eklemeyi içeren prosedürü izleyin. Hemen bir saniye boyunca vorteksleyin ve ışıktan koruyarak, 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
5. Oda sıcaklığında 5 dakika 150 x g hızda santrifüjleyin.
6. Aspirasyon ile üst fazı alın.
7. 3 mL PBS kullanarak hücre peletini yeniden süspanse edin.
8. Adım 5'i tekrarlayın.
9. Yüzer maddeyi aspirasyonla alın ve hücre topağını şunu kullanarak yeniden süspanse edin:

- Preparatlar 24 saatten az tutulacaksa, 0,5 mL veya 1 mL PBS'nin yanı sıra %0,1 formaldehit. (%0,1 formaldehit PBS, 1 mL PBS içinde 10X konsantre IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonundan (Ref. A07800) 12,5 µL seyreltilerek elde edilebilir).
- 0,5 mL veya 1 mL PBS formaldehidsiz, preparatlar 2 saat içinde analiz edilmelidir.

Not: Tüm durumlarda, preperatlar 2 ile 8°C arasında tutulmalı ve ışıktan korunmalıdır.

BEKLENEN DEĞERLER

Laboratuvarlarımızda, yukarıda açıklanan reaktif kullanılarak sağlıklı görünen 25 donörün tam kan örnekleri işlenmiştir. Bu reaktif ile ilgi konusu pozitif olayların sayısı için elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir:

Pozitif Hedef	Sayı	Ortalama (%)	SS	VK (%)
Lenfositler	25	71,12	10,38	14,60

Bu değerlerin sadece temsili olması amaçlanmaktadır. Her laboratuvar normal donörlerden oluşan yerel popülasyonunda kendi beklenen değerlerini oluşturmalıdır.

PERFORMANS

Performans verileri, antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüplerde daha önce toplanan, 24 saatten eski olmayan kan örnekleri üzerinde yukarıdaki prosedür kullanılarak elde edilmiştir. İmmün boyamayı takiben 2 saat içinde analiz gerçekleştirilir.

ÖZGÜLLÜK

CD5 molekülü timositlerin çoğu ve B lenfositlerinin alt popülasyonu ile olgun T lenfositlerinin yüzeyinde eksprese edilir (11,12,13). CD5, BSR aktivasyonunu azaltan ve böylelikle otomatik reaktiviteyi azaltan (otoimmün reaksiyon) terminal enzim deoksinükleotidil transferazın (TdT) yokluğundan dolayı IgM salgılayan B hücrelerinin alt kümesinde eksprese edilir. T hücreleri tam tersine B hücrelerinden daha yüksek seviyede CD5 eksprese eder. CD5 güçlü aktivasyon ile T hücrelerinde yukarı doğru regüle edilir. Timüste, CD5 ekspresyonu ve T hücresinin self peptidlere yönelik etkileşim kuvveti ile bir korelasyon vardır. CD5 ekspresyonu granülositler, monositler ve trombositlerde bulunmaz (13). Monoklonal antikor BL1a, 1986'da, Oxford, İngiltere'de gerçekleştirilen 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3. HLDA İnsan Lökositi Farklılaşması Antijenleri hakkındaki Seminer) sırasında CD5'e atanmıştır (WS Kodu: 520, Bölüm T) (11,12).

KESİNLİK

Yüzde pozitif değerler, Tam Kan kullanılarak belirlenmiştir. Her örnek, 2 lot CD5-FITC Monoklonal Antikor Reaktifleri kullanılarak 2 cihazda 1 gün için günde iki kez olmak üzere 4 kez çalışılmıştır. Ölçümler (% pozitif) Navios akış sitometresi üzerinde yapılmıştır. Analiz, CLSI yöntemi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kantitatif Ölçüm Yöntemlerinin Kesinlik Performansına İlişkin Değerlendirme) temelinde yürütülmüştür.

Kabul kriterlerimiz, her popülasyon için ölçülen pozitif olay sayısına bağlıdır:

- Pozitif olay <1.500, VK <%15 ise
- Pozitif olay >1.500, VK <%10 ise

Lenfositler							
Pozitif olay sayısı (Ortalama)=1468							
	Kullanıcılar arası	Sitometreler arası	Lot içi	Lotlar arası	Çalışmalar arası	Çalışma içi	Total
VK (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
SONUÇLAR	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOĞRULUK

CD5-FITC doğruluğu, bir Navios akış sitometresinde çalışılan tam kan örnekleri grubunda esas alınan referans reaktifle sonuçlar karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Test ve referans reaktif arasındaki sapma, test sonuçları arasındaki fark temelinde belirlenmiştir. Sapma, izin verilen hata aralığı dahilindeyse veya p değeri anlamlı fark göstermediğinde (>0,05), iki reaktif için test sonuçlarının eşdeğer olduğu kabul edilir.

Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Donör sayısı=25				
Pozitif Hedef	Ortalama Δ	Δ % Hücre kriteri	p değeri	SONUÇLAR
Lenfositler	0,73	<5	0,032	PASS

KÖR LİMİTİ VE TESPİT LİMİTİ

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klinik Laboratuvar Ölçüm Prosedürleri için Tespit Kabiliyetinin Değerlendirilmesi) ile uyumlu bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Tespit Limiti (LOD), tutarlı olarak tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonudur. Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Positive Target	Kör Limiti (hücre/µL)	Tespit Limiti (hücre/µL)
Lenfositler	1	2

SINIRLAMALAR

1. Akış sitometrisi, sitometre mükemmel şekilde hizalanmadıysa, floresan sızıntıları doğru şekilde telafi edilmediyse ve bölgeler dikkatli bir şekilde konumlandırılmadıysa yanlış sonuçlar üretebilir.
2. Bu reaktif "yıkamasız" parçalama teknikleri için optimize edilmediğinden, yıkama adımı içeren bir RBC parçalama tekniği kullanılması tercih edilir.
3. Kullanılan prosedürler teknik bilgi broşürüne uygun olduğu ve iyi laboratuvar uygulamalarına uygun olduğu sürece doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilecektir.
4. Bu reaktifin konjugat antikoru, en iyi spesifik sinyal/spesifik olmayan sinyal oranını sunacak şekilde kalibre edilir. Bu nedenle her testte reaktif hacmi/örnek hacmi oranına bağlı kalmak önemlidir.
5. Hiperlökositoz durumunda yaklaşık 5 x 10^9 lökosit/L (14) değerini elde etmek için kanı PBS içinde seyreltin.
6. Şiddetli böbrek yetmezliği veya hemoglobinopatiler gibi bazı hastalık durumlarında, eritrosit lizisi yavaş, eksik ve hatta imkansız olabilir. Bu durumda mononükleotidli hücrelerin boyama öncesinde yoğunluk gradyanı (örneğin Ficoll) kullanılarak izole edilmesi önerilmektedir (15).
7. Anti-insan monoklonal antikor terapisi ile tedavi edilen hastalarda, terapötik antikorun kısmi veya tam engellemesi nedeniyle spesifik hedeflenen antijenlerin tespiti azalabilir veya yapılamayabilir.
8. CD5-FITC sonuçları, semptomlar, klinik öykü, ilave testlerden elde edilen veriler ve diğer uygun bilgiler dahil olmak üzere hastanın genel klinik tablosu dikkate alınarak yorumlanmalıdır.

Örnekler ve referanslar için Ek'e bakın.

TİCARİ MARKALAR

Bu belgede belirtilen Beckman Coulter, stilize logo ve Beckman Coulter ürün ve hizmet markaları, Beckman Coulter, Inc. firmasının ABD'de ve diğer ülkelerdeki ticari veya tescilli ticari markalarıdır.

EK BİLGİLER

Avrupa Birliği'nde ve aynı düzenleme rejiminin olduğu ülkelerdeki (In Vitro Diagnostik Tıbbi Cihazlar hakkında 2017/746/EU sayılı Yönetmelik) hasta/kullanıcı/üçüncü taraflar için; bu cihazın kullanımı sırasında veya cihazın kullanımının bir sonucu olarak ciddi bir olay meydana gelirse lütfen olayı üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makamınıza bildirin.

Summary of Safety and Performance (Güvenlik ve Performans Özeti) EUDAMED veritabanında mevcuttur: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVİZYON GEÇMİŞİ

REVİZYON AF:	Yayın Tarihi: Ağustos 2020

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AW	Mayıs 2022
Beckman Coulter Global Etiketleme Politikasıyla uyumluluk sağlamak için ve IVD-R (AB)2017/746 gerekliliklerine göre güncellemeler yapıldı:	
Bölümler eklendi	BSI 2797 Numarası, Hedef Kullanıcı, Klinik Anlam, Konsantrasyon, Kesinlik, Doğruluk, Kör limiti ve tespit limiti, Ek Bilgiler, Revizyon Geçmişi.
Bilgi eklendi	Sınırlamalar bölümlerine bakın
İfade veya yazım güncellemeleri	Prosedür, Performans, Sınırlamalar, Uyarılar ve Önlemler, Saklama ve Stabilite bölümlerine bakın.
Bölümler kaldırıldı	Klinik uygulama örneği, Reaktifler, Laboratuvar içi yeniden üretilebilirlik, Linearite
Güncellenmiş bölümler	Kullanım Amacı, GHS Tehlike Sınıflandırması, Bozulma Göstergesi, Prosedür, Ek.

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AX	Nisan 2023
Güncellenmiş bölümler	Kazakça ekle
Güncellenmiş bölümler	Saklama ve stabilite

Düzeltilmiş Sürüm	AY
Revizyon Tarihi	Mayıs 2024
Güncellenmiş Çeviriler	**Klinik önemi:**
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Düzeltilmiş Sürüm	AZ
Revizyon Tarihi	Temmuz 2024
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Sembol Anahtarı

Semboller Sözlüğü beckman.com/techdocs adresinde bulunabilir (belge numarası B60062)

	Спецификации
Специфичность	CD5
Клон	BL1a
Гибридома	SP2/0 x balb/c
Иммуноген	Lymphocytes from human thoracic duct
Иммуноглобулин	IgG2a
Вид	Мышь
Очистка	Аффинная хроматография
Флуорохром	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Молярное отношение	FITC / Ig: 4,0-6,5
Возбуждение λ	488 nm
Пик эмиссии	525 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 мг/мл БСА и 0,1% NaN_3

Конъюгированное антитело IOTest CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 мл, 20 мкл/тест

Применяется для *In Vitro* диагностики.

НАЗНАЧЕНИЕ

Это конъюгированное с флуорохромом антитело позволяет с использованием проточной цитометрии выполнить качественное и не автоматизированное определение клеточных популяций, экспрессирующих антиген CD5, который присутствует в биологических пробах человека (см. раздел «Пробы» ниже).

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Данный тест основан на способности специфических моноклональных антител связывать антигенные детерминанты, экспрессированные лейкоцитами.

Специфическое окрашивание лейкоцитов выполняется путем инкубирования пробы с реагентом IOTest. Затем методом лизиса удаляются эритроциты, и выполняется анализ лейкоцитов, не затронутых этим процессом, методом проточной цитометрии.

Проточный цитометр измеряет светорассеяние и флуоресценцию клеток. Это дает возможность разграничения интересующей популяции в электронном окне, определенном на гистограмме, что коррелирует с ортогональным светорассеянием (боковое рассеяние, или SS) и рассеянием света под острым углом (прямое рассеяние, или FS). Другие гистограммы, сочетающие два из других параметров, доступных на цитометре, могут использоваться как вспомогательные на стадии селекции, в зависимости от приложения, выбранного пользователем.

Флуоресценцию разграниченных клеток анализируют с целью различения положительно-окрашенных и неокрашенных событий. Результаты выражаются в виде процентного отношения положительных событий ко всем событиям, полученным в ходе селекции.

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ

Изделие предназначено для использования в лаборатории персоналом с профессиональной подготовкой.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

CD5-FITC представляет собой антитело к CD5, используемое для идентификации и определения характеристик клеток, экспрессирующих антиген CD5, методом проточной цитометрии. Этот продукт отдельно от других исследований не может приводить к принятию каких-либо диагностических решений и не предназначен для этого.

При использовании в сочетании с другими маркерами этот продукт может использоваться в следующих целях.

- Для использования при дифференциальной диагностике пациентов с отклонениями гематологических результатов (при подозрении на наличие гематопоэтических новообразований), а также для мониторинга пациентов с известным гематопоэтическим новообразованием.
- Для определения прогноза у пациентов с гематопоэтическими новообразованиями.

См. следующие ссылки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ПРОБЫ

При взятии образца венозной крови необходимо использовать стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта.

Пробы следует хранить при комнатной температуре (18–25°C), не встряхивая. Пробы следует гомогенизировать, осторожно перемешав, до отбора тестовой пробы.

Пробы требуется проанализировать в течение 24 ч после венипункции.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

См. специфический для партии сертификат анализа на веб-сайте www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Не используйте реагенты после истечения срока годности.
2. Не замораживать.
3. Перед использованием довести до комнатной температуры (18–25°C).
4. Минимизируют воздействие света.
5. Во избежание получения ошибочных результатов не допускайте микробной контаминации реагентов.

6. Следует с осторожностью обращаться с растворами антител, содержащими натрия азид (NaN_3). Не принимайте внутрь и избегайте любого контакта с кожей, слизистыми оболочками и глазами.

   Кроме того, в кислой среде натрия азид может образовывать потенциально опасную азотистоводородную кислоту. Если требуется утилизация, рекомендуется разводить реагент в большом объеме воды, прежде чем выливать его в канализацию, чтобы избежать накопления натрия азида в металлических трубах и исключить возможность взрыва.

7. Все пробы крови должны считаться потенциально инфицированными, при обращении с ними необходимо соблюдать осторожность (в частности, использовать защитные перчатки, одежду и очки).
8. Никогда не пипетируйте ртом и избегайте любого контакта проб с кожей, слизистыми и глазами.
9. При утилизации пробирок и одноразовых материалов следует использовать специальные предназначенные для сжигания контейнеры.
10. При утилизации реагентов и отходов необходимо следовать требованиям местного законодательства.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Не классифицируется как опасное вещество

SDS Паспорт безопасности доступен на сайте beckmancoulter.com/techdocs

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Этот реагент требуется хранить при температуре от 2 до 8°C, защищая от света, до и после вскрытия флакона.

Срок хранения закрытого флакона согласно исследованию стабильности: 1095 день.

Стабильность в открытом флаконе: реагент сохраняет стабильность в течение 180 дн.

ПРИЗНАКИ ПОРЧИ

Любые изменения внешнего вида реагентов могут говорить о порче, использовать такой реагент не следует.

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь со своим местным представителем Beckman Coulter.

СОДЕРЖАНИЕ

Консервант с содержанием азида натрия может образовывать взрывоопасные соединения в металлической водопроводной арматуре. См. бюллетень Национального института по охране труда и промышленной гигиене (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Взрывоопасные азиды) (16.8.76). Чтобы избежать накопления азидных соединений, промывайте сливные трубы водой после сброса неразбавленного реагента. Утилизацию азида натрия следует проводить в соответствии с соответствующими местными нормами.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, КОТОРЫЕ НЕ ВХОДЯТ В НАБОР:

- Необходимые для взятия проб пробирки и материалы.
- Автоматические пипетки с одноразовыми наконечниками для 20, 100 и 500 мкл.
- Пластиковые пробирки для гемолиза.
- Реагент для лизиса эритроцитов с этапом промывки после лизиса. Например: VersaLyse (ссылочный номер A09777).
- Реагент для фиксации лейкоцитов. Например: IOTest 3 Fixative Solution (фиксирующий раствор) (ссылочный номер A07800).
- Изотипический контроль -FITC: Реагент IOTest (ссылочный номер A12689).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрия фосфата; 0,145 M натрия хлорида; pH 7,2).
- Центрифугируйте.
- Автоматическая мешалка (вортексная)
- Проточный цитометр.

ПРОЦЕДУРА С РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для каждой анализируемой пробы в дополнение к тестовой пробирке можно добавить одну контрольную пробирку, в которой клетки смешаны в присутствии изотипического контроля (ссылочный номер A12689).

1. В каждую тестовую пробирку добавьте по 20 мкл специфического конъюгированного антитела IOTest, а в каждую контрольную пробирку — по 20 мкл изотипического контроля, если необходимо.
2. Добавьте 100 мкл тестовой пробы в каждую пробирку. Аккуратно перемешайте пробирки на вортексе.
3. Инкубируют при комнатной температуре (18–25°C) в течение 15-20 мин, в защищенном от света месте.
4. Затем выполняют лизис эритроцитов. См. вкладыш VersaLyse (ссылочный номер A09777) и, предпочтительно, следуйте процедуре с названием «с сопутствующей фиксацией», которая заключается в добавлении 1 мл смеси «Фиксирующей и лизирующей», приготовленной для немедленного применения. Немедленно перемешивают на вортексе в течение одной секунды и инкубируют в течение 10 минут при комнатной температуре, защищая от света.
5. Центрифугируют в течение 5 минут при 150 g при комнатной температуре.
6. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации.
7. Ресуспендируют осадок клеток, используя 3 мл PBS.
8. Повторите шаг 5.
9. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации и ресуспендируют осадок клеток, используя:

- 0,5 мл или 1 мл PBS плюс 0,1% формальдегида, если препараты следует хранить менее 24 ч. (PBS с 0,1% формальдегида можно получить путем разведения 12,5 мкл фиксирующего раствора IOTest 3 (ссылочный номер A07800) в 10-кратной концентрации в 1 мл PBS).

- 0,5 мл или 1 мл PBS без формальдегида, если препараты следует проанализировать в течение 2 ч.

Примечание. В обязательном порядке защищайте подготавливаемые материалы от солнечного света, храните их при температуре от 2 до 8°C.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В наших лабораториях пробы цельной крови от клинически здоровых доноров (количество доноров: 25) были обработаны с использованием описанного выше реагента. Результаты, полученные для количества положительных интересующих явлений с этим реагентом, приводятся в таблице ниже:

Положительная мишень	Число	Среднее (%)	SD	CV (%)
Лимфоциты	25	71,12	10,38	14,60

Эти значения используются только в качестве примера. В каждой лаборатории должны быть установлены собственные диапазоны ожидаемых значений с учетом проб нормальных доноров из числа местного населения.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Рабочие характеристики получены с использованием описанной выше процедуры на пробах, собранных не ранее чем за 24 часа до анализа в стерильные пробирки с солью ЭДТА как антикоагулянтом. Анализ проводится в течение 2 часов после иммуноокрашивания.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Молекула CD5 экспрессируется на поверхности зрелых Т-лимфоцитов большинством тимоцитов и подгруппой популяции В-лимфоцитов (11,12,13). CD5 экспрессируется в подгруппе В-клеток, выделяющих IgM, из-за недостаточного объема терминальной дезоксинуклеотидилтрансферазы (TdT) фермента, который появляется для подавления активации BSR, и, тем самым, снижает аутоиммунную реакцию. С другой стороны, Т-клетки экспрессируют более высокие уровни CD5, чем В-клетки. CD5 положительно регулируется в Т-клетках при сильной активации. В вилочковой железе имеется корреляция с экспрессией CD5 и интенсивностью взаимодействия Т-клеток по отношению к аутопептидам. Экспрессия CD5 не обнаружена в гранулоцитах, моноцитах и тромбоцитах (13). Во время семинара 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3-й семинар по дифференцировочному антигену лейкоцитов человека — HLDA), прошедшего в Оксфорде, Великобритания, в 1986 году (Код WS: 520, раздел Т) для CD5 было назначено моноклональное антитело BL1a (11,12).

ПРЕЦИЗИОННОСТЬ

Процент положительных результатов был установлен с использованием цельной крови. Каждую пробу измеряли 4 раза, два раза в день в течение 1 дня на 2 приборах, с использованием 2 партий реагентов моноклональных антител CD5-FITC. Измерения (% положительных) выполняли на проточном цитометре Navios. Анализ проводился на основе метода CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оценка прецизионности количественных методик измерения).

Наши критерии принятия зависят от количества положительных событий, измеренных для каждой популяции:

- Если положительных событий <1 500, CV <15%
- Если положительных событий >1 500, CV <10%

Лимфоциты							
Количество положительных событий (среднее) = 1468							
	Между операторами	Между цитометрами	Внутри партии	Между партиями	Между анализами	Внутри анализа	Итого
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
РЕЗУЛЬТАТЫ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТЬ

Точность CD5-FITC оценивалась путем сравнения результатов с результатами по референсному реагенту как предикатом. Анализ выполняли на проточном цитометре Navios с использованием набора проб цельной крови. Систематическая ошибка оценки между тестовым и референсным реагентами была определена на основании различий между результатами теста. Если систематическая ошибка оценки находится в пределах допустимого диапазона ошибки или если p-значение указывает на отсутствие значительного различия (>0,05), тогда результаты теста для двух реагентов рассматриваются как эквивалентные.

Полученные результаты обобщены в таблице далее.

Количество доноров = 25				
Положительная мишень	Среднее значение Δ	Критерии Δ % клеток	p-значение	РЕЗУЛЬТАТЫ
Лимфоциты	0,73	<5	0,032	PASS

ПРЕДЕЛ БЛАНКА И ПРЕДЕЛ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Исследование было проведено в соответствии с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Оценка способности обнаружения для методик измерения клинической лаборатории). Предел чувствительности (LOD) — наименьшая концентрация аналита, которая может последовательно обнаруживаться. Полученные результаты обобщены в таблице ниже.

Positive Target	Предел бланка (клеток/мкл)	Предел чувствительности (клеток/мкл)
Лимфоциты	1	2

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. При проведении проточной цитометрии возможно получение ложных результатов, если цитометр не был идеально позиционирован, не была проведена правильная компенсация утечек флуоресцентного агента или точное позиционирование областей.
2. Предпочтительно использовать технику лизиса RBC с шагом промывки, так как этот реагент не был оптимизирован для техник лизиса «без промывки».

3. Для получения точных и повторяемых результатов необходимо выполнять процедуры в соответствии с инструкцией-вкладышем и требованиями надлежащей лабораторной практики.
4. Выполняется калибровка конъюгированного антитела этого реагента с целью получения наилучшего для данной конкретной задачи соотношения специфичного и неспецифичного сигнала. Поэтому при каждом тесте важно придерживаться правильного соотношения объема реагента и пробы.
5. При гиперлейкоцитозе, разбавляют кровь PBS до приблизительно 5 x 10^9 лейкоцитов/л (14).
6. При определенных заболеваниях, таких как острая почечная недостаточность или гемоглобинопатии, лизис эритроцитов может протекать медленно, быть неполным или даже невозможным. В таком случае рекомендуется изолировать одноядерные клетки, используя градиент плотности (например, фиколл), перед окрашиванием (15).
7. У пациентов, получавших лечение античеловеческими моноклональными антителами, обнаружение специфических целевых антител может быть снижено или может отсутствовать вследствие частичной или полной блокировки терапевтическими антителами.
8. Результаты CD5-FITC должны интерпретироваться с учетом общих клинических проявлений пациента, включая симптомы, историю болезни, данные дополнительных тестирований и прочую информацию.

Примеры и ссылки см. в Приложении.

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

Beckman Coulter, стилизованный логотип и упоминаемые здесь знаки продукции и услуг Beckman Coulter являются товарными знаками или зарегистрированными товарными знаками корпорации Beckman Coulter, Inc. в Соединенных Штатах и других странах.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для пациента / пользователя / третьей стороны в Европейском Союзе и в странах с идентичным регуляторным режимом (Регламент 2017/746/EC в отношении медицинских изделий для in vitro диагностики); если, во время использования этого изделия или в результате его использования произошел серьезный инцидент, сообщите о нем производителю и/или его уполномоченному представителю и своему национальному органу регулирования.

Summary of Safety and Performance (Сводные данные по безопасности и функциональным характеристикам) доступны в Европейской базе данных изделий медицинского назначения (EUDAMED): ec.europa.eu/tools/eudamed.

СВЕДЕНИЯ О ВЕРСИЯХ

ВЕРСИЯ AF:	Дата выпуска: август 2020 г.

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AW	Май 2022 г.
Обновления с целью приведения в соответствие политике международной маркировки Beckman Coulter и для выполнения требований IVD-R (EC)2017/746:	
Добавлены разделы	Номер BSI 2797, «Предполагаемый пользователь», «Клиническая значимость», «Концентрация», «Прецизионность», «Точность», «Предел бланка и предел чувствительности», «Дополнительная информация», «Сведения о версиях».
Добавлена информация	См. раздел «Ограничения»
Обновлены формулировки или исправлены опечатки	См. разделы «Процедура», «Эксплуатационные характеристики», «Ограничения», «Предупреждения и меры предосторожности», «Хранение и стабильность».
Удалены разделы	«Примеры клинических областей применения», «Реагенты», «Внутрилабораторная сходимость», «Линейность»
Обновленные разделы	«Назначение», «Классификация опасностей по системе СГС», «Признаки порчи», «Процедура», «Приложение».

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AX	Апрель 2023
Обновленные разделы	Добавить казахский язык
Обновленные разделы	Хранение и стабильность

Пересмотренная версия	AY
Дата пересмотра	Май 2024
Обновленные переводы	**Клиническая значимость:**
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Пересмотренная версия	AZ
Дата пересмотра	Июль 2024
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Определения символов

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (номер документа B60062)

	Spetsifikatsioonid
Spetsiifilisus	CD5
Kloon	BL1a
Hübridoom	SP2/0 x balb/c
Immunogeen	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobuliin	IgG2a
Liigid	Hiir
Puhastamine	Afiinsuskromatograafia
Fluorokroom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molaarsuhe	FITC/Ig: 4,0-6,5
λ ergastumine	488 nm
Emission Peak	525 nm
Puhver	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/ml BSA ja 0,1% NaN_3

IOTest
konjugeeritud antikeha CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 ml, 20 µl / analüüs

***In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks**

KASUTUSOTSTARVE

See fluorokroomiga konjugeeritud antikeha võimaldab voolutsütomeetriaga kvalitatiivselt ja mitteautomatiseeritult tuvastada rakupopulatsioone, mis esitavad inimese bioloogilistes proovides antigeeni CD5 (vt allpool osa „Proovid“).

PÕHIMÕTE

Analüüs põhineb spetsiifiliste monoklonaalsete antikehade võimel seonduda leukotsüütide sünteesitavate antigeensete determinantidega.

Leukotsüütide eriomaseks värvimiseks tuleb proovi koos tootesarja IOTest reagendiga inkubeerida. Seejärel eemaldatakse erütrotsüüdid lüüsimisega ja pärast seda analüüsitakse voolutsütomeetriaga leukotsüüte, mida see protsess ei mõjuta.

Läbivoolutsütomeeter mõõdab valguse hajumist ja rakkude fluorestsentsi. See muudab võimalikuks huvialuse populatsiooni piiristamise histogrammil määratud elektroonilisel alal. Histogramm korreleerib valguse ortogonaalset hajumist (külghajumine ehk KH) ja kitsasnurga valguse hajumist (edasihajumine ehk EH). Teisi histogramme, kus ühendatakse tsütomeetrias saadaolevat kahte parameetrit, võib kasutada lüüsimisetapis olenevalt kasutaja valitud rakendusest.

Piiritletud rakkude fluorestsentsi analüüsitakse, et eristada positiivselt värvitud sündmusi värvimata sündmustest. Tulemusi kajastatakse positiivsete sündmuste protsentuaalse osakaaluna kõigi väravdamisega hõivatud sündmuste suhtes.

SIHTKASUTAJA

See toode on ette nähtud laboratoorseks kasutamiseks.

KLIINILINE TÄHTSUS

CD5-FITC on CD5 antikeha, mida kasutatakse CD5 antigeeni sünteesivate rakkude voolutsütomeetriaga tuvastamiseks ja kirjeldamiseks. See toode üksi ei saa ega ole mõeldud ühegi diagnostilise otsuse tegemiseks.

Koos teiste markeritega kasutades saab seda toodet kasutada ühes või mitmes järgmistest funktsioonidest:

- Lihtsustamaks diferentsiaaldiagnoosi panemist hematoloogiliste ebanormaalsustega patsientidele, kellel kahtlustatakse vereloome neoplasmi esinemist, ja teadaoleva vereloome neoplasmiga patsientide monitoorimiseks.
- Vereloome neoplasmiga patsientidele prognoosi andmise hõlbustamiseks.

Vt järgmisi viiteid.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROOVID

Veeniverd tuleb võtta steriilsete katsutitega, mis sisaldavad antikoagulandina etüleendiamiintetraatsetaadi (EDTA) soola.

Proove tuleb hoida toatemperatuuril (18–25 °C) ja neid ei tohi raputada. Proove tuleb ühtlustada seda enne näidisproovi võtmist ettevaatlikult loksutades.

Proove tuleb analüüsida 24 tunni jooksul alates veenipunktsioonist.

KONTSENTRATSIOON

Vt partiispetsiifilist analüüsi sertifikaati veebilehelt www.beckman.com.

HOIATUS JA ETTEVAATUSABINÕUD

1. Ärge kasutage reagenti pärast aegumiskuupäeva.
2. Ärge külmutage.
3. Enne kasutamist laske tasakaalustuda toatemperatuuriga (18–25 °C).
4. Minimeerige kokkupuudet valgusega.
5. Vältige reagentide mikroobidega saastumist, vastasel juhul võite saada valed tulemused.
6. Antikehade lahuseid, mis sisaldavad naatriumasiidi (NaN_3), tuleb käsitseda ettevaatlikult. See pole mõeldud seespidiseks kasutamiseks. Vältige kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.

Lisaks võib naatriumasiid moodustada happelises keskkonnas potentsiaalselt ohtliku hüdrasoonhappe. Kui see tuleb kõrvaldada, on soovitatav lahjendada reagenti suure hulga veega, enne kui see äravoolusüsteemi valada, et vältida plahvatusohtu ja naatriumasiidi kogunemist metalltorudesse.

7. Kõiki vereproove tuleb pidada potentsiaalselt nakkusohtlikuks ja käsitseda ettevaatusega (kasutage kaitsekindaid, kitlit ning kaitseprille).
8. Ärge kunagi pipettige suuga ja vältige proovide kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.
9. Verekatsutid ja käitlemiseks kasutatav ühekordselt kasutatav materjal tuleb hävitada põletamiseks ettenähtud spetsiaalsetes konteinerites.
10. Reagendid ja jäätmed tuleb kõrvaldada vastavalt kohalikele nõuetele.

GHS-I OHUKLASSIFIKATSIOON

Ei ole klassifitseeritud ohtlikuks

SDS Ohutuskaart on saadaval saidil beckmancoulter.com/techdocs

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Seda reagenti tuleb enne ja pärast viaali avamist hoida temperatuuril 2–8 °C ning valguse eest kaitstult.

Suletud viaali säilivusaeg stabiilsusuuringu põhjal: 1095 päeva.

Avatud viaali stabiilsus: reagent on stabiilne 180 päeva.

RIKNEMISE TUNNUSED

Igasugune muutus reagentide füüsilises välimuses võib viidata reagendi riknemisele ja seda ei tohi kasutada.

Lisateabe hankimiseks või kahjustatud toote saamisel helistage Beckman Coulteri klienditeenindusse numbril 800-742-2345 (USA või Kanada) või võtke ühendust kohaliku Beckman Coulteri esindajaga.

SISU

Naatriumasiidist konservant võib moodustada metallist kanalisatsioonitorudes plahvatusohtlikke ühendeid. Vt asutuse NIOSH teadaannet. Explosive Azide Hazard (Plahvatusohtliku asiidi oht) (16.8.76).
Vältimaks võimalikku asiidiühendite akumuleerimist, loputage äravoolutorusid pärast lahjendamata reagendi kõrvaldamist. Naatriumasiidi kõrvaldamine peab olema kooskõlas asjakohaste kohalike eeskirjadega.

VAJALIKUD, KUID KOMPLEKTI MITTEKUULUVAD MATERJALID

- Proovide kogumiseks vajalikud proovivõtukatsutid ja vahendid.
- Automaatpipetid ühekordselt kasutatavate otsakutega, mis võimaldavad teisaldada 20, 100 ja 500 µl.
- Plastist hemolüüsi katsutid.
- Erütrotsüütide lüüsireagent koos pesemisetapiga pärast lüüsi. Analüüsinäide VersaLyse (viitenr A09777).
- Leukotsüütide fikseerimisreagent. Näide Tootesarja IOTest 3 fikseerimisreagent (viitenr A07800).
- Isotüübi kontrollFITC: Tootesarja IOTest reagent (viitenr A12689).
- Puhver (PBS: 0,01 M naatriumfosfaat; 0,145 M naatriumkloriid; pH 7,2).
- Tsentrifuugige.
- Automaatsegisti (vibratsioonsegamise tüüpi).
- Voolutsütomeeter.

PROTSEDUUR REAGENDIGA VERSALYSE

Iga analüüsitud proovi kohta võib lisaks analüüsikatsutile lisada ühe kontrollkatsuti, milles rakud segatakse isotüübi kontrolliga (viitenr A12689).

1. Lisage igasse analüüsikatsutisse 20 µl spetsiifilist tootesarja IOTest konjugeeritud antikeha ja vajaduse korral igasse kontrollkatsutisse 20 µl isotüüpset kontrolli.
2. Lisage igasse katsutisse 100 µl analüüsiproovi. Vibratsioonsegage ettevaatlikult katsuteid.
3. Inkubeerige valguse eest kaitstult 15–20 minutit toatemperatuuril (18–25 °C).
4. Seejärel lüüsige erütrotsüüdid. Lugege VersaLyse'i (viitenr A09777) teabelehte ja järgige eelistatavalt protseduuri nimega „samaaegse fikseerimisega", mis põhineb ekstemporaalselt ettevalmistatud 1 ml segu „Fix-and-Lyse" lisamisel. Vibratsioonsegage kohe üks sekund ja inkubeerige 10 minutit toatemperatuuril valguse eest kaitstult.
5. Tsentrifuugige 5 minutit toatemperatuuril kasutades sätet 150 x g.
6. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus.
7. Taassuspendeerige rakusade PBS-is, mille kogus on 3 ml.
8. Korrake etappi 5.
9. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus ja taassuspendeerige rakugraanuleid vahendiga:

- 0,5 ml või 1 ml PBS-i ja 0,1% formaldehüüdi, kui preparaate tuleb hoida vähem kui 24 tundi. (0,1% formaldehüüdi sisaldava PBS-i saamiseks võite lahjendada 12,5 µl tootesarja IOTest 3 10x kontsentratsioonil fikseerimislahust (viitenr A07800) PBS-is, mille kogus on) 1 ml.
- 0,5 ml või 1 ml formaldehüüdita PBS-iga, kui valmissegusid analüüsitakse 2 tunni jooksul.

Märkus Preparaate tuleb alati hoida temperatuuril 2–8 °C ja valguse eest kaitstult.

OODATUD VÄÄRTUSED

Ettevõttesisestes laborites töödeldi ülalkirjeldatud reagendiga täisvere proove, mis koguti 25 tõenäoliselt tervelt doonoritelt. Alljärgnev tabel annab ülevaate selle reagendiga saadud positiivsete huvipakkuvate sündmuste loendustulemustest:

Positiivne siht	Arv	Keskmine (%)	SH	CV (%)
Lümfotsüüdid	25	71,12	10,38	14,60

Need väärtused on mõeldud üksnes näitlikena. Iga laboratoorium peaks kindlaks määrama oma oodatavad vahemikud kohaliku tavapäraste doonorite populatsiooni alusel.

TOIMIMINE

Toimimisandmed saadakse kasutades ülalkirjeldatud protseduuri vähem kui 24 tundi vanadel antikoagulandi EDTA naatriumsoolaga steriilsetesse katsutitesse kogutud vereproovidel. Analüüs tehakse 2 tunni jooksul pärast immuunovärvimist.

SPETSIIFILISUS

CD5 molekul avaldub valminud T-lümfotsüütide pinnal tümotsüütide enamuse ja B-lümfotsüütide alampopulatsiooni kaudu (11, 12, 13). CD5 avaldub IgM-i tootvate B-rakkude alamkogumis terminaalse desoksünukleotidüüli transferaasi (TdT) ensüümi vähesuse tõttu, mis näib nõrgendavat BSR-i aktiveerumist ja vähendab seega autoreaktiivsust (autoimmuunreaktsiooni). T-rakkudes avaldub CD5 kõrgemal tasemel kui B-rakkudes. CD5 suureneb T-rakkudes tugeva aktiveerumise korral. Harkelundis on seos CD5 avaldumise ja T-rakkude reaktsiooni tugevuse vahel isekoostuvate peptiidide suhtes. CD5 ei avaldu granulotsüütides, monotsüütides ega trombotsüütides (13). Monoklonaalne antikeha BL1a määrati CD5-le seminaril 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3. HLDA seminar inimese leukotsüütide diferentseerimise antigeenide kohta), mis toimus 1986. aastal Oxfordis Inglismaal (kood WS: 520, jaotis T) (11, 12).

TÄPSUS

Positiivsete väärtuste protsent määrati täisverest. Igat proovi testiti 4 korda, kaks korda päevas, 1 päeva jooksul 2 instrumendil, kasutades 2 CD5-FITC monoklonaalsete antikehade reagentide partiid. Mõõtmised (% positiivne) tehti Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsiti CLSI meetodi EP5-A2 põhjal. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivsete mõõtmismeetodite täpsuse näitajate hindamine).

Meie sobivuskriteeriumid sõltuvad iga populatsiooni kohta mõõdetud positiivsete sündmuste arvust:

- Positiivse sündmuse korral < 1500, CV < 15%
- Positiivse sündmuse korral > 1500, CV < 10%

Lümfotsüüdid							
Positiivsete sündmuste arv (keskmine) = 1468							
	Kasutajatevaheline	Tsütomeetritevaheline	Partiisisene	Partiidevaheline	Testidevaheline	Testisisene	Kokku
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
TULEMUSED	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

MÕÕTETÄPSUS

CD5-FITC mõõtetäpsust hinnati võrreldes tulemusi võrdlusreagendiga kui predikaadiga täisvereproovide komplektis, mida oli testitud Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsi- ja võrdlusreagendi erinevused määrati analüüsitulemuste erinevuse põhjal. Kui erisus jääb lubatud veavahemikku või kui p-väärtus ei näita statistiliselt olulist erinevust (> 0,05), loetakse kahe reagendi analüüsitulemused võrdväärseteks.

Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis.

Doonorite arv = 25				
Positiivne siht	Keskmine Δ	Δ% raku kriteeriumid	p-väärtus	TULEMUSED
Lümfotsüüdid	0,73	<5	0,032	PASS

NULLPIIR JA TUVASTUSPIIR

Uuriti vastavalt CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Kliinilise labori mõõtmisprotseduuride avastamisvõime hindamise) nõuetele. Tuvastuspiir (LOD) on väikseim analüüdi kontsentratsioon, mida saab järjekindlalt määrata. Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis:

Positive Target	Nullpiir (rakku/µl)	Tuvastuspiir (rakku/µl)
Lümfotsüüdid	1	2

PIIRANGUD

1. Voolutsütomeetria võib anda valed tulemused, kui tsütomeeter ei ole ideaalselt joondatud, kui fluorestsentsi lekkeid ei ole õigesti kompenseeritud ja kui piirkonnad ei ole hoolikalt paigutatud.
2. Eelistatav on kasutada pesemisetapiga RBC lüüsi tehnikat, kuna seda reagenti pole optimeeritud „pesemiseta“ lüüsi tehnikate jaoks.
3. Täpsed ja korratavad tulemused saadakse, kui kasutatavad protseduurid on kooskõlas tehnilise teabelehe ja heade laboritavadega.
4. Selle reagendi pööratud antikeha kalibreeritakse nii, et tagatud oleks parim spetsiifilise/mittespetsiifilise signaali suhe. Seetõttu on igas analüüsis oluline järgida reagendi- ja proovimahu suhet.
5. Hüperleukotsütoosi korral lahjendage verd PBS-is nii, et saadav väärtus oleks ligikaudu 5 x 10^9 leukotsüüti/l kohta (14).
6. Teatud haigusseisundite (näiteks raske neerupuudulikkuse või hemoglobinopaatia) korral võib erütrotsüütide lüüsimine olla aeglane, mittetäielik või isegi võimatu. Sellisel juhul on enne värvimist soovitatav mononukleaarsete rakkude isoleerimine tihedusgradiendi (näiteks Ficoll-gradiendi) abil (15).
7. Inimesevastaste monoklonaalsete antikehadega ravitud patsientidel võib spetsiifiliste antigeenide tuvastamise võime väheneda või puududa, sest need on terapeutiliste antikehade poolt osaliselt või täielikult blokeeritud.
8. CD5-FITC tulemuste tõlgendamisel tuleb arvestada patsiendi terviklikku kliinilist pilti, sh sümptomeid, kliinilist anamneesi, lisaanalüüside andmeid ja muud asjakohast teavet.

Vt näiteid ja viiteid lisast.

KAUBAMÄRGID

Beckman Coulter, stiliseeritud logo ning selles juhendis nimetatud ettevõtte Beckman Coulter toote- ja teenusemärgid on ettevõtte Beckman Coulter, Inc. kaubamärgid või registreeritud kaubamärgid Ameerika Ühendriikides ja teistes riikides.

LISATEAVE

Patsiendile / kasutajale / muule osapoolele Euroopa Liidus ja identse regulatsioonirežiimiga riikides (määrus (EL) nr 2017/746 in vitro diagnostikameditsiiniseadmete kohta), kui selle seadme kasutamise ajal või selle kasutamise tagajärjel on toimunud tõsine vahejuhtum, teatage sellest tootjale ja/või tema volitatud esindajale ning teie riiklikult pädevale asutusele.

Summary of Safety and Performance (Ohutuse ja kliinilise toimivuse kokkuvõte) on EUDAMED-andmebaasis: ec.europa.eu/tools/eudamed.

VERSIOONI AJALUGU

REVISION AF:	Väljaandmise kuupäev: august 2020

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AW	Mai 2022
Värskendused, mis vastavad Beckman Coulteri ülemaailmse märgistamise poliitikale ja IVD-R (EL) 2017/746 nõuetele:	
Lisatud osad	BSI 2797 number, sihtkasutaja, kliiniline tähtsus, kontsentratsioon, täpsus, mõõtetäpsus, nullpiir ja tuvastuspiir, lisateave, versiooni ajalugu.
Lisatud informatsioon	Vaata osa „Piirangud“
Fraseerimine või tüpograafiline värskendamine	Vaata osasid Protseduur, Toimimine, Piirangud, Hoiatus ja ettevaatusabinõud, Säilitamine ja stabiilsus.
Eemaldatud osad	Kasutusotstarvete, reagentide, laborisisese korratavuse, lineaarsuse näited
Uuendatud jaotised	Kasutusotstarve, GHS-i ohuklassifikatsioon, Riknemise tunnused, Protseduur, Lisa.

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AX	aprill 2023
Uuendatud jaotised	Lisada kasahhi keel
Uuendatud jaotised	Säilitamine ja stabiilsus

Muudetud versioon	AY
Muutmise kuupäev	mai 2024
Värskendatud tõlked	**Kliiniline tähtsus:**
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Muudetud versioon	AZ
Muutmise kuupäev	juuli 2024
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Sümboli tähis

Sümbolite mõisted on kättesaadavad veebilehel beckman.com/techdocs (dokument nr B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD5
Klon	BL1a
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Imunoglobulin	IgG2a
Vrsta	Miš
Pročišćavanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molarni omjer	FITC / Ig: 4,0-6,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna emisija	525 nm
Pufer	PBS pH 7,2 uz 2 mg/mL BSA i 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano antitijelo CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Za *in vitro* dijagnostičku uporabu

NAMJENA

To fluorokromom konjugirano antitijelo omogućuje kvalitativno i neautomatizirano prepoznavanje populacija stanica koje eksprimiraju antigen CD5 prisutan u humanim biološkim uzorcima uz pomoć protočne citometrije (pogledajte odjeljak „Uzorci" u nastavku).

NAČELO

Ovaj je test utemeljen na mogućnosti vezivanja specifičnih monoklonskih antitijela na antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično se bojenje leukocita izvodi inkubacijom uzorka s reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utječe, analiziraju se protočnom citometrijom.

Citometar toka mjeri difuziju svjetlosti i fluorescenciju stanica. Omogućuje razgraničavanje promatrane populacije unutar elektroničkog prozora definiranog na histogramu, koji stvara korelaciju između ortogonalne difuzije svjetlosti (bočnog raspršenja (BR)) i difuzije uskokutne svjetlosti (prednjeg raspršenja (PR)). Drugi histogrami koji kombiniraju dva od više različitih parametara dostupnih na citometru mogu se upotrebljavati kao pomoć u fazi ograđivanja ovisno o primjeni koju je odabrao korisnik.

Analizira se fluorescencija ograničenih stanica da bi se pozitivno obojeni događaji odvojili od neobojenih. Rezultati se izražavaju kao postotak pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobivene ograđivanjem.

PREDVIĐENI KORISNIK

Proizvod je namijenjen za profesionalnu laboratorijsku uporabu.

KLINIČKA RELEVANTNOST

CD5-FITC antitijelo je na CD5 koje se koristi za prepoznavanje i karakteriziranje stanica koje eksprimiraju antigen CD5 protočnom citometrijom. Ovaj proizvod samostalno ne može generirati nikakav dijagnostički zaključak niti je tome namijenjen.

Kada se upotrebljava u kombinaciji s drugim markerima, ovaj se proizvod može upotrebljavati u jednoj ili više sljedećih funkcija:

- Kao pomoć prilikom postavljanja diferencijalne dijagnoze u hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu te za praćenje pacijenata s poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć prilikom donošenja prognoze za pacijente s hematopoetskom neoplazmom.

Pogledajte sljedeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

UZORCI

Venska krv mora se uzeti sterilnim epruvetama koje kao antikoagulans sadrže EDTA sol.

Uzorke držite na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C) i nemojte ih tresti. Prije uzimanja testnog uzorka potrebno je homogenizirati uzorke pažljivim mućkanjem.

Uzorci venske krvi moraju se analizirati u roku od 24 sata od njihova uzimanja.

KONCENTRACIJA

Na web-mjestu www.beckman.com pogledajte Certifikat o analizi specifičan za lot koji upotrebljavate.

UPOZORENJE I MJERE OPREZA

1. Reagens nemojte upotrebljavati nakon isteka roka trajanja.
2. Nemojte zamrzavati.
3. Prije upotrebe pustite da dosegne sobnu temperaturu (18 – 25 °C).
4. Smanjite izlaganje svjetlu.
5. Izbjegavajte mikrobnu kontaminaciju reagensa ili može doći do netočnih rezultata.
6. Otopinama antitijela koje sadrže natrijev azid (NaN_3) potrebno je rukovati oprezno. Ne gutajte i izbjegavajte dodir s kožom, sluznicom i očima.

Štoviše, natrijev azid u kiselom mediju može formirati potencijalno opasnu hidrazoičnu kiselinu. Ako je reagens potrebno odložiti u otpad, preporučuje se da ga razrijedite u velikoj količini vode prije nego što ga izlijete u odvodni sustav da biste izbjegli nakupljanje natrijeva azida u metalnim cijevima i spriječili opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno zaraznima te je njima potrebno rukovati oprezno (odnosno nositi zaštitne rukavice, odjeću i naočale).
8. Nikada ne pipetirajte ustima te izbjegavajte doticaj uzoraka s kožom, sluznicom i očima.
9. Epruvete s krvlju i otpadni materijal za rukovanje treba odložiti u jednokratne spremnike namijenjene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad potrebno je ukloniti u skladu s lokalnim zahtjevima.

KLASIFIKACIJA OPASNOSTI PREMA GHS-U

Nije klasificiran kao opasan

SDS Sigurnosni list dostupan je na adresi beckmancoulter.com/techdocs

POHRANA I STABILNOST

Reagens se mora čuvati na temperaturi između 2 i 8 °C te zaštićen od svjetlosti, kako prije, tako i poslije otvaranja bočice.

Vijek trajanja zatvorene bočice prema ispitivanju stabilnosti: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dana.

DOKAZ PROPADANJA

Svaka promjena fizičkog izgleda reagensa može upućivati na propadanje te se reagens ne smije upotrebljavati.

Ako su vam potrebne dodatne informacije ili ste primili oštećen proizvod, nazovite korisnički servis tvrtke Beckman Coulter na 800-742-2345 (u SAD-u ili Kanadi) ili se obratite lokalnom predstavniku tvrtke Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans s natrijevim azidom može stvoriti eksplozivne spojeve u metalnim cjevovodima. Pogledajte bilten NIOSH: Explosive Azide Hazard (Opasnost od eksplozije azida) (16. 8. 76.).
Da biste spriječili moguće taloženje komponenata azida, prilikom odlaganja nerazrijeđenog reagensa u otpad odvodne cijevi isperite vodom. Odlaganje natrijeva azida u otpad mora biti u skladu s odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU DIO KOMPLETA:

- Epruvete za uzorke i materijal potreban za uzimanje uzoraka.
- Automatske pipete s jednokratnim nastavcima za 20, 100 i 500 µL.
- Plastične hemolitičke epruvete.
- Reagens za liziranje eritrocita s fazom pranja nakon liziranja. Na primjer: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primjer: Otopina za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotipska kontrola FITC: reagens IOTest (ref. A12689).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijeva fosfata, 0,145 M natrijeva klorida, pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska miješalica (tip vorteks).
- Citometar toka.

POSTUPAK S REAGENSOM VERSALYSE

Za svaki uzorak koji se analizira može se uz testnu epruvetu dodati jedna kontrolna epruveta u kojoj su stanice pomiješane u prisutnosti izotipskih kontrola (ref. A12689).

1. Dodajte 20 µL konjugiranog antitijela specifičnog za IOTest u svaku testnu epruvetu i, ako je potrebno, 20 µL izotipske kontrole u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µL testnog uzorka u svaku epruvetu. Epruvete polako promiješajte u vorteks-miješalici.
3. Inkubirajte od 15 do 20 min na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C), zaštićeno od svjetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje eritrocita. Pogledajte brošuru VersaLyse (ref. A09777) i po mogućnosti slijedite postupak „uz istovremeno fiksiranje" koji se sastoji od dodavanja 1 mL svježe pripremljene mješavine za fiksiranje i liziranje. Odmah promiješajte u vorteks-miješalici jednu sekundu i inkubirajte 10 min pri sobnoj temperaturi, zaštićeno od svjetlosti.
5. Centrifugirajte 5 min pri 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću 3 mL PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Uklonite supernatant aspiracijom i stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću:

- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a plus 0,1 % formaldehida ako se pripravke planira čuvati manje od 24 sati. (PBS s 0,1 % formaldehida možete pripremiti razrjeđivanjem 12,5 µL otopine za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800) pri njezinoj 10X koncentraciji u 1 mL PBS-a).
- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a bez formaldehida, ako pripravak treba analizirati u roku od 2 sati.

Napomena: U svakom slučaju pripravke čuvajte zaštićene od svjetlosti na temperaturi između 2 i 8 °C.

OČEKIVANE VRIJEDNOSTI

U našim su laboratorijima obrađeni uzorci pune krvi naizgled zdravih donora (njih 25) pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati prikupljeni pomoću tog reagensa u svrhu brojanja pozitivnih relevantnih događaja navedeni su u tablici u nastavku:

Pozitivna ciljna vrijednost	Broj	Srednja vrijednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti	25	71,12	10,38	14,60

Te su vrijednosti samo okvirne. Svaki laboratorij mora utvrditi vlastite očekivane vrijednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o performansama dobivaju se prethodno opisanim postupkom na manje od 24 sata starim uzorcima krvi prethodno prikupljenima u sterilne epruvete uz EDTA sol kao antikoagulans. Analiza se provodi u roku od 2 sata nakon imunobojenja.

SPECIFIČNOST

Molekulu CD5 izražava na površini zrelih T limfocita većina timocita i potpopulacija B limfocita (11,12,13). CD5 se izražava u podskupu B stanica koje izlučuju IgM zbog nedostatka enzim terminalne deoksinukleotid transferaze (TdT) koja ublažava aktivaciju BSR-a te tako smanjuje autoreaktivnost (autoimunu reakciju). S druge strane, T stanice izražavaju više razine antitijela CD5 nego B stanice. CD5 se regulira na T stanicama nakon jake aktivacije. U timusu postoji korelacija s ekspresijom biljega CD5 i jačinom interakcije T stanica s vlastitim peptidima. Ekspresije biljega CD5 nema u granulocitima, monocitima ni trombocitima (13). Monoklonalno antitijelo BL1a dodijeljeno je biljegu CD5 tijekom radionice 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Treća radionica HLDA-a o antigenima za razlikovanje ljudskih leukocita), održane u Oxfordu 1986. (WS kod: 520, odjeljak T) (11,12).

PRECIZNOST

Postotne pozitivne vrijednosti utvrđene su pomoću pune krvi. Svaki je uzorak obrađen 4 puta, dvaput dnevno tijekom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagensa s monoklonskim antitijelima CD5-FITC. Mjerenja (% pozitivnih vrijednosti) provedena su s pomoću citometra toka Navios. Analiza je provedena na temelju CLSI metode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procjena radnih značajki preciznosti metoda kvantitativnog mjerenja).

Naši kriteriji prihvatljivosti ovise o broju pozitivnih događaja izmjerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivni događaj < 1500, CV < 15 %
- Ako je pozitivni događaj > 1500, CV < 10 %

Limfociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrijednost) = 1468							
	Među operatorima	Među citometrima	Unutar lota	Među lotovima	Među obradama	Unutar obrade	Ukupno
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost mjerenja CD5-FITC procijenjena je usporedbom rezultata s referentnim reagensom kao predikatom na skupu uzoraka pune krvi obrađenima na protočnom citometru Navios. Odstupanje između testa i referentnog reagensa utvrđeno je na temelju razlike između rezultata testa. Ako je odstupanje unutar dopuštenog raspona pogreške ili ako p-vrijednost upućuje na to da nema značajne razlike (> 0,05), rezultati testa za dva reagensa smatraju se istovjetnima.

Dobiveni rezultati sažeti su u tablici u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivna ciljna vrijednost	Srednja vrijednost Δ	Kriterij stanica Δ %	p-vrijednost	REZULTATI
Limfociti	0,73	<5	0,032	PASS

GRANICA SLIJEPE PROBE I GRANICA DETEKCIJE

Ispitivanje je izvedeno u skladu s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Procjena sposobnosti otkrivanja za postupke mjerenja u kliničkim laboratorijima). Granica detekcije (LOD) – najniža koncentracija analita koja se može dosljedno otkriti. Dobiveni rezultati sažeti su u sljedećoj tablici:

Positive Target	Granica slijepe probe (stanica/µL)	Granica detekcije (stanica/µL)
Limfociti	1	2

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti pogrešne rezultate ako citometar nije savršeno poravnat, ako fluorescentna curenja nisu pravilno kompenzirana i ako regije nisu pažljivo pozicionirane.
2. Poželjno je upotrebljavati tehniku liziranja pomoću RBC-a uz korak pranja jer ovaj reagens nije optimiziran za tehnike liziranja „bez pranja”.
3. Točni i ponovljivi rezultati dobivat će se sve dok se postupci izvode u skladu s tehničkom brošurom i u skladu s dobrim laboratorijskim praksama.
4. Konjugirano antitijelo tog reagensa kalibrirano je tako da pruža najbolji omjer specifičnog i nespecifičnog signala. Zato je važno pridržavati se omjera volumena reagensa i volumena uzorka prilikom svakog testiranja.
5. U slučaju hiperleukocitoze razrijedite uzorak u PBS-u da biste dobili vrijednost od približno 5 x 10^9 leukocita/L (14).
6. Pri određenim bolestima, kao što je ozbiljno zatajenje bubrega ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak i nemoguće. U tom se slučaju prije bojenja preporučuje izoliranje jednojezgrenih stanica s pomoću gradijenta gustoće (na primjer, Ficoll) (15).
7. U pacijenata koji primaju terapiju monoklonskim antihumanim antitijelima detekcija određenih ciljanih antigena može biti smanjena ili nepostojeća zbog djelomičnog ili potpunog blokiranja terapijskih antitijela.

8. Rezultate CD5-FITC treba tumačiti u kontekstu ukupne kliničke slike pacijenta, uključujući simptome, anamnezu, podatke iz dodatnih testova i druge odgovarajuće informacije.

Za primjere i reference pogledajte Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizirani logotip te oznake proizvoda i usluga tvrtke Beckman Coulter žigovi su ili registrirani žigovi tvrtke Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim državama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta / korisnika / treću stranu u Europskoj uniji i u državama s identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskim proizvodima za in vitro dijagnostiku): ako tijekom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe dođe do ozbiljnog štetnog događaja, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovu ovlaštenom zastupniku te nadležnom nacionalnom tijelu.

Summary of Safety and Performance (Sažetak podataka o sigurnosti i performansama) potražite u bazi podataka EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

POVIJEST REVIZIJA

REVIZIJA AF:	Datum objave: kolovoz 2020.

REVIZIJA	**Datum objave**
AW	Svibanj 2022.
Ažuriranja radi usklađivanja s pravilnikom o globalnom označavanju tvrtke Beckman Coulter i u skladu sa zahtjevima uredbe (EU)2017/746 o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima (IVD-R):	
Dodani odjeljci	Broj BSI 2797, Ciljni korisnik, Klinička relevantnost, Koncentracija, Preciznost, Točnost, Granica slijepe probe i granica detekcije, Dodatne informacije, Povijest revizija.
Dodane informacije	Pogledajte odjeljke Ograničenja
Preformuliranje ili tipografska ažuriranja	Pogledajte odjeljke Postupak, Performanse, Ograničenja, Upozorenje i mjere opreza, Pohrana i stabilnost.
Uklonjeni odjeljci	Primjer kliničkih primjena, Reagensi, Unutarlaboratorijska obnovljivost, Linearnost
Ažurirani odjeljci	Namjena, Klasifikacija opasnosti prema GHS-u, Dokaz pogoršanja stanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum objave**
AX	Travanj 2023
Ažurirani odjeljci	Dodati kazaški
Ažurirani odjeljci	Čuvanje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Svibanj 2024
Ažurirani prijevodi	**Klinička relevantnost:**
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Srpanj 2024
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Pojmovnik simbola

Pojmovnik simbola dostupan je na web-mjestu beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Спецификации
Специфичност	CD5
Клонинг	BL1a
Хибридома	SP2/0 x balb/c
Имуноген	Lymphocytes from human thoracic duct
Имуноглобулин	IgG2a
Вид	Мишка
Пречистване	Афинитетна хроматография
Флуорохром	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Моларно съотношение	FITC / Ig: 4,0-6,5
λ възбуждане	488 nm
Емисионен пик	525 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 mg/mL BSA и 0,1 % NaN_3

IOTest
Конюгирано антитяло
CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20 µL/тест

За *ин витро* диагностика

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Това флуорохром-конюгирано антитяло позволява качествена и неавтоматизирана идентификация с помощта на поточна цитометрия на клетъчни популации, експресиращи CD5 антиген, присъстващ в човешки биологични проби (вижте раздел „Проби“ по-долу).

ПРИНЦИП

Този тест се базира на способността на специфични моноклонални антитела да се свързват с антигенни детерминанти, експресирани от левкоцитите.

Специфично оцветяване на левкоцитите се извършва чрез инкубиране на пробата с реактива IOTest. След това червените кръвни телца се отстраняват чрез лизиране, а левкоцитите, които не се повлияват от този процес, се анализират чрез поточна цитометрия.

Поточният цитометър измерва разсейването на светлината и флуоресценцията на клетките. Това прави възможно разграничаването на популацията, която се изследва, в електронния прозорец, дефиниран на една хистограма, която корелира с ортогоналната дифузия на светлината (странично разсейване) и дифузията на тесноъгълна светлина (предно разсейване). Други хистограми, комбиниращи два от различните параметри на разположение на цитометъра, могат да бъдат използвани като основа в етапа на определяне на област за анализ в зависимост от приложението, избрано от потребителя.

Флуоресценцията на разграничените клетки се анализира, за да се разграничат позитивно оцветените събития от неоцветените такива. Резултатите се изразяват като процент на положителни събития във връзка с всички събития, получени от определянето на областта за анализ.

ПРЕДВИДЕН ПОТРЕБИТЕЛ

Този продукт е предназначен само за лабораторна професионална употреба.

КЛИНИЧНА ЗНАЧИМОСТ

CD5-FITC е антитяло CD5, използвано за идентифициране и характеризиране чрез поточна цитометрия на клетки, експресиращи CD5 антиген. Този продукт не може и не е предназначен самостоятелно да генерира каквото и да е диагностично заключение.

Когато се използва в комбинация с други маркери, този продукт може да се използва в една или повече от следните функции:

- Като помощно средство при поставяне на диференциална диагноза на хематологично абнормни пациенти, суспектни за хематопоетично новообразуване, и за проследяване на пациенти с известно хематопоетично новообразуване.
- Като помощно средство при създаване на прогноза за пациенти с хематопоетична неоплазма.

Вижте следните справки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ПРОБИ

Венозна кръв трябва да се взема в стерилни епруветки, съдържащи сол EDTA като антикоагулант.

Пробите трябва да бъдат съхранявани при стайна температура (18–25°C) и не трябва да се разклащат. Пробите трябва да бъдат хомогенизирани чрез внимателно смесване, преди да се вземе пробата за теста.

Пробите трябва да бъдат анализирани в рамките на 24 часа от венопункturата.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Вижте Сертификата за анализ за конкретната партида на www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Не използвайте реактива след изтичане на срока на годност.
2. Не замразявайте.
3. Оставете на стайна температура (18–25°C) преди употреба.
4. Минимизирайте излагането на светлина.
5. Избягвайте микробно замърсяване на реактивите, в противен случай е възможно да се получат погрешни резултати.

6. С разтворите на антитела, съдържащи натриев азид (NaN_3), трябва да се работи внимателно. Не приемайте вътрешно и избягвайте всякакъв контакт с кожата, лигавицата и очите.

   В допълнение, в киселинна среда натриевият азид може да образува потенциално опасната хидразоена киселина. Ако тя трябва да се изхвърли, препоръчва се реактивът да се разреди в голям обем вода, преди да се излее в дренажната система, за да се избегне натрупването на натриев азид в металните тръби и да се предотврати риск от експлозия.

7. Всички кръвни проби трябва да се считат за потенциално заразни и с тях трябва да се борави внимателно (по-специално: носене на защитни ръкавици, облекло и очила).
8. Никога не пипетирайте с уста и избягвайте всякакви контакти между пробите и Вашата кожа, лигавица и очи.
9. Епруветките за кръв и материалите за еднократна употреба, използвани за боравене, трябва да се изхвърлят във временни контейнери, предназначени за изгаряне.
10. Реактивите и отпадъците трябва да бъдат елиминирани в съответствие с местните изисквания.

КЛАСИФИЦИЯ НА ОПАСНОСТИТЕ ПО GHS

Не е класифициран като опасен

SDS Информационният лист за безопасност е наличен на адрес beckmancoulter.com/techdocs

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Този реактив трябва да се съхранява при температури между 2 и 8°C и да бъде защитен от светлина преди и след отваряне на флакона.

Изследване на срок на годност при затворена епруветка и стабилност: 1095 дни.

Стабилност на отворен флакон: реактивът е стабилен за 180 дни.

ДАННИ ЗА ВЛОШАВАНЕ

Всяка промяна във физическия изглед на реактивите може да е признак за влошаване и реактивът не трябва да бъде използван.

За допълнителна информация или при получаване на повреден продукт се свържете с отдела за обслужване на клиенти на Beckman Coulter на тел. 800-742-2345 (САЩ или Канада) или се свържете с местния представител на Beckman Coulter.

СЪДЪРЖАНИЕ

Консервантът натриев азид може да образува експлозивни съединения в метални отводнителни тръбопроводи. Вижте Бюлетина на NIOSH: Explosive Azide Hazard (Бюлетин на Националния институт по безопасност и хигиена на труда: Опасност от експлозия на азид) (16/8/76).
За да избегнете възможно натрупване на азидни съединения, промивайте канализационните тръби с вода след изхвърляне на неразтворен реактив. Изхвърлянето на натриев азид трябва да бъде в съответствие с местните разпоредби.

НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СА ДОСТАВЕНИ С КОМПЛЕКТА:

- Епруветки за проби и материали, необходими за вземане на проби.
- Автоматични пипети с накрайници за еднократна употреба за 20, 100 и 500 µL.
- Пластмасови хемолизни епруветки.
- Реактив за лизис на червени кръвни телца с етап на отмиване след лизис. Например: VersaLyse (Реф. A09777).
- Реактив за левкоцитна фиксация. Например: IOTest 3 фиксиращ разтвор (Реф. A07800).
- Изотипна контрола FITC: Реактив IOTest (Реф. № A12689).
- Буфер (PBS: 0,01 M натриев фосфат; 0,145 M натриев хлорид; pH 7,2).
- Центрофугирайте.
- Автоматичен агитатор (тип вортекс).
- Поточен цитометър.

ПРОЦЕДУРА С РЕАКТИВ VERSALYSE

За всяка анализирана проба освен тестовата епруветка може да се добави и една контролна епруветка, в която клетките да са смесени в присъствието на изотипната контрола (Реф. A12689).

1. Добавете 20 µL специфично IOTest конюгирано антитяло във всяка тестова епруветка и, ако е необходимо, 20 µL изотипна контрола във всяка контролна епруветка.
2. Добавете 100 µL от тестовата проба във всяка епруветка. Внимателно разбъркайте във вортекс епруветките.
3. Инкубирайте за 15 до 20 минути при стайна температура (18–25°C), като предпазвате от светлина.
4. След това се изпълнява лизиране на червените кръвни телца. Вижте брошурата на VersaLyse (Реф. A09777) и изпълнете за предпочитане процедурата, наречена „със съпътстващо фиксиране“, която се състои от добавяне на 1 mL от сместа „Фиксиране и лизиране“, приготвена за незабавно приложение. Незабавно завъртете епруветките с вортекс за една секунда и инкубирайте за 10 минути при стайна температура на защитено от светлина място.
5. Центрофугирайте 5 минути при 150 x g при стайна температура.
6. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация.
7. Разтворете отново клетъчната утайка, като използвате 3 mL PBS.
8. Повторете стъпка 5.
9. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация и ресуспендирайте клетъчната утайка с:

- 0,5 mL или 1 mL PBS плюс 0,1 % формалдехид, ако препаратите трябва да бъдат съхранявани по-малко от 24 часа. (Може да се получи 0,1 % формалдехид PBS чрез разреждане на 12,5 µL разтвор за фиксиране IOTest 3 (Реф. A07800) при 10X концентрация в 1 mL PBS).

- 0,5 mL или 1 mL PBS без формалдехид, ако препаратите ще бъдат анализирани в рамките на 2 часа.

Забележка: Във всички случаи съхранявайте препаратите при температури между 2 и 8°C и защитени от светлина.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

В нашите лаборатории бяха третирани пробите цялостна кръв на 25 видимо здрави донори с описания по-горе реактив. Получените с този реактив резултати за броя на положителните събития, които са от значение, са дадени в таблицата по-долу:

Положителна цел	Брой	Средна (%)	SD	CV (%)
Лимфоцити	25	71,12	10,38	14,60

Тези стойности са само представителни. Всяка лаборатория трябва да установи свои очаквани стойности от местната популация нормални донори.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данните за ефективността се получават с помощта на описаната по-горе процедура за кръвни проби до 24 часа, предварително събрани в стерилни епруветки със сол EDTA като антикоагулант. Анализ се извършва в рамките на 2 часа след имунооцветяване.

СПЕЦИФИЧНОСТ

Молекулата CD5 се експресира на повърхността на зрелите Т-лимфоцити от повечето тимоцити и от субпопулация В-лимфоцити (11,12,13). CD5 се експресира в една подгрупа от IgM-секретиращи В-клетки поради липсата на ензима терминална деоксинуклеотидилна трансфераза (TdT) с цел смекчаване на активацията на BSR и поради това намалява автореактивността (автоимунната реакция). От друга страна, Т-клетките експресират по-високи нива на CD5 от В-клетките. CD5 се активира върху Т-клетките при силна активация. В тимуса има зависимост между експресията на CD5 и силата на взаимодействието на Т-клетката и автологичните пептиди. Експресия на CD5 не се наблюдава при гранулоцити, моноцити и тромбоцити (13). Моноклоналното антитяло BL1a е определено към CD5 на 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Третия HLDA Семинар за човешки левкоцитни диференциационни антигени), проведен в Оксфорд, Англия през 1986 (WS код: 520, Раздел Т) (11,12).

ТОЧНОСТ

Процентните положителни стойности са определени посредством цялостна кръв. Всяка проба е обработена 4 пъти, два пъти на ден за 1 ден на 2 инструмента, като са използвани 2 партиди реактиви с CD5-FITC моноклонално антитяло. Измерванията (% положителни) са направени на поточен цитометър Navios. Анализът е проведен на основата на CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods. (Метод EP5-A2 на CLSI: Оценка на точността на методите за количествено измерване.)

Нашите критерии за приемливост зависят от броя положителни събития, измерени за всяка популация:

- Ако положителните събития са < 1500, CV < 15 %
- Ако положителните събития са > 1500, CV < 10 %

Лимфоцити							
Брой положителни събития (средно) = 1468							
	Между оператори	Между цитометри	Вътрепартидна	Между партиди	Между цикли	В рамките на цикъл	Общо
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
РЕЗУЛТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТ

Точността на CD5-FITC е изследвана чрез сравняване на резултатите с референтен реактив като потвърждение върху група от проби от цялостна кръв, обработени на поточен цитометър Navios. Отклонението между тестовия и референтния реактив се определя въз основа на разликата между резултатите от теста. Ако отклонението е в рамките на допустимия обхват на грешка или p-стойността не показва значима разлика (> 0,05), резултатите от теста за двата реактива се считат за еквивалентни.

Получените резултати са обобщени в таблицата, дадена по-долу:

Брой донори = 25				
Положителна цел	Средна Δ	Критерии Δ % клетки	p-стойност	РЕЗУЛТАТИ
Лимфоцити	0,73	<5	0,032	PASS

ГРАНИЦА НА СЛЯПА ПРОБА И ГРАНИЦА НА ОТКРИВАНЕ

Проведено е проучване в съответствие с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оценка на възможността за детекция за измервателни процедури в клинични лаборатории). Границата на откриване (LOD) е най-ниската концентрация на аналита, която може да бъде стабилно открита. Получените резултати са обобщени в следващата таблица:

Positive Target	Граница на сляпата проба (клетки/µL)	Граница на откриване (клетки/µL)
Лимфоцити	1	2

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Поточната цитометрия може да даде неточни резултати, ако цитометърът не е бил идеално приравнен, ако течове на флуоресценция не са били правилно компенсирани или ако регионите не са били внимателно позиционирани.
2. Предпочита се използването на техника за лизиране на червени кръвни клетки със стъпка за промиване, тъй като този реактив не е оптимизиран за техники за лизиране „без промиване“.
3. Ще бъдат получени точни и възпроизводими резултати, при условие, че използваните процедури са в съответствие с техническата листовка и са съвместими с добрите лабораторни практики.
4. Конюгираното антитяло на този реактив е калибрирано, за да се осигури най-доброто съотношение между специфичен сигнал/неспецифичен сигнал. Затова е важно да се придържате към съотношението обем на реактива/обем на пробата във всеки тест.

5. В случай на хиперлевкоцитоза кръвта се разрежда в PBS, така че да се получи стойност приблизително 5 x 10^9 левкоцити/L (14).
6. При определени болестни състояния, например тежка бъбречна недостатъчност или хемоглобинопатии, лизирането на червените кръвни телца може да бъде бавно, непълно или дори невъзможно. В този случай се препоръчва да се изолират мононуклеарни клетки, като се използва градиент на плътността (Ficoll например) преди оцветяване (15).
7. При пациенти, лекувани с терапии с античовешко моноклонално антитяло, отриването на специфични целеви антигени може да бъде занижено или да липсват поради частично или цялостно блокиране от терапевтичното антитяло.
8. Резултатите от CD5-FITC трябва да се интерпретират спрямо общата клинична презентация на пациента, включваща: симптоми, клинична анамнеза, данни от допълнителни тестове и друга съответстваща информация.

Вижте Приложението за примери и справки.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ

Beckman Coulter, стилизираното лого и марките на продуктите и услугите на Beckman Coulter, присъстващи в този документ, са търговски марки или регистрирани търговски марки на Beckman Coulter, Inc. в САЩ и в други държави.

ДОПЪЛНИТЕЛНА ИНФОРМАЦИЯ

За пациенти/потребители/трети лица в Европейския съюз и в страни с идентичен регулаторен режим (Регламент 2017/746/ЕС относно ин витро диагностичните медицински изделия); ако по време на използването на това изделие или в резултат на използването му е настъпил сериозен инцидент, моля, съобщете за това на производителя и/или неговия упълномощен представител и на Вашия национален орган.

Summary of Safety and Performance (Обобщение на безопасността и работата) е налично в базата данни EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ХРОНОЛОГИЯ НА РЕДАКЦИИТЕ

РЕДАКЦИЯ AF:	Дата на издаване: август 2020 г.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AW	май 2022 г.
Актуализации с цел съответствие с Глобалната политика за етикетиране на Beckman Coulter и съгласно изискванията на Регламент (ЕС) 2017/746 за медицинските изделия за ин витро диагностика (IVD-R):	
Добавени раздели	Номер 2797 на BSI, Предвиден потребител, Клинична значимост, Концентрация, Прецизност, Точност, Граница на сляпата проба и граница на откриване, Допълнителна информация, Хронология на редакциите.
Добавена информация	Вижте разделите „Ограничения“
Актуализации във формулировките или типографията	Вижте раздели „Процедура“, „Работни характеристики“, „Ограничения“, „Предупреждения и предпазни мерки“, „Съхранение и стабилност“.
Премахнати раздели	Пример за клинични приложения, Реактиви, Вътрешнолабораторна възпроизводимост, Линейност
Актуализирани раздели	Предвидена употреба, Класификация на опасностите по GHS, Признаци за влошаване, Процедура, Приложение.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AX	Април 2023
Актуализирани раздели	Добавен е казахски
Актуализирани раздели	Съхранение и стабилност

Редактирана версия	AY
Редактирана дата	Май 2024
Актуализирани преводи	**Клинична значимост:**
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Редактирана версия	AZ
Редактирана дата	Юли 2024
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Легенда на символите

Речник на символите е наличен на beckman.com/techdocs (номер на документа B60062)

	規格
專一性	CD5
轉殖	BL1a
融合瘤	SP2/0 x balb/c
免疫原	Lymphocytes from human thoracic duct
免疫球蛋白	IgG2a
物種	小鼠
純化	親和力層析法
螢光染料	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
莫耳比率	FITC/Ig： 4.0-6.5
λ 激發	488 nm
發射峰	525 nm
緩衝劑	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 及 0.1% NaN_3

IOTest
結合抗體
CD5-FITC

REF A08932 100 次檢測；2 mL, 20 µL/測試

***體外*診斷使用**

預期用途

使用此螢光染料結合的抗體，能夠以流式細胞分析儀器對人體生物檢體中出現的表現 CD5 抗原之細胞群進行非自動化定性鑑別（請參閱下列「檢體」部分）。

原理

本測試的基礎在於特異性單株抗體結合由白血球表現之抗原決定簇的能力。

以 IOTest 試劑與檢體反應，對白血球進行特異性染色。然後以溶解作用去除紅血球，而白血球不受此程序影響，並可透過流式細胞分析儀器進行分析。

流式細胞分析儀器可測量細胞的光漫射和螢光。這樣可以界定直方圖上定義的電子窗口內的目標群體，直方圖可以關聯光的正交漫射（側向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。細胞分析儀器上可用之結合兩個不同參數的其他直方圖，可用於支持圈選階段，這取決於使用者所選的應用。

為了區分陽性染色事件和未染色事件，對劃定細胞的螢光進行了分析。結果表示為陽性事件相對於圈選所得全部事件的百分比。

預期使用者

本產品應當用於實驗室內的專業用途。

臨床相關性

CD5-FITC 是一種 CD5 抗體，以流式細胞分析儀器使用此抗體庫可辨認表達 CD5 抗原的細胞並鑑別其特徵。單獨使用此程序並不足以診斷出任何結果。

本產品搭配其他標誌物使用時，可用於以下一或多個功能：

- 可輔助疑似罹患造血組織腫瘤之血液異常患者的鑑別診斷，並可監測已知罹患造血組織腫瘤的患者。
- 有助於罹患造血組織腫瘤之患者的預後情況。

請參閱下列參考資料：

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

檢體

靜脈血必須使用無菌試管抽取，此無菌試管中含有 EDTA 鹽作為抗凝劑。

檢體應存放在室溫 (18~25°C)，且不得搖晃。取用測試檢體前，應將檢體輕輕攪動，使之均勻化。

檢體必須在靜脈穿刺後 24 小時內進行分析。

濃度

請參閱 www.beckman.com 參閱各批次專屬的分析證書。

警告和預防措施

1. 請勿使用過期試劑。
2. 切勿冷凍。
3. 使用前，請將其恢復至室溫 (18~25°C)。
4. 儘量避免陽光直射。
5. 請避免試劑受到微生物污染，否則可能會出現錯誤結果。
6. 含有疊氮化鈉 (NaN_3) 的抗體溶液應謹慎處理。請勿內服，並避免接觸皮膚、黏膜和眼睛。

   此外，在酸性介質中，疊氮化鈉可形成具有潛在危害的疊氮酸。若需要對其進行處置，建議在試劑倒入排水系統前以大量清水稀釋，避免疊氮化鈉在金屬管道中累積並預防爆炸。
7. 所有血液檢體必須視為具有潛在傳染性，且必須小心處理（務必穿戴防護手套、防護衣和護目鏡）。
8. 切勿用嘴吸液，並避免檢體接觸皮膚、黏膜和眼睛。

9. 用於處理的血液試管和一次性材料應放入焚化專用的特殊容器中處置。
10. 應根據當地要求清除試劑和廢棄物。

GHS 危害分類

未歸類為危險物質

SDS 安全性資料表載於 beckmancoulter.com/techdocs

存儲和穩定性

在打開試劑瓶前後，試劑必須避光保存於 2~8°C。

穩定性研究的封閉式藥瓶有效期限：1095 天。

開瓶後穩定性：試劑穩定性可維持 180 天。

變質的證據

試劑外觀的任何變化表示可能發生變質，因此不應使用該試劑。

如需瞭解其他資訊，或如果收到已損壞的產品，請撥打 800-742-2345（美國或加拿大）聯絡貝克曼庫爾特客戶服務部，或聯絡您當地的貝克曼庫爾特代表。

內容物

疊氮化鈉防腐劑可能會在金屬排水管道中形成爆炸性化合物。請參閱 NIOSH Bulletin： Explosive Azide Hazard（爆炸性疊氮化物危害）(76/8/16)。為防止疊氮化合物可能累積，丟棄未稀釋的試劑後請用水沖洗污水管。必須依照相關當地法規丟棄疊氮化鈉。

試劑盒未提供但卻需要的材料：

- 採樣時需要採樣試管和材料。
- 帶有可吸取 20、100 和 500 µL 一次性吸頭的自動移液器。
- 塑膠溶血試管。
- 用於溶解後洗滌階段的紅血球溶解試劑。舉例：VersaLyse (參考 A09777)。
- 白血球固定試劑。舉例：IOTest 3 固定液 (參考 A07800)。
- 同型品管劑 FITC：IOTest 試劑 (參考 A12689)。
- 緩衝劑 (PBS：0.01 M 磷酸鈉；0.145 M 氯化鈉；pH 7.2）。
- 離心機。
- 自動攪拌器（漩渦型）。
- 流式細胞分析儀器。

使用 VERSALYSE 試劑的程序

對於已分析的每項檢體，除使用測試試管外，可再增加一個品管劑試管，以在其中混合細胞與同型品管劑 (參考 A12689)。

1. 向每個測試試管添加 20 µL 特異性 IOTest 結合抗體，如果需要，向每個質控試管添加 20 µL 同型質控品。
2. 向每個試管中添加 100 µL 測試檢體。輕輕漩渦振盪試管。
3. 在室溫 (18~25°C) 下避光反應 15~20 分鐘。
4. 然後將紅血球溶解。請參閱 VersaLyse (參考 A09777) 的手冊，最好按照名為「共伴固定」的程序操作，其包含添加臨時製備的 1 mL「固定加溶解」混合物。立即震盪 1 秒後，在室溫下避光反應 10 分鐘。
5. 在室溫下以 150 x g 離心 5 分鐘。
6. 吸除上清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新懸浮細胞團塊。
8. 重複第 5 步。
9. 吸除上清液並按照以下方式重新懸浮細胞團塊：

- 若製劑存放時間不超過 24 小時，則以 0.5 mL 或 1 mL PBS 加 0.1% 甲醛。（可在 1 mL PBS 中稀釋 10X 濃度的 12.5 µL IOTest 3 固定液 (參考 A07800)，得到含有 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 若製劑將在 2 小時內分析，使用 0.5 mL 或 1 mL PBS（無甲醛）。

註：在所有情況下，將製劑在 2~8°C 避光保存。

預期值

在我們的實驗室中，採用上述試劑處理 25 名明顯健康的捐贈者的全血檢體。使用該試劑進行陽性目標事件計數得到的結果如下表所示：

陽性目標	數量	平均值 (%)	SD	CV (%)
淋巴球	25	71.12	10.38	14.60

這些數值是具代表性的參考值。每個實驗室都應運用當地正常捐贈者族群的檢測結果，自行確立適用的預期值。

性能

對於之前採集在無菌試管（含有 EDTA 鹽作為抗凝劑）中短於 24 小時的血液檢體，使用上面描述的程序獲取了性能資料。在免疫染色後的 2 小時內進行分析。

專一性

CD5 分子由大多數胸腺細胞和一部分 B 淋巴細胞在成熟 T 淋巴細胞表面表達 (11,12,13)。CD5 因缺乏末端去氧核苷酸轉移酶 (TdT) 而在一部分 IgM 分泌 B 細胞中表達，此舉會降低 BSR 的活化，進而降低自體反應性（自體免疫反應）。相反，T 細胞比 B 細胞表達的 CD5 水平更高。強活化後，CD5 在 T 細胞上被上調。在胸腺中，CD5 表達與 T 細胞對自身肽的交互作用強度有關。粒細胞、單核細胞和血小板中未發現 CD5 表達 (13)。在 1986 年於英國牛津舉行的 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens（第 3 屆 HLDA 人類白細胞分化抗原會議）（會議代碼：520，T 部分）上，將單株抗體 BL1a 指定到 CD5 中 (11,12)。

準確度

使用全血測定了百分比陽性值。每項檢體皆使用 2 個批次的 CD5-FITC 單株抗體試劑，以 2 台儀器 1 天運行 2 次，共運行了 4 次。使用 Navios 流式細胞分析儀器檢測結果（陽性 %）。根據 CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：評估定量檢測方法的準確度性能）進行分析。

我們的接受標準視各族群所檢測的陽性事件數量而定：

- 若陽性事件數量 < 1,500，則 CV < 15%
- 若陽性事件數量 > 1,500，則 CV < 10%

淋巴球							
陽性事件數量（平均值）= 1468							
	各操作者間	各台細胞分析儀器間	批內	批間	各次執行間	各次執行內	總計
CV (%)	1.75	1.79	5.51	2.04	1.99	4.83	6.14
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

準確性

評估 CD5-FITC 準確性的方式，是比較它與參考試劑用於添加了陽性細胞的一組全血檢體，在 Navios 流式細胞分析儀器上進行化驗時，其結果有何差異。根據測試結果間的差異，測定了測試與參考試劑之間的偏差。如果此偏倚在允許的誤差範圍內或 P 值並未顯示顯著差異 (> 0.05)，則兩種試劑的測試結果視為相當。

所得結果總結於下表：

捐贈者數量 = 25				
陽性目標	平均值差	細胞標準 Δ %	P 值	結果
淋巴球	0.73	<5	0.032	PASS

空白檢體的偵測極限與偵測極限

按照 CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2，臨床實驗室測定程序的偵測能力評估）開展了一項試驗。偵測極限 (LOD) 是指可始終被偵測出的最低分析物濃度。所得結果總結於下表：

Positive Target	空白檢體的偵測極限（細胞數/µL）	偵測極限（細胞數/µL）
淋巴球	1	2

限制條件

1. 流式細胞分析儀器在下列情況下可能產生錯誤結果：細胞分析儀器未正確校正、螢光洩漏未正確補償、相關區域並未仔細定位。
2. 最好採用帶洗滌步驟的 RBC 溶解方法，因該試劑不能在「無洗滌」溶解方法中取得最佳效果。
3. 按照技術手冊採用相關流程並遵循優良實驗室操作規範，便可得到準確且可重複的結果。
4. 此試劑的結合抗體已經過校正，以提供最佳的特異性訊號/非特異性訊號比率。因此，在每次測試中遵守試劑體積/檢體體積比率很重要。
5. 如果白血球過多，請在 PBS 中稀釋血液，使白血球濃度約為 5 x 10^9 顆/L (14)。
6. 在嚴重腎衰竭、血色素病變等特定疾病狀態中，紅血球溶解可能會變得緩慢、不完全，甚至無法溶解。在這種情況下，建議在染色前使用密度梯度（例如聚蔗糖）分離單核球 (15)。
7. 使用抗人單株抗體療法治療患者時，由於治療抗體的部分或完全阻斷，偵測到的特定目標抗原可能會減少或完全偵測不到。
8. CD5-FITC 結果的判讀應結合患者的整體臨床表徵，包括：症狀、臨床病史、其他測試的資料以及其他相關資訊。

請參閱附錄以閱讀舉例和參考文獻。

商標

Beckman Coulter、徽標以及本文述及的貝克曼庫爾特公司產品和服務標記是美國貝克曼庫爾特有限公司在美國和其他國家的商標或註冊商標。

其他資訊

對於患者/使用者/第三方（在歐盟和有相同監管制度（體外診斷醫療裝置法規，2017/746/EU）的國家）；如果在使用中或由於使用而導致嚴重事件，請將情況回報製造商和/或授權代表，以及貴國主管機關。

Summary of Safety and Performance（安全與性能）的摘要請參見 EUDAMED 資料庫：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修訂歷程記錄

修訂版 AF：	發佈日期：2020 年 8 月

修訂	**發行日期**
AW	2022 年 5 月
更新以遵守貝克曼庫爾特公司全球標籤政策以及 IVD-R (EU)2017/746 規定：	

已新增部分	BSI 2797 編號、預期使用者、臨床相關性、濃度、精密度、準確性、空白檢體的偵測極限和偵測極限、其他資訊、修訂記錄。
已新增資訊	請參閱「限制」部分
修辭或印刷更新	請參閱「程序」、「性能」、「限制」、「警告和預防措施」、「存儲和穩定性」等部分。
已移除的部分	臨床應用範例、試劑、實驗室內再現性、線性
已更新部分	預期用途、GHS 危害分類、變質的證據、程序、附錄。

修訂	**發行日期**
AX	4 月 2023
已更新部分	新增哈薩克語
已更新部分	存儲和穩定性

修訂版本	AY
修訂日期	5 月 2024
已更新的譯文	**臨床關聯性**：
已更新部分	修訂歷史

修訂版本	AZ
修訂日期	7 月 2024
已更新部分	修訂歷史

符號釋義

符號術語表請參見網站：beckman.com/techdocs（文件編號 B60062）

	Specificații
Specificitate	CD5
Clonă	BL1a
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Imunoglobulină	IgG2a
Specie	Șoarece
Purificare	Cromatografia de afinitate
Fluorocrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Raport molar	FITC/Ig: 4,0-6,5
Excitare λ	488 nm
Vârful de emisie	525 nm
Soluție tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA și 0,1% NaN_3

IOTest
Anticorp conjugat
CD5-FITC

REF A08932 100 de teste; 2 ml, 20 µl/test

Pentru diagnosticare *in vitro*

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

Acest anticorp conjugat cu fluorocrom permite identificarea calitativă și non-automată a populațiilor celulare care exprimă antigenul CD5 prezent în probele biologice umane prin citometrie în flux (consultați secțiunea „probe” de mai jos).

PRINCIPIU

Acest test se bazează pe abilitatea anticorpilor monoclonali specifici de a se lega de determinanții antigenici exprimați de leucocite.

Colorarea specifică a leucocitelor este efectuată prin incubarea probei cu reactivul IOTest. Eritrocitele sunt ulterior îndepărtate prin liză, iar leucocitele, care nu sunt afectate de acest proces, sunt analizate prin citometrie în flux.

Citometrul în flux măsoară difuzia luminii și fluorescența celulelor. Acesta face posibilă delimitarea populațiilor de interes în fereastra electronică definită pe o histogramă, care corelează difuzia ortogonală a luminii (Dispersia perpendiculară sau SS – Side Scatter) și difuzia luminii sub un unghi ascuțit (Dispersia pe direcția înainte sau FS – Forward Scatter). Alte histograme care combină doi dintre parametrii diferiți disponibili pe citometru pot fi utilizate ca suporturi în faza de stabilire a porților (gating) în funcție de aplicația aleasă de către utilizator.

Fluorescența celulelor delimitate se analizează pentru distingerea evenimentelor colorate pozitiv de cele necolorate. Rezultatele sunt exprimate ca procentaj de evenimente pozitive în raport cu toate evenimentele obținute de gating.

UTILIZATOR PRECONIZAT

Acest produs este destinat utilizării profesionale în laborator.

RELEVANȚĂ CLINICĂ

CD5-FITC este un anticorp CD5 utilizat pentru a identifica și caracteriza celulele care exprimă antigenul CD5 prin citometrie în flux. Acest produs în sine nu poate și nu este conceput pentru a genera concluzii cu rol de diagnostic.

Atunci când este utilizat în combinație cu alți markeri, acest produs poate fi utilizat pentru una sau mai multe dintre următoarele funcții:

- Pentru a ajuta la obținerea unui diagnostic diferențial pentru pacienții cu anormalități hematologice suspecți de neoplasm hematopoietic și la monitorizarea pacienților cu neoplasm hematopoietic diagnosticat.
- Pentru a ajuta la obținerea unui prognostic pentru pacienții cu neoplasm hematopoietic.

Consultați următoarele referințe:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROBE

Sângele venos trebuie recoltat utilizând eprubete sterile care conțin o sare de EDTA drept anticoagulant.

Se recomandă păstrarea probelor la temperatura camerei (18–25°C). Acestea nu se vor scutura. Se recomandă omogenizarea probelor prin agitare ușoară înainte de recoltarea probei de test.

Proba trebuie analizată în decurs de 24 de ore de la puncția venoasă.

CONCENTRAȚIE

Consultați certificatul de analiză specific lotului la adresa www.beckman.com.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Nu utilizați reactivul după data expirării.
2. Nu congelați.
3. Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei (18–25°C).
4. Reduceți la minimum expunerea la lumină.
5. Evitați contaminarea microbiană a reactivilor. În caz contrar, se pot obține rezultate false.
6. Soluțiile de anticorpi care conțin azidă de sodiu (NaN_3) trebuie manipulate cu atenție. A nu se ingera și a se evita contactul cu pielea, mucoasele și ochii.

În plus, într-un mediu acid, azida de sodiu poate forma acid hidrazoic, un compus potențial periculos. Dacă este necesară eliminarea reactivului, se recomandă ca acesta să fie diluat într-un volum mare de apă înainte de a fi vărsat în sistemul de canalizare pentru a evita acumularea de azidă de sodiu în conductele metalice și pentru a preveni riscul de explozie.

7. Toate probele de sânge trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie manipulate cu grijă (în special: purtarea de mănuși de protecție, halate și ochelari de protecție).
8. Nu pipetați niciodată cu gura și evitați contactul probelor cu pielea, mucoasele și ochii.
9. Eprubetele pentru sânge și materialele de unică folosință utilizate pentru manipulare trebuie eliminate în recipiente ad-hoc destinate incinerării.
10. Reactivii și deșeurile trebuie eliminați în conformitate cu cerințele locale.

CLASIFICAREA RISCURILOR ÎN SISTEMUL GHS

Nu este clasificat ca periculos

SDS Fișa tehnică de securitate este disponibilă la beckmancoulter.com/techdocs

DEPOZITAREA ȘI STABILITATEA

Înainte și după desigilarea fiolei, acest reactiv trebuie păstrat la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C într-un loc ferit de lumină.

Perioada de valabilitate în fiolă închisă în conformitate cu studiul de stabilitate: 1095 zile.

Stabilitatea fiolei desigilate: reactivul este stabil timp de 180 (de) zile.

DOVADĂ DE DETERIORARE

Orice modificare a aspectului fizic al reactivilor poate indica degradarea. În acest caz, nu se recomandă utilizarea reactivului.

Pentru informații suplimentare sau dacă s-a primit un produs deteriorat, sunați la Serviciul Clienți Beckman Coulter la 800-742-2345 (SUA sau Canada) sau contactați-vă reprezentantul Beckman Coulter local.

CONȚINUT

Azida de sodiu folosită drept conservant poate forma compuși cu risc de explozie în conductele de drenaj metalice. Consultați buletinul informativ al NIOSH: Explosive Azide Hazard (Azidă cu risc de explozie) (08/16/76).
Pentru a evita posibila acumulare de compuși de azidă, spălați cu apă conductele pentru evacuarea deșeurilor după eliminarea reactivului nediluat. Eliminarea azidei de sodiu trebuie realizată în conformitate cu reglementările locale aplicabile.

MATERIALE NECESARE, DAR NEFURNIZATE CU SETUL:

- Eprubete pentru probe și materiale necesare pentru prelevarea probelor.
- Pipete automate cu vârfuri de unică folosință pentru 20, 100 și 500 µl.
- Eprubete din plastic pentru hemoliză.
- Reactiv de liză a eritrocitelor cu faza de spălare după liză. De exemplu: VersaLyse (ref. A09777).
- Reactiv de fixare a leucocitelor. De exemplu: Soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800).
- Ser de control izotipic FITC: Reactiv IOTest (ref. A12689).
- Soluție tampon (PBS: 0,01 mol de fosfat de sodiu; 0,145 mol de clorură de sodiu; pH 7,2).
- Centrifugați.
- Agitator automat (tip Vortex).
- Citometru de flux.

PROCEDURA CU REACTIVUL VERSALYSE

Pentru fiecare probă analizată, în afară de eprubeta de testare, poate fi adăugată o eprubetă de ser de control în care celulele sunt amestecate în prezența serurilor de control izotipic (ref. A12689).

1. Adăugați 20 µl de anticorp conjugat IOTest specific în fiecare eprubetă de test și, dacă este necesar, 20 µl de ser de control izotipic în fiecare eprubetă cu ser de control.
2. Adăugați 100 µl de probă de test în fiecare eprubetă. Amestecați cu grijă eprubetele în agitatorul vortex.
3. Incubați timp de 15–20 de minute la temperatura camerei (18–25°C) într-un loc ferit de lumină.
4. Apoi efectuați liza eritrocitelor. Consultați prospectul VersaLyse (ref. A09777) și urmați, de preferat, procedura denumită „cu fixare concomitentă”, care constă în adăugarea a 1 ml de amestec „Fixare și liză” preparat extemporaneu. Amestecați imediat în agitatorul vortex timp de o secundă și incubați timp de 10 minute la temperatura camerei, într-un loc ferit de lumină.
5. Centrifugați timp de 5 minute la 150 x g la temperatura camerei.
6. Îndepărtați supernatantul prin aspirare.
7. Resuspendați peleta de celule utilizând 3 ml de PBS.
8. Repetați pasul 5.
9. Îndepărtați supernatantul prin aspirare și resuspendați peleta de celule utilizând:

- 0,5 ml sau 1 ml de PBS plus 0,1% formaldehidă dacă preparatele trebuie păstrate mai puțin de 24 (de) ore. (O soluție PBS cu 0,1% formaldehidă poate fi obținută prin diluarea unei cantități de 12,5 µl de soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800) la concentrația sa de 10X în 1 ml de PBS).
- 0,5 ml sau 1 ml de PBS fără formaldehidă, dacă preparatele trebuie analizate în decurs de 2 (de) ore.

Observație: În toate cazurile, păstrați preparatele la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C, în locuri ferite de lumină.

VALORI PRECONIZATE

În laboratoarele noastre, probele de sânge integral de la 25 donatori aparent sănătoși au fost tratate utilizându-se reactivul descris mai sus. Rezultatele obținute pentru numărul de evenimente pozitive de interes cu acest reactiv sunt date în tabelul de mai jos:

Ținta pozitivă	Număr	Medie (%)	SD (deviație standard)	CV (%)
Limfocite	25	71,12	10,38	14,60

Aceste valori au doar caracter exemplificativ. Fiecare laborator trebuie să stabilească propriile valori așteptate de la populația locală de donatori normali.

PERFORMANȚĂ

Datele de performanță se obțin folosindu-se procedeul descris mai sus pe probe de sânge cu o vechime mai mică de 24 de ore recoltate anterior în eprubete sterile cu sare EDTA ca anticoagulant. Analiza se efectuează în decurs de 2 ore de la imunocolorare.

SPECIFICITATE

Molecula CD5 este prezentă la suprafața limfocitelor T mature, în majoritatea timocitelor și într-o sub-populație de limfocite B (11,12,13). CD5 este prezent într-un subset de celule B care secretă IgM datorită absenței transferazei deoxinucleotidil de terminal enzimatic (TdT) care apare la activarea BSR, reducând prin urmare autoreactivitatea (reacția autoimună). Din contră, în celulele T sunt prezente niveluri de CD5 mai ridicate decât în celulele B. CD5 este reglementat în sus la celule T la activare puternică. În timus există o corelare între prezențaCD5 și puterea interacțiunii celulei T spre peptide self. CD5 nu este prezent în granulocite, monocite și trombocite (13). Anticorpul monoclonal BL1a a fost asociat cu CD5 la 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Al 3-lea simpozion HLDA pentru antigenii umani de diferențiere a leucocitelor), organizat la Oxford, Anglia, în 1986 (Cod WS: 520, Secțiune T) (11,12).

PRECIZIE

Valorile procentuale pozitive au fost stabilite folosind sânge integral. Fiecare probă a fost analizată de 4 ori, de două ori pe zi timp de 1 zi, pe 2 instrumente, folosind 2 loturi de reactivi cu anticorp monoclonal CD5-FITC. Măsurătorile (% pozitive) au fost efectuate pe un citometru în flux Navios. Analiza a fost efectuată în conformitate cu metoda CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluarea performanței de precizie a metodelor de măsurare cantitativă).

Criteriile noastre de acceptare depind de numărul de evenimente pozitive măsurate pentru fiecare populație:

- Dacă evenimentul pozitiv < 1500, CV < 15%
- Dacă evenimentul pozitiv > 1500, CV < 10%

Limfocite							
Număr de evenimente pozitive (medie) = 1468							
	Inter-operator	Inter-citometru	Intra-lot	Inter-lot	Inter-ciclu	Intra-testare	Total
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
REZULTATE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACURATEȚE

Acuratețea CD5-FITC a fost evaluată prin compararea rezultatelor cu un reactiv de referință ca predicat pe un set de probe de sânge integral analizate cu un citometru în flux Navios. Eroarea sistematică dintre test și reactivul de referință a fost determinată în funcție de diferența dintre rezultatele testului. Dacă eroarea sistematică se încadrează în intervalul de eroare permis sau dacă valoarea p nu indică o diferență semnificativă (> 0,05), rezultatele testului pentru cei doi reactivi sunt considerate ca fiind echivalente.

Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul de mai jos:

Număr de donatori = 25				
Ținta pozitivă	Medie Δ	Criterii celulă Δ%	Valoarea p	REZULTATE
Limfocite	0,73	<5	0,032	PASS

LIMITA DE BLANC ȘI LIMITA DE DETECȚIE

A fost realizat un studiu în conformitate cu documentul CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluarea capacității de detecție în cazul procedurilor de măsurare din laborator). Limita de detecție (LOD) este cea mai redusă concentrație de analit care poate fi detectată în mod constant. Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul următor:

Positive Target	Limită de blanc (celulă/µl)	Limită de detecție (celulă/µl)
Limfocite	1	2

LIMITĂRI

1. Citometria în flux poate furniza rezultate false dacă citometrul nu a fost aliniat perfect, dacă scurgerile de fluorescență nu au fost compensate corect și dacă regiunile nu au fost poziționate corect.
2. Este de preferat să se utilizeze o tehnică de liză a eritrocitelor (RBC) cu o etapă de spălare, deoarece acest reactiv nu a fost optimizat pentru tehnici de liză „fără spălare”.
3. Se vor obține rezultate corecte și reproductibile dacă procedurile utilizate respectă prospectul tehnic și bunele practici de laborator.
4. Anticorpul conjugat din acest reactiv este calibrat astfel încât să ofere cel mai bun raport semnal specific/semnal nespecific. Prin urmare, este important ca la fiecare test să se respecte raportul volum de reactiv/volum de probă.
5. În cazul unei hiperleucocitoze, diluați sângele în PBS astfel încât să obțineți o valoare de aproximativ 5 x 10^9 leucocite/l (14).
6. În anumite stări patologice, cum ar fi insuficiența renală severă sau hemoglobinopatiile, liza eritrocitelor poate fi lentă, incompletă sau chiar imposibilă. În acest caz, se recomandă izolarea celulelor mononucleare cu ajutorul unui gradient de densitate (de exemplu, Ficoll), înainte de colorare (15).
7. În cazul pacienților tratați cu terapii cu anticorp monoclonal anti-uman, detecția antigenilor specifici țintiți poate fi diminuată sau absentă din cauza blocării parțiale sau complete asigurată de anticorpul terapeutic.
8. Rezultatele CD5-FITC trebuie interpretate în lumina prezentării clinice integrale a pacientului, inclusiv: simptome, istoric clinic, date din teste suplimentare și alte informații corespunzătoare.

Consultați Anexa pentru exemple și referințe.

MĂRCI COMERCIALE

Beckman Coulter, logoul stilizat și mărcile de produse și servicii Beckman Coulter menționate aici sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Beckman Coulter, Inc. în Statele Unite și în alte țări.

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

În cazul unui pacient/utilizator/terț aflat în Uniunea Europeană sau în țări cu un regim de reglementare identic (Regulamentul 2017/746/UE privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro); dacă, în timpul utilizării acestui dispozitiv sau în urma utilizării acestuia, are loc un incident grav, raportați acest incident către producător și/sau reprezentantul său autorizat și către autoritatea națională din țara dvs.

Rezumatul secțiunilor Siguranță și Performanță este disponibil din baza de date EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORICUL REVIZUIRILOR

REVIZIA AF:	Data publicării: August 2020

REVIZIE	**Data publicării**
AW	Mai 2022
Se actualizează pentru a respecta politica globală de etichetare Beckman Coulter și cerințele regulamentului IVD-R (UE) 2017/746:	
Secțiuni adăugate	Număr BSI 2797, Utilizator propus, Relevanță clinică, Concentrație, Precizie, Acuratețe, Limita de blanc și limita de detecție, Informații suplimentare, Istoric revizuiri.
Informații adăugate	Consultați secțiunile Limitări
Actualizări referitoare la frazare și tipografice	Consultați secțiunile Procedură, Performanță, Limitări, Avertizări și măsuri de precauție, Depozitare și stabilitate.
Secțiuni eliminate	Exemplu de utilizări clinice, Reactivi, Reproductibilitate intralaborator, Liniaritate
Secțiuni actualizate	Utilizare propusă, Clasificarea riscurilor în sistemul GHS, Dovadă de deteriorare, Procedură, Anexă.

REVIZIE	**Data publicării**
AX	Aprilie 2023
Secțiuni actualizate	A fost adăugată limba kazahă
Secțiuni actualizate	Depozitare și stabilitate

Versiunea revizuită	AY
Data revizuirii	Mai 2024
Au fost actualizate traducerile	**Relevanță clinică:**
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Versiunea revizuită	AZ
Data revizuirii	Iulie 2024
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Cheie simboluri

Glosarul de simboluri este disponibil la beckman.com/techdocs (număr document B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD5
Klon	BL1a
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Imunoglobulin	IgG2a
Vrsta	Miš
Prečiščevanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molarno razmerje	FITC/Ig: 4,0-6,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisij	525 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA in 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano protitelo CD5-FITC

REF A08932 100 testov; 2 ml, 20 µl/test

Za diagnostično uporabo *in vitro*

NAMEN UPORABE

To protitelo, konjugirano s fluorokromi, omogoča kvalitativno in neavtomatizirano identifikacijo celičnih populacij, ki izražajo antigen CD5, prisoten v človeških bioloških vzorcih, z uporabo pretočne citometrije (oglejte si poglavje »Vzorci« spodaj).

NAČELO

Ta test temelji na sposobnosti specifičnih monoklonskih protiteles, da se vežejo na antigenske determinante, ki jih izražajo levkociti.

Specifično barvanje levkocitov izvedemo z inkubacijo vzorca z reagentom IOTest. Rdeče krvničke nato odstranimo z lizo, levkocite, na katere ta proces ne vpliva, pa analiziramo s pretočno citometrijo.

Pretočni citometer meri difuzijo svetlobe in fluorescenco celic. Omogoča razmejitev opazovane populacije v elektronskem oknu, opredeljenem v histogramu, ki je povezan z ortogonalno difuzijo svetlobe (stransko sipanje ali SS) in difuzijo svetlobe pri majhnemu kotu (sipanje naprej ali FS). Glede na uporabo, ki jo izbere uporabnik, lahko druge histograme, ki uporabljajo kombinacijo dveh različnih parametrov, ki so na voljo na citometru, uporabimo kot nosilce v fazi uokvirjanja.

Fluorescenco razmejenih celic analiziramo z namenom razlikovanja med pozitivno obarvanimi dogodki in tistimi, ki niso obarvani. Rezultati so izraženi kot odstotek pozitivnih dogodkov glede na vse dogodke, pridobljene z uokviranjem.

PREDVIDENI UPORABNIK

Izdelek je namenjen profesionalni laboratorijski uporabi.

KLINIČNI POMEN

CD5-FITC je protitelo CD5, ki se uporablja za identifikacijo in karakterizacijo celic, ki izražajo antigen CD5 s pomočjo pretočne citometrije. Ta izdelek sam ne more ustvariti in ni namenjen za ustvarjanje kakršnih koli diagnostičnih zaključkov.

Če se izdelek uporablja v kombinaciji z drugimi označevalci, se lahko uporablja pri eni ali več naslednjih funkcij:

- Uporablja se kot pripomoček pri diferencialnem diagnosticiranju hematološko neobičajnih bolnikov, pri katerih obstaja sum, da imajo hematopoetsko neoplazmo, in za spremljanje bolnikov z znano hematopoetsko neoplazmo.
- Za pomoč pri napovedi stanja bolnikov s hematopoetsko neoplazmo.

Oglejte si naslednje reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

VZORCI

Pri jemanju venske krvi je treba uporabiti sterilne epruvete, ki vsebujejo sol EDTA kot antikoagulant.

Vzorce je treba hraniti pri sobni temperaturi (18–25 °C) in jih ni dovoljeno pretresati. Vzorce je treba homogenizirati z rahlim stresanjem pred odvzemom testnega vzorca.

Vzorce je treba analizirati v 24 urah po venepunkciji.

KONCENTRACIJA

Oglejte si ustrezen certifikat o analizi za izbrano serijo na spletni strani www.beckman.com.

OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI

1. Ne uporabljajte reagenta po izteku roka uporabnosti.
2. Ne zamrzujte.
3. Pred uporabo počakajte, da se ogrejejo na sobno temperaturo (18–25 °C).
4. Čim manj izpostavljajte svetlobi.
5. Preprečite mikrobno kontaminacijo reagentov, sicer lahko pride do napačnih rezultatov.
6. Z raztopinami protiteles, ki vsebujejo natrijev azid (NaN_3), je treba ravnati previdno. Ne zaužijte in se izogibajte vsakršnemu stiku s kožo, sluznico in očmi.

Poleg tega lahko natrijev azid v kislem mediju tvori potencialno nevaren vodikov azid. Če ga je treba odstraniti, je reagent priporočljivo razredčiti z veliko količino vode pred izlivanjem v kanalizacijo, da bi se izognili kopičenju natrijevega azida v kovinskih ceveh in preprečili nevarnost eksplozije.

7. Vse vzorce krvi je treba obravnavati kot potencialno kužne in je treba z njimi ravnati previdno (predvsem je treba nositi zaščitne rokavice, halje in očala).
8. Nikoli ne pipetirajte z usti in se izogibajte vsakršnemu stiku vzorcev s kožo, sluznico in očmi.
9. Epruvete za kri in material za enkratno uporabo je treba odstraniti v zabojnike na licu mesta, namenjene sežigu.
10. Reagente in odpadke je treba odstraniti skladno z lokalnimi predpisi.

KLASIFIKACIJA NEVARNOSTI PO GHS

Ni razvrščeno kot nevarno

SDS Varnostni list je na voljo na povezavi beckmancoulter.com/techdocs

SHRANJEVANJE IN OBSTOJNOST

Ta reagent je treba shranjevati pri temperaturi od 2 do 8 °C in zaščiteno pred svetlobo pred odprtjem vial in po njem.

Rok uporabnosti zaprte viale po študiji stabilnosti: 1095 dni.

Stabilnost odprte stekleničke: reagent je stabilen 180 dni.

DOKAZ O POSLABŠANJU STANJA

Vsaka sprememba fizičnega videza reagentov lahko kaže na poslabšanje stanja in reagenta ni dovoljeno uporabljati.

Za dodatne informacije ali ob prejemu poškodovanega izdelka pokličite službo za pomoč strankam družbe Beckman Coulter na številko 800-742-2345 (ZDA ali Kanada) ali se obrnite na lokalnega predstavnika podjetja Beckman Coulter.

VSEBINA

Konzervans iz natrijevega azida lahko tvori eksplozivne spojine v kovinskih odvodnih ceveh. Oglejte si NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16. 8. 76) (Nevarnost eksplozivnih azidov).
Da bi se izognili morebitnemu kopičenju azidnih spojin, po odstranjevanju nerazredčenega reagenta sperite odtočne cevi z vodo. Odstranjevanje natrijevega azida mora biti skladno z ustreznimi lokalnimi predpisi.

POTREBEN MATERIAL, KI NI PRILOŽEN V KOMPLETU:

- Epruvete za vzorčenje in material, potreben za vzorčenje.
- Samodejne pipete s konicami za enkratno uporabo za 20, 100 in 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizo.
- Reagent za lizo rdečih krvničk z izpiranjem po lizi. Na primer: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagent za fiksacijo levkocitov. Na primer: fiksirna raztopina IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotipska kontrola FITC: Reagent IOTest (Ref. A12689).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijev fosfat; 0,145 M natrijev klorid; pH 7,2).
- Centrifugirajte.
- Samodejni stresalnik (za stresanje).
- Pretočni citometer.

POSTOPEK Z REAGENTOM VERSALYSE

Za vsak analizirani vzorec lahko poleg testne epruvete dodamo še kontrolno epruveto, v kateri so celice pomešane v prisotnosti izotipskih kontrol (Ref. A12689).

1. V vsako testno epruveto dodajte 20 µl konjugiranih protiteles IOTest, po potrebi pa 20 µl izotipske kontrole v vsako kontrolno epruveto.
2. V vsako epruveto dodajte 100 µl testnega vzorca. Epruvete nežno stresajte.
3. Inkubirajte ga 15 do 20 minut pri sobni temperaturi (18–25 °C), zaščitenega pred svetlobo.
4. Nato izvedite lizo rdečih celic. Oglejte si brošuro VersaLyse (Ref. A09777) in po možnosti upoštevajte postopek, imenovan »s hkratno fiksacijo«, po katerem je treba dodati 1 ml mešanice »Fix-and-Lyse«, pripravljene sprotno. Takoj stresajte eno sekundo in inkubirajte 10 minut pri sobni temperaturi, zaščiteno pred svetlobo.
5. Centrifugirajte 5 minut pri 150 x g na sobni temperaturi.
6. Supernatant odstranite z aspiracijo.
7. Celično usedlino znova suspendirajte z uporabo 3 ml PBS.
8. Ponovite 5. korak.
9. Supernatant odstranite z aspiracijo in znova suspendirajte celično usedlino z uporabo:

- 0,5 ml ali 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehida, če je pripravke treba hraniti manj kot 24 ur. (0,1-% formaldehid PBS lahko dobimo z redčenjem 12,5 µl fiksirne raztopine IOTest 3 (Ref. A07800) pri njeni 10X koncentraciji v 1 ml PBS).
- 0,5 ml ali 1 ml PBS brez formaldehida, če je pripravke treba analizirati v 2 urah.

Opomba: v vseh primerih pripravke hranite na temperaturi od 2 do 8 °C in zaščitite pred svetlobo.

PRIČAKOVANE VREDNOSTI

V naših laboratorijih smo z zgoraj opisanim reagentom obdelali vzorce polne krvi 25 na videz zdravih darovalcev. Rezultati, pridobljeni s štetjem pozitivnih dogodkov, ki nas zanimajo v zvezi s tem reagentom, so navedeni v spodnjih preglednicah:

Pozitivna tarča	Številka	Povprečje (%)	SD (SO)	CV (%)
Limfociti	25	71,12	10,38	14,60

Te vrednosti so zgolj reprezentativne. Vsak laboratorij mora določiti lastne pričakovane vrednosti za lokalno populacijo običajnih darovalcev.

USPEŠNOST

Podatke o zmogljivosti pridobimo z zgoraj opisanim postopkom na vzorcih krvi, starih manj kot 24 ur, ki so bili predhodno zbrani v sterilnih epruvetah s soljo EDTA kot antikoagulantom. Analizo se izvede v 2 urah po imunohistokemičnem barvanju.

SPECIFIČNOST

Molekula CD5 je izražena na površini zrelih limfocitov T z večino timocitov in podpopulacijo limfocitov B (11, 12, 13). CD5 je izražen pri podskupini IgM, ki izloča celice B zaradi pomanjkanja encima terminalne deoksinukleotidil-transferaze (TdT), za katerega se zdi, da olajša aktivacijo BSR, s čimer se zmanjša avtoreaktivnost (avtoimunska reakcija). V nasprotju s tem pa celice T izražajo višje stopnje CD5 od celic B. CD5 je povečana na celicah T ob močni aktivaciji. V priželjcu obstaja korelacija z izraženostjo CD5 in močjo interakcije celic T proti samopeptidom. Izraženosti CD5 ni mogoče najti v granulocitih, monocitih in trombocitih (13). Monoklonsko protitelo BL1a je bilo dodeljeno CD5 med 3. delavnico HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigents (delavnico HLDA o antigenih za diferenciacijo človeških levkocitov), ki je potekala v Oxfordu v Angliji leta 1986 (koda WS: 520, Razdelek T) (11, 12).

NATANČNOST

Odstotke pozitivnih vrednosti smo določili z uporabo polne krvi. Vsak vzorec je bil obravnavan 4-krat, dvakrat dnevno 1 dan na 2 napravah z uporabo 2 serij reagentov z monoklonskimi protitelesi CD5-FITC. Meritve (% pozitivnih) so bile opravljene na pretočnem citometru Navios. Analiza je bila izvedena na podlagi metode CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vrednotenje natančnosti kvantitativnih merilnih metod).

Naša merila sprejemljivosti so odvisna od števila pozitivnih dogodkov, izmerjenih za vsako populacijo:

- Če je pozitiven dogodek < 1.500, je CV < 15 %
- Če je pozitiven dogodek > 1.500, je CV < 10 %

Limfociti							
Število pozitivnih dogodkov (povprečje) = 1468							
	Med upravljavci	Med citometri	Znotraj serije	Med serijami	Med postopki	Znotraj postopka	Skupaj
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost CD5-FITC smo ocenili s primerjavo rezultatov z referenčnim reagentom kot reagentom s potrjeno skladnostjo na nizu vzorcev polne krvi, obdelane na pretočnem citometru Navios. Odstopanje med testnim in referenčnim reagentom je bilo določeno na podlagi razlike med rezultati testa. Če je odstopanje znotraj dovoljenega območja napake ali vrednost p ne kaže pomembne razlike (> 0,05), se rezultati testov za oba reagenta štejejo za enakovredne.

Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Število darovalcev = 25				
Pozitivna tarča	Povprečje Δ	Δ % celičnega kriterija	vrednost p	REZULTATI
Limfociti	0,73	<5	0,032	PASS

MEJA SLEPEGA VZORCA IN MEJA ZAZNAVANJA

Študija je bila izvedena skladno z metodo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zmogljivosti zaznavanja za merilne postopke v kliničnih laboratorijih). Meja zaznavanja (LOD) je najnižja koncentracija analita, ki jo je mogoče dosledno zaznati. Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Positive Target	Meja slepega vzorca (celic/µl)	Meja zaznavanja (celic/µl)
Limfociti	1	2

OMEJITVE

1. S pretočno citometrijo lahko pride do napačnih rezultatov, če citometer ni bil točno nameščen, če puščanje fluorescence ni bilo ustrezno izravnano in če območja niso bila natančno pozicionirana.
2. Priporočljivo je uporabiti tehniko liziranja RBC s korakom pranja, saj ta reagent ni optimiziran za tehnike liziranja »brez pranja«.
3. Točne in ponovljive rezultate se bo doseglo, če se bo uporabilo postopke, ki so skladni s priloženim tehničnim listom in z načeli dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugirano protitelo tega reagenta je umerjeno, tako da zagotavlja najboljše razmerje med specifičnim/nespecifičnim signalnim razmerjem. Zato je pomembno, da pri vsakem testu upoštevamo razmerje med količino reagenta/količino vzorca.
5. V primeru hiperlevkocitoze razredčite kri v PBS, da se tako dobi vrednost približno 5 x 10^9 levkocitov/l (14).
6. Pri nekaterih bolezenskih stanjih, kot je huda ledvična odpoved ali hemoglobinopatije, je lahko liza rdečih krvničk počasna, nepopolna ali celo nemogoča. V tem primeru je priporočljivo izolirati mononuklearne celice z uporabo gradienta gostote (na primer Ficoll) pred barvanjem (15).
7. Pri bolnikih, ki se zdravijo s terapijo z antihumanimi monoklonskimi protitelesi, je lahko odkrivanje specifičnih ciljnih antigenov zmanjšano ali pa ga sploh ni zaradi delnega ali popolnega blokiranja s strani terapevtskega protitelesa.
8. Rezultate CD5-FITC je treba razlagati v luči celotne klinične slike bolnika, vključno s: simptomi, anamnezo, podatki dodatnih testov in drugimi ustreznimi podatki.

Primere in reference si oglejte v prilogi.

BLAGOVNE ZNAMKE

Beckman Coulter, stiliziran logotip ter znamke izdelkov in storitev podjetja Beckman Coulter, omenjene v tem dokumentu, so blagovne znamke ali registrirane blagovne znamke podjetja Beckman Coulter, Inc. v Združenih državah Amerike in drugih državah.

DRUGI PODATKI

Za bolnike/uporabnike/tretje osebe v Evropski uniji in v državah z enakim regulativnim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskih pripomočkih za in vitro diagnostiko): če med uporabo tega pripomočka ali kot rezultat njegove uporabe pride do resnega incidenta, o tem poročajte proizvajalcu in/ali njegovemu pooblaščenemu predstavniku in svojemu nacionalnemu organu.

Summary of Safety and Performance (Povzetek o varnosti in zmogljivosti) je na voljo v bazi podatkov EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ZGODOVINA REVIZIJ

REVIDIRANA IZDAJA AF:	Datum izdaje: Avgust 2020

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AW	Maj 2022
Posodobitve za skladnost z globalno politiko označevanja Beckman Coulter in v skladu z zahtevami IVD-R (EU) 2017/746:	
Dodana poglavja	Številka BSI 2797, predvideni uporabnik, klinični pomen, koncentracija, točnost, natančnost, meja slepega vzorca in meja zaznavanja, dodatne informacije, zgodovina revizij.
Dodatne informacije	Oglejte si poglavja Omejitve
Izrazne ali tipografske posodobitve	Oglejte si poglavja Postopek, Zmogljivost, Omejitve, Opozorila in previdnostni ukrepi, Shranjevanje in stabilnost.
Odstranjena poglavja	Primer klinične uporabe, reagenti, ponovljivost znotraj laboratorija, linearnost
Posodobljena poglavja	Predvidena uporaba, Klasifikacija nevarnosti po GHS, Dokaz o poslabšanju stanja, Postopek, Priloga.

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AX	April 2023
Posodobljena poglavja	Dodaj kazaščino
Posodobljena poglavja	Shranjevanje in stabilnost

Revidirana različica	AY
Revidiran datum	Maj 2024
Posodobljeni prevodi	**Klinični pomen:**
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Revidirana različica	AZ
Revidiran datum	Julij 2024
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Seznam simbolov

Glosar simbolov je na voljo na beckman.com/techdocs (številka dokumenta B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD5
Klon	BL1a
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Lymphocytes from human thoracic duct
Imunoglobulin	IgG2a
Vrste	Miš
Prečišćavanje	Afinitetna hromatografija
Fluorohrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molarni odnos	FITC/Ig: 4,0-6,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisije	525 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Konjugovano antitelo CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 ml, 20 µl/testu

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu

NAMENA

Ovo fluorohromno-konjugovano antitelo omogućava kvalitativnu i neautomatizovanu identifikaciju ćelijskih populacija koje eksprimiraju CD5 antigen prisutnih u humanim biološkim uzorcima pomoću protočne citometrije (pogledati odeljak „Uzorci“ u nastavku).

PRINCIP

Ovaj test se zasniva na sposobnosti određenih monoklonskih antitela da se vežu za antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično bojenje leukocita se obavlja inkubiranjem uzorka sa reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utiče, analiziraju se protočnom citometrijom.

Protočni citometar meri difuziju svetlosti i fluorescenciju ćelija. On omogućava razgraničenje populacije od interesa u okviru elektronskog prozora definisanog na histogramu, što je u korelaciji sa ortogonalnom difuzijom svetlosti (bočno rasejanje ili SS) i difuzijom uskougaone svetlosti (prednje rasejanje ili FS). Drugi histogrami koji kombinuju dva različita parametra koja postoje na citometru mogu se koristiti kao podrška u fazi regulacije, u zavisnosti od primene koju je korisnik odabrao.

Fluorescencija ograničenih ćelija se analizira kako bi se razlikovali pozitivno obojeni događaji od neobojenih događaja. Rezultati su prikazani kao procenat pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobijene regulacijom.

PREDVIĐENI KORISNIK

Ovaj proizvod je namenjen za upotrebu od strane laboratorijskih stručnjaka.

KLINIČKI ZNAČAJ

CD5-FITC predstavlja CD5 antitelo korišćeno za identifikovanje i karakterizaciju ćelija koje eksprimiraju CD5 antigen pomoću protočne citometrije. Ovaj proizvod sam po sebi ne može da se koristi i nije namenjen za donošenje bilo kog dijagnostičkog zaključka.

Kada se koristi u kombinaciji sa drugim markerima, ovaj proizvod može da se koristi kod jedne ili više od sledećih funkcija:

- Kao pomoć u diferencijalnoj dijagnozi kod hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu i za nadgledanje pacijenata sa poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć u prognozi za pacijente koji imaju hematopoetsku neoplazmu.

Pogledajte sledeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

UZORCI

Uzorci iz venske krvi moraju se uzimati sterilnim epruvetama koje sadrže EDTA so kao antikoagulans.

Uzorke treba čuvati na sobnoj temperaturi (18–25°C) i ne tresti. Uzorke treba pre uzimanja uzorka za testiranje homogenizovati blagim mešanjem.

Uzorci se moraju analizirati u roku od 24 sati od venepunkcije.

KONCENTRACIJA

Pogledajte dokument „Certificate of Analysis“ (Sertifikat analize) za određeni lot na veb-sajtu www.beckman.com.

UPOZORENJE I MERE OPREZA

1. Ne koristite reagense nakon isteka roka trajanja.
2. Ne zamrzavajte.
3. Pre upotrebe sačekajte da se približi sobnoj temperaturi (18–25°C).
4. Izbegavati izloženost svetlosti.
5. Sprečite mikrobsku kontaminaciju reagenasa ili se mogu javiti netačni rezultati.
6. Rastvorima antitela koji sadrže natrijum azid (NaN_3) treba pažljivo rukovati. Ne uzimajte interno i izbegavajte svaki dodir sa kožom, sluzokožom i očima.

Pored toga, u kiseloj sredini, natrijum azid može formirati potencijalno opasnu hidrazoinsku kiselinu. Ako je potrebno da se odloži u otpad, preporučuje se da se reagens razblaži u velikoj zapremini vode pre sipanja u sistem kanalizacije kako bi se izbeglo taloženje natrijum azida u metalnim cevima i sprečila opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno infektivnim i njima se mora pažljivo rukovati (posebno: nošenje zaštitnih rukavica, odeće i zaštitnih naočara).
8. Nikada ne pipetirajte ustima i izbegavajte svaki kontakt uzoraka sa kožom, sluzokožom i očima.
9. Epruvete za uzorak krvi i potrošni materijal koji je korišćen za rukovanje treba odložiti u ad hoc kontejnere predviđene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad treba ukloniti prema lokalnim zahtevima.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno

SDS Dokument „Bezbednosni list“ dostupan je na internet stranici beckmancoulter.com/techdocs

SKLADIŠTENJE I STABILNOST

Ovaj reagens se mora čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C i zaštićen od svetlosti, pre i posle otvaranja bočice.

Ispitivanje roka trajanja zatvorene bočice u odnosu na stabilnost: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dan(a).

DOKAZI POGORŠANJA

Bilo koja promena u fizičkom izgledu reagensa može ukazivati na pogoršanje i reagens ne treba koristiti.

Za dodatne informacije ili ako dobijete oštećen proizvod, pozovite korisnički servis kompanije Beckman Coulter na broj 800-742-2345 (SAD ili Kanada) ili pozovite svog lokalnog predstavnika kompanije Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans sa natrijum azidom može formirati eksplozivna jedinjenja u metalnim odvodnim vodovima. Pogledajte „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (16.8.76.) (Bilten Nacionalnog instituta za bezbednost i zdravlje na radu: Opasnost od eksplozivnih azida).
Da biste sprečili moguće taloženje jedinjenja azida, isperite cevi za otpad vodom nakon odlaganja u otpad nerazblaženog reagensa. Odlaganje u otpad natrijum azida mora biti u skladu sa odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI SE NE ISPORUČUJU UZ KOMPLET:

- Epruvete za uzorkovanje i materijal potreban za uzorkovanje.
- Automatske pipete sa nastavcima za jednokratnu upotrebu za 20 100 µl i 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizu.
- Reagens za liziranje eritrocita sa fazom ispiranja nakon liziranja. Na primer: VersaLyse (referentni broj A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primer: IOTest 3 fiksativni rastvor (referentni broj A07800).
- Izotipska kontrola FITC: IOTest reagens (referentni broj A12689).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijum-fosfat; 0,145 M natrijum-hlorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska mešalica (vrtložnog tipa).
- Protočni citometar.

POSTUPAK SA VERSALYSE REAGENSOM

Za svaki analiziran uzorak je pored epruvete za uzorak moguće dodati i jednu kontrolnu epruvetu u kojoj se ćelije mešaju u prisustvu izotipske kontrole (referentni broj A12689).

1. Dodajte 20 µl specifičnog IOTest konjugovanog antitela u svaku epruvetu za uzorak i, ako je to potrebno, 20 µl kontrole izotipa u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µl uzorka za testiranje u svaku epruvetu za uzorak. Pažljivo izmešajte epruvete u vrtložnoj mešalici.
3. Inkubirajte 15 do 20 minuta na sobnoj temperaturi (18–25°C), zaštićeno od svetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje crvenih ćelija. Pogledajte VersaLyse (referentni broj A09777) letak i poželjno pratite postupak pod nazivom „sa istovremenom fiksacijom“, koji se sastoji od dodavanja 1 ml nezavisno pripremljene smeše za fiksiranje i liziranje („Fix-and-Lyse“). Odmah izmešajte u vrtložnoj mešalici jednu sekundu i inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi, zaštićeno od svetlosti.
5. Centrifugirajte 5 minuta na 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Ponovo suspendujte talog ćelija u 3 ml PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Aspiracijom uklonite supernatant i ponovo suspendujte talog ćelija u:

- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a plus 0,1% formaldehida ako će se preparati čuvati kraće od ovog broja sati: 24. (PBS sa 0,1% formaldehida može se dobiti razblaživanjem 12,5 µl IOTest 3 rastvora za fiksiranje (referentni broj A07800) u 10X koncentraciji u 1 ml PBS-a).
- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a bez formaldehida ako će se preparati analizirati u roku od ovog broja sati – 2.

Napomena: U svim slučajevima preparate čuvajte na temperaturi između 2°C i 8°C i zaštićene od svetlosti.

OČEKIVANE VREDNOSTI

U našim laboratorijama, uzorci pune krvi 25 očigledno zdravih donora tretirani su pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati dobijeni za broj pozitivnih događaja od interesa sa ovim reagensom navedeni su u tabeli u nastavku:

Pozitivan cilj	Broj	Srednja vrednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti	25	71,12	10,38	14,60

Ove vrednosti treba da služe samo kao reprezentativne vrednosti. Svaka laboratorija treba da uspostavi sopstvene očekivane vrednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o delovanju dobijeni su pomoću prethodno opisanog postupka na manje od 24 sata starim uzorcima krvi koji su prethodno prikupljeni sterilnim epruvetama za uzorke sa EDTA solju kao antikoagulansom. Analiza se vrši u roku od 2 sata od imunobojenja.

SPECIFIČNOST

Molekul CD5 eksprimiran je na površini zrelih T limfocita, većinom timocita i subpopulacijom B limfocita (11,12,13). CD5 je eksprimiran u podgrupi B ćelija koje produkuju IgM antitela usled nedostatka enzima terminalne deoksinukleotidil transferaze (TdT), koji izgleda ublažava aktiviranje BSR i stoga smanjuje auto-reaktivnost (autoimuna-reakcija). Nasuprot tome, T ćelije eksprimiraju više nivoe CD5 u odnosu na B ćelije. CD5 je ushodno regulisan na T ćelijama nakon jake aktivacije. U timusu postoji korelacija sa ekspresijom CD5 i jačinom interakcije T ćelija sa sopstvenim peptidima. Ekspresija CD5 nije pronađena u granulocitima, monocitima i trombocitima (13). Monoklonalno antitelo BL1a dodeljeno je CD5 tokom konferencije „3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens" (Treća HLDA konferencija o ljudskim antigenima leukocitne diferencijacije), koja je održana u Oksfordu, u Engleskoj, 1986. godine (Kod WS: 520, Odeljak T) (11,12).

PRECIZNOST

Procenat pozitivnih vrednosti utvrđen je pomoću pune krvi. Svaki uzorak je analiziran 4 puta, dva puta dnevno tokom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagenasa monoklonskog antitela CD5-FITC. Merenja (% pozitivnog) su izvršena na Navios protočnom citometru. Analiza je obavljena na osnovu CLSI metoda EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procena preciznosti učinka kvantitativnih metoda merenja).

Naši kriterijumi prihvatljivosti zavise od broja pozitivnih događaja izmerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivan događaj <1.500, CV <15%
- Ako je pozitivan događaj >1.500, CV <10%

Limfociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrednost) = 1468							
	Između više operatera	Između više citometara	Unutar jednog lota	Između više lotova	Između više analiziranja	Unutar jednog analiziranja	Ukupno
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TAČNOST

Tačnost testa CD5-FITC procenjena je poređenjem rezultata sa referentnim reagensom kao osnovom na kompletu uzoraka pune krvi analiziranim na Navios protočnom citometru. Odstupanje između testa i referentnog reagensa određeno je na osnovu razlike između rezultata testova. Ako je odstupanje u okviru dozvoljenog opsega greške ili p-vrednost ne ukazuje na značajnu razliku (>0,05), rezultati testova za ova dva reagensa se smatraju ekvivalentnim.

Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivan cilj	Srednja vrednost Δ	Δ % ćelijskih kriterijuma	p-vrednost	REZULTATI
Limfociti	0,73	<5	0,032	PASS

LIMIT SLEPE PROBE I LIMIT DETEKCIJE

Izvršeno je ispitivanje u skladu s protokolom CLSI EP17-A2, „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures" (Procena sposobnosti detekcije za postupke merenja u kliničkoj laboratoriji). Limit detekcije (LoD) je najniža koncentracija analita koja se može dosledno detektovati. Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli:

Positive Target	Limit slepe probe (ćelija/µl)	Limit detekcije (ćelija/µl)
Limfociti	1	2

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti netačne rezultate ako citometar nije pravilno postavljen, ako fluorescentna curenja nisu ispravno kompenzirana ili ako regioni nisu pažljivo postavljeni.
2. Poželjno je koristiti tehniku liziranja RBC sa korakom ispiranja jer ovaj reagens nije optimizovan za tehnike liziranja „bez pranja".
3. Tačni i ponovljivi rezultati će se dobijati sve dok su korišćeni postupci u skladu sa listom sa tehničkim podacima i postupci kompatibilni sa smernicama dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugovano antitelo ovog reagensa je kalibrisano tako da ponudi najbolji odnos specifičnog i nespecifičnog signala. Prema tome, važno je u svakom testu koristiti utvrđeni odnos zapremine reagensa i zapremine uzorka.
5. U slučaju hiperleukocitoze, razredite krv u PBS-u kako biste dobili vrednost od približno 5 x 10^9 leukocita/l (14).
6. U određenim stanjima bolesti, kao što su teška bubrežna insuficijencija ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak nemoguće. U tom slučaju se pre bojenja preporučuje izoliranje mononuklearnih ćelija upotrebom gradijenta gustine (na primer, fikol) (15).
7. Kod pacijenata lečenih terapijama antihumanim monoklonskim antitelima, detekcija specifičnih ciljanih antigena može biti umanjena ili odsutna usled delimične ili potpune blokade od strane terapijskog antitela.

8. Rezultate CD5-FITC testa treba tumačiti u svetlu celokupne kliničke slike pacijenta, uključujući: simptome, kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i druge prikladne informacije.

Za primere i referentne materijale pogledati Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizovani logotip i Beckman Coulter robni i servisni žigovi koji se navode u ovom dokumentu jesu žigovi ili registrovani žigovi kompanije Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim zemljama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta/korisnika/treću stranu u Evropskoj uniji i zemljama sa identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o in vitro dijagnostičkim medicinskim sredstvima); ako je tokom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe došlo do ozbiljnog incidenta, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlašćenom predstavniku i svom nacionalnom organu.

Dokument Summary of Safety and Performance (Sažetak informacija o bezbednosti i učinku) dostupan je u EUDAMED bazi podataka: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORIJA REVIZIJA

REVIZIJA AF:	Datum izdavanja: Avgust 2020.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AW	Maj 2022.
Ažurirano radi usklađenosti sa smernicama za globalno obeležavanje kompanije Beckman Coulter u skladu sa zahtevima IVD-R (EU)2017/746:	
Dodati odeljci	BSI 2797 broj, Predviđeni korisnik, Klinički značaj, Koncentracija, Preciznost, Tačnost, Limit slepe probe i limit detekcije, Dodatne informacije, Istorija revizija.
Dodate informacije	Pogledati odeljke Ograničenja
Ažuriranje formulacija ili tipografije	Pogledati odeljke Postupak, Učinak, Ograničenja, Upozorenja i mere opreza, Čuvanje i stabilnost.
Uklonjeni odeljci	Primeri kliničkih primena, Reagensi, Intralaboratorijska reproducibilnost, Linearnost
Dopunjeni odeljci	Namena, GHS klasifikacija opasnosti, Dokaz propadanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AX	April 2023
Dopunjeni odeljci	Dodajte kazaški
Dopunjeni odeljci	Skladištenje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Maj 2024
Ažurirani prevodi	**Klinički značaj:**
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Jul 2024
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Ključ za simbole

Rečnik simbola je dostupan na adresi beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Specifikācijas
Specifika	CD5
Klons	BL1a
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunogēns	Lymphocytes from human thoracic duct
Imūnglobulīns	IgG2a
Suga	Pele
Attīrīšana	Afinitātes hromatogrāfija
Fluorohroms	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molārā attiecība	FITC/Ig: 4,0-6,5
λ ierosme	488 nm
Izstarojuma lielākā vērtība	525 nm
Buferšķīdums	PBS pH 7,2 ar 2 mg/ml BSA un 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugētā antiviela
CD5-FITC

REF A08932 100 testi; 2 ml, 20 µl uz testu

***In vitro* diagnostikas lietošanai**

PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

Ar fluorohromu konjugētā antiviela nodrošina tādu šūnu populāciju kvalitatīvo un neautomatizēto noteikšanu, kam ir CD5 antigēna ekspresija un kas ir cilvēka bioloģiskajos paraugos, izmantojot plūsmas citometriju (skatīt tālāk sadaļu „Paraugi").

PRINCIPS

Šī testa pamatā ir specifisku monoklonālu antivielu spēja saistīties ar leikocītu izdalītām antigēnu determinantēm.

Leikocītu specifiskā iekrāsošana tiek veikta, inkubējot paraugu ar IOTest reaģentu. Pēc tam eritrocīti tiek atdalīti lizēšanas procesā, un leikocīti, ko šis process neietekmē, tiek analizēti, izmantojot plūsmas citometriju.

Plūsmas citometrs mēra gaismas difūziju un šūnu fluorescenci. Tādēļ ir iespējama interesējošās populācijas ierobežošana elektroniskajā logā, kas definēts histogrammā, kas korelē ar gaismas ortogonālo difūziju (sānu izkliede jeb SS) un šaurleņķa gaismas difūziju (priekšējā izkliede jeb FS). Kā papildu metodes sinhronizācijas procesā iespējams izmantot citas histogrammas, kurās iespējams kombinēt divus dažādus citometrā pieejamos parametrus atkarībā no lietotāja izvēlētā izmantojuma.

Tiek analizēta atdalīto šūnu fluorescence, lai atšķirtu pozitīvi iekrāsotos notikumus no neiekrāsotajiem. Rezultāti tiek izteikti kā procentuālais lielums no pozitīviem notikumiem attiecībā pret visiem notikumiem, kas iegūti selekcijā.

PAREDZĒTAIS LIETOTĀJS

Šis produkts ir paredzēts profesionālai lietošanai laboratorijā.

KLĪNISKAIS NOZĪMĪGUMS

CD5-FITC ir CD5 antiviela, ko izmanto, lai ar plūsmas citometriju noteiktu un raksturotu šūnas, kas ekspresē CD5 antigēnu. Ar vienu pašu šo izstrādājumu nevar iegūt nekādu diagnostisku secinājumu, un tas nav tam paredzēts.

Izmantojot kopā ar citiem marķieriem, šo izstrādājumu var lietot vienai vai vairākām tālāk norādītajām funkcijām.

- Lai palīdzētu veikt diferenciāldiagnostiku pacientiem ar hematoloģiskām patoloģijām, kuriem, iespējams, ir asinsrades neoplazma, un lai kontrolētu pacientus ar zināmu asinsrades neoplazmu.
- Lai palīdzētu noteikt prognozi pacientiem ar asinsrades neoplazmu.

Skatiet tālāk sniegtās atsauces.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PARAUGI

Venozās asinis jāņem, izmantojot sterilas mēģenes, kurās kā antikoagulants ir izmantots EDTA sāls.

Paraugi ir jāuzglabā istabas temperatūrā (18–25 °C), un tos nedrīkst sakratīt. Pirms testa parauga ņemšanas ir jāveic paraugu homogenizācija, viegli saskalojot paraugus.

Paraugu analīze ir jāveic 24 stundu laikā pēc vēnas punkcijas.

KONCENTRĀCIJA

Konkrētai partijai atbilstošo analīzes sertifikātu skatiet vietnē www.beckman.com.

BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

1. Neizmantojiet reaģentu pēc derīguma termiņa beigām.
2. Nedrīkst sasaldēt.
3. Pirms izmantošanas ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai (18–25 °C).
4. Minimizējiet ekspozīciju gaismas iedarbībai.
5. Izvairieties no reaģentu bakteriālas kontaminācijas, jo iespējami viltus rezultāti.
6. Strādājot ar antivielu šķīdumiem, kuru sastāvā ir nātrija azīds (NaN_3), jāievēro piesardzība. Neizmantojiet iekšķīgi un nepieļaujiet saskari ar ādu, gļotādu un acīm.

   Turklāt skābā vidē nātrija azīds var radīt potenciāli bīstamo hidrazoīdskābi. Ja to nepieciešams izmest, reaģentu ieteicams šķīdināt lielā daudzumā ūdens un izliet to kanalizācijas sistēmā, lai novērstu nātrija azīda uzkrāšanos metāla caurulēs un novērstu sprādziena risku.

7. Visi asins paraugi ir jāuzskata par potenciāli infekcioziem, un ar tiem jārīkojas, ievērojot piesardzību (respektīvi, jāvalkā aizsargcimdi, aizsargtērpi un brilles).
8. Nekādā gadījumā neizmantojiet muti, lai darbotos ar pipeti. Paraugi nekādā gadījumā nedrīkst saskarties ar ādu, gļotādu un acīm.
9. Darbā izmantotās asiņu mēģenes un vienreizlietojamie materiāli ir jāizmet ad hoc konteineros, kas paredzēti sadedzināšanai.
10. Ir jāveic reaģentu un atkritumu utilizācija atbilstoši vietējām prasībām.

ĶĪMISKO VIELU KLASIFICĒŠANAS UN MARĶĒŠANAS VISPĀRĒJI SASKAŅOTĀS SISTĒMAS BĪSTAMĪBAS KLASIFIKĀCIJA

Nav klasificēts kā bīstams

SDS Drošības datu lapa ir pieejama vietnē beckmancoulter.com/techdocs

GLABĀŠANA UN STABILITĀTE

Reaģents ir jāuzglabā 2–8 °C temperatūrā un jāsargā no gaismas pirms un pēc flakona atvēršanas.

Aizvērta flakona glabāšanas laiks saskaņā ar stabilitātes pētījumu: 1095 dienas.

Atvērta flakona stabilitāte: reaģents ir stabils 180 dienas.

SADALĪŠANĀS PAZĪMES

Jebkuras reaģentu pazīmju izmaiņas var norādīt, ka reaģents sadalās un to nedrīkst izmantot.

Lai iegūtu papildu informāciju vai arī ja saņemtais izstrādājums ir bojāts, zvaniet Beckman Coulter klientu servisam pa tālruni 800-742-2345 (ASV vai Kanāda) vai sazinieties ar vietējo Beckman Coulter pārstāvi.

SATURS

Nātrija azīda konservants var izveidot sprādzienbīstamus savienojumus metāla notekcaurulēs. Skatīt NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (NIOSH biļetens: Azīdu sprādzienbīstamība) (16.8.76.).
Lai nepieļautu iespējamo azīda savienojumu uzkrāšanos, pēc neatšķaidītā reaģenta izmešanas izskalojiet kanalizācijas caurules ar ūdeni. Nātrija azīda izmešana ir jāveic saskaņā ar atbilstošajiem vietējiem noteikumiem.

NEPIECIEŠAMIE MATERIĀLI, KAS NEIETILPST KOMPLEKTĀ

- Paraugu ņemšanai nepieciešamās mēģenes un materiāli.
- Automātiskās pipetes ar vienreizlietojamiem uzgaļiem, kas paredzētas 20, 100 un 500 µl.
- Plastmasas hemolīzes mēģenes.
- Eritrocītu lizēšanas reaģents ar mazgāšanas fāzi pēc lizēšanas. Piemērs: VersaLyse (ats. A09777).
- Leikocītu fiksācijas reaģents. Piemērs: IOTest 3 fiksatīvais šķīdums (ats. A07800).
- Izotipa kontrole FITC: IOTest reaģents (ats. A12689).
- Buferšķīdums (PBS: 0,01 M nātrija fosfāta; 0,145 M nātrija hlorīda; pH 7,2).
- Centrifugējiet.
- Automātisks maisītājs (samaisīšanas tipa).
- Plūsmas citometrs.

PROCEDŪRA AR REAĢENTU VERSALYSE

Katram analizētajam paraugam papildus testa mēģenei var izmantot vienu kontroles mēģeni, kurā šūnas tiek sajauktas izotipu kontroles klātbūtnē (ats. A12689).

1. Katrai testa mēģenei pievienojiet 20 µl specifiskas IOTest konjugētas antivielas un, ja nepieciešams, katrai kontroles mēģenei pievienojiet 20 µl izotipa kontroles.
2. Pievienojiet 100 µl testa parauga katrai mēģenei. Saudzīgi samaisiet mēģenes.
3. Inkubējiet 15–20 minūtes istabas temperatūrā (18–25 °C), sargājot no gaismas.
4. Pēc tam veiciet eritrocītu lizēšanu. Skatiet VersaLyse (ats. A09777) lietošanas instrukciju, un ir vēlams izmantot procedūru ar nosaukumu „ar vienlaicīgu fiksāciju", kas tiek veikta, pievienojot 1 ml ekstemporāli izgatavota „Fix-and-Lyse" maisījuma. Nekavējoties samaisiet uz vienu sekundi un inkubējiet mēģeni 10 minūtes istabas temperatūrā, sargājot to no gaismas iedarbības.
5. Centrifugējiet 5 minūtes istabas temperatūrā, izmantojot 150 x g.
6. Aspirējot noņemiet virsējo slāni.
7. Atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu ar 3 ml PBS.
8. Atkārtojiet 5. darbību.
9. Aspirējot noņemiet virsējo slāni un atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu, izmantojot:

- 0,5 ml vai 1 ml PBS ar 0,1 % formaldehīda, ja preparātus ir paredzēts uzglabāt mazāk nekā 24 stundas. (0,1 % formaldehīda PBS var iegūt, atšķaidot 12,5 µl IOTest 3 fiksācijas šķīduma (ats. A07800) 10X koncentrācijā ar 1 ml PBS).
- 0,5 ml vai 1 ml PBS bez formaldehīda, ja ir paredzēts analizēt sagataves 2 stundu laikā.

Piezīme. Sagatavotos maisījums vienmēr uzglabājiet 2–8 °C temperatūrā un sargājiet no gaismas.

PAREDZAMĀS VĒRTĪBAS

Mūsu laboratorijās tika apstrādāti 25 acīmredzami veselu donoru pilnasins paraugi, izmantojot iepriekš aprakstīto reaģentu. Ar šo reaģentu iegūtie interesējošo pozitīvo notikumu rezultāti skaitliskā veidā ir sniegti tālāk tabulā.

Pozitīvais mērķis	Numurs	Aritmētiskais vidējais (%)	SN	Variācijas koeficients (%)
Limfocīti	25	71,12	10,38	14,60

Šīm vērtībām ir tikai raksturojošs nolūks. Katrai laboratorijai jānosaka savas paredzamās vērtības, kas iegūtas no veseliem vietējās populācijas donoriem.

VEIKTSPĒJA

Veiktspējas dati tiek iegūti, izmantojot iepriekš aprakstīto procedūru mazāk nekā 24 stundu veciem asins paraugiem, kas iepriekš paņemti sterilās mēģenēs ar EDTA sāli kā antikoagulantu. Analīze tiek veikta 2 stundu laikā pēc imūnkrāsošanas metodes izmantošanas.

SPECIFIKA

CD5 molekula izdalās uz nobriedušu T limfocītu virsmas, kā arī to izdala vairākums timocītu un B limfocītu apakšpopulācija (11,12,13). CD5 tiek izdalīts IgM apakškopā, kur notiek B šūnu sekrēcija, jo nav enzīmu terminālās deoksinukleotidilās transferāzes (TdT), kas atvieglo BSR aktivizāciju un līdz ar to samazina autoreakciju (autoimūno reakciju). Savukārt T šūnas izdala augstāku CD5 līmeni nekā B šūnas. Spēcīgas aktivizācijas gadījumā CD5 daudzums T šūnās tiek palielināts. Aizkrūts dziedzerī pastāv korelācija starp CD5 izdalīšanos un T šūnu mijiedarbības spēcīgumu attiecībā uz pašpeptīdiem. CD5 izdalīšanās nav novērota granulocītos, monocītos un trombocītos (13). Monoklonālā antiviela BL1a tika piešķirta CD5 pasākumā 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3. HLDA darbnīca saistībā ar cilvēku leikocītu diferencēšanas antivielām), kas notika Oksfordā, Anglijā,1986. gadā (WS kods 520, sekcija T) (11,12).

PRECIZITĀTE

Procentuāli pozitīvās vērtības tika noteiktas, izmantojot pilnasinis. Katru paraugu analizēja 4 reizes: divreiz dienā 1 dienu 2 instrumentos, izmantojot 2 partijas CD5-FITC monoklonālu antivielu reaģentu. Mērījumus (% pozitīvs) veica Navios plūsmas citometrā. Analīzi veica, pamatojoties uz CLSI metodi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatīvo mērīšanas metožu precizitātes veiktspējas novērtēšana).

Mūsu pieņemšanas kritēriji ir atkarīgi no katrai populācijai noteikto pozitīvo notikumu skaita.

- Ja pozitīvs notikums < 1500, variācijas koeficients < 15 %
- Ja pozitīvs notikums > 1500, variācijas koeficients < 10 %

Limfocīti							
Pozitīvo notikumu skaits (aritmētiskais vidējais) = 1468							
	Starp operatoriem	Starp citometriem	Partijā	Starp partijām	Starp analīzēm	Analīzē	Kopā
Variācijas koeficients (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
REZULTĀTI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRECIZITĀTE

CD5-FITC precizitāti novērtēja, pilnasins paraugu kopas, kas analizēti Navios plūsmas citometrā, rezultātus salīdzinot ar atsauces reaģentu kā predikātu. Novirzi starp testa un atsauces reaģentu noteica, pamatojoties uz testu rezultātu atšķirību. Ja novirze atbilst pieļaujamajam kļūdas diapazonam vai p vērtība neliecina par nozīmīgu atšķirību (> 0,05), tad abu reaģentu testu rezultāti uzskatāmi par līdzvērtīgiem.

Iegūtie rezultāti ir apkopoti nākamajā tabulā.

Donoru skaits = 25				
Pozitīvais mērķis	Aritmētiskais vidējais Δ	Δ % šūnu kritēriji	p vērtība	REZULTĀTI
Limfocīti	0,73	<5	0,032	PASS

TUKŠO PARAUGU ROBEŽVĒRTĪBA UN NOTEIKŠANAS ROBEŽVERTĪBA

Pētījums tika veikts saskaņā ar CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klīniskās laboratorijas mērījumu procedūru noteikšanas spēju izvērtējums). Noteikšanas robežvērtība (NR) ir zemākā analīta koncentrācija, ko iespējams konsekventi noteikt. Iegūtie rezultāti ir apkopoti tālāk tabulā.

Positive Target	Tukšo paraugu robežvērtība (šūnas/µl)	Noteikšanas robežvērtība (šūnas/µl)
Limfocīti	1	2

IEROBEŽOJUMI

1. Ja citometrs nav novietots precīzi līdzeni, ja nav pareizi kompensētas fluorescences noplūdes un ja reģioni nav uzmanīgi novietoti, plūsmas citometrija var radīt viltus rezultātus.
2. Ir ieteicams izmantot RBC lizēšanas paņēmienu ar mazgāšanas darbību, jo šis reaģents nav optimizēts izmantošanai lizēšanas paņēmienā „bez mazgāšanas".
3. Iegūtie rezultāti ir precīzi un reproducējami, ja visas izmantotās procedūras tiek izpildītas atbilstoši tehniskajai lietošanas instrukcijai un ir saskaņā ar labu laboratorijas praksi.
4. Šī reaģenta konjugētā antiviela ir kalibrēta tā, lai nodrošinātu labāko specifiska signāla/nespecifiska signāla attiecību. Tāpēc ir ļoti svarīgi ievērot reaģenta tilpuma/parauga tilpuma attiecību katrā testā.
5. Hiperleikocitozes gadījumā atšķaidiet asinis ar PBS, lai iegūtā vērtība būtu apmēram 5 x 10^9 leikocīti/l (14).
6. Dažos slimību stāvokļos, piemēram, izteiktas nieru mazspējas vai hemoglobinopātijas gadījumā, eritrocītu lizēšana var būt lēna, nepilnīga vai pat neiespējama. Šajā gadījumā pirms iekrāsošanas ir ieteicams izolēt mononukleārās šūnas, izmantojot blīvuma gradientu (piemēram, Ficoll) (15).
7. Pacientiem, ko ārstē ar anti-cilvēka monoklonālas antivielas līdzekļiem, specifisku mērķa antigēnu noteikšana var būt pasliktināta vai tās var nebūt, jo to daļēji vai pilnībā bloķē terapeitiskā antiviela.
8. CD5-FITC rezultāti jāinterpretē, ņemot vērā pacienta kopējo klīnisko prezentāciju, tajā skaitā simptomus, slimības vēsturi, papildu testu rādītājus un citu atbilstošu informāciju.

Pielikumā skatiet piemērus un atsauces.

PREČU ZĪMES

Beckman Coulter, stilizētais logotips un Beckman Coulter preču un pakalpojumu zīmes, kas minētas šeit, ir Beckman Coulter, Inc. preču zīmes vai reģistrētas preču zīmes Amerikas Savienotajās Valstīs un citās valstīs.

PAPILDINFORMĀCIJA

Attiecībā uz pacientiem/lietotājiem/trešajām personām Eiropas Savienībā vai valstīs ar identisku regulatīvo režīmu (Regula (ES) 2017/746 par in vitro diagnostikas medicīniskām ierīcēm); ja ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā rodas nopietns negadījums, informējiet par to ražotāju un/vai tā pilnvaroto pārstāvi, kā arī valsts iestādi.

Summary of Safety and Performance (Drošuma un veiktspējas kopsavilkums) ir pieejams EUDAMED datubāzē: ec.europa.eu/tools/eudamed.

PĀRSKATĪŠANAS VĒSTURE

AF VERSIJA:	Laidiena datums: 2020. gada augusts

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AW	2022. gada maijs
Atjauninājumi atbilst Beckman Coulter vispārējai marķēšanas politikai un IVD-R (ES)2017/746 prasībām:	
Pievienotas iedaļas	BSI 2797 numurs, Paredzētais lietotājs, Klīniskais nozīmīgums, Koncentrācija, Precizitāte, Precizitāte, Tukšo paraugu robežvērtība un noteikšanas robežvērtība, Papildinformācija, Pārskatīšanas vēsture.
Pievienota informācija	Skatīt iedaļas Ierobežojumi.
Formulējuma vai tipogrāfiski atjauninājumi	Skatīt iedaļas Procedūra, Veiktspēja, Ierobežojumi, Brīdinājumi un piesardzības pasākumi, Glabāšana un Stabilitāte.
Izņemtās iedaļas	Klīniskā lietojuma piemērs, reaģenti, reproducējamība laboratorijā, linearitāte.
Atjauninātās sadaļas	Paredzētā lietošana, Ķīmisko vielu klasificēšanas un marķēšanas vispārēji saskaņotās sistēmas bīstamības klasifikācija, Sadalīšanās pazīmes, Procedūra, Pielikums.

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AX	Aprīlis 2023
Atjauninātās sadaļas	Pievienot kazahu valodu
Atjauninātās sadaļas	Glabāšana un stabilitāte

Pārskatītā versija	AY
Pārskatītā izdevuma datums	Maijs 2024
Atjauninātie tulkojumi	**Klīniskais nozīmīgums:**
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Pārskatītā versija	AZ
Pārskatītā izdevuma datums	Jūlijs 2024
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Simbolu skaidrojumi

Simbolu glosārijs ir pieejams vietnē beckman.com/techdocs (dokumenta numurs B60062)

	Специфікації
Специфічність	CD5
Клон	BL1a
Гібридома	SP2/0 x balb/c
Імуноген	Lymphocytes from human thoracic duct
Імуноглобулін	IgG2a
Вид	Миша
Очищення	Афінна хроматографія
Флуорохром	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Молярне співвідношення	FITC/Ig: 4,0-6,5
λ-збудження	488 нм
Пік випромінювання	525 нм
Буфер	Розчин ФСБ pH 7,2 плюс бичачий сироватковий альбумін (БСА) 2 мг/мл та 0,1% NaN_3

Кон'юговане антитіло IOTest CD5-FITC

REF A08932 100 тестів; 2 мл, 20 мкл/тест

Для діагностики *in vitro*.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Ці антитіла, кон'юговані з флуорохромом, забезпечують якісну та неавтоматизовану ідентифікацію популяцій клітин, що експресують антиген CD5, присутніх у біологічних пробах людини, за допомогою проточної цитометрії (див. розділ «Проби» нижче).

ПРИНЦИП

Цей тест базується на здатності специфічних моноклональних антитіл зв'язуватися з антигенними детермінантами, які експресуються лейкоцитами.

Специфічне забарвлення лейкоцитів здійснюється через інкубацію проби з реагентом IOTest. Еритроцити далі видаляють за допомогою лізису, а лейкоцити, на які не впливає цей процес, досліджують методом проточної цитометрії.

Проточний цитометр вимірює розсіювання світла та флуоресценцію клітин. Це робить можливим розмежування досліджуваної популяції всередині електронного вікна, що визначається на гістограмі, яка співвідносить ортогональне розсіювання світла (бічне розсіювання або Side Scatter — SS) і вузькокутове розсіювання світла (пряме розсіювання або Forward Scatter — FS). Інші гістограми, що поєднують два різні параметри, доступні на цитометрі, можна використовувати для допомоги на етапі гейтингу залежно від програми, вибраної користувачем.

Флуоресценція обмеженої популяції клітин аналізується, щоб розрізнити події з позитивно забарвленими клітинами й незабарвленими. Результати виражаються як відсоток позитивних подій відносно всіх подій, зареєстрованих за допомогою гейтингу.

ПЕРЕДБАЧУВАНИЙ КОРИСТУВАЧ

Цей продукт призначений для професійного використання в лабораторії.

КЛІНІЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ

CD5-FITC — це антитіло CD5, яке використовується для ідентифікації та характеристики клітин, що експресують антиген CD5, методом проточної цитометрії. Цей виріб за ізольованого використання не може застосовуватись для генерації жодних діагностичних висновків, він не призначений для цього.

Під час використання разом з іншими маркерами цей продукт можна використовувати в одному або декількох з нижченаведених застосувань.

- Як допоміжний засіб під час проведення диференціальної діагностики в пацієнтів з відхиленнями в результатах гематологічних досліджень із підозрою на наявність гематопоетичного новоутворення, а також для моніторингу пацієнтів з відомим гематопоетичним новоутворенням.
- У якості допоміжного засобу при прогнозуванні подальшого перебігу хвороби у пацієнтів з гематопоетичним новоутворенням.

Див. такі посилання:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ПРОБИ

Венозну кров потрібно брати в стерильні пробірки, що містять ангикоагулянт — сіль ЕДТА.

Проби слід зберігати за кімнатної температури (18–25°C), і їх не слід струшувати. Перш ніж узяти пробу для тестування, проби потрібно гомогенізувати за допомогою обережного перемішування.

Проби потрібно проаналізувати не пізніше ніж через 24 години після венепункції.

КОНЦЕНТРАЦІЯ

Див. сертифікат аналізу для серії на вебсайті www.beckman.com.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.
2. Не заморожуйте.
3. Доведіть до кімнатної температури (18–25°C) перед використанням.
4. Зведіть до мінімуму вплив світла.
5. Уникайте мікробної контамінації реагентів, інакше можуть бути отримані помилкові результати.
6. Розчини антитіл, які містять азид натрію (NaN_3), треба обробляти обережно. Не приймайте внутрішньо й уникайте будь-якого контакту зі шкірою, слизовими оболонками та очима.

Крім того, у кислому середовищі азид натрію може утворити потенційно небезпечну азотистоводневу кислоту. Якщо його потрібно утилізувати, рекомендується розвести реагент у великій кількості води перед зливанням у водостічну систему, щоб уникнути накопичення азиду натрію на поверхні металевих труб і запобігти небезпеці вибуху.

7. Усі проби крові слід розглядати як потенційно інфекційні та поводитися з ними обережно (зокрема, використовуючи захисні рукавички, халати й окуляри).
8. У жодному разі не піпетуйте ротом та уникайте потрапляння проб на шкіру, слизові оболонки та в очі.
9. Пробірки для крові та одноразові матеріали, які використовуються для оброблення, слід викидати в спеціальні контейнери, вміст яких призначений для спалювання.
10. Реагенти та відходи потрібно утилізувати відповідно до місцевих вимог.

КЛАСИФІКАЦІЯ НЕБЕЗПЕКИ ЗА СИСТЕМОЮ GHS

Не класифікуються як небезпечні

SDS Паспорт безпеки доступний на сторінці beckmancoulter.com/techdocs

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Цей реагент потрібно зберігати за температури від 2 до 8°C у захищеному від світла місці, як до, так і після відкриття флакона.

Термін придатності вмісту закритого флакону відповідно до дослідження стабільності: 1095 день.

Стабільність після відкриття флакона: реагент стабільний 180 діб.

ОЗНАКИ ПСУВАННЯ

Будь-яка зміна зовнішнього вигляду реагентів може вказувати на псування, і реагент не слід використовувати.

Щоб отримати додаткову інформацію або повідомити про отримання пошкодженого продукту, зателефонуйте до Служби обслуговування клієнтів Beckman Coulter за номером 800-742-2345 (США або Канада) чи зверніться до місцевого представника компанії Beckman Coulter.

ЗМІСТ

Консервант азид натрію може утворювати вибухонебезпечні сполуки в металевих зливних трубопроводах. Див. Бюлетень Національного інституту з охорони праці та промислової гігієни (NIOSH) Explosive Azide Hazard (Вибухонебезпечні азиди) (16.8.76).
Щоб уникнути можливого утворення сполук азиду, промийте зливні труби водою відразу після утилізації нерозведеного реагенту. Реагенти, що містять азид натрію, треба утилізувати з дотриманням відповідних місцевих норм.

ПОТРІБНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ У КОМПЛЕКТ

- Пробірки для проб і матеріали, потрібні для забору проб.
- Автоматичні піпетки з одноразовими наконечниками на 20, 100 і 500 мкл.
- Пластикові пробірки для гемолізу.
- Реагент для лізису еритроцитів з етапом промивання після лізису. Наприклад: VersaLyse (Ref. A09777).
- Реагент для фіксації лейкоцитів. Наприклад: розчин для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ізотипічний контроль FITC: реагент IOTest (Ref. A12689).
- Буфер (ФСБ: 0,01 моль фосфату натрію; 0,145 моль хлориду натрію; pH 7,2).
- Центрифугування.
- Автоматичний змішувач (типу вортекс).
- Проточний цитометр.

ПРОЦЕДУРА З РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для кожної аналізованої проби на додачу до тест-пробірки може бути використана одна контрольна пробірка, у якій клітини змішано в присутності ізотипічного контролю (Ref. A12689).

1. Додайте до кожної тестової пробірки 20 мкл специфічних кон'югованих антитіл IOTest, і, якщо потрібно, 20 мкл ізотипічного контролю до кожної контрольної пробірки.
2. Додайте 100 мкл проби для тестування в кожну пробірку. Обережно змішайте вміст пробірок вихровим способом.
3. Витримайте протягом 15–20 хвилин за кімнатної температури (18–25°C) у захищеному від світла місці.
4. Потім виконують лізис еритроцитів. Перегляньте вкладний листок VersaLyse (Ref. A09777) і за можливості дотримуйтеся процедури з одночасною фіксацією, яка полягає в додаванні 1 мл суміші Fix-and-Lyse, приготованої безпосередньо перед використанням. Відразу змішайте вихровим способом упродовж однієї секунди й витримайте протягом 10 хвилин за кімнатної температури в захищеному від світла місці.
5. Центрифугуйте за кімнатної температури протягом 5 хвилин зі швидкістю 150 g.
6. Видаліть надосадову рідину аспіратором.
7. Ресуспендуйте осад клітин у 3 мл ФСБ.
8. Повторіть крок 5.
9. Видаліть надосадову рідину аспіратором і ресуспендуйте осад клітин, використовуючи наведене далі.

- 0,5 мл або 1 мл ФСБ плюс 0,1% формальдегіду, якщо препарати передбачається зберігати менше ніж 24 годин. (Розчин ФСБ, що містить 0,1% формальдегіду, можна отримати за допомогою розведення 12,5 мкл розчину для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800) за його 10-кратної концентрації в 1 мл ФСБ).
- 0,5 мл або 1 мл ФСБ без формальдегіду, якщо препарати будуть аналізувати впродовж наступних 2 годин.

Примітка. У всіх випадках препарати слід зберігати в захищеному від світла місці за температури 2–8°C.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

У наших лабораторіях проби цільної крові 25 практично здорових донорів обробляли з використанням реагенту, описаного вище. Отримані результати підрахунку позитивних подій, які досліджуються, з використанням цього реагенту наведено в таблиці нижче:

Цільова позитивна популяція	Число	Середнє значення (%)	СВ	КВ (%)
Лімфоцити	25	71,12	10,38	14,60

Ці значення призначені лише для репрезентативних цілей. Кожна лабораторія має встановити власний діапазон очікуваних значень серед місцевої популяції здорових донорів.

ЕФЕКТИВНІСТЬ

Робочі показники ефективності отримуються з використанням процедури, описаної вище, на пробах крові, які були відібрані в стерильні пробірки із сіллю ЕДТА як антикоагулянтом, а також зберігалися менше ніж 24 години. Аналіз проводиться впродовж 2 годин після імунного фарбування.

СПЕЦИФІЧНІСТЬ

Молекула CD5 експресується на поверхні зрілих Т-лімфоцитів, більшості тимоцитів і на субпопуляції В-лімфоцитів (11,12,13). CD5 експресується на субпопуляції IgM-секретуючих В-клітин через відсутність ферменту термінальної дезоксинуклеотиділтрансферази (TdT), що виникає для зменшення активації BSR і, отже, зменшення автоматичної реактивності (автоімунної реакції). Навпаки, Т-клітини експресують більш високі рівні CD5, ніж В-клітини. CD5 активується на Т-клітинах при сильній активації. У тимусі існує кореляція між експресією CD5 і силою взаємодії Т-клітин з автопептидами. Експресія CD5 не знайдена в гранулоцитах, моноцитах і тромбоцитах (13). Моноклональне антитіло BL1a було віднесене до CD5 під час третього HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Семінару HLDA з питань антигенів для диференціації лейкоцитів людини), що проходив в Оксфорді, Англія, в 1986 році (Code WS: 520, Section T) (11,12).

ПРЕЦИЗІЙНІСТЬ

Процент позитивних значень визначали за допомогою цільної крові. Кожну пробу обробляли 4 рази, двічі на добу впродовж 1 доби на 2 приладах, використовуючи 2 серії реагентів моноклональних антитіл CD5-FITC. Вимірювання (% позитивних значень) виконували на проточному цитометрі Navios. Аналіз проводили на основі методу CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оцінювання прецизійності кількісних методів вимірювання).

Наші критерії прийнятності залежать від кількості позитивних подій, виміряних для кожної популяції.

- Якщо кількість позитивних подій < 1500, КВ < 15%
- Якщо кількість позитивних подій > 1500, КВ < 10%

Лімфоцити							
Кількість позитивних подій (середнє значення) = 1468							
	Між операторами	Між цитометрами	У межах однієї серії	Між серіями	Між серіями вимірювань	У межах однієї серії вимірювань	Усього
КВ (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
РЕЗУЛЬТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНІСТЬ

Точність CD5-FITC оцінювали через порівняння результатів з еталонним реагентом як контролем якості для набору проб цільної крові на проточному цитометрі Navios. Систематичну помилку між тестовим та еталонним реагентами визначали на основі різниці між результатами тесту. Якщо систематична помилка знаходиться в межах діапазону допустимої похибки або p-значення вказує на відсутність значущої різниці (> 0,05), тоді результати тесту для двох реагентів вважаються еквівалентними.

Отримані результати підсумовано в таблиці, наведеній нижче.

Кількість донорів = 25				
Цільова позитивна популяція	Середня Δ	Критерії Δ % клітин	p-значення	РЕЗУЛЬТАТИ
Лімфоцити	0,73	<5	0,032	PASS

МЕЖА ХОЛОСТОЇ ПРОБИ Й МЕЖА ВИЯВЛЕННЯ

Дослідження проводилося відповідно до рекомендацій CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оцінювання можливості виявлення для методик клінічних лабораторних вимірювань). Межа виявлення (LOD) — це найнижча концентрація аналіту, яку стабільно можна виявити. Отримані результати підсумовано в наведеній нижче таблиці.

Positive Target	Межа холостої проби (клітин/мкл)	Межа виявлення (клітин/мкл)
Лімфоцити	1	2

ОБМЕЖЕННЯ

1. Результати проточної цитометрії можуть бути помилковими, якщо вказане нижче не було виконано належним чином: вирівняно цитометр, скомпенсовано витік флуоресценції, здійснено позиціонування ділянок.
2. Бажано використовувати метод лізису еритроцитів з етапом промивання, оскільки цей реагент не оптимізовано для методів лізису «без промивання».
3. Буде отримано точні й відтворювані результати, якщо процедури застосовуються відповідно до технічної інструкції, що додається, і стандартів належної лабораторної практики.

4. Кон'юговані антитіла цього реагенту відкалібровано таким чином, щоб забезпечити краще співвідношення специфічного сигналу та неспецифічного сигналу. Тому важливо дотримуватися співвідношення об'єму реагенту та об'єму проби в кожному тесті.
5. У разі гіперлейкоцитозу кров слід розводити у ФСБ так, щоб отримати концентрацію приблизно 5×10^9 лейкоцитів/л (14).
6. У разі деяких захворювань або станів, як-от тяжка ниркова недостатність або гемоглобінопатії, лізис еритроцитів може бути повільним, неповним або навіть неможливим. У цьому разі рекомендується виділяти мононуклеарні клітини за градієнтом щільності (наприклад, з використанням фіколу) перед фарбуванням (15).
7. У пацієнтів, які отримують лікування антилюдськими моноклональними антитілами, виявлення специфічних цільових антигенів може бути зниженим або відсутнім через часткове або повне блокування терапевтичним антитілом.
8. Результати CD5-FITC слід інтерпретувати у світлі загальної клінічної картини пацієнта, включно із симптомами, клінічним анамнезом, даними додаткових тестів та іншою відповідною інформацією.

Див. приклади й посилання в додатку.

ТОРГОВЕЛЬНІ МАРКИ

Beckman Coulter, стилізований логотип, товарні знаки й сервісні марки Beckman Coulter, вказані тут, є торговельними марками або зареєстрованими торговельними марками компанії Beckman Coulter, Inc. у Сполучених Штатах Америки й інших країнах.

ДОДАТКОВА ІНФОРМАЦІЯ

Для пацієнта / користувача / третьої сторони в Європейському Союзі та в країнах з ідентичною системою нормативного регулювання (Регламент 2017/746/ЄС про медичні вироби для діагностики in vitro); якщо під час використання цього пристрою або в результаті його використання стався серйозний інцидент, повідомте про це виробнику й (або) його уповноваженому представнику та місцевому національному органу.

The Summary of Safety and Performance (Огляд безпеки та основних характеристик) доступний у базі даних EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ІСТОРІЯ ЗМІН

РЕДАКЦІЯ AF	Дата випуску: Серпень 2020 р.

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AW	Травень 2022 р.
Оновлення мають відповідати Глобальній політиці щодо маркування компанії Beckman Coulter і вимогам IVD-R (ЄС)2017/746:	
Додані розділи	«Номер BSI 2797», «Цільовий користувач», «Клінічна значущість», «Концентрація», «Прецизійність», «Точність», «Межа холостої проби й межа виявлення», «Додаткова інформація», «Історія змін».
Додана інформація	Див. розділ «Обмеження»
Оновлення формулювання або типографічні оновлення	Див. розділи «Процедура», «Робочі показники», «Обмеження», «Попередження та застереження», «Зберігання та стабільність».
Видалені розділи	«Приклад клінічного застосування», «Реагенти», «Міжлабораторна відтворюваність», «Лінійність»
Оновлені розділи	«Призначення», «Класифікація небезпек GHS», «Ознаки погіршення характеристик», «Процедура», «Додаток».

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AX	Квітень 2023
Оновлені розділи	Додано казахську мову
Оновлені розділи	Зберігання й стабільність

Переглянута версія	AY
Дата перегляду	Травень 2024
Оновлені переклади	**Клінічна значущість:**
Оновлені розділи	Історія змін

Переглянута версія	AZ
Дата перегляду	Липень 2024
Оновлені розділи	Історія змін

Список символів

Глосарій символів доступний на сайті beckman.com/techdocs (документ № B60062)

	Especificações
Especificidade	CD5
Clone	BL1a
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunógeno	Lymphocytes from human thoracic duct
Imunoglobulina	IgG2a
Espécie	Camundongo
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Razão molar	FITC/Ig: 4,0-6,5
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	525 nm
Tampão	PBS com pH de 7,2 mais 2 mg/mL de BSA e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado CD5-FITC

REF A08932 100 testes; 2 mL, 20 µL/teste

Para uso em diagnóstico *in vitro*

USO PREVISTO

Esse anticorpo conjugado com fluorocromo permite a identificação qualitativa e não automatizada das populações de células que expressam o antígeno CD5 presente em amostras biológicas humanas utilizando a citometria de fluxo (consulte a seção “Amostras” a seguir).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade que os anticorpos monoclonais específicos têm de se ligarem aos determinantes antigênicos expressos por leucócitos.

A coloração específica de leucócitos é realizada incubando-se a amostra com o reagente IOTest. As hemácias são então removidas por lise e os leucócitos, que não são afetados por esse processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citômetro de fluxo mede a difusão da luz e a fluorescência das células. Ele possibilita a delimitação da população de interesse na janela eletrônica definida por um histograma, que correlaciona a difusão ortogonal da luz (dispersão lateral ou SS) e a difusão da luz em ângulo estreito (dispersão frontal ou FS). Outros histogramas que combinam dois dos diferentes parâmetros disponíveis no citômetro podem ser utilizados como auxílio no estágio de delimitação, dependendo da aplicação escolhida pelo usuário.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são expressos como uma porcentagem dos eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos pela delimitação.

USUÁRIO PREVISTO

Este produto destina-se ao uso laboratorial profissional.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD5-FITC é um anticorpo para CD5 usado para identificar e caracterizar, por citometria de fluxo, as células que expressam o antígeno CD5. Este produto por si só não pode e não se destina a originar qualquer conclusão diagnóstica.

Quando usado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser usado com uma ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com anormalidades hematológicas com suspeita de terem neoplasia hematopoiética e para monitorar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.
- Para auxiliar no prognóstico de pacientes que possuem neoplasia hematopoiética.

Consulte as referências a seguir:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

AMOSTRAS

Sangue venoso deve ser coletado usando tubos estéreis contendo um sal de EDTA como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas em temperatura ambiente (18-25°C) e não devem ser agitadas. A amostra deve ser homogeneizada por agitação suave antes que a amostra para teste seja retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a coleta.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não use o reagente após o prazo de validade.
2. Não congele.
3. Deixe atingir a temperatura ambiente antes de usar (18-25°C).
4. Minimize a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, pois isso pode gerar falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos contendo azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não utilize internamente e evite o contato com a pele, mucosas e olhos.

Além disso, em um meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazoico potencialmente perigoso. Se precisar descartar essa substância, recomenda-se que o reagente seja diluído em um grande volume de água antes de despejá-lo no sistema de drenagem para evitar o acúmulo de azida sódica nos canos de metal e o risco de explosão.

7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas como potencialmente infecciosas e devem ser manipuladas com cuidado (em particular: uso de luvas, jalecos e óculos de proteção).
8. Nunca coloque a pipeta na boca e evite qualquer contato das amostras com a pele, mucosas e olhos.
9. Os tubos de sangue e o material descartável utilizado para manuseio deve ser descartado em recipientes ad hoc destinados à incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO DO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Folha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido entre 2 e 8°C e protegido da luz, antes e depois do frasco ter sido aberto.

Validade do frasco fechado de acordo com o estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente é estável por 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DETERIORAÇÃO

Qualquer alteração no aspecto físico dos reagentes poderá indicar deterioração e o reagente não deverá ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, entre em contato com o serviço de atendimento ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou entre em contato com o representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em canos de escoamento metálicos. Consulte o Boletim do NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health [Instituto de segurança e saúde ocupacional dos EUA]): Explosive Azide Hazard (Perigos de explosão de azida) (16/8/76).
Para evitar o possível acúmulo de compostos de azida, enxágue os canos de escoamento com água após o descarte do reagente não diluído. O descarte da azida sódica deve ser efetuado de acordo com as normas locais apropriadas.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostra e material necessário para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 20, 100 e 500 µL.
- Tubos plásticos de hemólise.
- Reagente de lise de hemácias com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: Reagente VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: Solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controle do isótipo FITC: reagente IOTest (Ref. A12689).
- Tampão (PBS: fosfato de sódio a 0,01 M; cloreto de sódio a 0,145 M; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citômetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM O REAGENTE VERSALYSE

Para cada amostra analisada, além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controle no qual as células são misturadas na presença do controle de isótipo (Ref. A12689).

1. Adicione 20 µL de anticorpo conjugado IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 20 µL do controle do isótipo a cada tubo de controle.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos em temperatura ambiente (18-25°C), protegido da luz.
4. Em seguida, faça a lise das hemácias. Consulte o folheto da VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento chamado “with concomitant fixation (com fixação concomitante)”, que consiste em adicionar 1 mL da mistura de fixação e lise preparada extemporaneamente. Agite em vórtex imediatamente durante um segundo e incube durante 10 minutos em temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue por 5 minutos a 150 x g em temperatura ambiente.
6. Retire o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita a etapa 5.
9. Retire o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular usando:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído, se as preparações forem mantidas por um prazo inferior a 24 horas. (É possível obter uma solução PBS com 0,1% de formaldeído diluindo-se 12,5 µL de Solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na concentração de 10X em 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído, se as preparações forem analisadas dentro de 2 horas.

Nota: Em qualquer dos casos, mantenha as preparações entre 2 e 8°C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Em nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 doadores aparentemente saudáveis foram tratadas usando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos positivos de interesse com esse reagente são fornecidos na tabela a seguir:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP (Desvio padrão)	CV (%)
Linfócitos	25	71,12	10,38	14,60

Esses valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores esperados da população local de doadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos usando o procedimento descrito anteriormente em amostras de sangue com menos de 24 horas, coletadas previamente em tubos estéreis com sal de EDTA como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

A molécula CD5 é expressa na superfície de linfócitos T maduros, pela maioria dos timócitos e por uma subpopulação de linfócitos B (11,12,13). A molécula CD5 é expressa em um subgrupo de células B secretoras de IgM devido à falta da enzima deoxinucleotidil-transferase terminal (TdT), presente para mitigar a ativação de BSR e, assim, reduzir a autorreatividade (reação autoimune). Por outro lado, as células T apresentam níveis mais elevados de CD5 do que as células B. O CD5 é supra-regulado em células T após uma forte ativação. No timo, existe uma correlação entre a expressão de CD5 e a intensidade da interação da célula T com peptídeos próprios. A expressão de CD5 não existe em granulócitos, monócitos e plaquetas (13). O anticorpo monoclonal BL1a foi atribuído a CD5 durante o 3º HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Workshop sobre HLDA — antígenos de diferenciação de leucócitos humanos), realizado em Oxford, Inglaterra, em 1986 (código WS: 520, seção T) (11,12).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados usando-se sangue total. Cada amostra foi processada 4 vezes, duas vezes por dia durante 1 dia em 2 instrumentos, usando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD5-FITC. As medições (% de positivos) foram realizadas no citômetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação de desempenho de precisão de métodos de medição quantitativos).

Nossos critérios de aceitação dependem do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Se eventos positivos <1.500, CV <15%
- Se eventos positivos >1.500, CV <10%

Linfócitos							
Número de eventos positivos (média) = 1468							
	Entre operadores	Entre citômetros	Dentro do lote	Entre lotes	Entre processamentos	Dentro do processamento	Total
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD5-FITC foi avaliada comparando-se os resultados com um reagente de referência como o predicado em um conjunto de amostras de sangue total processadas em um citômetro de fluxo Navios. A tendência entre o reagente de teste e o de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados dos testes. Se a tendência estiver dentro da faixa de erro aceitável ou o valor p não indicar diferenças significativas (>0,05), então os resultados dos testes para os dois reagentes são considerados como equivalentes.

Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Número de doadores = 25				
Alvo positivo	Δ média	Critérios de Δ % de células	valor p	RESULTADOS
Linfócitos	0,73	<5	0,032	PASS

LIMITE DE BRANCO E LIMITE DE DETECÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com a diretriz EP17-A2 do CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de detecção para procedimentos de medição de laboratório clínico). O Limite de detecção (LOD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detectada consistentemente. Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite de branco (células/µL)	Limite de detecção (células/µL)
Linfócitos	1	2

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo pode produzir resultados falsos se o citômetro não for alinhado perfeitamente, se os vazamentos de fluorescência não forem corretamente compensados e se as regiões não forem cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível usar uma técnica de lise de RBC com uma etapa de lavagem, já que esse reagente não foi otimizado para técnicas de lise “sem lavagem”.
3. Serão obtidos resultados exatos e reproduzíveis desde que os procedimentos utilizados estejam em conformidade com o folheto técnico e sejam compatíveis com as boas práticas de laboratório.
4. O anticorpo conjugado desse reagente é calibrado para oferecer a melhor razão entre sinal específico e sinal não específico. Por isso, é importante manter a razão entre volume do reagente e volume da amostra em cada teste.
5. No caso de hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (14).
6. Em certos estados da doença, como insuficiência renal grave e hemoglobinopatias, a lise das hemácias pode ser lenta, incompleta ou até mesmo impossível. Nesse caso, recomenda-se isolar as células mononucleadas usando um gradiente de densidade (Ficoll, por exemplo) antes da coloração (15).

7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a detecção dos antígenos-alvo específicos pode ser diminuída ou não ocorrer devido ao bloqueio parcial ou total pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de CD5-FITC devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, histórico clínico, dados de testes adicionais e outras informações apropriadas.

Consulte o anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logotipo estilizado e as marcas dos produtos e serviços da Beckman Coulter mencionados neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registradas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e em outros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/usuário/terceiro na União Europeia e em países com regime regulatório idêntico (Regulamentação 2017/746/UE sobre In vitro Diagnostic Medical Devices [Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro]), se, durante o uso deste dispositivo ou como resultado de seu uso, ocorrer um incidente grave, relate-o ao fabricante e/ou ao seu representante autorizado e à sua autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível no banco de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO AF:	Data de publicação: agosto de 2020

REVISÃO	**Data de publicação**
AW	Maio de 2022
Atualizações para o cumprimento da Global labelling Policy (Política de rotulagem global) da Beckman Coulter e de acordo com os requisitos da IVD-R (UE)2017/746:	
Seções adicionadas	Número BSI 2797, Usuário previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite de branco e limite de detecção, Informações adicionais, Histórico de revisão.
Informações adicionadas	Consulte as seções: Limitações
Atualizações tipográficas ou de fraseado	Consulte as seções Procedimento, Desempenho, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Seções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Seções atualizadas	Uso previsto, Classificação de perigo do GHS, Evidência de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de publicação**
AX	Abril 2023
Seções atualizadas	Adicionar cazaque
Seções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revisada	AY
Data da revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Versão revisada	AZ
Data da revisão	Julho 2024
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (documento número B60062)

	Specificaties
Specificiteit	CD5
Kloon	BL1a
Hybridoom	SP2/0 x balb/c
Immunogeen	Lymphocytes from human thoracic duct
Immunoglobuline	IgG2a
Soort	Muis
Purificatie	Affiniteit chromatografie
Fluorochroom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molaire verhouding	FITC/Ig: 4,0-6,5
λ excitatie	488 nm
Emissiepiek	525 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA en 0,1% NaN_3

IOTest

Geconjugeerd antilichaam CD5-FITC

REF A08932 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik

BEOOGD GEBRUIK

Met dit fluorochroom-geconjugeerde antilichaam kunnen celpopulaties die het CD5-antigeen tot expressie brengen, kwalitatief en niet-geautomatiseerd worden geïdentificeerd in menselijke biologische monsters met behulp van flowcytometrie (zie het gedeelte 'Monsters' hieronder).

PRINCIPE

Deze test is gebaseerd op het vermogen van specifieke monoklonale antilichamen om zich te binden aan de antigene determinanten die tot expressie worden gebracht door leukocyten.

Specifieke kleuring van de leukocyten wordt uitgevoerd door het monster te incuberen met het IOTest -reagens. De rode cellen worden vervolgens via lysering verwijderd en de leukocyten (die ongevoelig zijn voor dit proces) worden geanalyseerd voor middel van flowcytometrie.

De flowcytometer meet de lichtdiffusie en de fluorescentie van cellen. Het maakt de afbakening van de betrokken populatie mogelijk binnen het elektronische venster gedefinieerd op een histogram, wat de orthogonale verspreiding van licht (zijwaartse verstrooiing of ZV) in verband brengt met de verspreiding van smalhoekig licht (voorwaartse verstrooiing of VV). Andere histogrammen die twee van de verschillende beschikbare parameters op de cytometer combineren, kunnen worden gebruikt als ondersteuning bij de gating-fase, afhankelijk van de door de gebruiker gekozen toepassing.

De fluorescentie van de afgeperkte cellen wordt geanalyseerd om de positief-gekleurde gebeurtenissen te onderscheiden van de niet-gekleurde. De resultaten worden uitgedrukt als een percentage van positieve gebeurtenissen ten opzichte van alle gebeurtenissen verzameld door de gating.

BEOOGDE GEBRUIKER

Dit product is bedoeld voor professioneel gebruik in het laboratorium.

KLINISCHE RELEVANTIE

Het CD5-FITC is een CD5-antilichaam dat wordt gebruikt om door middel van flowcytometrie cellen te identificeren en te karakteriseren die het CD5-antigeen tot expressie brengen. Dit product alleen kan niet worden gebruikt voor en is niet bedoeld voor de totstandbrenging van diagnostische conclusies.

Bij gebruik in combinatie met andere markers kan dit product worden gebruikt voor een of meer van de volgende functies:

- Ter ondersteuning van de differentiaaldiagnostiek bij patiënten met een hematologische afwijking met verdenking op het hebben van een hematopoiëtisch neoplasma en ter controle van patiënten met een bekend hematopoiëtisch neoplasma.
- Ter ondersteuning van de prognose van patiënten met hematopoiëtisch neoplasma.

Zie de volgende referenties:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MONSTERS

Veneus bloed moet worden afgenomen met steriele buisjes die EDTA-zout bevatten als anticoagulans.

De monsters moeten op kamertemperatuur (18-25 °C) worden gehouden en mogen niet worden geschud. De monsters moeten gehomogeniseerd worden door licht te schudden voordat het testmonster wordt afgenomen.

De monsters moeten worden geanalyseerd binnen 24 uur van venapunctie.

CONCENTRATIE

Zie batch-specifiek analysecertificaat op www.beckman.com.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Gebruik het reagens niet na de uiterste houdbaarheidsdatum.
2. Niet invriezen.
3. Laat het op kamertemperatuur (18-25 °C) komen voor gebruik.
4. Beperk de blootstelling aan licht.
5. Vermijd microbiële verontreiniging van de reagentia, anders kunnen verkeerde resultaten optreden.

6. Antilichaamoplossingen die natriumazide (NaN_3) bevatten moeten voorzichtig gehanteerd worden. Niet innemen en elk contact met huid, slijmvliezen en ogen vermijden.

   In een zuur medium kan natriumazide bovendien de potentieel gevaarlijke waterstofazide vormen. Indien verwijdering nodig is, wordt het aanbevolen om het reagens te verdunnen in een groot volume water voordat het in het afvoersysteem wordt gegoten, om de accumulatie van natriumazide in metalen buizen en explosiegevaar te vermijden.
7. Alle bloedmonsters moeten worden beschouwd als mogelijk besmettelijk en moeten voorzichtig worden gehanteerd (met name: veiligheidshandschoenen, -jas en -bril dragen).
8. Pipetteer nooit met de mond en vermijd elk contact van de monster met huid, slijmvliezen en ogen.
9. Bloedbuisjes en wegwerpmateriaal die gebruikt zijn, moeten verwijderd worden in afvalcontainers bestemd voor verbranding.
10. Reagentia en afval moeten verwijderd worden volgens de plaatselijke voorschriften.

GHS GEVARENCLASSIFICATIE

Niet geclassificeerd als gevaarlijk

SDS Het veiligheidsinformatieblad is beschikbaar op beckmancoulter.com/techdocs

OPSLAG EN STABILITEIT

Dit reagens moet tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht worden bewaard, voor- en nadat het buisje wordt geopend.

Houdbaarheidsdatum van ongeopend buisje volgens stabiliteitsstudie: 1095 dagen.

Stabiliteit van geopend buisje: het reagens is stabiel gedurende 180 dagen.

BEWIJS VAN BEDERF

Elke wijziging in de fysieke verschijning van de reagentia kan wijzen op aantasting; het reagens mag dan niet langer gebruikt worden.

Bel voor meer informatie, of als het product beschadigd is, met de klantenservice van Beckman Coulter op 800-742-2345 (VS of Canada) of neem contact op met uw plaatselijke vertegenwoordiger van Beckman Coulter.

INHOUD

Een conserveringsmiddel van natriumazide kan explosieve verbindingen vormen in metalen afvoerleidingen. Zie NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (Explosiegevaar van azide, 16-08-1976).
Om de ophoping van azideverbindingen te vermijden, spoelt u de afvoerbuizen met water na verwijdering van onverdund reagens. Natriumazide moet worden verwijderd volgens de toepasselijke plaatselijke voorschriften.

BENODIGD MATERIAAL DAT NIET IS MEEGELEVERD IN DE KIT:

- Monsterbuisjes en materiaal vereist voor monsterneming.
- Automatische pipetten met wegwerppunten voor 20, 100 en 500 µL.
- Plastic hemolysebuisjes.
- Ontbindingsreagens voor rode cellen met spoelfase na de lysis. Bijvoorbeeld: VersaLyse (ref. A09777).
- Fixatiereagens voor leukocyten. Bijvoorbeeld: IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800).
- Isotypecontrole FITC: IOTest-reagens (ref. A12689).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfaat; 0,145 M natriumchloride; pH 7,2).
- Centrifugeer.
- Automatische schudder (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MET VERSALYSE-REAGENS

Voor elk geanalyseerd monster kan, naast het testbuisje, één controlebuisje worden toegevoegd waarin de cellen worden gemengd in aanwezigheid van de isotypecontrole (ref. A12689).

1. Voeg 20 µL specifiek IOTest-geconjugeerd antilichaam toe aan elk testbuisje en, indien nodig, 20 µL isotypecontrole aan elk controlebuisje.
2. Voeg 100 µL van het testmonster toe aan elk buisje. Wervel de buisjes voorzichtig.
3. Incubeer 15 tot 20 minuten op kamertemperatuur (18-25 °C), beschermd tegen licht.
4. Lyseer vervolgens de rode cellen. Raadpleeg de VersaLyse-bijsluiter (ref. A09777) en volg bij voorkeur de procedure genaamd 'met gelijktijdige fixatie', die bestaat uit het toevoegen van 1 mL 'fixeer-en-lyseer'-oplossing die ex tempore wordt bereid. Wervel onmiddellijk gedurende één seconde en incubeer 10 minuten op kamertemperatuur, beschermd tegen licht.
5. Centrifugeer gedurende 5 minuten bij 150 x g op kamertemperatuur.
6. Verwijder het supernatant door opzuiging.
7. Suspendeer de celpellet opnieuw met 3 mL van PBS.
8. Herhaal stap 5.
9. Verwijder het supernatant door opzuiging en suspendeer de celpellet opnieuw met:

- 0,5 mL of 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyde, indien de bereidingen minder dan 24 uur worden bewaard. (Een PBS met 0,1% formaldehyde kan worden verkregen door 12,5 µL IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800) bij de 10X-concentratie te verdunnen in 1 mL PBS).
- 0,5 mL of 1 mL PBS zonder formaldehyde, indien de bereidingen moeten worden geanalyseerd binnen 2 uur.

Opmerking: houd de bereidingen in alle gevallen tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht.

VERWACHTE WAARDEN

In onze laboratoria werden de volbloedmonsters van 25 ogenschijnlijk gezonde donoren behandeld met het hierboven beschreven reagens. De verkregen resultaten voor de telling van de relevante positieve gebeurtenissen voor dit reagens worden in de onderstaande tabel weergegeven:

Positieve target	Nummer	Gemiddeld (%)	SD	VC (%)
Lymfocyten	25	71,12	10,38	14,60

Deze waarden zijn uitsluitend bedoeld als referentie. Elk laboratorium moet zijn eigen verwachte waarden bepalen op basis van de lokale populatie van normale donoren.

PRESTATIES

Prestatiegegevens worden verkregen met de hierboven beschreven procedure op minder dan 24 uur oude bloedmonsters die eerder zijn verzameld in steriele buisjes met EDTA-zout als anticoagulans. De analyse wordt uitgevoerd binnen 2 uur na immunokleuring.

SPECIFICITEIT

Het CD5-molecuul wordt tot expressie gebracht op het oppervlak van rijpe T-lymfocyten, door de meeste thymocyten en door een subpopulatie van B-lymfocyten (11,12,13). CD5 wordt tot expressie gebracht in een subset van IgM-afscheidende B-cellen omdat het gebrek aan het enzym terminaal deoxynucleotidyltransferase (TdT) de activering van BSR lijkt te beperken en dus de autoreactiviteit (autoimmuunreactie) vermindert. Daarentegen brengen T-cellen hogere niveaus CD5 tot expressie dan B-cellen. CD5 wordt ge-upreguleerd op T-cellen na sterke activering. In de thymus bestaat een correlatie met CD5-expressie en de sterkte van de interacties van de T-cel tegenover 'eigen'-peptiden. CD5-expressie wordt niet aangetroffen in granulocyten, monocyten en bloedplaatjes (13). Het monoklonale antilichaam BL1a werd toegeschreven aan CD5 tijdens de 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3e HLDA workshop over differentiatie-antigenen van humane leukocyten), gehouden in Oxford, Engeland, in 1986 (WS-code: 520, sectie T) (11,12).

PRECISIE

De procentuele positieve waarden werden bepaald met behulp van volbloed. Elk monster werd 4 maal getest, tweemaal per dag gedurende 1 dag op 2 instrumenten, waarbij gebruik werd gemaakt van 2 batches CD5-FITC monoklonale antilichaamreagentia. Metingen (% positief) werden uitgevoerd op de Navios-flowcytometer. Analyse werd uitgevoerd op basis van de CLSI-methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluatie van de precisie van kwantitatieve meetmethoden).

Onze acceptatiecriteria zijn afhankelijk van het aantal positieve gebeurtenissen dat voor elke populatie wordt gemeten:

- In het geval van een positieve gebeurtenis <1500, VC <15%
- In het geval van een positieve gebeurtenis >1500, VC <10%

Lymfocyten							
Aantal positieve gebeurtenissen (gemiddelde) = 1468							
	Tussen gebruikers	Tussen cytometers	Van dezelfde batch	Tussen batches	Tussen runs	Tijdens run	Totaal
VC (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
RESULTATEN	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NAUWKEURIGHEID

De nauwkeurigheid van CD5-FITC werd beoordeeld door de resultaten te vergelijken met een referentiereagens als het vergelijkbare hulpmiddel op een reeks volbloedmonsters die op een Navios-flowcytometer werden uitgevoerd. De afwijking tussen test- en referentiereagens werd bepaald op basis van het verschil tussen de testresultaten. Als de afwijking binnen het toegestane foutbereik ligt of de p-waarde geen significant verschil (>0,05) aangeeft, worden de testresultaten voor de twee reagentia als gelijkwaardig beschouwd.

De resultaten worden samengevat in de onderstaande tabel:

Aantal donoren = 25				
Positieve target	Gemiddelde Δ	Δ % Celcriteria	p-waarde	RESULTATEN
Lymfocyten	0,73	<5	0,032	PASS

BLANCOLIMIET EN DETECTIELIMIET

Een studie is uitgevoerd in overeenstemming met CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluatie van detectiecapaciteit voor meetprocedures in klinische laboratoria). Het detectielimiet (LOD) is de laagste concentratie analiet die consistent kan worden gedetecteerd. De verkregen resultaten worden samengevat in de volgende tabel:

Positive Target	Blancolimiet (cel/µL)	Detectielimiet (cel/µL)
Lymfocyten	1	2

BEPERKINGEN

1. Flowcytometrie kan leiden tot verkeerde resultaten indien de cytometer niet perfect is uitgelijnd, indien fluorescentielekken niet juist zijn gecompenseerd en indien de gebieden niet zorgvuldig zijn gepositioneerd.
2. Gebruik bij voorkeur een RBC-lyseertechniek met een wasstap, aangezien dit reagens niet is geoptimaliseerd voor lyseertechnieken zonder wassen.
3. Nauwkeurige en reproduceerbare resultaten worden verkregen zolang de gebruikte procedures in overeenstemming zijn met de technische brochure en compatibel met goede laboratoriumpraktijken.
4. Het geconjugeerde antilichaam van dit reagens wordt gekalibreerd om de beste verhouding van specifiek signaal/niet-specifiek signaal te bieden. Daarom is het belangrijk dat de verhouding van reagensvolume/monstervolume in acht wordt genomen bij elke test.
5. In het geval van een hyperleukocytose verdunt u het bloed in PBS om een waarde van ongeveer 5 x 10^9 leukocyten/L te verkrijgen (14).

6. In sommige stadia van een aandoening, zoals ernstig nierfalen of hemoglobinopathieën, kan de ontbinding van rode cellen traag verlopen, onvolledig of zelfs onmogelijk zijn. In dit geval wordt het aanbevolen om cellen met één kern te isoleren met een dichtheidsgradiënt (bijvoorbeeld Ficoll) voorafgaand aan de kleuring (15).
7. Bij patiënten die worden behandeld met anti-humane monoklonale antilichaamtherapieën kan de detectie van de specifieke doelantigenen verminderd of afwezig zijn als gevolg van een gedeeltelijke of volledige blokkering door het therapeutische antilichaam.
8. De CD5-FITC-resultaten moeten worden geïnterpreteerd in het licht van het totale klinische beeld van de patiënt, met onder meer: symptomen, klinische anamnese, gegevens van aanvullende tests en andere relevante informatie.

Zie de bijlage voor voorbeelden en referenties.

Handelsmerken

Beckman Coulter, het gestileerde logo en de merken van Beckman Coulter-producten en -services in dit document zijn handelsmerken of gedeponeerde handelsmerken van Beckman Coulter, Inc. in de Verenigde Staten en andere landen.

AANVULLENDE INFORMATIE

Voor patiënten/gebruikers/derden in de EU en in landen met soortgelijke regelgeving (Verordening 2017/746/EU inzake in-vitro diagnostische medische apparaten); als er zich tijdens of als gevolg van het gebruik van dit apparaat een ernstig incident voordoet, dient u dit te melden bij de fabrikant en/of diens bevoegde vertegenwoordiger en bij uw nationale autoriteiten.

Het overzicht van de veiligheid en prestaties is beschikbaar in de database EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed

REVISIEGESCHIEDENIS

REVISIE AF:	Uitgiftedatum: Augustus 2020

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AW	Mei 2022
Bijgewerkt om te voldoen aan het wereldwijde etiketteringsbeleid van Beckman Coulter en volgens de vereisten van IVD-R (EU)2017/746:	
Toegevoegde paragrafen	BSI 2797-nummer, Beoogde gebruiker, Klinische relevantie, Concentratie, Precisie, Nauwkeurigheid, Blancolimiet en detectiegrens, Aanvullende informatie, Revisiegeschiedenis.
Toegevoegde informatie	Zie paragraaf Beperkingen
Bijgewerkte formulering of typografie	Zie paragrafen Procedure, Prestaties, Beperkingen, Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen, Opslag en Stabiliteit.
Verwijderde paragrafen	Voorbeeld van klinische toepassingen, Reagentia, Reproduceerbaarheid intra-laboratoria, Lineariteit
Bijgewerkte paragrafen	Beoogd gebruik, GHS-gevarenclassificatie, Bewijs van bederf, Procedure, Bijlage.

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AX	April 2023
Bijgewerkte paragrafen	Toevoegen Kazachs
Bijgewerkte paragrafen	Opslag en stabiliteit

Bijgewerkte versie	AY
Herzieningsdatum	Mei 2024
Bijgewerkte vertalingen	**Klinische relevantie:**
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Bijgewerkte versie	AZ
Herzieningsdatum	Juli 2024
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Verklaring van symbolen

Overzicht met verklaring van symbolen is beschikbaar op beckman.com/techdocs (documentnummer B60062)

	Thông số kỹ thuật
Độ đặc hiệu	CD5
Dòng vô tính	BL1a
Tế bào lai	SP2/0 x balb/c
Chất sinh miễn dịch	Lymphocytes from human thoracic duct
Globulin miễn dịch	IgG2a
Các loài	Chuột
Tinh chế	Sắc ký ái lực
Chất nhuộm huỳnh quang	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Tỷ lệ mol	FITC/Ig: 4,0-6,5
Kích thích λ	488 nM
Đỉnh phát xạ	525 nM
Dung dịch đệm	PBS pH 7,2 cộng với 2 mg/mL BSA và 0,1% NaN_3

Kháng thể cộng hợp IOTest CD5-FITC

REF A08932 100 xét nghiệm; 2 mL, 20 µL/xét nghiệm

Dùng để chẩn đoán *In Vitro*

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Kháng thể cộng hợp chất nhuộm huỳnh quang này cho phép xác định theo phương thức định tính và không tự động các quần thể tế bào biểu hiện kháng nguyên CD5 có trong mẫu sinh học của người bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy (xem phần "Mẫu" bên dưới).

NGUYÊN TẮC

Xét nghiệm này dựa trên khả năng liên kết của kháng thể đơn dòng đặc hiệu với yếu tố quyết định kháng nguyên biểu hiện bởi bạch cầu.

Nhuộm đặc hiệu bạch cầu bằng cách ủ mẫu với thuốc thử IOTest. Sau đó, loại bỏ tế bào hồng cầu bằng cách ly giải và tế bào bạch cầu không bị ảnh hưởng bởi quá trình này sẽ được phân tích bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy.

Máy đếm tế bào dòng chảy đo mức khuếch tán ánh sáng và phát huỳnh quang của các tế bào. Điều này giúp phân định được quần thể quan tâm trong cửa sổ điện tử được xác định trên biểu đồ, tương quan với sự khuếch tán trực giao ánh sáng (Tán xạ góc bên hay SS) và khuếch tán ánh sáng góc hẹp (Tán xạ góc thẳng hay FS). Có thể dùng các biểu đồ khác (kết hợp hai trong các thông số có sẵn trên máy đếm tế bào) để hỗ trợ trong giai đoạn khoanh vùng tùy thuộc vào ứng dụng mà người dùng chọn.

Huỳnh quang của các tế bào đã phân định được phân tích để phân biệt các sự kiện nhuộm dương tính với các sự kiện không nhuộm. Kết quả được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm số sự kiện dương tính so với tất cả sự kiện thu được từ việc khoanh vùng.

ĐỐI TƯỢNG SỬ DỤNG

Sản phẩm này chỉ dùng cho mục đích chuyên môn trong phòng xét nghiệm.

TÍNH THÍCH HỢP VỀ LÂM SÀNG

CD5-FITC là một kháng thể CD5 dùng để nhận dạng và xác định đặc điểm của các tế bào biểu thị kháng nguyên CD5 bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy. Chỉ riêng sản phẩm này không thể và không nhằm tạo ra bất kỳ kết luận chẩn đoán nào.

Khi kết hợp với các chỉ dấu khác, có thể dùng sản phẩm này trong một hoặc nhiều chức năng sau:

- Để hỗ trợ chẩn đoán phân biệt những bệnh nhân bị bất thường về huyết học nghi ngờ mắc ung thư máu và để theo dõi những bệnh nhân đã được xác định là mắc ung thư máu.
- Để hỗ trợ tiên lượng những bệnh nhân bị ung thư máu.

Xem tài liệu tham khảo sau đây:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MẪU

Phải lấy mẫu máu tĩnh mạch vào ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA.

Phải bảo quản mẫu ở nhiệt độ phòng (18–25°C) và không lắc mẫu. Phải khuấy nhẹ mẫu trước khi lấy mẫu xét nghiệm để mẫu có trạng thái đồng nhất.

Phải phân tích các mẫu trong vòng 24 giờ sau khi lấy từ tĩnh mạch.

NỒNG ĐỘ

Xem Giấy chứng nhận phân tích theo lô cụ thể tại www.beckman.com.

CẢNH BÁO VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG NGỪA

1. Không dùng thuốc thử đã hết hạn sử dụng.
2. Không làm đông lạnh.
3. Để dung dịch trở về nhiệt độ phòng (18–25°C) trước khi sử dụng.
4. Giảm thiểu tiếp xúc với ánh sáng.
5. Tránh làm thuốc thử bị nhiễm khuẩn, nếu không, có thể dẫn đến kết quả sai.
6. Phải xử lý cẩn thận dung dịch kháng thể chứa natri azit (NaN_3). Không được uống và tránh mọi tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.

Ngoài ra, trong môi trường axit, natri azit có thể tạo thành axit hydrazoic nguy hiểm. Nếu cần phải thải bỏ, bạn nên pha loãng thuốc thử trong nhiều nước trước khi thải vào hệ thống thoát nước để tránh tích tụ natri azide trong ống kim loại và để tránh nguy cơ nổ.

7. Phải coi tất cả mẫu máu là có nguy cơ lây nhiễm và xử lý cẩn thận (cụ thể: đeo găng tay, mặc áo choàng và đeo kính bảo vệ).
8. Tuyệt đối không dùng pipet bằng miệng và tránh để mẫu tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.
9. Phải bỏ ống máu và vật liệu dùng một lần đã dùng để xử lý trong thùng chứa đặc biệt cho mục đích thiêu hủy.
10. Phải thải bỏ thuốc thử và chất thải theo yêu cầu của địa phương.

PHÂN LOẠI MỐI NGUY HIỂM THEO GHS

Không được phân loại là chất nguy hiểm

SDS Phiếu dữ liệu an toàn có sẵn tại beckmancoulter.com/techdocs

BẢO QUẢN VÀ ĐỘ ỔN ĐỊNH

Phải bảo quản thuốc thử này ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng, trước và sau khi mở ống.

Hạn sử dụng của ống khi chưa mở nắp theo nghiên cứu về độ ổn định: 1095 ngày.

Độ ổn định của ống đã mở: thuốc thử ổn định trong 180 ngày.

BẰNG CHỨNG BIẾN CHẤT

Mọi sự biến đổi về vẻ ngoài của thuốc thử có thể là dấu hiệu suy giảm chất lượng và bạn không nên dùng thuốc thử đó.

Để biết thêm thông tin hoặc nếu bạn nhận được sản phẩm bị hỏng, hãy gọi điện cho Dịch vụ khách hàng của Beckman Coulter theo số 8007422345 (Hoa Kỳ hoặc Canada) hoặc liên hệ với Đại diện của Beckman Coulter tại địa phương bạn.

HÀM LƯỢNG

Chất bảo quản natri azit có thể hình thành hợp chất nổ trong ống dẫn bằng kim loại. Xem Thông Báo của Viện quốc gia về an toàn và sức khỏe nghề nghiệp (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Nguy cơ nổ azit) (16/8/76).
Để tránh khả năng tích tụ hợp chất azit, hãy xả sạch các ống thải bằng nước sau khi xử lý vứt bỏ thuốc thử chưa pha loãng. Phải xử lý vứt bỏ natri azit theo đúng quy định sở tại.

VẬT LIỆU CẦN DÙNG (KHÔNG KÈM THEO BỘ THUỐC THỬ):

- Ống lấy mẫu và vật liệu cần dùng để lấy mẫu.
- Pipet tự động có đầu hút dùng một lần để lấy mẫu có thể tích 20, 100 và 500 µL.
- Ống chứa mẫu tan huyết bằng nhựa.
- Thuốc thử ly giải hồng cầu với bước rửa sau khi ly giải. Ví dụ: VersaLyse (Số tham chiếu A09777).
- Thuốc thử cố định Leucocyte. Ví dụ: Dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800).
- Mẫu chứng âm FITC: Thuốc thử IOTest (Số tham chiếu: A12689).
- Dung dịch đệm (PBS: 0,01 Mol natri photphat; 0,145 Mol natri clorua; pH 7,2).
- Máy ly tâm.
- Máy trộn tự động (loại khuấy).
- Máy đếm tế bào dòng chảy.

QUY TRÌNH VỚI THUỐC THỬ VERSALYSE

Đối với mỗi mẫu phân tích, ngoài ống xét nghiệm, có thể thêm một ống kiểm chuẩn, trong đó tế bào được trộn với mẫu chứng âm (Số tham chiếu A12689).

1. Thêm 20 µL kháng thể cộng hợp IOTest đặc hiệu vào mỗi ống xét nghiệm và nếu cần, 20 µL mẫu chứng âm vào từng ống kiểm chuẩn.
2. Thêm 100 µL mẫu xét nghiệm vào từng ống. Lắc nhẹ các ống.
3. Ủ trong 15 đến 20 phút ở nhiệt độ phòng (18–25°C), tránh ánh sáng.
4. Sau đó, ly giải hồng cầu. Tham khảo tờ hướng dẫn về VersaLyse (Số tham chiếu A09777) và tốt nhất là làm theo quy trình tên là “có cố định đồng thời”, bao gồm thêm 1 mL hỗn hợp “Cố định và ly giải” được chuẩn bị tùy ứng. Lắc ngay trong một giây và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.
5. Quay ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 150 x g tại nhiệt độ phòng.
6. Hút bỏ dịch nổi.
7. Tái huyền phù viên tế bào bằng 3 mL PBS.
8. Lặp lại bước 5.
9. Hút bỏ dịch nổi và tái huyền phù viên tế bào bằng:

- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS cộng với 0,1% formaldehyde nếu sử dụng chế phẩm trong vòng chưa đến 24 giờ. (Có thể thu được PBS chứa 0,1% formaldehyde bằng cách pha loãng 12,5 µL dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800) ở nồng độ 10X trong 1 mL PBS).
- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS không có formaldehyde, nếu phân tích các chế phẩm trong vòng 2 giờ.

Ghi chú: Trong mọi trường hợp, phải bảo quản chế phẩm ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng.

GIÁ TRỊ DỰ KIẾN

Trong phòng xét nghiệm của chúng tôi, mẫu máu toàn phần của 25 người hiến khỏe mạnh được điều trị bằng thuốc thử mô tả ở trên. Bảng dưới đây trình bày kết quả đếm số lượng sự kiện dương tính quan tâm với thuốc thử này:

Mục tiêu dương tính	Số	Giá trị trung bình (%)	SD	CV (%)
Tế bào lympho	25	71,12	10,38	14,60

Các giá trị sau chỉ có tính chất đại diện. Mỗi phòng xét nghiệm phải thiết lập giá trị dự kiến riêng từ quần thể người hiến bình thường của mình.

HIỆU SUẤT

Dữ liệu hiệu suất thu được bằng cách sử dụng quy trình mô tả ở trên với các mẫu máu được thu thập dưới 24 giờ trong các ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA. Phân tích trong vòng 2 giờ sau khi nhuộm hóa mô miễn dịch.

ĐỘ ĐẶC HIỆU

Phân tử CD5 được biểu hiện trên bề mặt của các tế bào lympho T trưởng thành, bởi phần lớn các tế bào tuyến ức và bởi một quần thể phụ tế bào lympho B (11,12,13). CD5 được biểu hiện trong một nhóm phụ tế bào B tiết IgM do enzyme terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) không xuất hiện để giảm thiểu sự hoạt hóa của BSR, từ đó làm giảm phản ứng tự động (phản ứng tự miễn dịch). Ngược lại, tế bào T biểu hiện mức CD5 cao hơn tế bào B. CD5 được tăng cường điều chỉnh trên tế bào T khi được hoạt hóa mạnh. Trong tuyến ức, có mối tương quan giữa biểu hiện CD5 và cường độ tương tác của tế bào T đối với các peptit tự thân. Không tìm thấy biểu hiện CD5 trong bạch cầu hạt, bạch cầu đơn nhân và tiểu cầu (13). Kháng thể đơn dòng BL1a được chỉ định cho CD5 trong HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Hội thảo HLDA về Kháng nguyên biệt hóa bạch cầu ở người) lần thứ 3, Oxford, Anh vào năm 1986 (WS Mã: 520, Phần T) (11,12).

ĐỘ CHỤM

Tỷ lệ phần trăm của các giá trị dương tính được xác định bằng cách sử dụng máu toàn phần. Mỗi mẫu được chạy 4 lần, hai lần một ngày trong 1 ngày trên 2 thiết bị sử dụng 2 lô thuốc thử kháng thể đơn dòng CD5-FITC. Các phép đo (% dương tính) được thực hiện trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Phân tích được tiến hành theo phương pháp EP5-A2 của CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Đánh giá hiệu suất độ chụm của phương pháp đo định lượng).

Tiêu chí chấp nhận của chúng tôi phụ thuộc vào số lượng sự kiện dương tính đo được cho mỗi quần thể:

- Nếu sự kiện dương tính <1.500, CV <15%
- Nếu sự kiện dương tính >1.500, CV <10%

Tế bào lympho							
Số sự kiện dương tính (Giá trị trung bình) = 1468							
	Giữa những người thao tác	Giữa các máy đếm tế bào	Trong lô	Giữa các lô	Giữa các lần chạy	Trong lần chạy	Toàn phần
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
KẾT QUẢ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ĐỘ CHÍNH XÁC

Độ chính xác của CD5-FITC được đánh giá bằng cách so sánh kết quả với thuốc thử tham chiếu để khẳng định trên một tập hợp các mẫu máu toàn phần chạy trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Độ lệch giữa xét nghiệm và thuốc thử tham chiếu được xác định dựa trên sự chênh lệch giữa các kết quả xét nghiệm. Nếu độ lệch nằm trong phạm vi sai số cho phép hoặc giá trị p cho thấy không có sự khác biệt đáng kể (> 0,05), thì kết quả xét nghiệm cho hai thuốc thử được coi là tương đương.

Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Số người hiến = 25				
Mục tiêu dương tính	Giá trị trung bình Δ	Tiêu chí tế bào Δ %	giá trị p	KẾT QUẢ
Tế bào lympho	0,73	<5	0,032	PASS

GIỚI HẠN TRỐNG VÀ GIỚI HẠN PHÁT HIỆN

Một nghiên cứu đã được thực hiện theo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Đánh giá khả năng phát hiện cho các quy trình đo lường trong phòng xét nghiệm lâm sàng). Giới hạn phát hiện (LOD) là nồng độ thấp nhất của chất phân tích có thể phát hiện một cách nhất quán. Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Positive Target	Giới hạn trống (tế bào/µL)	Giới hạn phát hiện (tế bào/µL)
Tế bào lympho	1	2

GIỚI HẠN

1. Phương pháp đếm tế bào dòng chảy có thể cho kết quả sai nếu điều chỉnh máy đếm tế bào không phù hợp, nếu mức bù huỳnh quang rò rỉ không phù hợp và nếu định vị các vùng không cẩn thận.
2. Tốt nhất là sử dụng kỹ thuật ly giải RBC có bước rửa vì thuốc thử này chưa được tối ưu hóa cho các kỹ thuật ly giải "không rửa".
3. Sẽ thu được kết quả chính xác và có thể tái lặp nếu sử dụng quy trình theo tờ hướng dẫn kỹ thuật và phù hợp với biện pháp xét nghiệm hợp lý.
4. Kháng thể cộng hợp của thuốc thử này được hiệu chuẩn để đưa ra tỷ lệ tín hiệu đặc hiệu/tín hiệu không đặc hiệu tốt nhất. Do đó, điều quan trọng là phải tuân thủ tỷ lệ thể tích thuốc thử/thể tích mẫu trong mỗi xét nghiệm.
5. Trong trường hợp tăng bạch cầu, hãy pha loãng máu trong PBS để thu được giá trị xấp xỉ 5 x 10^9 bạch cầu/L (14).
6. Trong một số tình trạng bệnh, chẳng hạn như suy thận nặng hoặc bệnh rối loạn máu, hồng cầu có thể ly giải chậm, ly giải không hoàn toàn, hoặc thậm chí là không thể ly giải. Trong trường hợp này, bạn nên phân lập tế bào đơn nhân bằng phương pháp ly tâm phân lớp theo tỷ trọng (ví dụ: Ficoll) trước khi nhuộm (15).
7. Ở những bệnh nhân được điều trị bằng các liệu pháp kháng thể đơn dòng kháng người, khả năng phát hiện các kháng nguyên mục tiêu đặc hiệu có thể giảm đi hoặc không xảy ra do bị kháng thể điều trị chặn một phần hoặc toàn bộ.
8. Phải diễn giải kết quả CD5-FITC dựa trên toàn bộ các dấu hiệu lâm sàng của bệnh nhân, bao gồm: triệu chứng, tiền sử lâm sàng, dữ liệu từ các xét nghiệm khác và thông tin thích hợp khác.

Xem Phụ lục để biết ví dụ và tài liệu tham khảo.

NHÃN HIỆU

Beckman Coulter, logo cách điệu và các nhãn hiệu sản phẩm cũng như dịch vụ của Beckman Coulter nêu trong tài liệu này là nhãn hiệu hoặc nhãn hiệu đã đăng ký của Beckman Coulter, Inc. ở Hoa Kỳ và các quốc gia khác.

THÔNG TIN BỔ SUNG

Đối với bệnh nhân/người dùng/bên thứ ba tại Liên minh Châu Âu và ở các quốc gia có chế độ quản lý giống nhau (Quy định 2017/746/EU về Thiết bị y tế chẩn đoán In vitro); nếu xảy ra sự cố nghiêm trọng trong quá trình sử dụng thiết bị này hoặc do sử dụng thiết bị này, vui lòng báo cáo cho nhà sản xuất và/hoặc đại diện ủy quyền của nhà sản xuất cũng như cơ quan có thẩm quyền tại quốc gia của bạn.

Summary of Safety and Performance (Tóm tắt về an toàn và hiệu suất) có trong cơ sở dữ liệu EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

LỊCH SỬ SỬA ĐỔI

PHIÊN BẢN AF:	Ngày phát hành: Tháng 08 năm 2020

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AW	Tháng 05 năm 2022
Cập nhật để tuân thủ Chính sách ghi nhãn toàn cầu của Beckman Coulter và theo các yêu cầu IVD-R (EU) 2017/746:	
Bổ sung các phần	Số BSI 2797, Đối tượng sử dụng, Tính thích hợp về lâm sàng, Nồng độ, Độ chụm, Độ chính xác, Giới hạn trống và giới hạn phát hiện, Thông tin bổ sung, Lịch sử sửa đổi.
Bổ sung thông tin	Xem các phần Giới hạn
Cập nhật cách diễn đạt hoặc câu chữ	Xem các phần Quy trình, Hiệu suất, Giới hạn, Cảnh báo và Biện pháp phòng ngừa, Bảo quản và Độ ổn định.
Các phần bị xóa	Ví dụ về các ứng dụng lâm sàng, Thuốc thử, Khả năng tái lập trong phòng xét nghiệm, Độ tuyến tính
Các phần cập nhật	Mục đích sử dụng, Phân loại mối nguy hiểm theo GHS, Bằng chứng biến chất, Quy trình, Phụ lục.

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AX	Tháng 4 2023
Các phần cập nhật	Thêm tiếng Kazakh
Các phần cập nhật	Bảo quản và độ ổn định

Phiên bản sửa đổi	AY
Ngày sửa đổi	Tháng 5 2024
Đã cập nhật bản dịch	**Tính thích hợp về lâm sàng:**
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Phiên bản sửa đổi	AZ
Ngày sửa đổi	Tháng 7 2024
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Bảng chú giải các ký hiệu

Danh mục thuật ngữ ký hiệu có sẵn tại beckman.com/techdocs (số tài liệu B60062)

	Сипаттамалары
Ерекшелік	CD5
Клон	BL1a
Гибридома	SP2/0 x balb/c
Иммуноген	Lymphocytes from human thoracic duct
Иммунды глобулин	IgG2a
Түрлері	Тышқан
Тазарту	Үйірлік хроматография
Флуорохром	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Молярлық қатынасы	FITC / Ig: 4,0-6,5
λ қозу	488 нм
Эмиссияның жоғарғы шегі	525 нм
Буфер	PBS pH 7,2 + 2 мг / мл BSA және 0,1% NaN_3

Конъюгацияланған
IOTest антиденесі
CD5-FITC

REF A08932 100 сынақ; 2 мл, 20 мкл / сынақ

***In Vitro* диагностикасында пайдалануға арналған**

ПАЙДАЛАНУ МАҚСАТЫ

Бұл флуорохроммен конъюгацияланған антидене адамның биологиялық үлгілерінде CD5 антигеннің болуын көрсететін жасуша популяциясын ағын цитометриясы көмегімен сапалы және автоматтандырылмаған анықтауға мүмкіндік береді (төмендегі «Үлгілер» бөлімін қараңыз).

ҚАҒИДА

Бұл сынақ нақты моноклоналды антиденелердің лейкоциттер айқындайтын антигендік детерминанттармен байланысу қабілетіне негізделген.

Лейкоциттердің арнайы бояуы үлгіні IOTest реагентімен инкубациялау арқылы жүзеге асады. Сол кезде эритроциттер лизис арқылы шығарылады, ал осы процесс әсер етпейтін лейкоциттерге ағын цитометриясы арқылы талдау жасалады.

Ағын цитометрі жарық диффузиясы мен жасушалардың флуоресценттенуін өлшейді. Бұл гистограммада анықталған электронды терезеде қызығушылық популяциясын ажыратуға мүмкіндік береді, ол жарықтың ортогональды диффузиясын (бүйірлік шашырау немесе SS) және тар бұрышты жарықтың диффузиясын (тікелей шашырау немесе FS) байланыстырады. Цитометрде қолжетімді екі түрлі параметрді біріктіретін басқа гистограммаларды пайдаланушы таңдаған қолданбаға байланысты гейтинг кезеңінде тірек ретінде пайдалануға болады.

Оң боялған оқиғаларды боялмаған оқиғалардан ажырату үшін шектеулі жасушалардың флуоресценттенуіне талдау жүргізілді. Оның нәтижесі оң оқиғалардың гейтинг арқылы алынған барлық оқиғаларға қатынасының пайыздық көрсеткіші ретінде көрсетіледі.

МАҚСАТТЫ ПАЙДАЛАНУШЫ

Бұл өнім зертханалық жағдайда кәсіби пайдалануға арналған.

КЛИНИКАЛЫҚ МАҢЫЗЫ

CD5-FITC – ағын цитометриясы арқылы CD5 антигенін экспрессиялайтын жасушаларды сәйкестендіру және сипаттау үшін пайдаланылатын CD5 антиденесі. Бұл өнімді жалғыз өзін пайдаланып қандай да бір диагностикалық қорытынды жасау мүмкін емес және жасауға арналмаған.

Басқа маркерлермен бірлесіп пайдаланылғанда, бұл өнімді келесі функциялардың біреуінде немесе бірнешеуінде пайдалануға болады:

- Гемопоэтикалық неоплазмаға күдікті гематологиялық аномальды пациенттерді дифференциалды диагностикалауға көмектесу және белгілі гемопоэтикалық неоплазмасы бар пациенттерді бақылау үшін.
- Гемопоэтикалық жаңа ісігі бар пациенттерге болжау жасауға көмектесу.

Келесі анықтамаларды қараңыз:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ҮЛГІЛЕР

Көктамыр қанын антикоагулянт ретінде EDTA тұзы бар стерильді түтіктердің көмегімен алу керек.

Үлгілерді бөлме температурасында (18–25°C) сақтау керек және оларды шайқауға болмайды. Үлгілерді сынақ үлгісін алмастан бұрын жеңіл араластыру жолымен гомогендеу керек.

Үлгілерді көк тамырды тескен соң 24 сағат ішінде талдау қажет.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Нақты топтама бойынша талдау сертификатын мына сайттан қараңыз www.beckman.com.

ЕСКЕРТУ ЖӘНЕ САҚТЫҚ ШАРАЛАРЫ

1. Жарамдылық мерзімі өткеннен кейін реагентті қолдануға болмайды.
2. Қатыруға болмайды.
3. Оны пайдаланбас бұрын, температурасының бөлме температурасына (18–25°C) жетуін күтіңіз.
4. Жарық әсерін азайтыңыз.
5. Реагенттердің микробтармен ластануына жол бермеңіз немесе жалған нәтижелер орын алуы мүмкін.

6. Құрамында натрий азиды бар антидене ерітінділермен (NaN_3) жұмыс істегенде абай болу керек. Ішке қабылдамаңыз. Теріге, шырышты қабыққа және көзге тиігізбеңіз.

   Оған қоса, қышқылды ортада натрий азиды ықтимал қауіпті азотты сутек қышқылын түзуі мүмкін. Оны жою қажет болған жағдайда реагентті алдымен судың көп мөлшерінде сұйылтып, артынан кәріз жүйесіне төгуге кеңес беріледі. Осылайша, натрий азидының металл құбырларда жиналуын болдырмай, жарылыс қаупінің алдын алуға болады.

7. Қанның барлық үлгілері ықтимал жұқпалы деп есептелуі және сақтықпен өңделуі (атап айтқанда: қорғаныс қолғабын, халат және көзілдірік кию) керек.
8. Ешқашан оны аузыңызға құймаңыз және үлгілерді теріге, шырышты қабыққа және көзге тигізбеңіз.
9. Өңдеу үшін пайдаланылатын қан түтіктері мен бір реттік материалдарды өртеуге арналған арнайы контейнерлерге тастау керек.
10. Реагенттер мен қалдықтар жергілікті талаптарға сәйкес жойылуы тиіс.

GHS ҚАУІПТЕР КЛАССИФИКАЦИЯСЫ

Қауіпті деп жіктелмейді

SDS Қауіпсіздік парағы beckmancoulter.com/techdocs мекенжайы бойынша қолжетімді

САҚТАУ ЖӘНЕ ТҰРАҚТЫЛЫҚ

Құтыны ашпай тұрып және оны ашқаннан кейін, бұл реагентті 2–8°C температурада жарықтан қорғалған жерде сақтау керек.

Тұрақтылық зерттеуіне сәйкес жабық күйіндегі сауыт сөресінің жарамдылық мерзімі: 1095 күндер.

Ашық құтының тұрақтылығы: реагент 180 күн бойы тұрақты болады.

ЗАҚЫМДАЛУ БЕЛГІЛЕРІ

Реагенттердің сыртқы түрінің кез келген өзгерісі олардың зақымдалғандығын көрсетуі мүмкін және реагентті пайдаланбаған жөн.

Қосымша ақпарат алу үшін немесе зақымдалған өнімді алған жағдайда 800-742-2345 (АҚШ немесе Канада) арқылы Beckman Coulter тұтынушыларға қызмет көрсету орталығына қоңырау шалыңыз немесе жергілікті Beckman Coulter компаниясының өкіліне хабарласыңыз.

МАЗМҰНЫ

Натрий азиді консерванты металдан жасалған құбыр желілерінде жарылғыш қосылыстар түзуі мүмкін. NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76) (NIOSH бюллетенін қараңыз: азидтердің жарылу қаупі (16.08.1976)).
Азид қосылыстарының ықтимал түзілуін болдырмау үшін сұйылтылмаған реагентті жойғаннан кейін су құбырларын шайыңыз. Натрий азидін жою тиісті жергілікті ережелерге сәйкес жүзеге асырылуы тиіс.

ҚАЖЕТТІ, БІРАҚ ЖИНАҚПЕН БІРГЕ ЖЕТКІЗІЛМЕГЕН МАТЕРИАЛДАР

- Үлгі алу түтіктері және үлгі алу үшін қажетті материал.
- 20, 100 және 500 мкл ерітінділерге арналған бір реттік ұшы бар автоматты тамызғыштар.
- Эритроциттер гемолизіне арналған пластикалық түтіктер.
- Лизистен кейін жуу әдісі пайдаланылатын эритроцит лизисінің реагенті. Мысалы: VersaLyse (Сілт A09777).
- Лейкоцит фиксация реагенті. Мысалы: IOTest 3 бекіту ерітіндісі (A07800 қараңыз).
- Изотиптік бақылау FITC: IOTest реагенті (анық. A12689).
- Буфер (PBS: 0,01 М натрий фосфаты; 0,145 М натрий хлориді; pH 7,2).
- Центрифугалау
- Автоматты араластырғыш (араластырғыш түрі).
- Ағын цитометрі.

VERSALYSE РЕАГЕНТІ КӨМЕГІМЕН ОРЫНДАЛАТЫН ПРОЦЕДУРА

Әрбір талданатын үлгі үшін сынақ түтігіне қосымша, жасушалар изотиптік бақылаудың қатысуымен араласатын бір бақылау түтігін пайдалану ұсынылады (анық. A12689).

1. Әрбір түтікке 20 мкл арнайы конъюгацияланған IOTest антиденесін және, қажет болса, әрбір сынақ түтігіне 20 мкл изотиптік бақылауды қосыңыз.
2. Әр түтікке сынақ үлгісінің 100 мкл қосыңыз. Түтіктерді абайлап араластырыңыз.
3. Жарықтан қорғалған бөлме температурасында (18–25°C) 15–20 минут инкубациялаңыз.
4. Содан соң қызыл жасушалардың лизисін орындаңыз. VersaLyse (анық. A09777) парақшасын қарап, жоспардан тыс дайындалған 1 мл «Бекіту және еріту» қоспасын қосудан тұратын «ілеспе бекітумен» деп аталатын процедураны орындаңыз. Бір секунд дереу араластырыңыз және жарықтан қорғалған бөлме температурасында 10 минут бойы инкубациялаңыз.
5. 150 x г шамасында 5 минут бойы бөлме температурасында центрифугалаңыз.
6. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастаңыз.
7. 3 мл PBS ерітіндісін пайдаланып, жасуша массасын қайта ерітіңіз.
8. 5-қадамды қайталаңыз.
9. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастап, жасуша массасын төмендегіні қолдану арқылы қайта ерітіңіз:

- Егер препараттар 24 сағаттан аз сақталатын болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне 0,1% формальдегид қосылады. (0,1% формальдегидті PBS ерітіндісі 12,5 мкл IOTest 3 бекіту ерітіндісін (анық. A07800) 10 еселік концентрациясында 1 мл PBS ерітіндісін сұйылту арқылы алуға болады).

- Егер 2 сағат ішінде талдануы керек болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне формальдегид қосылмайды.

Ескертпе: барлық жағдайда препараттарды 2–8°C температурада, күн көзінен алыс жерде сақтау керек.

КҮТІЛЕТІН МӘНДЕР

Біздің зертханаларда 25 тиісті дені сау донорлардан жаңа алынған қан үлгілері жоғарыда сипатталған реагентпен өңделді. Осы реагентпен қызығушылық тудыратын оң оқиғаларды санау үшін алынған нәтижелер төмендегі кестеде келтірілген:

Оңтайлы нысана	Сан	Орташа мән (%)	SD	CV (%)
Лимфоциттер	25	71,12	10,38	14,60

Бұл мәндер тек ұсыну үшін арналған. Әр зертхана қалыпты донорлардың жергілікті популяциясынан күтілетін өзіндік мәндерді белгілеуі керек.

ӨНІМДІЛІК

Өнімділік жөніндегі деректер 24 сағаттық үлгілерді пайдаланып, жоғарыда сипатталған процедура арқылы алынады. Бұл үлгілер алдын ала антикоагулянт ретінде EDTA тұзы арқылы стерильді түтіктерге жиналады. Талдау иммундық бояудан соң 2 сағат ішінде жасалады.

ЕРЕКШЕЛІГІ

CD5 молекуласы жетілген Т лимфоциттерінің бетінде, сондай-ақ тимоциттердің көпшілігі арқылы және В лимфоциттердің субпопуляциясы арқылы көрінеді (11,12,13). CD5 молекуласы BSR белсендірілуін бәсеңдететін және салдарынан аутореакциялық қабілетті (аутоиммундық жауапты) азайтатын терминалды дезоксинуклеотидилтрансфераза (TdT) ферментінің болмауы себебінен В жасушалардың IgM бөліп шығаратын субпопуляциясында көрінеді. Екінші жағынан, Т жасушалары В жасушаларына қарағанда CD5 молекуласының жоғарырақ деңгейлерін көрсетеді. Күшті белсендіру әрекеті кезінде CD5 Т жасушаларда белсендіріледі. Тимусте CD5 айқындалуымен және Т жасушалардың өз пептидттерімен әрекет ету күшімен корреляция болады. CD5 айқындалуы гранулоциттерде, моноциттер мен тромбоциттерде табылмады (13). BL1a моноклоналды антиденесі 1986 жылы Англияның Оксфорд қаласында өткен 3rd HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens («Адам лейкоциттерінің дифференциация антигендері» атты 3-ші HLDA семинары) кезінде CD5 антигеніне жатқызылды (WS коды: 520, Т бөлімі) (11,12).

ДӘЛДІК

Оң мәндердің пайызы жаңа алынған қанды қолдану арқылы анықталды. Әрбір үлгі CD5-FITC моноклоналды антидене реагентінің 2 топтамасын пайдаланып 2 аспапта 1 күн бойы күніне екі рет 4 рет талданды. Өлшемдер (% оң) Navios ағын цитометрінде жүргізілді. Талдау CLSI EP5-A2 әдісі негізінде жүргізілді: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Сандық өлшеу әдістерінің дәлдік өнімділігін бағалау).

Біздің қабылдау критерийлері әрбір популяция үшін өлшенген оң оқиғалардың санына байланысты:

- Оң оқиға болса <1500, CV <15%
- Оң оқиға болса >1500, CV <10%

Лимфоциттер							
Оң оқиғалар саны (Орташа мән) = 1468							
	Аралық оператор	Цитометраралық	Топтама ішілік	Топтама аралық	Жүгіру арасында	Жүгіру ішінде	Жалпы
CV (%)	1,75	1,79	5,51	2,04	1,99	4,83	6,14
НӘТИЖЕЛЕР	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ДҰРЫСТЫҚ

CD5-FITC дұрыстығы Navios ағын цитометрінде өңделген жаңа алынған қан үлгілерінің жинағындағы, предикат ретінде анықтамалық реагентпен нәтижелерді салыстыру арқылы бағаланған. Сынақ пен анықтамалық реагент арасындағы ауытқу, сынақ нәтижелері арасындағы айырмашылық негізінде анықталған. Егер қателік рұқсат етілген қателер ауқымында болса немесе p-мәні айтарлықтай айырмашылықты көрсетпесе (>0,05), онда екі реагенттің сынау нәтижелері баламалы болып саналады.

Алынған нәтижелер келесі кестеде толық көрсетілген:

Донорлар саны = 25				
Оңтайлы нысана	Орташа мән Δ	Δ % Жасуша критерийлері	p-мәні	НӘТИЖЕЛЕР
Лимфоциттер	0,73	<5	0,032	PASS

БОС СЫНАМА ШЕГІ ЖӘНЕ АНЫҚТАУ ШЕГІ

Зерттеу CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, клиникалық зертханалық өлшеу процедураларын анықтау мүмкіндігін бағалау) нұсқауына сәйкес жүргізілді. Анықтау шегі (LOD) – бұл рет-ретімен анықтауға болатын аналиттің ең төмен концентрациясы. Алынған нәтижелер келесі кестеде жинақталған:

Positive Target	Бос сынама шегі (жасуша/мкл)	Анықтау шегі (жасуша/мкл)
Лимфоциттер	1	2

ШЕКТЕУЛЕР

1. Цитометр дұрыс бапталмаған, флуоресценттенудің ағып кетуі дұрыс өтелмеген және аймақтар мұқият орналастырмаған жағдайда, ағын цитометриясы қате нәтижелер беруі мүмкін.
2. RBC лизис әдісін жуу қадамымен пайдаланған жөн, себебі бұл реагент «жуусыз» лизис әдістері үшін оңтайландырылмаған.
3. Жүргізілген процедуралар техникалық нұсқау брошюрасына сәйкес және тиісті зертханалық тәжірибемен үйлесімді болған жағдайда ғана дұрыс, әрі жаңғыртылуы мүмкін нәтижелерді алуға болады.
4. Осы реагенттің конъюгацияланған антиденесі арнайы сигнал мен арнайы емес сигналдың ең жақсы қатынасын қамтамасыз ететіндей калибрленген. Сондықтан әрбір сынақты жүргізгенде реагент көлемінің үлгі көлеміне қатынасын сақтау маңызды.
5. гиперлейкоцитоз жағдайында шамамен 5 x 10^9 лейкоцит/л (14) мәнін алу үшін PBS ерітіндісінде қанды сұйылтыңыз.

6. Кейбір жіті бүйрек жеткіліксіздігі немесе гемоглобинопатия сияқты аурулар жағдайында, эритроциттер лизисі баяу, толық емес немесе тіпті мүмкін емес болуы мүмкін. Бұл жағдайда бояудан бұрын тығыздық градиентін (мысалы, Ficoll) пайдаланып мононуклеарлы жасушаларды оқшаулап алу ұсынылады (15).
7. Адамға қарсы моноклоналды антиденелер терапиясымен емделген пациенттерде арнайы мақсатты антигендерді анықтау емдік антиденеңің ішінара немесе толық бұғатталуына байланысты төмендеуі немесе болмауы мүмкін.
8. Нәтижелер CD5-FITC пациенттің жалпы клиникалық деректері тұрғысынан түсіндірілуге тиіс, соның ішінде: симптомдар, клиникалық анамнез, қосымша сынақтардың деректері және басқа тиісті ақпарат.

Мысалдар мен анықтамалар алу үшін қосымшаны қараңыз.

САУДА БЕЛГІЛЕРІ

Beckman Coulter, стильденген логотип, сонымен қатар Beckman Coulter өнім мен қызмет көрсету белгілері –— бұл АҚШ және басқа елдердегі Beckman Coulter, Inc. сауда белгілері немесе тіркелген сауда белгілері.

ҚОСЫМША АҚПАРАТ

Еуропалық Одақтағы және бірдей реттеу режимі (зертханалық жағдайдағы медициналық диагностикалық құрылғылар туралы 2017/746/ЕО қаулысы) бар елдердегі пациент/пайдаланушы/үшінші тарап үшін; егер осы құрылғыны пайдалану кезінде немесе оны пайдалану нәтижесінде елеулі оқиға орын алса, өндірушіге және/немесе оның уәкілетті өкіліне және ұлттық органыңызға хабарлаңыз.

Қауіпсіздік пен өнімділік бойынша қорытынды мәліметтер EUDAMED дерекқорында қолжетімді: ec.europa.eu/tools/eudamed.

Өзгерту тарихы

AF ҚАЙТА ҚАРАУ:	Шығарылған күні: Тамыз 2020 ж.

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AW	Мамыр 2022 ж.
Beckman Coulter ғаламдық таңбалау саясатына және IVD-R (ЕО) 2017/746 талаптарына сәйкес жасалған жаңартулар:	
Қосылған бөлімдер	«BSI 2797 нөмірі», «Мақсатты пайдаланушы», «Клиникалық маңызы», «Концентрациясы», «Анықтық», «Дұрыстық», «Бос сынама шегі және анықтау шегі», «Қосымша ақпарат», «Өзгерту тарихы».
Қосылған ақпарат	«Шектеулер» бөлімінен қараңыз
Фразалар және типографиялық жаңартулар	«Процедура», «Өнімділік», «Шектеулер», «Ескерту және сақтық шаралары» «Сақтау және тұрақтылық» бөлімдерін қараңыз.
Жойылған бөлімдер	«Клиникалық қолдану мысалы», «Реагенттер», «Зертханаішілік жаңғыртылу», «Сызықтық»
Жаңартылған бөлімдер	«Пайдалану мақсаты», «GHS қауіптер классификациясы», «Зақымдалу белгілері», «Процедура», «Қосымша».

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AX	Сәуір 2023
Жаңартылған бөлімдер	Қазақ тілін қосу
Жаңартылған бөлімдер	Сақтау және тұрақтылық

Қайта қаралған нұсқасы	AY
Қайта қаралған күні	Мамыр 2024
Жаңартылған аудармалар	**Клиникалық маңызы:**
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Қайта қаралған нұсқасы	AZ
Қайта қаралған күні	Шілде 2024
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Таңбалар пернесі

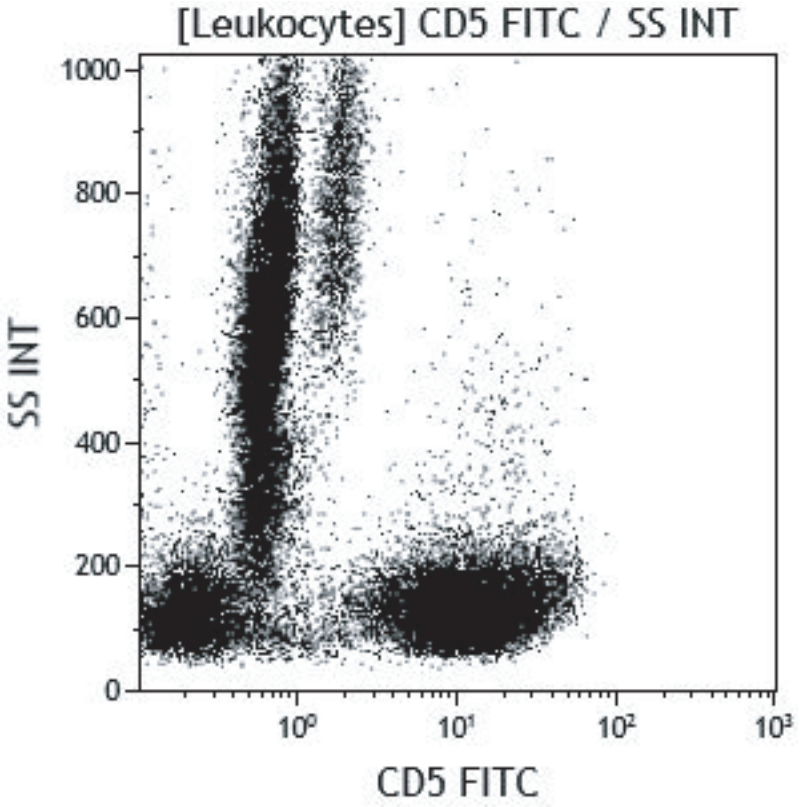
Таңбалар глоссарийі beckman.com/techdocs сайтында (құжат нөмірі: B60062) қолжетімді

APPENDIX

- EXAMPLES

Whole blood samples stained with IOTest CD5-FITC Conjugated Antibody.

Acquisition is performed with a Beckman Coulter Navios flow cytometer equipped with the Navios analysis software.



REFERENCES

1. C. Rawstron, K. A. Kreuzer, A. Soosapilla, M. Spacek, Reproducible diagnosis of chronic lymphocytic leukemia by flow cytometry: An European Research Initiative on CLL (ERIC) & European Society for Clinical Cell Analysis (ESCCA) Harmonisation project. Cytometry. Part B, Clinical cytometry. 94, 121 (2018).
2. R. Garand, K. Beldjord, H. Cavé, C. Fossat, I. Arnoux, V. Asnafi, Y. Bertrand, M.-L. Boulland, C. Brouzes, E. Clappier, E. Delabesse, T. Fest, F. Garnache-Ottou, F. Huguet, M.-C. Jacob, E. Kuhlein, S. Marty-Grès, A. Plesa, N. Robillard, M. Roussel, J. Tkaczuk, H. Dombret, E. Macintyre, N. Ifrah, M. C. Béné, A. Baruchel, Flow cytometry and IG/TCR quantitative PCR for minimal residual disease quantitation in acute lymphoblastic leukemia: a French multicenter prospective study on behalf of the FRALLE, EORTC and GRAALL. Leukemia. 27, 370–376 (2013).
3. K. Josef, M. Heidi, P. Robert, K. Pavel, Expression of CD66 in non-Hodgkin lymphomas and multiple myeloma. European journal of haematology. 85, 496–501 (2010).
4. W. Kern, U. Bacher, C. Haferlach, T. Alpermann, Frequency and prognostic impact of the aberrant CD8 expression in 5,523 patients with chronic lymphocytic leukemia. Cytometry. Part B, Clinical cytometry. 82B, 145–150 (2012).
5. Durrieu Françoise, Franck Geneviève, Christine Arnoulet, Caren Brumpt, Jean-Claude Capiod, Michel Degenne, Jean Feuillard, et al, “Normal Levels of Peripheral CD19+CD5+ CLL-like Cells: Toward a Defined Threshold for CLL Follow-up-A GEIL-GOELAMS Study.”, Cytometry Part B: Clinical Cytometry 80B, no. 6 (November 2011): 346–53.
6. E. Mejstříková, E. Froňková, T. Kalina, M. Omelka, Detection of residual B precursor lymphoblastic leukemia by uniform gating flow cytometry. Pediatric blood & cancer. 54, 62–70 (2010).
7. S. P. Chantepie, D. Vaur, C. Grunau, V. Salaün, ZAP-70 intron1 DNA methylation status: Determination by pyrosequencing in B chronic lymphocytic leukemia. Leukemia research. 34, 800–808 (2009).
8. Miyoshi Hiroaki, Kensaku Sato, Maki Yoshida, Yoshizo Kimura, Junichi Kiyasu, Ayako Ichikawa, Yukinao Ishibashi, et al, “CD5-Positive Follicular Lymphoma Characterized by CD25, MUM1, Low Frequency of t(14;18) and Poor Prognosis: CD5-Positive Follicular Lymphoma.”, Pathology International 64, no. 3 (March 2014): 95–103.
9. M. Sorigue, J. Juncà, E. Sarrate, J. Grau, Expression of CD43 in chronic lymphoproliferative leukemias. Cytometry. Part B, Clinical cytometry. 94, 136–142 (2018).
10. B. H. Davis, J.T. Holden, M. C. Bene, et al. "2006 Bethesda International Consensus Recommendations on the Flow Cytometric Immunophenotypic Analysis of Hematolymphoid Neoplasia: Medical Indications." Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 72B:S5-S13 (2007).
11. Horejsi, V., Angelisova, P., "Comparatives biochemical studies on the Workshop CD5 and CD3 panel antibodies", 1987, Leucocyte Typing III, White Cell Differentiation Antigens, McMichael A.J., et al., Eds., Oxford University Press, 197.
12. Disanto, J.P., Small, T.N., Dupont, B., Flomenberg, N., Knowles, R.W., "Analysis of human CD8 and CD5 antigens expressed on mouse L-lines", 1987, Leucocyte Typing III, White Cell Differentiation Antigens, McMichael A.J., et al., Eds., Oxford University Press, 210-214.
13. Reiter, C., "Cluster report: CD5", 1989, Leucocyte Typing IV, White Cell Differentiation Antigens. W. Knapp, et al., Eds., Oxford University Press, 331-332.1
14. H42-A2 Vol.27 No. 16. P30. Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry; Approved Guideline - Second Edition.
15. Ibrahim FF, Ghannam MM, Ali FM., "Effect of dialysis on erythrocyte membrane of chronically hemodialyzed patients"., 2002. Ren Fail., Nov;24(6):779-90.

IMMUNOTECH SAS 是贝克曼库尔特公司的旗下公司，地址：130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France，电话：+(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda
Alameda Rio Negro, 500, 15 andar, Torre B Alphaville Industrial
CEP 06.454-000 Barueri, São Paulo, Brasil
CNPJ: 42.160.812/0001-44 Telefone: 0800-771-8818

製造販売業者: ベックマン·コールター株式会社
〒135-0063
東京都江東区有明三丁目5 番7号
TOC有明ウエストタワー

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

 IMMUNOTECH SAS A Beckman Coulter Company, 130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France, +(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

BECKMAN COULTER
MADE IN France

IOTest
Conjugated Antibody
CD11b-APC

	Specifications
Specificity	CD11b
Clone	Bear1
Hybridoma	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Purified human monocytes
Isotype	IgG1
Species	Mouse
Purification	Affinity Chromatography
Fluorochrome	Allophycocyanin (APC)
Molar ratio	APC / Ig: 0.5-1.5
λ excitation	633/638 nm
Emission Peak	660 nm
Buffer	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA and 0.1% NaN_3

REF A87782 Liquid - 0.5 mL

Analyte Specific Reagent.
Analytical and performance characteristics are not established

REAGENTS
Concentration: See lot specific Certificate of Analysis at www.beckmancoulter.com.

WARNING AND PRECAUTIONS
1. This reagent contains 0.1% sodium azide. Sodium azide under acid conditions yields hydrazoic acid, an extremely toxic compound. Azide compounds should be flushed with running water while being discarded. These precautions are recommended to avoid deposits in metal piping in which explosive conditions can develop. If skin or eye contact occurs, wash excessively with water.
2. Specimens, samples and all material coming in contact with them should be considered potentially infectious and disposed of with proper precautions.
3. Never pipet by mouth and avoid contact of samples with skin and mucous membranes.
4. Do not use antibody beyond the expiration date on the label.
5. Do not expose reagents to strong light during storage or incubation.
6. Avoid microbial contamination of reagents or incorrect results might occur.
7. Use good laboratory practices when handling this reagent.
8. Any change in the physical appearance of the reagents may indicate deterioration and the reagent should not be used.

GHS HAZARD CLASSIFICATION
Not classified as hazardous

SDS	Safety Data Sheet is available at beckman.com/techdocs

STORAGE AND HANDLING CONDITIONS AND STABILITY
This reagent is stable up to the expiration date when stored at 2 – 8°C. Do not freeze.

No reconstitution is necessary. This monoclonal antibody may be used directly from the vial. Bring reagent to 18 – 25°C prior to use.

© 2019 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).
To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

SPECIFICITY

CD11b antigen is also referred to under several other names i.e. alpha-M integrin chain, Mac-1, CR3, iC3bR, or Mo1 (1, 2). It is a type I integral transmembrane glycoprotein of 170 – 165 kDa under reducing / non reducing conditions, respectively. CD11b shows 19 potential N-glycosylation sites (1).

Expression of the CD11b chain on the cell surface requires the presence of the CD18 antigen (also known as beta2 integrin chain). These two subunits combine to create the CD11b/CD18 integrin, one of the 4 integrin heterodimers that can be built by the association of CD18 beta chain with 4 distinctive CD11 alpha chains. The CD11b/CD18 (αMβ2) integrin is also called Mac-1. The CD11b/CD18 integrin has broad ligand binding capabilities. It can recognize CD23, CD54 (ICAM-1), CD102 (ICAM-2), ICAM-4, complement component iC3b, fibrinogen, and LPS/LBP (complex of lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein), among other ligands (3). Additionally, there is evidence of intra-membrane interactions of CD11b/CD18 with GPI-anchored surface molecules such as CD16 or CD14 (4). These interactions may account for transmembrane signaling and effector functions of GPI-linked membrane receptors. CD11b/CD18 is highly expressed on NK lymphocytes, neutrophils, monocytes and macrophages.

BEAR1 monoclonal antibody (2) was assigned to the CD11b during the 6th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens in Kobe, Japan, in 1996 (WS Code: A015, Section Adhesion Molecules) (1).

TRADEMARKS

Beckman Coulter, the stylized logo and IOTest are trademarks of Beckman Coulter, Inc., and registered with the USPTO.

ADDITIONAL INFORMATION

For additional information, or if damaged product is received, call Beckman Coulter Customer Service at 800-526-7694 (USA or Canada) or contact your local Beckman Coulter Representative.

Symbols Key

Glossary of Symbols is available at beckman.com/techdocs (document number B60062)

REFERENCES

1. Hogg, N., "CD11b workshop panel report", 1997, Leucocyte Typing VI, White Cell Differentiation Antigens. Kishimoto, T., et al, (WS Code: A015, Section: Adhesion Molecules), Eds., Garland Publishing, Inc., 345-347.
2. Morimoto, C., "Activation antigens: section report", 1995, Leucocyte Typing V, White Cell Differentiation Antigens. Schlossman, S.F., et al., Eds., Oxford University Press, 1097-1104.
3. Hogg, N., Horton, M.A., "Myeloid antigens, new and previously defined cluster", 1987, Leucocyte Typing III, White Cell Differentiation Antigens, McMichael A.J., et al., Eds., Oxford University Press, 576-602.
4. Petty, R., Todd III, R.F., "Integrins as promiscuous signal transduction devices", 1996, Immunol. Today, 5, 17, 209-212.

IMMUNOTECH S.A.S. a Beckman Coulter Company, 130, avenue de Lattre de Tassigny,
BP 177, 13276 Marseille cedex 9, France, 33-491 172 727

BECKMAN COULTER
MADE IN France

CE

IOTest
Conjugated Antibody
CD3-APC
-Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0.5 mL, 10 µL / test

TABLE OF CONTENTS

English . . . 2
Français (FR) . . . 6
Deutsch (DE) . . . 10
Italiano (IT) . . . 14
Español (ES) . . . 18
Português Portugal (PT-PT) . . . 22
Dansk (DA) . . . 26
Svenska (SV) . . . 30
Norsk (NO) . . . 33
Ελληνικά (EL) . . . 36
Lietuviškai (LT) . . . 40
Magyar (HU) . . . 44
Polski (PL) . . . 48
Čeština (CZ) . . . 52
Slovenčina (SK) . . . 56
한국어 (KO) . . . 60
Türkçe (TR) . . . 63
Русский (RU) . . . 66
eesti keel (ET) . . . 70
Hrvatski (HR) . . . 73
Български (BG) . . . 76
Română (RO) . . . 80
Србија (SR) . . . 84
Latviešu (LV) . . . 88
Українська (UK) . . . 91
Português Brasil (PT-BR) . . . 95
Қазақша . . . 99
APPENDIX . . . 103
REFERENCES . . . 104

© 2021 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

	Specifications
Specificity	CD3
Clone	UCHT1
Hybridoma	NS1 x balb/c
Immunogen	T cell line + IL2
Immunoglobulin	IgG1
Species	Mouse
Purification	Affinity Chromatography
Fluorochrom	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Molar ratio	APC-AlexaFluor750 / Ig: 0.5-1.5
λ excitation	633/638 nm
Emission Peak	775 nm
Buffer	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA and 0.1% NaN_3

IOTest
Conjugated Antibody
CD3-APC
-Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0.5 mL, 10 µL / test

For *In Vitro* Diagnostic Use

INTENDED USE

This fluorochrome-conjugated antibody allows the identification and numeration of cell populations expressing the CD3 antigen present in human biological samples using flow cytometry.

PRINCIPLE

This test is based on the ability of specific monoclonal antibodies to bind to the antigenic determinants expressed by leucocytes.

Specific staining of the leucocytes is performed by incubating the sample with the IOTest reagent. The red cells are then removed by lysis and the leucocytes, which are unaffected by this process, are analyzed by flow cytometry.

The flow cytometer measures light diffusion and the fluorescence of cells. It makes possible the delimitation of the population of interest within the electronic window defined on a histogram, which correlates the orthogonal diffusion of light (Side Scatter or SS) and the diffusion of narrow-angle light (Forward Scatter or FS). Other histograms combining two of the different parameters available on the cytometer can be used as supports in the gating stage depending on the application chosen by the user.

The fluorescence of the delimited cells is analyzed in order to distinguish the positively-stained events from the unstained ones. The results are expressed as a percentage of positive events in relation to all the events acquired by the gating.

EXAMPLES OF CLINICAL APPLICATIONS

CD3 is a transmembrane protein containing four types of polypeptides chains namely CD3γ, CD3δ, CD3ε and CD3ζ. CD3 is associated to the T Cell Receptor (TCR) to form the TCR complex which is responsible for T-cell development, activation, and effector functions (1). The intracellular tails of the CD3 molecules contain a single conserved motif known as an immunoreceptor tyrosine-based activation motif or ITAM that is essential for the signaling capacity of the TCR (2, 3).

CD3 is expressed in the cytoplasm of pro-thymocytes and then into medullary thymocytes when CD3 antigen begins to migrate to the cell membrane (4). Membrane CD3 is expressed in all mature T-cells, and NK-T cells. Phenotypic analysis of CD3 can be conducted by detecting the surface membrane domains or intracellular tail. CD3 is a T-lineage-selective marker and its expression is maintained on most T-cell malignancies (5, 6).

CD3 is therefore included in the vast majority of Flow cytometry panels for the diagnosis of hematologic T cell lymphoproliferative disorders including leukemia and lymphoma (5, 6, 7). Immunophenotypic analysis of CD3+ cells conducted in conjunction with other cell phenotypes allow the readily characterization of the different functional T cell subsets such as memory, effector and T regulatory cells (8).

Relative and absolute CD3+ is useful to assess immunocompetence of certain immunodeficiency status (e.g. HIV, post hematopoietic stem cell transplantation) and therapy response but is rarely used for treatment decision (9, 10). CD3 is also used for diagnosis and/or monitoring for T cell activity of patients with primary or secondary immunodeficiency, autoimmunity, and response to immunosuppression therapy with monoclonal anti T-cell therapies and anti-Thymus globulin (11, 12, 13, 14, 15, 16).

REAGENTS

Concentration: See lot specific Certificate of Analysis at www.beckmancoulter.com.

WARNING AND PRECAUTIONS

1. Do not use the reagent beyond the expiry date.
2. Do not freeze.
3. Let it come to room temperature (18 – 25°C) before use.
4. Minimize exposure to light.
5. Avoid microbial contamination of the reagents, or false results may occur.
6. Antibody solutions containing sodium azide (NaN_3) should be handled with care. Do not take internally and avoid all contact with the skin, mucosa and eyes.

Moreover, in an acid medium, sodium azide can form the potentially dangerous hydrazoic acid. If it needs to be disposed of, it is recommended that the reagent be diluted in a large volume of water before pouring it into the drainage system so as to avoid the accumulation of sodium azide in metal pipes and to prevent the risk of explosion.

7. All blood samples must be considered as potentially infectious and must be handled with care (in particular: the wearing of protective gloves, gowns and goggles).
8. Never pipet by mouth and avoid all contact of the samples with the skin, mucosa and eyes.
9. Blood tubes and disposable material used for handling should be disposed of in ad hoc containers intended for incineration.
10. Reagents and waste should be eliminated according to local requirements.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

SDS Safety Data Sheet is available at beckman.com/techdocs

STORAGE AND STABILITY

The conjugated liquid forms must be kept at between 2 and 8°C and protected from light, before and after the vial has been opened.

Stability of closed vial: see expiry date on vial.

Stability of opened vial: the reagent is stable for 365 days.

SAMPLES

Venous blood must be taken using sterile tubes containing an EDTA salt as the anticoagulant.

The samples should be kept at room temperature (18 – 25°C) and not shaken. The samples should be homogenized by gentle agitation prior to taking the test sample.

The samples must be analyzed within 24 hours of venipuncture.

EVIDENCE OF DETERIORATION

Any change in the physical appearance of the reagents may indicate deterioration and the reagent should not be used.

In case of packaging deterioration or if data obtained show some performance alteration, please contact your local distributor or use the following e-mail address : immuno-techsup@beckmancoulter.com

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).
To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

MATERIALS NEEDED BUT NOT SUPPLIED WITH KIT:

- Sampling tubes and material necessary for sampling.
- Automatic pipettes with disposable tips for 10, 100 and 500 µL.
- Plastic haemolysis tubes.
- Calibration beads: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Red cell lysis reagent with washing stage after lysis. For example: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leucocyte fixation reagent. For example : IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800).
- Isotypic control APC-AlexaFluor750 : IOTest reagent (Ref. A79393).
- Buffer (PBS: 0.01 M sodium phosphate; 0.145 M sodium chloride; pH 7.2).
- Centrifuge.
- Automatic agitator (Vortex type).
- Flow cytometer.

PROCEDURE WITH VERSALYSE REAGENT

Note: The procedure below is valid for standard applications. Sample and/or VersaLyse volumes for certain Beckman Coulter applications may be different. If such is the case, follow the instructions on the application's technical leaflet.

For each sample analyzed, in addition to the test tube, one control tube is required in which the cells are mixed in the presence of the isotypic control (Ref. A79393.).

1. Add 10 µL of specific IOTest conjugated antibody to each test tube, and 10 µL of the isotypic control to each control tube.
2. Add 100 µL of the test sample to both tubes. Vortex the tubes gently.
3. Incubate for 15 to 20 minutes at room temperature (18 – 25°C), protected from light.
4. Then perform lysis of the red cells, if necessary, by following the recommendations of the lysis reagent used. For example, if you wish to use VersaLyse (Ref. A09777), refer to the leaflet and follow preferably the procedure called "with concomitant fixation", which consists in adding 1 mL of the "Fix-and-Lyse" mixture prepared extemporaneously. Vortex immediately for one second and incubate for 10 minutes at room temperature, protected from light. If the sample does not contain red cells, add 2 mL of PBS.
5. Centrifuge for 5 minutes at 150 x g at room temperature.
6. Remove the supernatant by aspiration.

7. Resuspend the cell pellet using 3 mL of PBS.
8. Repeat step 5.
9. Remove the supernatant by aspiration and resuspend the cell pellet using:

   0.5 mL or 1 mL of PBS plus 0.1% of formaldehyde if the preparations are to be kept less than 24hours. (A 0.1% formaldehyde PBS can be obtained by diluting 12.5 µL of the IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800) at its 10X concentration in 1 mL of PBS).

   0.5 mL or 1 mL of PBS without formaldehyde, if the preparations are to be analyzed within 2 hours.

Note: In all cases, keep the preparations between 2 and 8°C and protected from light.

EXPECTED VALUES

Each laboratory must compile a list of reference values based upon a group of healthy donors from the local population. This must be done by taking age, sex and ethnic group into account, as well as any other potential regional differences.

In our laboratories, the whole blood samples of 50 healthy adults were treated using the reagent described above. The results obtained for the count of the positive events of interest with this reagent are given in the tables below :

Lymphocytes	Number	Mean (%)	SD	CV (%)
CD3-APC-A750+	50	72.2	8.3	11.5

PERFORMANCE

Performance data are obtained using the procedure described above on 24 hour-old blood samples previously collected on sterile tubes with EDTA salt as anticoagulant. Analysis is performed within 2 hours following immunostaining.

SPECIFICITY

T lymphocytes constitute the majority of human pheripheral blood lymphocytes (PBL) (17). T lymphocytes are characterized by the expression of the CD3 antigen (17, 18). The CD3 antigen is a complex of 5 polypeptide chains: γ, δ, ε, ζ; and η; associated with the T-cell receptor (TCR) complex (19).

The CD3 chains are clustered in a group of two invariant dimers, γ/ε and δ/ε associated with a variable dimer which consists of ζ homodimers, or ζ /η, or ζ /γ FcR heterodimers (γFcR being the γ chain of the Fc receptors), or γFcR homodimers (19, 20, 21). The CD3 complex associated with the TCR is involved in the recognition of peptides bound to the major histocompatibility complex class I and II during the immune response (22).

The CD3 antigen is expressed by mature T lymphocytes and by a subset of thymocytes (23).

The UCHT1 monoclonal antibody reacts with the ε chain of the CD3 complex (24). It has been assigned to the CD3 cluster of differentiation at the 1st International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens in Paris, France, in 1982 (25).

INTRA-LABORATORY REPRODUCIBILITY

On the same day and using the same cytometer, 12 measurements of the percentage of staining of a positive target were carried out. The results obtained are summarized in the following table:

Positive Target	Number	Mean (%)	SD	CV (%)
Lymphocytes +CD3-APC-A750	12	74.76	0.52	0.70

Linearity

To test the linearity of staining of this reagent, a positive cell line (HPBALL) and a negative cell line (DAUDI) were mixed in different proportions with a constant final number of cells, so that the positive line/negative cell line ratio of the mixture ranged from 0 to 100%.

Aliquots were stained using the procedure described above and linear regression between the expected values and the observed values was calculated.

Specificity	Linear regression	Linearity (R^2)
CD3-APC-A750	Y = 0.9903 X - 0.1702	0.9985

LIMITATIONS

1. Flow cytometry may produce false results if the cytometer has not been aligned perfectly, if fluorescence leaks have not been correctly compensated for and if the regions have not been carefully positioned.
2. It is preferable to use a RBC lysis technique with a washing step as this reagent has not been optimized for "no wash" lysis techniques.
3. Accurate and reproducible results will be obtained as long as the procedures used are in accordance with the technical insert leaflet and compatible with good laboratory practices.
4. The conjugated antibody of this reagent is calibrated so as to offer the best specific signal/non-specific signal ratio. Therefore, it is important to adhere to the reagent volume/sample volume ratio in every test.
5. In the case of a hyperleucocytosis, dilute the blood in PBS so as to obtain a value of approximately 5 x 10^9 leucocytes/L (26).
6. In certain disease states, such as severe renal failure or haemoglobinopathies, lysis of red cells may be slow, incomplete or even impossible. In this case, it is recommended to isolate mononucleated cells using a density gradient (Ficoll, for example) prior to staining (27).
7. Due to the tandem structure of the fluorochrome, APC-AlexaFluor750 also emits light at 660 nm. This secondary emission peak varies from lot-to-lot of. APC-AlexaFluor750. Therefore, for multi-color analysis, the compensation matrix should be carefully checked when changing the lot of a -APC-AlexaFluor750 conjugate.

See the Appendix for examples and references.

TRADEMARKS

Beckman Coulter, the stylized logo, and the Beckman Coulter product and service marks mentioned herein are trademarks or registered trademarks of Beckman Coulter, Inc. in the United States and other countries.

Alexa Fluor is a trademark of Molecular Probes, Inc.

Symbols Key

Glossary of Symbols is available at beckman.com/techdocs (document number B60062)

	Spécifications
Spécificité	CD3
Clone	UCHT1
Hybridome	NS1 x balb/c
Immunogène	T cell line + IL2
Immunoglobuline	IgG1
Espèce	Souris
Purification	Chromatographie d'affinité
Fluorochrome	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Rapport molaire	APC-AlexaFluor750/Ig : 0,5-1,5
Excitation λ	633/638 nm
Pic d'émission	775 nm
Solution tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA et 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticorps conjugué CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Pour une utilisation en Diagnostic *In Vitro*

UTILISATION

Cet anticorps conjugué à un fluorochrome permet l'identification et la numération des populations cellulaires exprimant l'antigène CD3 présentes dans des échantillons biologiques humains par cytométrie en flux.

PRINCIPE

Ce test est fondé sur la capacité d'anticorps monoclonaux spécifiques de se lier à des déterminants antigéniques exprimés par les leucocytes.

Une coloration spécifique des leucocytes est effectuée en incubant l'échantillon avec le réactif IOTest. Les globules rouges sont ensuite supprimés par lyses et les leucocytes, qui ne sont pas affectés par cette procédure, sont analysés par cytométrie en flux.

Le cytomètre en flux mesure la diffusion de la lumière et la fluorescence des cellules. Il rend possible la délimitation de la population d'intérêt au sein de la fenêtre électronique définie sur un histogramme, qui met en corrélation la diffusion orthogonale de la lumière (diffusion latérale ou SS) et la diffusion de la lumière en angle étroit (dispersion avant ou FS). D'autres histogrammes combinant deux des différents paramètres disponibles sur le cytomètre peuvent être utilisés comme supports dans la phase de gating en fonction de l'application choisie par l'utilisateur.

La fluorescence des cellules délimitées est analysée de manière à distinguer les événements colorés positifs de ceux qui ne le sont pas. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'événements positifs par rapport à tous les événements acquis grâce à la méthode de gating.

EXEMPLES D'APPLICATIONS CLINIQUES

Le CD3 est une protéine transmembranaire contenant quatre types de chaînes polypeptidiques appelées CD3γ, CD3δ, CD3ε et CD3ζ. Le CD3 est associé au récepteur des cellules T (TCR) pour former le complexe TCR qui est responsable du développement, de l'activation et des fonctions effectrices des cellules T (1). Les queues intracellulaires des molécules CD3 contiennent un motif conservé unique connu sous le nom d'immunoreceptor tyrosine-based activation motif ou ITAM qui est essentiel pour la capacité de signalisation du TCR (2, 3).

Le CD3 est exprimé dans le cytoplasme des prothymocytes, puis dans les thymocytes médullaires lorsque l'antigène CD3 commence à migrer vers la membrane cellulaire (4). Le CD3 membranaire est exprimé dans toutes les cellules T et les cellules NK matures. L'analyse phénotypique du CD3 peut être menée en détectant les domaines membranaires de surface ou la queue intracellulaire. Le CD3 est un marqueur sélectif de la lignée T et son expression est maintenue sur la plupart des tumeurs à cellules T (5, 6).

Le CD3 est donc inclus dans la vaste majorité des panels de cytométrie en flux pour le diagnostic de maladies lymphoprolifératives à cellules T hématologiques, y compris la leucémie et le lymphome (5, 6, 7). L'analyse immunophénotypique des cellules CD3+ en association avec d'autres phénotypes cellulaires permet la caractérisation facile des différentes sous-populations de cellules T fonctionnelles telles que les cellules T mémoire, effectrices et régulatrices (8).

Une valeur CD3+ relative et absolue est utile pour évaluer l'immunocompétence de certains états d'immunodéficience (par exemple, VIH, après une greffe de cellules souches hématopoïétiques) et la réponse thérapeutique, mais est rarement utilisée pour une décision thérapeutique (9, 10). Le CD3 est également utilisé pour le diagnostic et/ou la surveillance de l'activité des cellules T des patients souffrant d'une immunodéficience primaire ou secondaire, d'une auto-immunité, et présentant une réponse à un traitement immunosuppresseur avec des thérapies à base d'anticorps monoclonaux anti-cellules T et des globulines anti-thymocytes (11, 12, 13, 14, 15, 16).

RÉACTIFS

Concentration : voir le certificat d'analyse spécifique du lot sur www.beckmancoulter.com.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Ne pas utiliser le réactif au-delà de la date de péremption.
2. Ne pas congeler.
3. Laisser le réactif passer à la température ambiante (18–25 °C) avant de l'utiliser.
4. Minimiser l'exposition à la lumière.
5. Éviter la contamination microbienne des réactifs, ou des résultats erronés peuvent se produire.
6. Les solutions d'anticorps contenant de l'azide de sodium (NaN_3) doivent être manipulées avec précautions. Ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau, les muqueuses et les yeux.

En outre, dans un milieu acide, l'azoture de sodium peut former le potentiellement dangereux acide hydrazoïque. S'il doit être éliminé, il est recommandé de diluer le réactif dans un grand volume d'eau avant de le verser dans le système de drainage afin d'éviter l'accumulation d'azoture de sodium dans les tubes métalliques et de prévenir le risque d'explosion.

7. Tous les échantillons de sang doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés avec soin (en particulier : port de gants, de blouses et de lunettes de protection).
8. Ne jamais pipeter à la bouche et éviter tout contact des échantillons avec la peau, les muqueuses et les yeux.
9. Les tubes de prélèvement sanguin et les matériaux jetables utilisés pour la manipulation doivent être éliminés dans des conteneurs appropriés prévus pour incinération.
10. Les réactifs et les déchets doivent être éliminés conformément aux exigences locales.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux

SDS La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse techdocs.beckman.com

CONSERVATION ET STABILITÉ

Les conjugués sous forme liquide doivent être conservés entre 2 et 8 °C à l'abri de la lumière, avant et après ouverture du flacon.

Stabilité du flacon fermé : voir la date de péremption sur le flacon.

Stabilité du flacon ouvert : le réactif est stable pendant 365 jours.

ÉCHANTILLONS

Le sang veineux doit être prélevé avec des tubes stériles contenant un sel EDTA comme anticoagulant.

Les échantillons doivent être conservés à température ambiante (18–25 °C) et ne doivent pas être agités. Les échantillons doivent être homogénéisés par agitation douce avant de prélever l'échantillon de test.

Les échantillons doivent être analysés dans les 24 heures qui suivent la ponction veineuse.

PREUVE DE DÉTÉRIORATION

Tout changement de l'apparence physique des réactifs peut indiquer une détérioration et le réactif ne doit pas être utilisé.

En cas de détérioration de l'emballage ou si les données obtenues indiquent certaines altérations des performances, veuillez contacter notre service Support Technique : 04 91 17 27 27 Fax : 04 91 17 27 25 immuno-techsup@beckmancoulter.com

CONTENU

Les agents de conservation à base d'azoture de sodium peuvent former des composés explosifs dans les conduites d'évacuation métalliques. Voir le bulletin NIOSH : Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Dangers d'explosion de l'azide).
Pour éviter l'accumulation potentielle des composés d'azoture, rincer les tuyaux d'évacuation à l'eau après l'élimination de réactifs non dilués. L'élimination de l'azoture de sodium doit se faire conformément aux réglementations locales en vigueur.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI AVEC CE COFFRET:

- Les tubes d'échantillonnage et le matériel nécessaires pour l'échantillonnage.
- ipettes automatiques aux embouts jetables pour 10, 100 et 500 µL.
- Tubes d'hémolyse en plastique.
- Perles de calibration : Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Réactif de lyse des érythrocytes avec étape de lavage post-lyse. Par exemple : VersaLyse (Réf. A09777).
- Réactif de fixation de leucocyte. Par exemple : Solution fixative IOTest 3 (Réf. A07800).
- Contrôle isotypique APC-AlexaFluor750 : réactif IOTest (Réf. A79393.).
- Tampon (PBS : 0,01 M phosphate de sodium ; 0,145 M chlorure de sodium ; pH 7,2).
- Centrifugeuse.
- Agitateur automatique (type vortex).
- Cytomètre en flux.

PROCÉDURE AVEC RÉACTIF VERSALYSE

Nota Bene : La procédure ci-dessous est valable pour des applications standard. Les volumes d'échantillon et/ou de VersaLyse pour certaines applications Beckman Coulter peuvent être différents. Si tel est le cas, suivre les instructions de la fiche technique de l'application.

Pour chaque échantillon analysé, prévoir en plus du tube test, un tube contrôle dans lequel les cellules seront mises en présence du contrôle isotypique (Réf. A79393.).

1. Ajouter 10 µL d'anticorps conjugué spécifique IOTest à chaque tube test et 10 µL de contrôle isotypique dans chaque tube de contrôle.
2. Ajouter 100 µL de l'échantillon à tester dans les 2 tubes. Vortexer doucement.
3. Incuber pendant 15 à 20 minutes à température ambiante (18–25 °C), à l'abri de la lumière.
4. Procéder, si nécessaire, à la lyse des globules rouges en suivant les recommandations du réactif de lyse utilisé. A titre d'exemple, si l'on souhaite utiliser VersaLyse (Réf. A09777), se reporter à la notice et suivre de préférence la procédure dite « avec fixation concomitante » qui consiste à ajouter 1 mL du mélange "Fix-and-Lyse" préparé extemporanément. Vortexer immédiatement pendant une seconde et incuber 10 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière. Si l'échantillon ne contient pas de globules rouges, ajouter 2 mL de PBS.
5. Centrifuger pendant 5 minutes à 150 x g à température ambiante.

6. Retirer le surnageant par aspiration.
7. Remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant 3 mL de PBS.
8. Répéter l'étape 5.
9. Éliminer le liquide surnageant par aspiration et remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant :

   0,5 mL ou 1 mL de PBS plus 0,1 % de formaldéhyde si les préparations doivent être conservées moins de 24 heures. (Un PBS avec 0,1 % de formaldéhyde peut être obtenu en diluant 12,5 µL de la solution de fixation IOTest 3 (REF A07800) car c'est sa concentration 10x dans 1 mL de PBS).

   0,5 mL ou 1 mL de PBS sans formaldéhyde, si les préparations doivent être conservées dans les 2 heures.

Remarque : dans tous les cas, conserver les préparations entre 2 et 8 °C et à l'abri de la lumière.

VALEURS ATTENDUES

Chaque laboratoire doit établir une liste de valeurs de référence basée sur un groupe de donneurs sains appartenant à la population locale. Ceci doit être fait en tenant compte de l'âge, du sexe, de l'appartenance ethnique, ainsi que de toute autre différence régionale potentielle.

Dans nos laboratoires, le sang total de 50 adultes sains a été traité en utilisant le réactif décrit ci-dessus. Les résultats obtenus pour la numération des événements d'intérêt positifs avec ce réactif sont regroupés dans les tableaux ci-après :

Lymphocytes	Nombre	Moyenne (%)	ET (Écart type)	CV (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

PERFORMANCE

Les données de performance sont obtenues suivant la procédure décrite précédemment sur des échantillons de sang âgé de 24 heures collecté auparavant dans des tubes stériles avec du sel d'EDTA comme anticoagulant. L'analyse est réalisée dans les 2 heures qui suivent l'immunomarquage.

SPÉCIFICITÉ

Les lymphocytes T constituent la majorité des lymphocytes humains du sang périphérique (PBL) (17). Les lymphocytes T sont caractérisés par l'expression de l'antigène CD3 (17, 18). L'antigène CD3 est un complexe de cinq chaînes polypeptidiques : γ, δ, ε, ζ et η; associées au complexe de récepteur de cellule T (TCR) (19).

Les chaînes CD3 sont regroupées dans un groupe de deux dimères invariables, γ/ε et δ/ε associés à un dimère variable qui consiste aux homodimères ζ, aux hétérodimères ζ/η ou ζ/γ FcR (γFcR étant la chaîne γ des récepteurs Fc) ou aux homodimères γFcR (19, 20, 21). Le complexe CD3 associé au TCR est impliqué dans la reconnaissance de peptides liés au complexe majeur d'histocompatibilité de classe I et de classe II au cours de la réponse immunitaire (22).

L'antigène CD3 est exprimé par les lymphocytes T matures et par une sous-population de thymocytes (23).

L'anticorps monoclonal UCHT1 réagit avec la chaîne ε du complexe CD3 (24). Il a été assigné au marqueur de différenciation CD3 lors du 1er Séminaire international sur les Antigènes de différenciation des leucocytes humains à Paris, France en 1982 (25).

REPRODUCTIBILITE INTRA-LABORATOIRE

Le même jour et sur le même cytomètre, 12 déterminations du pourcentage de marquage d'une cible positive ont été menées. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau suivant :

Cible positive	Nombre	Moyenne (%)	ET (Écart type)	CV (%)
Lymphocytes CD3-APC-A750 +	12	74,76	0,52	0,70

Linéarité

Pour tester la linéarité du marquage de ce réactif, une lignée cellulaire positive ((HPBALL)) et une lignée cellulaire négative ((DAUDI)) ont été mélangées en différentes proportions et à quantité cellulaire finale constante, de manière à ce que le rapport lignée positive / lignée négative du mélange s'échelonne de 0 à 100 %.

Des aliquotes ont été marquées selon la procédure décrite ci-dessus et la régression linéaire entre valeurs attendues et valeurs observées a été calculée.

Spécificité	Régression linéaire	Linéarité (R2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

LIMITES

1. La cytométrie en flux peut produire des résultats erronés si le cytomètre n'a pas été parfaitement aligné, si les fuites de fluorescence n'ont pas été correctement compensées et si les régions n'ont pas été soigneusement positionnées.
2. Utiliser de préférence une technique de lyse des globules rouges avec lavage car ce réactif n'a pas été optimisé pour les techniques de lyse dites "sans lavage".
3. Des résultats précis et reproductibles seront obtenus tant que les procédures utilisées sont en conformité avec la notice technique et compatibles avec les bonnes pratiques de laboratoire.
4. L'anticorps conjugué de ce réactif est étalonné de manière à offrir le meilleur ratio de signal spécifique/signal non spécifique. Par conséquent, il est important de respecter le ratio de volume de réactif/volume d'échantillon à chaque test.
5. En cas d'hyperleucocytose, diluer le sang dans du PBS de façon à obtenir une valeur d'approximativement 5 x 10^9 leucocytes/L (26).
6. Dans certains états pathologiques, tels qu'une grave insuffisance rénale ou une hémoglobinopathie, la lyse des globules rouges peut être lente, incomplète ou même impossible. Dans ce cas, il est recommandé d'isoler les cellules mononucléées à l'aide d'un gradient de densité (Ficoll, par exemple) avant la coloration (27).
7. En raison de la structure en tandem du fluorochrome, APC-AlexaFluor750 émet également à 660 nm. Ce pic d'émission secondaire varie d'un lot de APC-AlexaFluor750 à l'autre. Par conséquent, pour une analyse multi-couleur, la matrice de compensation doit être soigneusement vérifiée lors du changement de conjugué-APC-AlexaFluor750 .

Voir l'annexe pour des exemples et des références.

MARQUES

Beckman Coulter, le logo stylisé et les marques des produits et des services Beckman Coulter mentionnées ici sont des marques ou des marques déposées de Beckman Coulter, Inc. aux États-Unis et dans d'autres pays.

Alexa Fluor est une marque de Molecular Probes, Inc.

Légende des symboles

Un glossaire des symboles est disponible sur beckmancoulter.com/techdocs (document numéro B60062)

	Spezifikationen
Spezifität	CD3
Klon	UCHT1
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	T cell line + IL2
Immunglobulin	IgG1
Spezies	Maus
Aufreinigung	Affinitätschromatografie
Fluorochrom	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Molverhältnis	APC-AlexaFluor750/Ig: 0,5-1,5
λ-Anregung	633/638 nm
Emissionspeak	775 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA und 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugierter Antikörper CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Zur Verwendung als *In vitro*-Diagnostikum

VERWENDUNGSZWECK

Dieser mit einem Fluorochrom konjugierte Antikörper dient zur Identifikation und Zählung im Durchflusszytometer von CD3-Antigen exprimierenden Zellpopulationen in menschlichen biologischen Proben.

PRINZIP

Dieser Test basiert auf der Fähigkeit bestimmter monoklonaler Antikörper, an die durch Leukozyten exprimierten antigenen Determinanten zu binden.

Die spezifische Färbung der Leukozyten erfolgt durch Inkubation der Probe mit dem IOTest-Reagenz. Die Erythrozyten können dann mittels Lyse entfernt werden. Die von diesem Vorgang unberührten Leukozyten werden mittels Durchflusszytometrie analysiert.

Das Durchflusszytometer misst die Lichtstreuung und die Fluoreszenz der Zellen. Es ermöglicht die Abgrenzung der gewünschten Population innerhalb des auf einem Histogramm definierten elektronischen Fensters, welches die orthogonale Lichtstreuung (Seitwärtsstreuung, SW) und die Streuung des Lichts im flachen Winkel (Vorwärtsstreuung, VW) in Beziehung zueinander setzt. Andere Histogramme, die zwei der auf dem Zytometer verfügbaren Parameter kombinieren, können zur Unterstützung beim Gating eingesetzt werden, je nachdem welche Anwendung der Benutzer ausgewählt hat.

Die Fluoreszenz der einzelnen Zellen wird analysiert, um die positiv angefärbten Ereignisse von den nicht angefärbten zu unterscheiden. Die Ergebnisse werden als Prozentsatz positiver Ereignisse relativ zu allen durch das Gating erfassten Ereignissen angegeben.

BEISPIELE KLINISCHER ANWENDUNGEN

CD3 ist ein Membranprotein, das vier Arten an Polypeptid-Ketten enthält. Diese sind CD3γ, CD3δ, CD3ε und CD3ζ. CD3 ist mit dem T-Zell Rezeptor (TCR) assoziiert, um den TCR-Komplex zu bilden, der für die T-Zell-Entwicklung, Aktivierung und Effektorfunktionen zuständig ist (1). Die innerzellulären Enden der CD3-Moleküle enthalten ein einzelnes konserviertes Motiv bekannt als tyrosinbasiertes Immunorezeptor-Aktivierungsmotiv oder ITAM, das wesentlich für die Signalkapazität des TCR ist (2, 3).

CD3 wird im Zytoplasma von Pro-Thymozyten und dann in medullären Thymozyten exprimiert, wenn das CD3-Antigen beginnt, zur Zellmembran zu migrieren (4). Membran-CD3 wird in allen reifen T-Zellen und NK-T-Zellen exprimiert. Eine phänotypische Analyse von CD3 kann durch Erkennen der Oberflächenmembrandomänen oder des innerzellulären Endes durchgeführt werden. CD3 ist ein T-Linien-selektiver Marker und seine Exprimierung wird bei den meisten T-Zell-Erkrankungen beibehalten (5, 6).

CD3 ist daher in der großen Mehrheit der Durchflusszytometriepanels zur Diagnose von hämatologischen lymphoproliferativen T-Zell-Krankheiten, einschließlich Leukämie und Lymphome, enthalten.(5, 6, 7). Immunphänotypische Analysen von CD3+-Zellen in Verbindung mit anderen Zellphänotypen ermöglichen die schnelle Charakterisierung verschiedener funktionaler T-Zell-Untergruppen, wie z. B. Speicherzellen, Effektorzellen und regulative T-Zellen (8).

Relatives und absolutes CD3+ ist nützlich bei der Bewertung der Immunkompetenz bestimmter Immundefizienzstatusreaktionen (z. B. HIV, post-hämatopoetische Stammzellentransplantation) und Therapiereaktionen, wird jedoch selten bei Behandlungsentscheidungen verwendet (9, 10). CD3 wird zudem zur Diagnose und/oder zum Überwachen der T-Zell-Aktivitäten bei Patienten mit primärer oder sekundärer Immundefizienz, Autoimmunität und Reaktionen auf Immunsuppressionstherapien mit monoklonalen Anti-T-Zell-Therapien und Anti-Thymus-Globulin verwendet (11, 12, 13, 14, 15, 16).

REAGENZIEN

Konzentration: Siehe chargenspezifisches Analysezertifikat unter www.beckmancoulter.com.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Das Reagenz nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden.
2. Nicht einfrieren.
3. Vor der Verwendung auf Raumtemperatur (18–25 °C) bringen.
4. Vor Licht schützen.
5. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien muss vermieden werden, damit kein falsches Ergebnis erzielt wird.
6. Antikörperlösungen, die Natriumazid (NaN_3) enthalten, vorsichtig handhaben. Nicht einnehmen und Berührungen mit Haut, Schleimhäuten und Augen vermeiden.

Zudem kann Natriumazid in einem sauren Medium zur Bildung potenziell gefährlicher Stickstoffwasserstoffsäure führen. Zur Entsorgung des Reagenzes wird empfohlen, das Reagenz mit viel Wasser zu verdünnen, bevor es in das Abwassersystem gegossen wird, um einer Ansammlung von Natriumazid in den Metallrohren und dem Risiko einer Explosion vorzubeugen.

7. Blutproben sind als potenziell infektiös zu betrachten und müssen mit Vorsicht gehandhabt werden (insbesondere durch Tragen von Schutzhandschuhen, -kittel und -brille).
8. Nie mit dem Mund pipettieren und jeglichen Kontakt der Proben mit der Haut, den Schleimhäuten und den Augen vermeiden.
9. Blutröhrchen und Einwegmaterial, das zur Handhabung verwendet wird, müssen in dafür vorgesehenen, für die Verbrennung bestimmten Behältern entsorgt werden.
10. Reagenzien und Abfälle sind entsprechend den örtlichen Anforderungen zu entsorgen.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft

SDS Das Sicherheitsdatenblatt ist auf beckman.com/techdocs verfügbar.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Die flüssigen konjugierten Formen werden vor und nach Öffnen des Fläschchens bei 2 bis 8 °C vor Lichteinstrahlung geschützt aufbewahrt.

Stabilität geschlossener Fläschchen: siehe Verfallsdatum auf dem Fläschchen.

Stabilität geöffneter Fläschchen: Das Reagenz ist 365 Tage lang stabil.

PROBEN

Venöses Blut muss mit sterilen Röhrchen entnommen werden, die ein EDTA-Salz als Antikoagulanz enthalten.

Die Proben bei Raumtemperatur (18–25 °C) aufbewahren und nicht schütteln. Die Proben vor Entnahme der Testprobe durch vorsichtiges Schütteln homogenisieren.

Die Proben müssen innerhalb von 24 Stunden analysiert werden.

VERFALLSANZEICHEN

Ein verändertes Aussehen der Reagenzien kann ein Verfallsanzeichen sein. Entsprechende Reagenzien dürfen nicht verwendet werden.

Wenn die Verpackung beschädigt ist oder die erhaltenen Daten irgendwelche Leistungsänderungen anzeigen, kontaktieren Sie Ihren lokalen Vertriebshändler oder wenden sich an folgende E-Mail-Adresse: immuno-techsup@beckmancoulter.com

INHALT

Natriumazid als Konservierungsmittel kann in metallischen Abflussleitungen explosive Verbindungen bilden. Siehe NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (NIOSH-Bulletin: Gefahr durch explosive Azide).
Um eine mögliche Akkumulation von Azidverbindungen zu vermeiden, die Abwasserrohre nach der Entsorgung von unverdünntem Reagenz mit Wasser spülen. Natriumazid muss entsprechend den örtlichen behördlichen Vorschriften entsorgt werden.

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT IM KIT ENTHALTENE ARTIKEL:

- Probenahmeröhrchen und für die Probenahme benötigte Materialien.
- Automatische Pipetten mit Einwegspritzen für 10, 100 und 500 µL.
- Hämolyseröhrchen aus Kunststoff.
- Beads zur Kalibrierung: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Reagenz zur Lyse der Erythrozyten mit Waschstufe nach der Lyse. Beispiel: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagenz zur Leukozytenfixierung. Beispiel: IOTest 3-Fixierungslösung (Ref. A07800).
- Isotypiekontrolle APC-AlexaFluor750 : IOTest-Reagenz (Art. A79393.).
- Puffer (PBS: 0,01 M Natriumphosphat; 0,145 M Natriumchlorid; pH 7,2).
- Zentrifuge.
- Automatisches Mischgerät (Typ Vortex-Mischer).
- Durchflusszytometer.

VERFAHREN MIT VERSALYSE-REAGENZ

HINWEIS: Das nachfolgende Verfahren gilt für Standardanwendungen. Die Probe- und/oder VersaLyse-Mengen können bei einigen Beckman Coulter-Anwendungen abweichen. In diesem Fall sind die Anleitungen des technischen Datenblatts der Anwendung zu befolgen.

Für jede getestete Probe zusätzlich zum Teströhrchen ein Kontrollröhrchen vorsehen, in dem die Zellen mit der Isotypiekontrolle in Kontakt gebracht werden (Art. A79393.).

1. 10 µL des spezifischen, konjugierten IOTest-Antikörpers in jedes Teströhrchen und 10 µL der Isotypkontrolle in jedes Kontrollröhrchen geben.
2. In beiden Röhrchen 100 µL der zu testenden Probe hinzufügen. Leicht rütteln (Vortex).
3. Bei Raumtemperatur (18–25 °C) 15 bis 20 Minuten lang lichtgeschützt inkubieren.
4. Falls erforderlich eine Erythrolyse durchführen und dabei die Anleitungen des angewendeten Lysereagenzes befolgen. Wenn Sie z. B. VersaLyse (Art. A09777) verwenden möchten, sollten Sie sich nach der Anleitung richten und am besten das Verfahren “mit gleichzeitiger Fixation“ anwenden, das darin besteht 1 mL der frisch zubereiteten “Fix-and-Lyse”-Mischung hinzufügen. Sofort eine Sekunde lang rütteln und 10 Minuten bei Raumtemperatur und vor Lichteinstrahlung geschützt inkubieren. Wenn die Probe keine roten Blutkörperchen enthält, 2 mL PBS hinzufügen.
5. Bei 150 x g 5 Minuten lang bei Raumtemperatur zentrifugieren.

6. Den Überstand absaugen.
7. Das Zellpellet in 3 mL PBS resuspendieren.
8. Schritt 5 wiederholen.
9. Den Überstand absaugen und das Zellpellet resuspendieren mit:

   0,5 mL oder 1 mL PBS plus 0,1 % Formaldehyd, wenn die Präparate weniger als 24 Stunden erhalten werden sollen. (0,1 % Formaldehyd-PBS kann durch Verdünnen von 12,5 µL der IOTest 3-Fixierlösung (REF A07800) bei 10 x Konzentration in 1 mL PBS erhalten werden.)

   0,5 mL oder 1 mL PBS ohne Formaldehyd, wenn die Präparate innerhalb von weniger als 2 Stunden analysiert werden sollen.

Hinweis: Die Präparate in jedem Fall zwischen 2 und 8 °C und vor Licht geschützt aufbewahren.

ERWARTETE WERTE

Jedes Labor muss eine Liste von Referenzwerten erstellen, die auf einer Gruppe von gesunden Spendern aus der lokalen Population beruht. Dies hat unter Berücksichtigung von Alter, Geschlecht, ethnischer Zugehörigkeit sowie allen anderen potentiellen regionalen Unterschieden zu erfolgen.

In unseren Laboren wurde Vollblut von 50 gesunden Erwachsenen unter Anwendung des oben beschriebenen Reagenzes behandelt. Die mit diesem Reagenz für die Zählung der relevanten positiven Ereignisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst :

Lymphozyten	Nummer	Mittelwert (%)	SD	VK (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

LEISTUNG

Die Leistungsdaten wurden mit der oben beschriebenen Prozedur aus 24 h alten Blutproben ermittelt, die in sterilen Röhrchen mit EDTA-Salz als Antigerinnungsmittel gesammelt wurden. Die Analyse wird innerhalb von 2 Stunden nach dem Immunostaining durchgeführt.

SPEZIFITÄT

T-Lymphozyten stellen die Mehrheit der menschlichen peripheren Blut-Lymphozyten (PBL) dar (17). T-Lymphozyten werden durch die Exprimierung des CD3-Antigens charakterisiert (17, 18). Das CD3-Antigen ist ein Komplex aus 5 Polypeptidketten: γ, δ, ε, ζ und η; mit dem T-Zell-Rezeptor (TCR)-Komplex assoziiert (19).

Die CD3-Ketten sind in einer Gruppe aus zwei invarianten Dimern gebündelt, γ/ε und δ/ε assoziiert mit einem variablen Dimer, der aus ζ-Homodimern oder ζ/η- oder ζ/γ FcR-Heterodimern (wobei γFcR die γ-Kette der Fc-Rezeptoren ist) oder γFcR-Homodimern besteht (19, 20, 21). Der CD3-Komplex, der mit dem TCR assoziiert ist, ist bei der Erkennung von Peptiden beteiligt, die während der Immunreaktion an die Haupthistokompatibilitätskomplexklassen I und II gebunden sind (22).

Das Antigen CD3 wird von reifen T-Lymphozyten und von einer Thymozyten-Untergruppe exprimiert.23

Der monoklonale UCHT1-Antikörper reagiert mit der ε-Kette des CD3-Komplexes (24). Er wurde beim ersten internationalen Workshop zu menschlichen Leukoyzten-Differenzierungsantigenen in Paris, Frankreich im Jahr 1982 der CD3-Unterscheidungsgruppe zugeordnet (25).

REPRODUZIERBARKEIT INNERHALB EINES LABORS

Am gleichen Tag und am gleichen Zytometer wurden 12 prozentuale Analysen der Markierung eines Positiv-Targets durchgeführt. Die erzielten Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Positives Ziel	Nummer	Mittelwert (%)	SD	VK (%)
Lymphozyten CD3-APC-A750 +	12	74,76	0,52	0,70

Linearität

Zum Testen der Markierungslinearität dieses Reagenzes wurden eine positive ((HPBALL)) und eine negative ((DAUDI)) Zellpopulation in unterschiedlichen Proportionen, jedoch bei gleichbleibender endgültiger Zellmenge vermischt, so dass sich das Verhältnis zwischen positiver und negativer Population der Mischung zwischen 0 und 100 % bewegt.

Es wurden gemäß dem vorausgehend beschriebenen Verfahren Aliquote markiert und die lineare Regression zwischen den erwarteten und beobachteten Werten berechnet.

Spezifität	Lineare Regression	Linearität (R2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Die Durchflusszytometrie kann falsche Ergebnisse liefern, wenn das Zytometer nicht perfekt ausgerichtet wurde, wenn Fluoreszenzlecks nicht korrekt kompensiert wurden und wenn die Bereiche nicht sorgfältig positioniert wurden.
2. Vorzugsweise sollte eine Lysetechnik der Erythrozyten mit Waschschritten angewendet werden, da dieses Reagenz nicht für Lysetechniken ohne Waschschritte optimiert wurde.
3. Genaue und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, sofern die verwendeten Verfahren der technischen Packungsbeilage entsprechen und mit der guten Laborpraxis kompatibel sind.
4. Der konjugierte Antikörper dieses Reagenzes ist so kalibriert, dass er das beste Verhältnis von spezifischem zu unspezifischem Signal bietet. Daher ist es wichtig, das Verhältnis Reagenzvolumen/Probenvolumen bei jedem Test einzuhalten.
5. Im Falle einer Hyperleukozytose das Blut in PBS verdünnen, um einen Wert von ungefähr 5 x 10^9 Leukozyten/L zu erhalten(26).
6. Bei bestimmten Krankheitszuständen, beispielsweise einem schweren Nierenversagen oder Hämoglobinopathien, kann die Lyse der Erythrozyten möglicherweise nur langsam oder unvollständig erfolgen oder sogar unmöglich sein. In diesem Fall empfiehlt es sich, vor dem Färben einkernige Zellen mittels eines Dichtegradienten (beispielsweise Ficoll) zu isolieren (27).

7. Aufgrund der Tandem-Struktur des Fluorochroms emittiert APC-AlexaFluor750 auch Licht mit 660 nm. Diese zweite Emissionsspitze variiert bei jeder APC-AlexaFluor750 -Charge. Deshalb sollte bei der mehrfarbigen Analyse die Kompensationsmatrix beim Wechsel der Charge eines APC-AlexaFluor750 -Konjugats sorgfältig überprüft werden.

Beispiele und Literaturhinweise siehe Anhang.

MARKEN

Beckman Coulter, das stilisierte Logo und die in diesem Dokument erwähnten Beckman Coulter-Produkt- und Dienstleistungsmarken sind in den USA und anderen Ländern Marken oder eingetragene Marken von Beckman Coulter, Inc.

Alexa Fluor ist eine Marke von Molecular Probes, Inc.

Liste der Symbole

Das Glossar der Symbole ist auf beckman.com/techdocs (Dokumentnummer B60062) verfügbar.

	Specifiche
Specificità	CD3
Clone	UCHT1
Ibridoma	NS1 x balb/c
Immunogeno	T cell line + IL2
Immunoglobulina	IgG1
Specie	Topo
Purificazione	Cromatografia di affinità
Fluorocromo	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Rapporto molare	APC-AlexaFluor750 / Ig: 0,5-1,5
Eccitazione λ	633/638 nm
Picco di emissione	775 nm
Tampone	PBS pH 7,2 più 2 mg/mL di BSA e NaN_3 0,1%

IOTest

Anticorpo coniugato CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Per uso diagnostico *in vitro*

USO PREVISTO

Questo anticorpo coniugato a un fluorocromo consente l'identificazione e la numerazione delle popolazioni cellulari che esprimono l'antigene CD3, presenti nei campioni biologici umani analizzati in citometria a flusso.

PRINCIPIO

Questo test si basa sulla capacità di specifici anticorpi monoclonali di legarsi ai determinanti antigenici espressi dai leucociti.

La colorazione specifica dei leucociti viene eseguita incubando il campione con il reagente IOTest. Gli eritrociti vengono quindi rimossi tramite lisi e i leucociti, non interessati da questo processo, vengono analizzati tramite citometria a flusso.

Il citometro a flusso misura la diffusione di luce e la fluorescenza delle cellule. Ciò consente la delimitazione della popolazione di interesse con la finestra elettronica definita in un istogramma, che correla la diffusione ortogonale della luce (scattering laterale o SS) e la diffusione della luce ad angolo stretto (scattering frontale o FS). Altri istogrammi che combinano due dei diversi parametri disponibili sul citometro possono essere usati come supporti nella fase di determinazione del gate in base alle applicazioni scelte dall'utente.

La fluorescenza delle cellule delimitate viene analizzata per distinguere gli eventi colorati in modo positivo e quelli non colorati. I risultati sono espressi come percentuale di eventi positivi in relazione a tutti gli eventi acquisiti mediante determinazione del gate.

ESEMPI DI APPLICAZIONI CLINICHE

CD3 è una proteina transmembranica contenente quattro tipi di catene polipeptidiche, ovvero CD3γ, CD3δ, CD3ε e CD3ζ. CD3 è associata al recettore del linfocita T (TCR) per formare il complesso TCR, responsabile dello sviluppo, dell'attivazione e delle funzioni di effettore del linfocita T (1). Le code intracellulari delle molecole CD3 contengono un'unica sequenza conservata, nota come sequenza di attivazione dell'immunorecettore basata sulla tirosina o ITAM, essenziale per la capacità di segnalazione del TCR (2, 3).

Il CD3 viene espresso nel citoplasma dei protimociti e quindi nei timociti midollari quando l'antigene CD3 inizia a migrare nella membrana cellulare (4). Il CD3 della membrana è espresso in tutti i linfociti T maturi e sulle cellule NK-T. L'analisi fenotipica di CD3 può essere svolta rilevando i domini di membrana sulla superficie o la coda intracellulare. Il CD3 è un marcatore selettivo della linea T e la sua espressione viene mantenuta sulla maggior parte delle malignità dei linfociti T (5, 6).

CD3 viene quindi inclusa nella vasta maggioranza dei pannelli di citometria a flusso per la diagnosi di malattie ematologiche linfoproliferative delle cellule T incluse leucemia e linfoma (5, 6, 7). L'analisi immunofenotipica delle cellule CD3+ effettuata unitamente ad altri fenotipi cellulari consente una rapida caratterizzazione dei vari sottogruppi funzionali di cellule T come cellule della memoria, cellule effettrici e cellule T regolatorie (8).

Il CD3+ relativo e assoluto è utile per valutare la funzione immunitaria di un certo stato di immunodeficienza (ad esempio l'HIV, il trapianto di cellule staminali post ematopoietiche) e la risposta della terapia, ma viene utilizzato raramente per la decisione del trattamento (9, 10). Il CD3 viene anche utilizzato per la diagnosi e/o il monitoraggio dell'attività dei linfociti T dei pazienti con immunodeficienza primaria o secondaria, autoimmunità e risposta alla terapia di immunosoppressione con terapie anti linfociti T monoclonali e globulina antitimo (11, 12, 13, 14, 15, 16).

REAGENTI

Concentrazione: vedere il certificato di analisi specifico per il lotto su www.beckmancoulter.com.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza.
2. Non congelare.
3. Prima dell'uso, portare a temperatura ambiente (18-25 °C).
4. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce.
5. Evitare la contaminazione microbica dei reagenti, poiché potrebbe falsare i risultati.
6. Le soluzioni di anticorpi che contengono sodio azide (NaN_3) devono essere maneggiate con cura. Non ingerire ed evitare qualsiasi contatto con cute, mucose e occhi.

Inoltre, in un mezzo acido, il sodio azide può formare acido idrazoico, che è potenzialmente pericoloso. Per lo smaltimento, si consiglia di diluire il reagente in un grande volume di acqua prima di versarlo nell'impianto di scarico, in modo da evitare l'accumulo di sodio azide nelle tubazioni metalliche ed evitare il rischio di esplosione.

7. Tutti i campioni di sangue devono essere considerati potenzialmente infetti e devono essere maneggiati con cura (in particolare, indossando guanti, camici e occhiali protettivi).
8. Non pipettare con la bocca ed evitare il contatto dei campioni con la pelle, le mucose e gli occhi.
9. Le provette per il sangue e i materiali monouso usati per la manipolazione devono essere smaltiti in appositi contenitori destinati all'inceneritore.
10. I reagenti e i rifiuti devono essere smaltiti conformemente alla normative locali.

CLASSIFICAZIONE DEI PERICOLI GHS

Classificato come non pericoloso

SDS La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile all'indirizzo beckman.com/techdocs

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Le forme liquide coniugate devono essere conservate a una temperatura compresa tra i 2 e gli 8 °C e al riparo dalla luce, prima e dopo l'apertura della fiala.

Stabilità di una fiala chiusa: vedere la data di scadenza sulla fiala.

Stabilità di una fiala aperta: il reagente è stabile per 365 giorni.

CAMPIONI

I campioni di sangue venoso devono essere prelevati utilizzando provette sterili contenenti un sale EDTA come anticoagulante.

I campioni devono essere conservati a temperatura ambiente (18-25 °C) e non devono essere agitati. I campioni devono essere omogeneizzati agitandoli con delicatezza prima di prelevare il campione per il test.

I campioni devono essere analizzati entro 24 ore dalla venipuntura.

INDICI DI DETERIORAMENTO

Qualsiasi cambiamento dell'aspetto fisico dei reagenti può indicare un deterioramento. In tale caso, non utilizzare il reagente.

In caso di deterioramento dell'imballaggio o se i dati ottenuti presentano alcune alterazioni nelle prestazioni, rivolgersi al distributore locale o inviare un'e-mail al seguente indirizzo:

SOMMARIO

Il conservante sodio azide può formare composti esplosivi nelle tubazioni metalliche di scarico. Vedere il bollettino NIOSH: Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Bollettino dell'Istituto Nazionale per la Sicurezza e la Salute sul Lavoro: Rischio di esplosione del sodio azide).
Per evitare il possibile accumulo di azidi, lavare i tubi di scarico con acqua dopo lo smaltimento del reagente puro. Il sodio azide deve essere eliminato conformemente alle normative locali applicabili.

COMPONENTI NECESSARI MA NON FORNITI CON IL KIT:

- Provette per campioni e materiale necessario per il campionamento.
- Pipette automatiche con punte monouso per 10, 100 e 500 µL.
- Provette per emolisi in plastica.
- Sfere di calibrazione: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Reagente per lisi degli eritrociti con fase di lavaggio successiva alla lisi. Ad esempio: VersaLyse (Rif. A09777).
- Reagente di fissaggio dei leucociti. Ad esempio: Soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800).
- Controllo isotipico APC-AlexaFluor750 : reagente IOTest (Rif. A79393.).
- Tampone (PBS: 0,01 M di fosfato di sodio, 0,145 M di cloruro di sodio, pH 7,2).
- Centrifugare.
- Agitatore automatico (tipo Vortex).
- Citometro a flusso.

PROCEDURA CON REAGENTE VERSALYSE

N.B.: La procedura seguente è valida per delle applicazioni standard. I volumi di campione e/o di VersaLyse per certe applicazioni Beckman Coulter possono essere diversi. In questo caso, seguire le istruzioni della scheda tecnica di applicazione.

Per ogni campione analizzato, è necessario prevedere, oltre alla provetta test, 1 provetta di controllo nella quale saranno messe le cellule in presenza del controllo isotipico (Rif. A79393.).

1. Aggiungere 10 µL di anticorpi coniugati IOTest in ciascuna provetta e 10 µL di controllo isotipico in ciascuna provetta di controllo.
2. Aggiungere 100 µL del campione da testare nelle 2 provette. Agitare delicatamente nell'agitatore.
3. Incubare a temperatura ambiente (18-25 °C) per 15-20 minuti, al riparo dalla luce.
4. Se necessario, procedere alla lisi dei globuli rossi attenendosi alle raccomandazioni del reagente di lisi utilizzato. A titolo di esempio, qualora si desiderasse utilizzare VersaLyse (Rif. A09777), vedere la scheda tecnica e seguire preferibilmente la procedura « con fissaggio concomitante » che consiste nell'aggiungere 1 mL di una miscela di "Fix-and-Lyse", preparata estemporaneamente. Agitare immediatamente al Vortex per un secondo e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente e al riparo dalla luce. Se il campione non contiene globuli rossi, aggiungere 2 mL di PBS.
5. Centrifugare per 5 minuti a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Rimuovere il surnatante mediante aspirazione.

7. Risospendere il pellet cellulare utilizzando 3 mL di PBS.
8. Ripetere il passaggio 5.
9. Eliminare il surnatante tramite aspirazione e risospendere il pellet cellulare tramite:

   0,5 mL o 1 mL di PBS più 0,1% di formaldeide, se i preparati devono essere conservati meno di 24 ore. (È possibile ottenere PBS con formaldeide allo 0,1% diluendo 12,5 µL di soluzione fissante IOTest 3 (REF A07800) alla concentrazione di 10x in 1 mL di PBS).

   0,5 mL o 1 mL di PBS senza formaldeide, se i preparati devono essere analizzati entro 2 ore.

Nota: in tutti i casi, mantenere i preparati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce.

VALORI ATTESI

Ogni laboratorio deve redigere un elenco di valori di riferimento basato su un gruppo di donatori sani appartenenti alla popolazione locale. Ciò deve essere fatto tenendo conto dell'età, del sesso, dell'appartenenza etnica e di qualsiasi altra potenziale differenza regionale.

Nei nostri laboratori, sono stati analizzati i campioni di sangue intero di 50 soggetti adulti sani utilizzando il reagente sopra descritto. Nelle seguenti tabelle sono riportati i risultati ottenuti con questo reagente per la numerazione dei casi risultati positivi :

Linfociti	Numero	Media (%)	SD	CV (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

PRESTAZIONI

I dati relativi alla performance sono ottenuti utilizzando la procedura sopra descritta su campioni di sangue raccolti da 24 ore in provette sterili, utilizzando un sale di EDTA come anticoagulante. L'analisi è effettuata entro le 2 ore successive all'immunostaining.

SPECIFICITÀ

I linfociti T costituiscono la maggioranza dei linfociti del sangue periferico umano (PBL) (17). I linfociti T sono caratterizzati dall'espressione dell'antigene CD3 (17, 18). L'antigene CD3 è un complesso di 5 catene polipeptidiche: γ, δ, ε, ζ e η; associate al complesso dei recettori dei linfociti T (TCR) (19).

Le catene CD3 vengono aggregate in un gruppo di due varianti di dimeri, γ/ε e δ/ε associate a un dimero variabile composto da ζ omodimeri, o ζ/η, o ζ/γ FcR eterodimeri (dove γFcR è la catena γ dei recettori Fc), o γFcR omodimeri (19, 20, 21). Il complesso CD3 associato al TCR è coinvolto nel riconoscimento dei peptidi legati al complesso maggiore di istocompatibilità classe I e II durante la risposta immunitaria (22).

L'antigene CD3 si esprime nei linfociti T maturi e in un sottogruppo di timociti (23).

L'anticorpo monoclonale UCHT1 reagisce con la catena ε del complesso CD3(24). È stato assegnato al cluster CD3 di differenziazione al 1° Workshop sugli antigeni di differenziazione dei leucociti umani, tenutosi a Parigi, Francia, nel 1982 (25).

RIPRODUCIBILITÀ INTRALABORATORIO

Lo stesso giorno e con lo stesso citometro, sono state effettuate 12 determinazioni della percentuale di marcatura di un target positivo. Nelle seguenti tabelle sono riportati i risultati ottenuti:

Target positivo	Numero	Media (%)	SD	CV (%)
Linfociti CD3-APC-A750 +	12	74,76	0,52	0,70

Linearità

Per testare la linearità di marcatura di questo reagente, sono state mescolate, in proporzioni diverse pur mantenendo costante il numero totale di cellule, una linea cellulare positiva ((HPBALL)) e una linea cellulare negativa ((DAUDI)). Il rapporto linea cellulare positiva / negativa fornisce un dato lineare ordinabile su una scala da 0 a 100%.

Alcune aliquote sono state testate in base alla procedura descritta sopra. È stata inoltre calcolata la regressione lineare tra valori attesi e valori osservati.

Specificità	Regressione lineare	Linearità (R2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

LIMITAZIONI

1. La citometria a flusso può produrre falsi risultati se il citometro non viene allineato perfettamente, le perdite di fluorescenza non vengono correttamente compensate e le regioni non vengono posizionate attentamente.
2. È preferibile utilizzare una tecnica di lisi degli eritrociti con lavaggio perché il reagente non è stato ottimizzato per le cosiddette tecniche di lisi "senza lavaggio".
3. Seguendo le procedure descritte nel foglietto illustrativo con le informazioni tecniche, compatibili con le buone pratiche di laboratorio, è possibile ottenere risultati accurati e riproducibili.
4. L'anticorpo coniugato di questo reagente è calibrato in modo da offrire un rapporto segnale specifico/segnale non specifico ottimale. Di conseguenza, è importante rispettare il rapporto fra volume di reagente e volume di campione in tutti i test.
5. In caso di iperleucocitosi, diluire il sangue in PBS in modo da ottenere un valore di circa 5 x 10^9 leucociti/L (26).
6. In alcuni stati patologici, come insufficienza renale grave o emoglobinopatie, la lisi degli eritrociti può risultare lenta, incompleta o persino impossibile. In questo caso, è consigliabile isolare le cellule mononucleate usando un gradiente di densità (ad esempio, Ficoll) prima della colorazione (27).
7. A causa della struttura tandem del fluorocromo, APC-AlexaFluor750 emette anche luce a 660 nm. Questo picco di emissione secondaria varia in base al lotto di APC-AlexaFluor750 . Pertanto, per l'analisi multicolore, la matrice di compensazione deve essere attentamente verificata quando si cambia il lotto di un coniugato APC-AlexaFluor750 .

Per esempi e riferimenti, vedere l'appendice.

MARCHI COMMERCIALI

Beckman Coulter, il logo stilizzato ed i marchi commerciali dei prodotti e servizi di Beckman Coulter menzionati qui, sono marchi commerciali o marchi commerciali registrati di Beckman Coulter, Inc., negli Stati Uniti e in altri paesi.

Alexa Fluor è un marchio commerciale di Molecular Probes, Inc.

Legenda dei simboli

Il Glossario dei simboli è disponibile all'indirizzo beckman.com/techdocs (documento numero B60062)

	Especificaciones
Especificidad	CD3
Clon	UCHT1
Hibridoma	NS1 x balb/c
Inmunógeno	T cell line + IL2
Inmunoglobulina	IgG1
Especie	Ratón
Purificación	Cromatografía de afinidad
Fluorocromo	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Proporción molar	APC-AlexaFluor750 / Ig: 0,5-1,5
Excitación λ	633/638 nm
Pico de emisión	775 nm
Tampón	PBS pH 7,2 más 2 mg/mL BSA y 0,1 % NaN_3

IOTest
Anticuerpo conjugado CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Para uso diagnóstico *in vitro*

USO PREVISTO

Este anticuerpo conjugado a un fluorocromo permite la identificación y la numeración de las poblaciones celulares que expresan el antígeno CD3 presentes en muestras biológicas humanas por citometría de flujo.

PRINCIPIO

Esta prueba se basa en la capacidad de anticuerpos monoclonales específicos para unirse a los determinantes antigénicos expresados por leucocitos.

La tinción específica de los leucocitos se realiza incubando la muestra con el reactivo IOTest. A continuación, se eliminan los eritrocitos mediante lisis y los leucocitos, que no se ven afectados por este proceso, se analizan mediante citometría de flujo.

El citómetro de flujo mide la dispersión de la luz y la fluorescencia de las células. Permite acotar la población de interés dentro de una ventana electrónica, definida en un histograma que correlaciona la dispersión lateral de luz (Side Scatter o SS) con la dispersión frontal de la luz (Forward Scatter o FS). Se pueden utilizar otros histogramas que combinen dos de los distintos parámetros disponibles en el citómetro como apoyo para la fase de selección en función de la aplicación utilizada por el usuario.

La fluorescencia de las células acotadas se analiza para distinguir los eventos con tinción positiva de los eventos sin teñir. Los resultados se expresan como un porcentaje de eventos positivos en relación con todos los eventos adquiridos mediante la selección.

EJEMPLOS DE APLICACIONES CLÍNICAS

El CD3 es una proteína transmembrana que contiene cuatro tipos de cadenas de polipéptidos, específicamente CD3γ, CD3δ, CD3ε y CD3ζ. El CD3 está unido al receptor de células T (TCR) para formar el complejo TCR, responsable del crecimiento, la activación y las funciones del efector de las células T (1). Las colas intracelulares de las moléculas CD3 contienen un solo motor conocido como el motivo de activación de inmunorreceptor basado en tirosina o ITAM, fundamental para la capacidad señalizadora del TCR (2, 3).

El CD3 se expresa en el citoplasma de los protimocitos y después en los timocitos medulares, cuando el antígeno CD3 comienza a migrar hacia la membrana celular (4). La membrana del CD3 se expresa en células T maduras y en células NK. El análisis fenotípico del CD3 se puede realizar mediante la detección de los dominios de la superficie de membrana o de la cola intracelular. El CD3 es un marcador selectivo del linaje de células T y su expresión se mantiene en la mayor parte de las neoplasias malignas (5, 6).

Por lo tanto, el CD3 se incluye en la mayoría de los paneles de citometría de flujo que se realizan para el diagnóstico de trastornos linfoproliferativos, como la leucemia y el linfoma (5, 6, 7). El análisis inmunofenotípico de las células CD3+ junto con fenotipos de otras células permite obtener una caracterización inmediata de los diferentes subconjuntos de células T funcionales, como las células T de la memoria, las efectoras y las reguladoras (8).

El valor relativo y absoluto de CD3+ es útil para evaluar la inmunocompetencia de ciertos estados de inmunodeficiencia (p. ej., VIH, después del trasplante de células madre hematopoyéticas) y la respuesta ante el tratamiento, pero su uso para decidir el tratamiento es excepcional (9, 10). El CD3 también se utiliza para el diagnóstico y la monitorización de la actividad de las células T de pacientes con inmunodeficiencia primaria o secundaria, autoinmunidad y respuesta a tratamientos inmunosupresores con terapias anticélulas T monoclonales y globulina antitimocito (11, 12, 13, 14, 15, 16).

REACTIVOS

Concentración: ver el certificado de análisis específico del lote en www.beckmancoulter.com.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. No use el reactivo después de la fecha de caducidad.
2. No lo congele.
3. Déjelo a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su utilización.
4. Minimice el tiempo de exposición a la luz.
5. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, ya que esto puede provocar resultados falsos.
6. Las soluciones de anticuerpo que contienen azida sódica (NaN_3) deben manipularse con precaución. No ingerir y evitar todo contacto con la piel, la mucosa y los ojos.

Asimismo, en un medio ácido, la azida sódica puede formar ácido hidrazoico potencialmente peligroso. Cuando se vaya a desechar, se recomienda diluir el reactivo en abundante agua antes de verterlo en el sistema de drenaje para evitar la acumulación de azida sódica en tubos metálicos y el riesgo de explosión.

7. Todas las muestras sanguíneas deben considerarse posiblemente infecciosas y deben manipularse con cuidado (en especial, hay que llevar guantes, bata y gafas de protección).
8. No pipetear nunca con la boca y evitar todo contacto de las muestras con la piel, las mucosas y los ojos.
9. Los tubos para sangre y el material desechable utilizados para la manipulación deben eliminarse en recipientes especiales previstos para la incineración.
10. Los reactivos y los desechos deben eliminarse de acuerdo con los requisitos locales.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico

SDS La hoja de datos de seguridad está disponible en beckman.com/techdocs

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Los conjugados en forma líquida deben conservarse entre 2 y 8 °C en un lugar protegido de la luz, antes y después de abrir el frasco.

Estabilidad del vial cerrado: consulte la fecha de caducidad en el vial.

Estabilidad del vial abierto: el reactivo es estable durante 365 días.

MUESTRAS

La sangre venosa debe recogerse en tubos de muestra estériles que contengan una sal de EDTA como anticoagulante.

Las muestras deben mantenerse a temperatura ambiente (18-25 °C) y no agitarse. Antes de tomar la muestra de prueba, es necesario homogeneizarla mediante una agitación suave.

Las muestras deben analizarse en el plazo de 24 horas tras la venopunción.

SIGNOS DE DETERIORO

Cualquier cambio en el aspecto físico de los reactivos puede indicar un deterioro, por lo que no debe utilizarse el reactivo.

En caso de deterioro del paquete o si los datos obtenidos indican una alteración del rendimiento, póngase en contacto con su distribuidor local o escriba a la siguiente dirección de correo electrónico:

CONTENIDO

El conservante de azida sódica puede formar compuestos explosivos en las tuberías metálicas del desagüe. Véase el NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Boletín de NIOSH: Peligro de explosión con la azida) (16/8/76).
Para evitar la posible acumulación de compuestos de azida, limpie con agua los tubos de desagüe tras la eliminación del reactivo sin diluir. Para desechar la azida sódica deben seguirse las normativas locales adecuadas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS CON EL KIT:

- Tubos y material de muestras necesarios para el muestreo.
- Pipetas automáticas para puntas desechables de 10, 100 y 500 µL.
- Tubos de hemólisis de plástico.
- Microesferas de calibración: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Reactivo de lisis de glóbulos rojos con estado de lavado después de la lisis. Por ejemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reactivo de fijación de leucocitos. Por ejemplo: Solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800).
- Control isotípico APC-AlexaFluor750 : reactivo IOTest (Ref. A79393.).
- Tampón (PBS: 0,01 M de fosfato de sodio; 0,145 M de cloruro sódico; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de flujo.

PROCEDIMIENTO CON EL REACTIVO VERSALYSE

Advertencia : El siguiente procedimiento es válido para aplicaciones estándar. Los volúmenes de muestra y/o de VersaLyse para algunas aplicaciones Beckman Coulter pueden ser diferentes. Si fuera el caso, seguir las instrucciones de la ficha técnica de la aplicación.

Para cada muestra analizada además del tubo problema, se debe incluir un tubo control en el que se incubarán las células con el control isotípico (Ref. A79393.).

1. Añada 10 µL de anticuerpo conjugado IOTest específico a cada tubo de ensayo y 10 µL del control isotípico a cada tubo de control.
2. Añadir 100 µL de la muestra que debe probarse en los 2 tubos. Mezclar suavemente en el Vórtex.
3. Incube entre 15 y 20 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C) y protegido de la luz.
4. Proceder, si es necesario, a la lisis de los eritrocitos siguiendo las recomendaciones del reactivo de lisis utilizado. Por ejemplo, si se desea utilizar VersaLyse (Ref. A09777), consultar la ficha técnica y seguir preferentemente el procedimiento denominado “con fijación concomitante” que consiste en añadir 1 mL de la mezcla “Fix-and-Lyse” preparada extemporáneamente. Mezclar seguidamente en el Vórtex durante un segundo e incubar 10 minutos a temperatura ambiente y en un lugar protegido de la luz. Si la muestra no contiene eritrocitos, añadir 2 mL de PBS.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g a temperatura ambiente.

6. Elimine el sobrenadante mediante aspiración.
7. Vuelva a suspender el sedimento celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita el paso 5.
9. Retire el sobrenadante mediante aspiración y vuelva a suspender el sedimento celular con:

   0,5 mL o 1 mL de PBS más el 0,1 % de formaldehído si las preparaciones deben conservarse menos de 24 horas. (Se puede obtener un 0,1 % de PBS de formaldehído diluyendo 12,5 µL de solución fijadora IOTest 3 [REF A07800] a su concentración de 10x en 1 mL de PBS).

   0,5 mL o 1 mL de PBS sin formaldehído si las preparaciones deben analizarse en un plazo de 2 horas.

Nota: En todos los casos, mantenga las preparaciones protegidas de la luz entre 2 y 8 °C.

VALORES ESPERADOS

Cada laboratorio debe establecer una lista de valores de referencia basada en un grupo de donantes sanos que pertenecen a la población local. Esto debe hacerse teniendo en cuenta la edad, el sexo, el origen étnico, y cualquier otra posible diferencia regional.

En nuestros laboratorios, se trató la sangre entera de 50 adultos sanos, utilizando el reactivo mencionado anteriormente. Los resultados obtenidos para la numeración de los eventos de interés positivos con este reactivo se agrupan en la siguiente tabla :

Linfocitos	Cantidad	Media (%)	DE	CV (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

RENDIMIENTO

Los datos de rendimiento se obtienen utilizando el procedimiento descrito más arriba en muestras de sangre de 24 horas de antigüedad, recogidas en tubos estériles con una sal de EDTA como anticoagulante. Los análisis se llevan a cabo en las dos horas siguientes al inmunomarcaje.

ESPECIFICIDAD

Los linfocitos T constituyen más de la mitad de los linfocitos de la sangre periférica (PBL) (17). Los linfocitos T se caracterizan por la expresión del antígeno CD3 (17, 18). El antígeno CD3 es un complejo de 5 cadenas de polipéptidos: γ, δ, ε, ζ y η asociados al complejo receptor de células T (TCR) (19).

Las cadenas CD3 se unen en un grupo de dos dímeros invariables, γ/ε y δ/ε, asociados con un dímero variable que consiste en homodímeros ζ o heterodímeros ζ/η, o heterodímeros ζ/γ FcR (γFcR es la cadena γ de los receptores Fc), u homodímeros γFcR (19, 20, 21). El complejo CD3 asociado al TCR participa en el reconocimiento de los peptídicos ligados al principal complejo de histocompatibilidad de clases I y II durante la respuesta inmunitaria (22).

El antígeno CD3 se expresa en los linfocitos T maduros y mediante un subgrupo de timocitos (23).

El anticuerpo monoclonal UCHT1 reacciona con la cadena ε del complejo CD3 (24). Se asignó al grupo de diferenciación CD3 en el primer Taller internacional sobre los antígenos de diferenciación de los leucocitos humanos, celebrado en París, Francia, en 1982 (25).

REPRODUCIBILIDAD INTRALABORATORIO

En el mismo día y en el mismo citómetro, se llevaron a cabo 12 determinaciones del porcentaje de tinción de una poblacion positiva. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla siguiente:

Objetivo positivo	Cantidad	Media (%)	DE	CV (%)
Linfocitos CD3-APC-A750 +	12	74,76	0,52	0,70

Linealidad

Para comprobar la linealidad del marcaje con este reactivo, se mezclaron una línea celular positiva ((HPBALL)) y una línea celular negativa ((DAUDI)) en distintas proporciones para una concentration y a cantidad celular final constante, de modo que la proporción línea positiva/línea negativa de la mezcla fuera de 0 a 100 %.

Se procesaron las alícuotas según el procedimiento anteriormente descrito y se calculó la regresión lineal entre los valores esperados y los valores observados.

Especificidad	Regresión lineal	Linealidad (R2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

LIMITACIONES

1. La citometría de flujo puede producir resultados falsos si el citómetro no se ha alineado a la perfección, si las fugas de fluorescencia no se han compensado correctamente y si las regiones no se han colocado con atención.
2. Utilizar preferentemente una técnica de lisis de los eritrocitos con lavado, ya que este reactivo no ha sido optimizado para las técnicas de lisis denominadas "sin lavado".
3. Se obtendrán resultados exactos y reproducibles siempre que los procedimientos utilizados sean conformes al folleto técnico y compatibles con las prácticas correctas de laboratorio.
4. El anticuerpo conjugado de este reactivo se calibra para ofrecer la mejor relación de señal específica/señal no específica. Por lo tanto, es importante cumplir la relación de volumen del reactivo/volumen de la muestra en cada prueba.
5. En caso de hiperleucocitosis, diluya la sangre en PBS para obtener un valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucocitos/L (26).
6. En algunos estados de la enfermedad, como el fallo renal grave o las hemoglobinopatías, la lisis de los eritrocitos puede ser lenta, incompleta o incluso imposible. En este caso, se recomienda aislar las células mononucleares por gradiente de densidad (por ejemplo, Ficoll) antes de la tinción (27).
7. Debido a la estructura en serie del fluorocromo, APC-AlexaFluor750 también emite luz a 660 nm. Este máximo de emisión secundario varía de un lote a otro de APC-AlexaFluor750 . Por lo tanto, para el análisis multicolor, la matriz de compensación debe revisarse atentamente al cambiar el lote de un conjugado de APC-AlexaFluor750 .

Consulte el anexo para ver ejemplos y referencias.

MARCAS COMERCIALES

Beckman Coulter, el logotipo estilizado y las marcas de productos y servicios de Beckman Coulter aquí mencionadas son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de Beckman Coulter, Inc. en Estados Unidos y otros países.

Alexa Fluor es una marca comercial de Molecular Probes, Inc.

Lista de símbolos

El glosario de símbolos está disponible en beckman.com/techdocs (número de documento B60062)

	Especificações
Especificidade	CD3
Clone	UCHT1
Hibridoma	NS1 x balb/c
Imunogénio	T cell line + IL2
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Rato
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Razão molar	APC-AlexaFluor750/Ig: 0,5-1,5
λ de excitação	633/638 nm
Pico de emissão	775 nm
Tampão	PBS com pH 7,2 mais 2 mg/mL de ASB e 0,1% de NaN_3

IOTest
Anticorpo conjugado CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Para fins de diagnóstico *in vitro*

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Este anticorpo conjugado com fluorocromo permite a identificação e numeração das populações das células que expressão o antigénio CD3 presente em amostras biológicas humanas utilizando a citometria de fluxo.

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade de os anticorpos monoclonais específicos se ligarem aos determinantes antigénicos expressados por leucócitos.

A coloração específica dos leucócitos é realizada incubando a amostra com o reagente IOTest. Em seguida, os glóbulos vermelhos são removidos por lise e os leucócitos, que não são afetados por este processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citómetro de fluxo mede a difusão de luz e a fluorescência das células. Permite delimitar a população de interesse dentro da janela eletrónica definida num histograma que correlaciona a difusão ortogonal de luz (dispersão lateral ou DL) e a difusão de luz em ângulos estreitos (dispersão frontal ou DF). É possível utilizar outros histogramas que combinam dois dos vários parâmetros disponíveis no citómetro como suporte na fase de delimitação, consoante a aplicação escolhida pelo utilizador.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são apresentados como uma percentagem de eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos por meio da delimitação.

EXEMPLOS DE APLICAÇÕES CLÍNICAS

CD3 é uma proteína transmembranar que contém quatro tipos de cadeias polipeptídicas, nomeadamente CD3γ, CD3δ, CD3ε e CD3ζ. O CD3 é associado ao recetor das células T (TCR) para formar o complexo TCR responsável pelo desenvolvimento, ativação e funções de efetores das células T (1). As caudas intracelulares das moléculas CD3 contêm um único motivo conhecido como um motivo de ativação baseada em tirosina imunorrecetora ou ITAM, essencial para a capacidade de sinalização do TCR (2, 3).

O CD3 é expresso no citoplasma de pró-timócitos e mais tarde em timócitos medulares quando o antigénio CD3 inicia a migração para a membrana celular (4). O CD3 membranar é expresso em todas as células T maduras e células T NK. A análise fenotípica de CD3 pode ser realizada detetando os domínios da membrana de superfície ou da cauda intracelular. O CD3 é um marcador seletivo de linhagem T e a sua expressão é mantida na maioria das malignidades de células T (5, 6).

Assim sendo, o CD3 é incluído na grande maioria dos painéis de citometria de fluxo para o diagnóstico de doenças linfoproliferativas de células T hematológicas incluindo leucemia e linfoma (5, 6, 7). A análise imunofenotípica das células CD3+ realizada em conjunto com outros fenótipos celulares permite a caracterização imediata dos diferentes subconjuntos de células T funcionais tais como células-memória, células efetoras e T reguladoras (8).

A CD3+ relativa e absoluta é útil na avaliação da imunocompetência de determinados estados de imunodeficiência (por exemplo VIH, transplante de células estaminais hematopoiéticas) e da resposta à terapia, mas é raramente utilizada na tomada de decisão referente ao tratamento (9, 10). O CD3 também é utilizado para o diagnóstico e/ou monitorização da atividade de células T em pacientes com imunodeficiência primária e secundária, autoimunidade e resposta a terapia imunossupressora com terapias monoclonais anticélulas T e globulina anti Timo (11, 12, 13, 14, 15, 16).

REAGENTES

Concentração : Consulte o certificado de análise específica do lote em www.beckmancoulter.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não utilize o reagente depois da data de validade.
2. Não congele.
3. Aguarde que fique à temperatura ambiente (18–25 °C) antes da utilização.
4. Evite a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, caso contrário, poderão ocorrer falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos que contêm azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não ingira e evite qualquer contacto com a pele, as mucosas e os olhos.

Adicionalmente, num meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazóico potencialmente perigoso. Se a sua eliminação for necessária, é recomendável que o reagente seja diluído num grande volume de água antes de ser vertido no sistema de drenagem, para evitar a acumulação de azida sódica em tubos metálicos e prevenir o risco de explosão.

7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas potencialmente infeciosas e manuseadas com cuidado (em especial, devem ser usados óculos, batas e luvas de proteção).
8. Nunca pipetar com a boca e evitar qualquer contacto das amostras com a pele, mucosa e olhos.
9. Os tubos de sangue e os materiais descartáveis utilizados para manuseamento devem ser eliminados em recipientes específicos destinados a incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Ficha de dados de segurança está disponível em beckman.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

A forma de líquidos conjugados deve ser mantida entre 2 e 8 °C e protegida da luz, antes e depois do frasco ter sido aberto.

Estabilidade do frasco fechado: consulte a data de validade no frasco.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente permanece estável durante 365 dias.

AMOSTRAS

O sangue venoso deve ser recolhido utilizando tubos estéreis que contenham um sal de AEDT como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas à temperatura ambiente (18–25 °C) e não devem ser agitadas. As amostras devem ser homogeneizadas, agitando-as levemente, antes de a amostra de teste ser retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a punção venosa.

EVIDÊNCIA DE DEGRADAÇÃO

Uma alteração no aspeto físico dos reagentes poderá indicar deterioração, pelo que o reagente não deve ser utilizado.

No caso de deterioração da embalagem ou se os dados obtidos mostrarem alguma alteração no desempenho, contacte o distribuidor local ou utilize o seguinte endereço de e-mail:

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em sistemas de canalizações metálicas. Consulte o boletim do NIOSH: Explosive Azide Hazards (Perigos de explosão da azida) (16-8-76).
Para evitar a possível acumulação de compostos de azida, enxague as condutas de resíduos com água após a eliminação do reagente não diluído. A eliminação de azida sódica deve ser efetuada de acordo com os regulamentos locais adequados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostras e materiais necessários para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 10, 100 e 500 µL.
- Tubos de plástico para hemólise.
- Esferas de calibração: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Reagente de lise de glóbulos vermelhos com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controlo Isotípico APC-AlexaFluor750 : reagente IOTest (Ref. A79393.).
- Tampão (PBS: 0,01 M de fosfato de sódio; 0,145 M de cloreto de sódio; pH 7,2).
- Centrifugue.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM REAGENTE VERSALYSE

Nota: O procedimento descrito a seguir é válido para aplicações padrões. Os volumes das amostras e/ou do VersaLyse para algumas aplicações Beckman Coulter podem ser diferentes. Se este for o caso, seguir as instruções sobre as técnicas de aplicação dadas.

Por cada amostra a analisar requer-se, além do tudo teste, um tubo controlo no qual as células são misturadas na presença do controlo isotípico (Ref. A79393.).

1. Adicione 10 µL de anticorpo conjugado de IOTest específico em cada tubo de teste e 10 µL do controlo isotípico em cada tubo de controlo.
2. Adicione 100 µL de amostra teste a cada tubo. Agitar os tubos no vortex suavemente.
3. Incube durante 15 a 20 minutos à temperatura ambiente (18–25 °C), protegido da luz.
4. Realize a lise dos glóbulos vermelhos, caso for necessário, seguindo as recomendações do reagente de lise utilizado. Como exemplo, se deseja utilizar VersaLyse (Ref. A09777), consulte o folheto e siga preferivelmente o procedimento conhecido pelo nome “Com fixação concomitante“ que consiste em adicionar 1 mL da mistura de “Fix-and-Lyse” preparada extemporaneamente, agitar imediatamente no vortex por 1 segundo e incubar por 10 minutos à temperatura ambiente, protegido da luz. Se a amostra não contiver glóbulos vermelhos, adicionar 2 mL de PBS.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g à temperatura ambiente.

6. Remova o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular com 3 mL de PBS.
8. Repita o passo 5.
9. Remova o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular com o seguinte:

   0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído se as preparações se destinarem a ser mantidas por menos de 24 horas. (É possível obter uma solução PBS com 0,1% de formaldeído diluindo 12,5 µL da solução fixadora IOTest 3 [REF A07800] à sua concentração de 10X em 1 mL de PBS).

   0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído se as preparações se destinarem a ser analisadas no prazo de 2 horas.

Nota: Mantenha sempre as preparações entre 2 e 8 °C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Cada laboratório deve compilar uma lista de valores de referência baseados num grupo de dadores saudáveis, da população local. Deve ser feito tomando em conta a idade, sexo e grupo étnico assim como alguma outra potencial diferença regional.

Nos nossos laboratórios, o sangue total de 50 adultos saudáveis foi tratado utilizando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos sobre na contagem dos eventos positivos de interesse com este reagente são apresentados na seguinte tabela :

Linfócitos	Número	Média (%)	DP	CV (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

DESEMPENHO

Os dados de realização são obtidos utilizando o procedimento descrito anteriormente nas amostras de sangue com 24 horas colhidas previamente em tubos estéreis com sal de EDTA como anticoagulante. A análise é executada no espaço de 2 horas a seguir à imuno-coloração.

ESPECIFICIDADE

Os linfócitos T constituem a maioria dos linfócitos do sangue periférico (PBL) humano (17). Os linfócitos T são caracterizados pela expressão do antigénio CD3 (17, 18). O antigénio CD3 é um complexo constituído por 5 cadeias polipeptídicas: γ, δ, ε, ζ e η associados ao complexo do recetor de células T (TCR) (19).

As cadeias de CD3 estão agregadas num grupo de dois dímeros invariantes, γ/ε e δ/ε associados a um dímero variável que consiste em ζ homodímeros, ou ζ/η, ou ζ/γ hetrodímeros FcR (γ sendo FcR a γ cadeia dos recetores Fc), ou γ homodímeros FcR (19, 20, 21). O complexo CD3 associado ao TCR está envolvido no reconhecimento de peptídeos ligados ao complexo de histocompatibilidade maior da classe I e II durante a resposta imunitária (22).

O antigénio CD3 é expresso por linfócitos T maduros e por um subconjunto de timócitos (23).

O anticorpo monoclonal UCHT1 reage com a cadeia ε do complexo CD3 (24). Foi atribuído ao aglomerado CD3 de diferenciação em 1982 no 1.º Workshop Internacional sobre Antigénios de Diferenciação de Leucócitos Humanos, em Paris, França.(25).

REPRODUTIBILIDADE INTRALABORATÓRIO

No mesmo dia e utilizando o mesmo citómetro, foram processadas 12 medições da percentagem da coloração dum alvo positivo. Os resultados obtidos apresentam-se na tabela seguinte:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP	CV (%)
Linfócitos CD3-APC-A750 +	12	74,76	0,52	0,70

Linearidade

Para testar a linearidade da coloração deste reagente, misturaram-se uma linha celular positiva ((HPBALL)) e uma linha celular negativa ((DAUDI)), em diferentes proporções com um número final constante de células, más de modo que a razão linha positiva/linha negativa da mistura encontre-se dentro do intervalo 0 - 100%.

Foram coradas alíquotas utilizando o procedimento descrito sobre e foi calculada a regressão linear entre os valores observados e os esperados.

Especificidade	Regressão Linear	Linearidade (R2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo poderá produzir falsos resultados se o citómetro não tiver sido perfeitamente alinhado, se as fugas de fluorescência não tiverem sido compensadas corretamente e se as regiões não tiverem sido cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível utilizar a técnica de lise dos glóbulos vermelhos com lavagem quando o reagente não foi optimizado pelas técnicas lise "sem lavagem".
3. Serão obtidos resultados exatos e reprodutíveis desde que os procedimentos utilizados estejam de acordo com o folheto técnico e cumpram as boas práticas laboratoriais.
4. O anticorpo conjugado deste reagente é calibrado para proporcionar a melhor relação entre sinal específico/sinal não específico. Por conseguinte, é importante respeitar a relação entre volume do reagente/volume da amostra em todos os testes.
5. No caso de uma hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (26).
6. Em determinados estados de doença, como insuficiência renal grave ou hemoglobinopatias, a lise de glóbulos vermelhos poderá ser lenta, incompleta ou até impossível. Neste caso, recomenda-se isolar células mononucleadas utilizando um gradiente de densidade (por exemplo, Ficoll) antes da coloração (27).
7. Devido à estrutura em tandem do fluorocromo, APC-AlexaFluor750 também emite luz a 660 nm. Este pico de emissão secundário varia de lote-a-lote de APC-AlexaFluor750 . Por isso, para análise multi-cor, a matriz de compensação deve ser verificada cuidadosamente quando da alteração do lote de um APC-AlexaFluor750 conjugado.

Consulte o Anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logótipo estilizado e as marcas de produtos e serviços da Beckman Coulter mencionadas neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e noutros países.

Alexa Fluor é uma marca comercial da Molecular Probes, Inc.

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (número do documento B60062)

	Specifikationer
Specificitet	CD3
Klon	UCHT1
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	T cell line + IL2
Immunoglobulin	IgG1
Arter	Mus
Oprensning	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Molarforhold	APC-AlexaFluor750/Ig: 0,5-1,5
λ-magnetisering	633/638 nm
Emissionsspids	775 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA og 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugeret antistof CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Til *in vitro*-diagnostisk brug

TILSIGTET BRUG

Dette fluorokromkonjugerede antistof muliggør identifikation og tælling af cellepopulationer, der udtrykker CD3-antigen til stede i humane biologiske prøver ved anvendelse af flowcytometri.

PRINCIP

Denne test er baseret på specifikke monoklonale antistoffers evne til at binde sig til de antigene determinanter, der udtrykkes af leukocytter.

Den specifikke farvning af leukocytterne udføres ved inkubation af prøven med IOTest-reagenset. Erytrocytterne fjernes derefter med lysering, og leukocytterne, som ikke påvirkes af denne proces, analyseres ved flowcytometri.

Flowcytometeret måler lysets diffusion og cellernes fluorescens. Dette gør det muligt at afgrænse interessepopulationen inden for det elektroniske vindue, der defineres på et histogram, som korrelerer den ortogonale diffusion af lys (Side Scatter (sidespredning) eller SS) og diffusionen af lys med en snæver vinkel (Forward Scatter (forlæns spredning) eller FS). Andre histogrammer, der kombinerer to af de forskellige parametre, der er til rådighed på cytometret, kan benyttes som støtte under gating-trinnet, afhængig af den af brugeren valgte applikation.

De afgrænsede cellers fluorescens analyseres med henblik på at kunne skelne de positive farvningshændelser fra de ufarvede. Resultaterne udtrykkes som en procentdel af positive hændelser i relation til alle de hændelser, som erhverves ved gatingen.

EKSEMPLER PÅ KLINISKE ANVENDELSER

CD3 er et transmembranprotein, der indeholder fire typer polypeptidkæder, nemlig CD3γ, CD3δ, CD3ε og CD3ζ. CD3 er knyttet til T-cellereceptoren (TCR), så der dannes det TCR-kompleks, som er ansvarlig for T-cellernes udvikling, aktivering og effektorfunktioner (1). De intracellulære haler på CD3-molekylerne indeholder et enkelt konserveret motiv, der kendes som et immunoreceptor-tyrosinbaseret aktiveringsmotiv eller ITAM, som er meget vigtigt i forhold til signalkapaciteten i TCR (2, 3).

CD3 udtrykkes i cytoplasmaet i pro-thymocyttere og derefter ind i medullære thymocytter, når CD3-antigenet begynder at migrere til cellemembranen (4). Membranens CD3 udtrykkes i helt modne T-celler og NK-T-celler. Der kan foretages en fænotypeanalyse af CD3 ved at påvise overfladens membrandomæner eller intracellulære hale. CD3 er en T-stamme-selektiv markør, og dens udtryk bevares i de fleste T-celle-maligniteter (5, 6).

CD3 er således inkluderet i størstedelen af flowcytometripaneler til diagnose af hæmatologiske T-celle-lymfoproliferative sygdomme, herunder leukæmi og lymfom (5, 6, 7). Immunfænotypeanalyse af CD3+-celler foretaget i forbindelse med andre cellfænotyper giver mulighed for karakterisering af de forskellige funktionelle T-celle-undersæt som f.eks. hukommelses-, effektor- og T-reguleringsceller (8).

Relativ og absolut CD3+ er nyttig til at vurdere immunkompetencen i visse immundefektstatusser (f.eks. HIV og posthæmatopoietisk stamcelletransplantation) og behandling, men bruges sjældent til at træffe beslutninger om behandling (9, 10). CD3 bruges også til diagnose og/eller monitorering af T-celle-aktivitet hos patienter med primær eller sekundær immundefekter, autoimmunitet og som respons til immunsuppressionsbehandling med monoklonale anti-T-celle-behandlinger og anti-Thymus-globulin (11, 12, 13, 14, 15, 16).

REAGENSER

Koncentration: Se partispecifikt analysecertifikat på www.beckmancoulter.com.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Brug ikke reagenset efter udløbsdatoen.
2. Må ikke nedfryses.
3. Bring det til stuetemperatur (18-25 °C) før brug.
4. Minimér eksponering for lys.
5. Undgå mikrobiel kontaminering reagenserne, idet det kan føre til fejlagtige resultater.
6. Antistofopløsninger, der indeholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsigtighed. Må ikke indtages, og undgå enhver kontakt med hud, slimhinder og øjne.

   I syremedier kan natriumazid desuden danne den potentielt farlige hydrogenazid. Hvis det skal bortskaffes, anbefales det, at reagenset fortyndes i en stor mængde vand, inden det hældes i kloakken, for at undgå ophobning af natriumazid i metalrør og dermed forebygge risikoen for eksplosioner.

7. Alle blodprøver skal anses som potentielt smittefarlige og skal behandles forsigtigt (husk især at bruge beskyttelseshandsker, forklæde og beskyttelsesbriller).
8. Pipettér aldrig med munden og undgå, at prøverne kommer i kontakt med hud, slimhinder og øjne.
9. Blodprøvetagningsrør og engangsmateriale, der bruges i forbindelse med håndteringen, skal bortskaffes i ad hoc-beholdere, der er beregnet til bortskaffelse.
10. Reagenser og affald skal bortskaffes i henhold til gældende lokale krav.

GHS FAREKLASSIFIKATION

Ikke klassificeret som farlig

SDS Sikkerhedsdatablad findes på beckman.com/techdocs

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Konjugaterne på væskeform skal opbevares ved mellem 2 og 8 °C og beskyttes mod lys både før og efter åbningen af hætteglasset.

Holdbarhed for lukket hætteglas: Se udløbsdatoen på hætteglasset.

Stabilitet i åbent hætteglas: Reagenset er stabilt i 365 dage.

PRØVER

Prøver af venøst blod skal udtages i sterile prøverør, der indeholder et EDTA-salt som antikoagulant.

Prøverne skal opbevares ved stuetemperatur (18-25 °C) og må ikke rystes. Prøverne skal homogeniseres ved forsigtig omrysten før udtagning af analyseprøven.

Prøverne skal behandles inden for 24 timer efter venepunktur.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Ændringer i den måde, reagenset ser ud på, kan være tegn på forringelse, og reagenset må ikke anvendes.

I tilfælde af beskadiget emballage, eller hvis de opnåede data viser ydelsesændring, bedes du kontakte din lokale distributør eller benytte følgende e-mail-adresse:

INDHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive forbindelser i drænledninger af metal. Se NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (Fare for eksplosiv azid). For at undgå en eventuel akkumulering af azidforbindelser, skylles afløbsrør med vand efter bortskaffelse af ufortyndet reagens. Natriumazid skal bortskaffes i overensstemmelse med relevante lokale forskrifter.

PÅKRÆVEDE MATERIALER, SOM IKKE LEVERES MED SÆT:

- Prøvetagningsrør og materiale, der er påkrævet til prøvetagning.
- Automatiske pipetter med engangsspidser til 10, 100 og 500 µL.
- Plasthæmolyserør.
- Kalibreringsperler: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Reagens til lysering af erytrocytter med vaskefase efter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens til leukocytfiksering. For eksempel: IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800).
- Isotypekontrol APC-AlexaFluor750 : IOTest-reagens (Ref. A79393.).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumphosphat; 0,145 M natriumchlorid; pH 7,2).
- Centrifuge
- Automatisk omrører (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MED VERSALYSE-REAGENS

Bemærk : Proceduren nedenfor gælder ved standardapplikationer. Prøve- og/eller VersaLyse-volumener kan for visse applikationer med Beckman Coulter være forskellige. Følg i sådanne tilfælde vejledningen på indlægssedlen med tekniske applikationer.

For hver prøve, der skal analyseres, er det ud over prøverøret nødvendigt med et kontrolrør, i hvilket cellerne blandes med den valgte isotypekontrol (Ref. A79393.).

1. Tilføj 10 µL af specifikt IOTest-konjugeret antistof for hvert testrør og 10 µL af den isotypiske kontrol for hvert kontrolrør.
2. Tilsæt 100 µL af testprøven til begge rør. Vortex rørene forsigtigt.
3. Inkubér i 15 til 20 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C), beskyttet mod lys.
4. Lysér om nødvendigt erytrocytterne ved at følge vejledningen for det anvendte lyseringsreagens. Hvis der for eksempel anvendes VersaLyse (Ref. A09777), se i indlægssedlen for dette og følg fortrinsvis proceduren betegnet “with concomitant fixation (med samtidig fiksering)”, som består af at tilsætte 1 mL “Fix-and-Lyse”-blandingen fremstillet umiddelbart. Vortex straks i et sekund og inkuber i 10 minutter ved stuetemperatur under beskyttelse mod lys. Hvis prøven ikke indeholder erytrocytter tilsættes 2 mL PBS.
5. Centrifugér i 5 minutter ved 150 x g ved stuetemperatur.
6. Fjern supernatanten via aspiration.
7. Resuspender cellepelleten med 3 mL PBS.
8. Gentag trin 5.

9. Fjern supernatanten vha. aspiration, og resuspender cellepelleten med:

   0,5 mL eller 1 mL PBS plus 0,1 % formaldehyd, hvis præparaterne skal opbevares i under 24timer. (En PBS med 0,1 % formaldehyd kan opnås ved at fortynde 12,5 µL IOTest 3 fiksativopløsning (REF A07800) ved en 10X koncentration i 1 mL PBS).

   0,5 mL eller 1 mL PBS uden formaldehyd, hvis præparaterne skal analyseres inden for 2 timer.

Bemærk: Præparaterne skal under alle omstændigheder beskyttes mod lys og opbevares ved 2-8 °C.

FORVENTEDE VÆRDIER

Hvert laboratorium skal beregne en liste af referenceværdier baseret på en gruppe raske donorer fra lokalbefolkningen. Dette skal udføres under iagttagelse af alder, køn og etnisk gruppe såvel som alle andre potentielle regionale forskelle.

I vores laboratorier blev prøver af fuldblod fra 50 raske voksne behandlet ved anvendelse af reagenset beskrevet ovenfor. Resultaterne opnået ved tælling af positive hændelser af interesse med reagenset er angivet i tabellerne nedenfor :

Lymfocytter	Antal	Middelværdi (%)	SD	CV (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

YDEEVNE

Prøveresultater er opnået ved anvendelse af proceduren beskrevet ovenfor på 24 timer gamle blodprøver forinden udtaget i sterile rør indeholdende EDTA-salt som antikoagulans. Analyserne er udført inden for 2 timer efter immunfarvning.

SPECIFICITET

T-lymfocytter udgør størstedelen af humane lymfocytter i perifert blod (PBL) (17). T-lymfocytter er karakteriseret ved udtryk af CD3-antigenet (17, 18). CD3-antigenet er et kompleks af 5 polypeptidkæder: γ, δ, ε, ζ og η; i tilknytning med T-cellereceptorens (TCR) kompleks (19).

CD3-kæderne findes i en gruppe med to invariant dimere, γ/ε og δ/ε, der er knyttet til en variabel dimer bestående af ζ-homodimere eller ζ/η eller ζ/γ FcR-heterodimere (hvor γFcR er γ-kæden til Fc-receptorer) eller γFcR-homodimere (19, 20, 21). Det CD3-kompleks, der er knyttet til TCR, er involveret i genkendelsen af peptider, som er bundet til MHC (Major Histocompatibility Complex) klasse I og II under den immune respons (22).

CD3-antigenet udtrykkes af modne T-lymfocytter og af et undersæt af thymocytter (23).

Det monoklonale antistof UCHT1 reagerer med ε-kæden i CD3-komplekset (24). Det er blevet tildelt til CD3-differentieringsklyngen ved den 1. internationale workshop om humane leukocytdifferentieringsantigener i Paris, Frankrig i 1982 (25).

REPRODUCERBARHED INDEN FOR LABORATORIET

På den samme dag og ved anvendelse af det samme cytometer blev der udført 12 målinger af procentandelen af farvningen af et positivt mål. De opnåede resultater er sammenfattet i følgende tabel:

Positivt mål	Antal	Middelværdi (%)	SD	CV (%)
Lymfocytter CD3-APC-A750 +	12	74,76	0,52	0,70

Linearitet

For at teste lineariteten ved farvning med dette reagens blev en positiv cellelinie ((HPBALL)) og en negativ cellelinie ((DAUDI)) blandet i forskellige forhold med et konstant endeligt antal celler, således at forholdet mellem de positive og negative celler var i området fra 0 til 100%.

Proceduren beskrevet ovenfor blev anvendt til farvning af aliquots af celler, og den lineære regression mellem de forventede værdier og de observerede værdier blev beregnet.

Specificitet	Lineær regression	Linearitet (R2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

BEGRÆNSNINGER

1. Flowcytometri kan give forkerte resultater, hvis cytometeret ikke er perfekt justeret, hvis der ikke er blevet kompenseret korrekt for fluorescenslækager, eller hvis områderne ikke er blevet placeret omhyggeligt.
2. Det foretrækkes, at der anvendes en RBC-lyseringsteknik, der indeholder et vasketrin, da reagenset ikke er optimeret til lyseringsteknikker, der ikke indeholder et sådant.
3. Der genereres nøjagtige og reproducerbare resultater, så længe de anvendte procedurer er i overensstemmelse med de tekniske anvisninger på indlæsgssedlen og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerede antistof for dette reagens kalibreres for at kunne tilbyde det bedste specifikke forhold mellem signal/ikke-specifikt signal. Det er derfor vigtigt at overholde forholdet mellem reagensvolumen og prøvevolumen i hver enkelt test.
5. I tilfælde af en hyperleukocytose skal blodet fortyndes i PBS for at opnå en værdi på ca. 5×10^9 leukocytter/L (26).
6. I visse sygdomstilstande, f.eks. alvorligt nyresvigt eller hæmoglobinopatier, kan lysering af røde celler være langsom, ufuldstændig eller endog umulig. I dette tilfælde anbefales det at isolere enkernede celler ved hjælp af en densitetsgradient (f.eks. Ficoll) forud for farvningen (27).
7. På grund af fluorokromets tandemstruktur udsender APC-AlexaFluor750 også lys ved 660 nm. Dette sekundære emissionstoppunkt varierer fra lot-til-lot af APC-AlexaFluor750 . Kompensationsmatrixen for flerfarvet analyse skal derfor kontrolleres grundigt, når der ændres lot for et APC-AlexaFluor750 -konjugat.

Se Tillæg for eksempler og referencer.

VAREMÆRKER

Beckman Coulter, det stiliserede logo og de Beckman Coulter produkt- og servicemærker, der er omtalt heri, er varemærker eller registrerede varemærker tilhørende Beckman Coulter, Inc. i USA og andre lande.

Alexa Fluor er et varemærke tilhørende Molecular Probes, Inc.

Symbolnøgle

En ordliste over symboler findes på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Specifikationer
Specificitet	CD3
Klon	UCHT1
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	T cell line + IL2
Immunglobulin	IgG1
Arter	Mus
Rening	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Molförhållande	APC-AlexaFluor750/Ig: 0,5-1,5
λ excitering	633/638 nm
Emissionstopp	775 nm
Buffert	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA och 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugerad antikropp CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

För *in vitro*-diagnostik

AVSEDD ANVÄNDNING

Med denna fluorokromkonjugerade antikropp kan man i humana biologiska prover med hjälp av flödescytometri identifiera och räkna cellpopulationer som uttrycker CD3-antigen.

PRINCIP

Detta test är baserat på förmågan hos specifika monoklonala antikroppar att bindas till de antigena determinanter som uttrycks av leukocyter.

Specifik färgning av leukocyterna utförs genom att inkubera provet med IOTest-reagenset. De röda cellerna avlägsnas sedan via lysering och leukocyterna, som inte påverkas av denna process, analyseras med flödescytometri.

Flödescytometern mäter ljusdiffusion och fluorescens av celler. Det möjliggör avgränsningen av populationen av intresse i det elektroniska fönstret definierat i ett histogram, som korrelerar den rätvinkliga ljusspridningen (sidospridning eller SS) och spridningen av snävt ljus (framåtspridning eller FS). Andra histogram som kombinerar två av de tillgängliga parametrarna på cytometern, kan användas som stöd i gating-skedet beroende på tillämpningen som användaren har valt.

Fluorescensen av de begränsade cellerna analyseras för att skilja ut positivt färgade händelser från ofärgade händelser. Resultaten uttrycks som en procentandel av positiva händelser i relation till alla händelser som samlats in med hjälp av gating.

EXEMPEL PÅ KLINISKA TILLÄMPNINGAR

CD3 är ett transmembranprotein som innehåller fyra typer av polypeptidkedjor – CD3γ, CD3δ, CD3ε och CD3ζ. CD3 är förknippat med T-cellsreceptorn (TCR) från TCR-komplexet, som är ansvarigt för T-cellsutveckling, aktivering och effektorfunktioner (1). De intracellulära svansarna på CD3-molekyler innehåller ett enda konserverat motiv, som kallas ett immunoreceptor tyrosin-baserat aktiveringsmotiv, eller ITAM, som är nödvändigt för TCR:s signalförmåga (2, 3).

CD3 uttrycks i cytoplasman av pro-tymocyter och sedan in i märgtymocyterna när CD3-antigenet börjar migrera till cellmembranet (4). Membran-CD3 uttrycks i alla mogna T-celler och NK-T-celler. Fenotypisk analys av CD3 kan utföras genom att detektera ytmembransdomänerna eller en intracellulär svans. CD3 är en T-linjär-selektiv markör och dess uttryck bibehålls på de flesta T-cellsmaligniteter (5, 6).

CD3 inkluderas därför i de allra flesta flödescytometripaneler för diagnos av hematologiska T-cells lymfoproliferativa sjukdomar, inklusive leukemi och lymfom (5, 6, 7). Immunofenotypisk analys av CD3+-celler som utförs i samband med andra cellfenotyper tillåter enkel karaktärisering av de olika funktionella T-cellssubpopulationerna såsom minnes-, effektor- och T-reglerande celler (8).

Relativ och absolut CD3+ är användbar för att utvärdera immunokompetensen av vissa immunbristsstatusar (t.ex. HIV, post-hematopoietisk stamcellstransplantation) och terapirespons, men används sällan för behandlingsbeslut (9, 10). CD3 används också för diagnos och/eller bevakning av T-cellsaktivitet hos patienter med primär eller sekundär immunbrist, autoimmunitet och respons till immunosuppressionsbehandling med monoklonala anti-T-cellsbehandlingar och anti-Thymus-globulin (11, 12, 13, 14, 15, 16).

REAGENSER

Koncentration: Se det batchspecifika analyscertifikatet på www.beckmancoulter.com.

VARNING OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Använd inte reagenset efter utgångsdatumet.
2. Får ej frysas.
3. Låt den komma till rumstemperatur (18–25 °C) före användning.
4. Minimera exponering för ljus.
5. Undvik mikrobiell kontaminering av reagens. Det kan leda till felaktiga resultat.
6. Antikroppslösningar som innehåller natriumazid (NaN_3) bör hanteras med försiktighet. Inta inte internt och undvik all kontakt med hud, slemhinnor och ögon.

   I syramedium kan natriumazid dessutom bilda potentiellt farlig hydrazinsyra. Om reagensen måste kasseras rekommenderar vi att den späds ut med en stor volym vatten innan den hälls ut i avloppssystemet för att undvika explosionsrisk och att natriumazid ackumuleras i metallrören.
7. Alla blodprover måste betraktas som potentiellt smittsamma och ska hanteras med försiktighet (i synnerhet vad gäller användande av skyddshandskar, rockar och skyddsglasögon).

8. Pipettera aldrig med munnen och låt inte hud, slemhinnor eller ögon komma i kontakt med prover eller reagens.
9. Blodprovsrör och engångsmaterial som används för hantering ska kasseras i särskilda behållare avsedda för förbränning.
10. Reagens och avfall ska kasseras i enlighet med lokala krav.

RISKKLASSIFICERING ENLIGT GHS

Ej klassat som farligt

SDS Safety Data Sheet (Säkerhetsdatablad) finns på beckman.com/techdocs

FÖRVARING OCH STABILITET

Konjugerade lösningar måste förvaras vid 2 – 8 °C och skyddas mot ljus före och efter det att ampullen öppnats.

Stabilitet i stängd ampull: se utgångsdatumet på ampullen.

Stabilitet i öppen ampull: reagenset är stabilt i 365 dagar.

PROVER

Venblod måste tas i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant.

Proverna bör förvaras i rumstemperatur (18–25 °C) och inte skakas. Prover bör vara homogeniserade genom försiktig omrörning innan provet tas.

Proverna måste analyseras inom 24 timmar efter venpunktur.

TECKEN PÅ FÖRSÄMRING

Alla förändringar i reagensens fysiska utseende kan indikera försämring och att reagenset inte ska användas.

När det gäller förpackningsförsämring eller om erhållna data visar vissa prestandaförändringar, kontakta din lokala distributör eller använd följande e-postadress:

INNEHÅLL

Konserveringsmedlet natriumazid kan bilda explosiva föreningar i avloppsledningar av metall. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (76-8-16) (Bulletin från den amerikanska motsvarigheten till arbetsmiljöverket: Fara för azidexplosion).
För att undvika risken för ansamling av azidföreningar ska avloppsrören spolas igenom med vatten efter att outspädda reagenser har kasserats. Kassering av natriumazid måste ske i enlighet med tillämpliga lokala regler.

MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE FÖLJER MED KITET:

- Provrör och nödvändigt material för provtagning.
- Automatiska pipetter med engångsspetsar för 10, 100 och 500 µL.
- Hemolysrör av plast.
- Kalibreringskulor: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Lyseringsreagens för röda blodceller med tvätt efter lyseringen. Till exempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens för leukocytfixering. Till exempel: IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800).
- Isotypisk kontroll APC-AlexaFluor750 IOTest reagens: (Ref. A79393.).
- Buffert (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Centrifugera.
- Automatisk omrörare (Vortex-typ).
- Flödescytometer.

PROCEDUR MED VERSALYSE-REAGENS

OBSERVERA: Följande procedur gäller för standard applikationer. Prov och/eller VersaLyse volymer för speciella Beckman Coulter applikationer kan vara olika. Om så är fallet, följ instruktionerna på applikationens produktblad.

För varje prov som analyseras behövs, förutom röret med prov, ett kontrollrör där cellerna är blandade med isotypisk kontroll (Ref. A79393.).

1. Lägg till 10 mikroliter av specifik IOTest-konjugerad antikropp till varje provrör, och 10 mikroliter av isotypisk kontroll till varje kontrollrör.
2. Tillsätt 100 µL prov till båda rören. Vortexa rören försiktigt.
3. Inkubera i 15 till 20 minuter vid rumstemperatur (18–25 °C) och skyddat mot ljus.
4. Utför därefter vid behov lyseringen genom att följa anvisningarna för det använda lyseringsreagenset. Om du till exempel vill använda VersaLyse (Ref. A09777), läser du produktbladet och följer lämpligen beskrivningen under rubriken ”med samtidig fixering”, som innebär att man tillsätter 1 mL av ”Fix-and-Lyse”-lösningen, som bereds strax före användning. Vortexa genast i 1 sekund och inkubera därefter i rumstemperatur i 10 minuter i skydd mot ljus. Om provet inte innehåller erytrocyter tillsätt 2 mL PBS.
5. Centrifugera i 5 minuter vid 150 x g vid rumstemperatur.
6. Avlägsna ytskiktet genom aspiration.
7. Återsuspendera cellpelleten med 3 mL PBS.
8. Upprepa steg 5.
9. Avlägsna ytskiktet genom aspiration och återsuspendera cellpelleten med:

   0,5 mL eller 1 mL av PBS plus 0,1 % formaldehyd om preparaten är avsedda att förvaras mindre än 24 timmar. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan erhållas genom spädning av 12,5 µL av IOTest 3-fixeringslösning (REF A07800) i dess 10X-koncentration i 1 mL PBS).

   0,5 mL eller 1 mL PBS utan formaldehyd, om preparaten är avsedda att analyseras inom 2 timmar.

Anmärkning: Behåll i samtliga fall beredningarna vid 2 till 8 °C och skyddade från ljus.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

Varje laboratorium måste kompilera en referensvärdestabell baserad på en grupp friska donatorer från den lokala populationen. Hänsyn måste tas till så väl ålder, kön och etnisk tillhörighet som andra potentiella regionala skillnader.

På våra laboratorier behandlades helblod från 50 friska vuxna. Erhållna resultat för antalet positiva händelser av intresse visas i tabellen nedan :

Lymfocyter	Nummer	Medelvärde (%)	SD	CV (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

PRESTANDA

Data för prestanda erhålls med hjälp av ovan beskrivna metod på 24 timmar gamla blodprover som tagits i förväg i sterila rör med EDTA-salt som koagulationshämmare. Analysen utförs inom 2 timmar efter immunfärgning.

SPECIFICITET

T-lymfocyter utgör majoriteten av mänskliga perifera blodlymfocyter (PBL) (17). T-lymfocyter karaktäriseras av uttrycket av CD3-antigenet (17, 18). CD3-antigenet är ett komplex av 5 polypeptidkedjor: γ, δ, ε, ζ och η förknippas med T-cellsreceptor (TCR)-komplexet (19).

CD3-kedjorna är samlade i en grupp av två invarianta dimerer, γ/ε och δ/ε, som är förknippade med en variabel dimer som består av ζ-homodimerer, eller ζ/η, eller ζ/γ FcR-heterodimerer (γFcR är γ-kedjan av Fc-receptorer), eller γFcR-homodimerer (19, 20, 21). CD3-komplexet som förknippas med TCR är inblandat i igenkännandet av peptider som binds vid det större histokompatibilitetskomplexet av klass I och II under immunresponsen (22).

CD3-antigenet uttrycks av mogna T-cellslymfocyter och av en subpopulation av tymocyter (23).

Den UCHT1 monoklonala antikroppen reagerar med ε-kedjan i CD3-komplexet (24). Den har tilldelats till CD3-klustret för differentiering vid den första internationella workshopen om mänskliga leucocytdifferentieringsantigener i Paris, Frankrike, år 1982 (25).

REPRODUCERBARHET INOM LABORATORIET

På samma dag och med användande av samma cytometer utfördes 12 mätningar av procent positiva mål. Erhållna resultat är summerade i följande tabell:

Positivt mål	Nummer	Medelvärde (%)	SD	CV (%)
Lymfocyter CD3-APC-A750 +	12	74,76	0,52	0,70

Linearitet

För att testa linjäriteten vid infärgning med detta reagens blandades en positiv cellinje ((HPBALL)) och en negativ cellinje ((DAUDI)) i olika proportioner, med det totala antalet celler konstant, så att förhållandet positiv / negativ cellinje i blandningen varierade från 0 till 100 %.

Aliquoter infärgades enligt ovanstående procedur och linjär regression mellan de förväntade värden och de erhållna värdena beräknades.

Specificitet	Linear regression	Linjäritet (R2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

BEGRÄNSNINGAR

1. Flödescytometri kan ge falska resultat om cytometern inte har justerats perfekt, om fluorescensläckor inte har kompenserats korrekt och om regionerna inte har placerats noggrant.
2. Det är bäst att använda en lyseringsmetod med tvätt eftersom detta reagens inte är optimerat för lyseringsmetoder av typen "no wash".
3. Noggranna och reproducerbara resultat kommer att erhållas så länge de förfaranden som används är i enlighet med den tekniska bipacksedeln och förenliga med god laboratoriepraxis.
4. Den konjugerade antikroppen för detta reagens är kalibrerad för att erbjuda det bästa specifik signal/icke-specifik signal-förhållandet. Därför är det viktigt att följa reagensvolym/provvolym-förhållandet i varje test.
5. Vid hyperleukocytos, späd blodet i PBS för att erhålla ett värde på cirka 5 x 10^9 leukocyter/L (26).
6. Vid vissa sjukdomstillstånd, såsom vid mycket svår njursvikt eller hemoglobinopatier, kan lysering av röda celler vara långsam, ofullständig eller till och med omöjlig. I detta fall är det rekommenderat att isolera mononukleära celler med användning av en densitetsgradient (till exempel Ficoll) innan färgningen (27).
7. På grund av fluorokromen tandemstruktur, emitterar APC-AlexaFluor750 även ljus vid 660 nm. Denna sekundära emissionstoppen varierar från parti till parti APC-AlexaFluor750 . Därfö bör för flerfärgade analys kompenseringssmatrisen kontrolleras noggrant vid byte parti av ett APC-AlexaFluor750 -konjugat.

Se bilagan för exempel och referenser.

VARUMÄRKEN

Beckman Coulter, den stiliserade logotypen och Beckman Coulters produkt- och tjänstmärken som nämns häri är varumärken eller registrerade varumärken som tillhör Beckman Coulter, Inc. i USA eller andra länder.

Alexa Fluor är ett varumärke som tillhör Molecular Probes, Inc.

Teckenförklaring för symboler

Ordlista för symboler finns på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Spesifikasjoner
Spesifisitet	CD3
Klon	UCHT1
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	T cell line + IL2
Immunoglobulin	IgG1
Art	Mus
Rensing	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Molart forhold	APC-AlexaFluor750/Ig: 0,5-1,5
λ-eksitasjon	633/638 nm
Strålingstopp	775 nm
Buffer	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/mL BSA og 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugert antistoff CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

For *in vitro*-diagnostisk bruk

TILTENKT BRUK

Dette fluorokromkonjugerte antistoffet gjør det mulig å påvise og angi en cellepopulasjon som uttrykker CD3-antigenet i humane biologiske prøver ved hjelp av flow-cytometri.

PRINSIPP

Denne testen er basert på evnen spesifikke monoklonale antistoffer har til å binde seg til antigendeterminantene uttrykt av leukocytter.

Spesifikk farging av leukocyttene utføres ved inkubering av prøven med IOTest-reagenset. De røde cellene fjernes deretter ved lysering, og leukocyttene, som er uberørt av denne prosessen, analyseres ved flowcytometri.

Flytcytometeret måler lysdiffusjon og cellenes fluorescens. Det gjør det mulig å avgrense populasjonen som skal undersøkes innenfor det elektroniske vinduet som er definert på et histogram, og som korrelerer den ortogonale lysspredningen (sidespredning eller SS) og spredningen av trangvinklet lys (foroverpredning eller FS). Andre histogrammer som kombinerer to av de ulike parametrene på cytometeret kan brukes som støtte ved gatingstadiet, avhengig av programmet som velges av brukeren.

Fluorescensen i de avgrensede cellene analyseres for å skille de positivt fargede hendelsene fra de ufargede. Resultatene er uttrykt som en prosentandel positive hendelser i forhold til alle hendelser innhentet ved gatingen.

EKSEMPLER PÅ KLINISKE ANVENDELSESOMRÅDER

CD3 er et transmembrant protein som inneholder fire typer polypeptidkjeder, nemlig CD3γ, CD3δ, CD3ε og CD3ζ. CD3 blir bundet til T-cellreseptoren (TCR) for å danne TCR-komplekset som har ansvaret for utviklingen, aktiveringen og effektorfunksjonene til T-cellene (1). De intracellulære halene til CD3-molekylet inneholder ett enkelt konservert motiv kjent som et immunreseptor tyrosinbasert aktiveringsmotiv, eller ITAM, som er essensielt i henhold til signaliseringsevnen til TCR (2, 3).

CD3 uttrykkes i cytoplasma til pro-tymocytter og så i medullære tymocytter når CD3-antigenet begynner å migrere til cellemembranen (4). CD3-membranen utrykkes i alle modne T-celler og NK-celler. Fenotypisk analyse av CD3 kan utføres ved å lokalisere en intracellulær hale eller membrandomener på overflaten. CD3 er en seleksjonsmarkør for T-cellelinjetilhørighet som uttrykkes i de fleste maligne krefttypene hos T-celler (5, 6).

CD3 blir derfor inkludert i de fleste flowcytometriske panelene for diagnose av hematologiske T-celle-lymfoproliferative sykdommer, inkl. leukemi og lymfekreft (5, 6, 7). Immunfenotypisk analyse av CD3+ celler utført sammen med andre cellefenotyper tillater enkel karakterisering av de ulike funksjonelle undergruppene av T-celler, som minne-, effektor- og regulatoriske T-celler (8).

Relativ og absolutt CD3+ er nyttig i henhold til vurdering av immunkompetanse ved immundefekter (f.eks. HIV, etter hematopoetisk stamcelletransplantasjon) og behandlingreaksjoner, men brukes sjeldent for valg av behandling (9, 10). CD3 brukes også til diagnose og/eller overvåking av T-celleaktivitet hos pasienter med primære eller sekundære immundefekter, autoimmunitet eller reaksjoner på immunsupprimerende behandling med monoklonale anti-T-celle-behandling og anti-tymocyttglobulin (11, 12, 13, 14, 15, 16).

REAGENSER

Konsentrasjon: Se det lot-spesifikke analysesertifikatet på www.beckmancoulter.com.

ADVARSEL OG FORHOLDSREGLER

1. Reagenset må ikke brukes etter utløpsdatoen.
2. Må ikke fryses.
3. La det nå romtemperatur (18–25 °C) før bruk.
4. Bør ikke utsettes for lys.
5. Unngå mikrobiell kontaminering av reagensene, ellers kan det gi feil resultater.
6. Antistoffløsninger som inneholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsiktighet. Ikke til innvortes bruk. Unngå all kontakt med hud, slimhinner og øyne.

   Videre kan natriumazid i et syremedium danne potensielt farlig hydrogenazid. Hvis reagenset må kasseres, anbefales det at det fortynnes i store mengder vann før det tømmes i avløpssystemet, slik at man unngår opphopning av natriumazid i metallrør, og for å hindre eksplosjonsfare.

7. Alle blodprøver må betraktes som potensielt smittefarlige og må håndteres med forsiktighet (gjelder spesielt: bruk av vernehansker, laboratoriefrakk og vernebriller).
8. Pipetter aldri med munnen og unngå all kontakt med prøvene på hud, slimhinner og øyne.
9. Blodprøverør og engangsmateriale som brukes til håndtering, skal kastes i beholdere beregnet for forbrenning.
10. Reagenser og avfall skal kastes i henhold til lokale krav.

GHS-FAREKLASSIFISERING

Ikke klassifisert som farlig

SDS Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på beckman.com/techdocs

OPPBEVARING OG STABILITET

De konjugerte væskefasene må oppbevares mellom 2 og 8 °C, og beskyttes mot lys før og etter at hetteglasset er åpnet.

Stabilitet for lukket flaske: Se utløpsdatoen på flasken.

Stabilitet for åpnet flaske: reagenset er stabilt i 365 dager.

PRØVER

Veneblod må tas ved bruk av sterile rør som inneholder EDTA-salt som antikoagulant.

Prøvene skal oppbevares i romtemperatur (18–25 °C) og ikke ristes. Prøvene skal homogeniseres ved forsiktig risting før du tar testprøven.

Prøvene må analyseres innen 24 timer etter venepunksjon.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Endringer i reagensenes fysiske utseende kan være tegn på redusert kvalitet, og slike reagenser skal ikke brukes.

I tilfelle emballasjen skulle være ødelagt eller hvis dataene som er innhentet skulle vise endring mht. ytelse, kan du kontakte din lokale forhandler eller bruke følgende e-postadresse:

INNHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive blandinger i metalliske avløpsrør. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Fare for eksplosive azider) (16.8.76). For å unngå mulig opphopning av azidforbindelser må avløpsrør skylles med vann etter avhending av ufortynnet reagens. Avfallshåndtering av natriumazid må skje i samsvar med relevante lokale forskrifter.

NØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE FØLGER MED SETTET:

- Prøvetakingsrør og materiale nødvendig for prøvetaking.
- Automatiske pipetter med engangsspisser til 10, 100 og 500 µL.
- Hemolyserør av plast.
- Kalibreringskuler: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Rød cellelyseringsreagens med vasketrinn etter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Leukocytt-fikseringsreagens. For eksempel: IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800).
- Isotyp kontroll APC-AlexaFluor750 : IOTest-reagens (Ref. A79393.).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Sentrifuger.
- Automatisk omrører (vortekstype).
- Flytcytometer.

PROSEDYRE MED VERSALYSE-REAGENS

Merk : Prosedyren som er beskrevet nedenfor er gyldig ved standardanvendelser. Volumer av prøvemateriale og/eller VersaLyse til enkelte anvendelser med Beckman Coulter vil kunne variere. Hvis dette er tilfelle skal anvisningene på det tekniske vedlegget for anvendelsen følges.

For hver analyserte prøve, i tillegg til testglasset, er det nødvendig med et kotrollglass hvor cellene blandes i nærvær av den isotype kontrollen (Ref. A79393.).

1. Ha 10 µL av det spesifikke IOTest-konjugerte antistoffet opp i hvert prøverør, og 10 µL av isotype-kontrollen opp i hvert kontrollrør.
2. Tilsett 100 µL av testprøven til begge glassene. Bland glassene varsomt med Vortex-blander.
3. Inkuber i 15 til 20 minutter ved romtemperatur (18–25 °C), beskyttet mot lys.
4. Deretter gjøres om nødvendig lyse av de røde cellene, i henhold til anbefalingene for lysereagensen som brukes. Som eksempel, dersom du ønsker å benytte VersaLyse (Ref. A09777), se vedlegget og følg helst prosedyren som kalles “med samtidig fiksering”, og som består av tilsetning av 1 mL “Fix-and-Lyse”-blandingen som tilberedes for dette. Det blandes umiddelbart med Vortex i ett sekund og inkuberes i 10 minutter ved romtemperatur, beskyttet mot lys. Hvis prøven ikke inneholder røde celler tilsettes det 2 mL PBS.
5. Sentrifugeres i 5 minutter ved 150 x g ved romtemperatur.
6. Fjern supernatanten ved aspirasjon.
7. Resuspender cellepelleten i 3 mL PBS.
8. Gjenta trinn 5.
9. Fjern supernatanten ved aspirasjon, og resuspender cellepelleten ved hjelp av:

   0,5 mL eller 1 mL PBS pluss 0,1 % formaldehyd hvis preparatene skal oppbevares i mindre enn 24 timer. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan oppnås ved å fortynne 12,5 µL IOTest 3-fikseringsløsning (REF A07800) ved 10X konsentrasjon av denne i 1 mL PBS).

0,5 mL eller 1 mL PBS uten formaldehyd hvis preparatene skal analyseres innen 2 timer.

Merk: I alle tilfeller skal preparatene oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttet mot lys.

FORVENTEDE VERDIER

Hvert laboratorium må fylle ut en oversikt over referanseverdier basert på en gruppe friske givere fra den lokale befolkningen Dette må gjøres ved å ta i betraktning alder, kjønn og etnisk tilhørighet., likeså andre potensielle regionale forskjeller.

I våre laboratorier ble prøver av fullblod fra 50 friske voksne behandler med reagensene som er beskrevet ovenfor. Resultatene for antall positive hendelser av interesse med denne reagensen kan finnes i tabellene nedenfor :

Lymfocytter	Nummer	Gjennomsnitt (%)	SD	VK (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

YTELSE

Resultatdata hentes ved å bruke prosedyren som beskrives over på 24 timer gamle blodprøver som er oppsamlet i sterile rør med EDTA-alt som antikoaguleringsagent. Analysen utføres innen 2 timer etter immunofarging.

SPESIFISITET

T-lymfocytter utgjør mesteparten av humane perifere blodlymfocytter (PBL) (17). T-lymfocytter karakteriseres ved at de uttrykker CD3-antigenet (17, 18). CD3-antigenet er et kompleks som består av 5 polypeptide kjeder: γ, δ, ε, ζ og η assosieres med T-cellereseptorkomplekset (TCR) (19).

CD3-kjedene er klynget i en gruppe på to invariante dimerer, γ/ε og δ/ε assosiert med en variabel dimer som består av ζ-homodimere, eller ζ/η-, eller ζ/γ -FcR-heterodimere (der γ-FcR er γ-kjeden til Fc-reseptorer), eller γ-FcR-homodimerer (19, 20, 21). CD3-komplekset som blir assosiert med TCR er involvert i gjenkjennelsen av peptider som er bundet til det store vevsforlikelighetsantigenkomplekset i klasse I og II under immunreaksjoner (22).

CD3-antigenet uttrykkes av modne T-lymfocytter og av en tymocyttundergruppe (23).

UCHT1 monoklonalt antistoff reagerer med ε-kjeden i CD3-komplekset (24). Det ble tilordnet CD3-klyngen for differensiering ved den første International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens i Paris i 1982 (25).

REPRODUSERBARHET INNENFOR LABORATORIET

På samme dag og med samme cytometer ble det gjennomført 12 målinger av prosentvis farging av et positivt mål. Resultatene som ble funnet er gitt i sammendrag i følgende tabell:

Positivt mål	Nummer	Gjennomsnitt (%)	SD	VK (%)
Lymfocytter CD3-APC-A750 +	12	74,76	0,52	0,70

Linearitet

For å teste linearitet for farging av denne reagensen, ble en positiv cellelinje ((HPBALL)) og en negativ cellelinje ((DAUDI)) blandet i forskjellige forhold med et konstant endelig antall celler, slik forhold mellom positive linje og negativ linje for blandingen lå i området fra 0 til 100 %.

Alikvoter ble farget med prosedyren som er beskrevet ovenfor og lineær regresjon mellom forventede verdier og observerte verdier ble beregnet.

Spesifisitet	Lineær regresjon	Linearitet (R2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

BEGRENSNINGER

1. Flowcytometri kan gi falske resultater hvis cytometeret ikke har blitt justert nøyaktig, hvis fluorescenslekkasjer ikke er kompensert riktig, og hvis regionene ikke er nøye plassert.
2. Det er å foretrekke å bruke RBC-lyseteknikk med et vasketrinn, da denne reagensen ikke er optimalisert for lyseteknikker uten vasking.
3. Nøyaktige og reproduserbare resultater vil oppnås så lenge de anvendte prosedyrene er i samsvar med det tekniske pakningsvedlegget og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerte antistoffet til dette reagenset er kalibrert for å oppnå best mulig forhold mellom spesifikt signal og ikke-spesifikt signal. Derfor er det viktig å overholde forholdet mellom reagensvolum og prøvevolum i hver test.
5. Ved hyperleukocytose fortynnes blodet i PBS for å oppnå en verdi på omtrent 5 x 10^9 leukocytter/L (26).
6. Ved visse sykdomstilstander, for eksempel alvorlig nyresvikt eller hemoglobinopatier, kan lyseringen av røde celler være langsom, ufullstendig eller til og med umulig. I dette tilfellet anbefales det å isolere mononukleærerte celler ved hjelp av en densitetsgradient (for eksempel Ficoll) før farging (27).
7. På grunn av fluorkromets tandem-struktur, sender også APC-AlexaFluor750 ut lys på 660 nm. Dette sekundære utslipps-klimakset varierer fra parti til parti av APC-AlexaFluor750 . Derfor bør kompensasjonmatrisen kontrolleres nøye for multi-fargeanalyse når du skifter en APC-AlexaFluor750 -konjugats parti.

Se vedlegget for eksempler og referanser.

VAREMERKER

Beckman Coulter, den stiliserte logoen og vare- og servicemerkene til Beckman Coulter som er omtalt her, er varemerker eller registrerte varemerker som tilhører Beckman Coulter, Inc. i USA og andre land.

Alexa Fluor er et varemerke for Molecular Probes, Inc.

Symbolforklaring

Symbolordliste er tilgjengelig på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Προδιαγραφές
Ειδικότητα	CD3
Κλώνος	UCHT1
Υβρίδωμα	NS1 x balb/c
Ανοσογόνο	T cell line + IL2
Ανοσοσφαιρίνη	IgG1
Είδος	Μυς
Κάθαρση	Χρωματογραφία συγγένειας
Φθοριόχρωμα	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Γραμμομοριακή αναλογία	APC-AlexaFluor750/Ig: 0,5-1,5
διέγερση λ	633/638 nm
Μέγιστη τιμή εκπομπών	775 nm
Ρυθμιστικό Διάλυμα	PBS pH 7,2 συν 2 mg/mL BSA και 0,1% NaN_3

IOTest
Συζευγμένο αντίσωμα
CD3-APC
-Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Αυτό το αντίσωμα συζευγμένο με ένα φθοριόχρωμα επιτρέπει την ταυτοποίηση και την καταμέτρηση των κυτταρικών πληθυσμών που εκφράζουν το αντιγόνο CD3 και που είναι παρόντες σε ανθρώπινα βιολογικά δείγματα μέσω κυτταρομετρίας ροής.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Αυτή η εξέταση βασίζεται στην ικανότητα συγκεκριμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων να δεσμεύονται στους αντιγονικούς καθοριστές που εκφράζονται από τα λευκοκύτταρα.

Η ειδική χρώση των λευκοκυττάρων πραγματοποιείται μέσω της επώασης του δείγματος με το αντιδραστήριο IOTest. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια αφαιρούνται στη συνέχεια με λύση και τα λευκοκύτταρα, τα οποία δεν επηρεάζονται από αυτήν τη διαδικασία, αναλύονται με κυτταρομετρία ροής.

Το κυτταρόμετρο ροής μετρά τη διάχυση φωτός και τον φθορισμό των κυττάρων. Καθιστά δυνατή την οριοθέτηση του πληθυσμού ενδιαφέροντος εντός του ηλεκτρονικού παραθύρου που ορίζεται σε ένα ιστόγραμμα, το οποίο συσχετίζει την ορθογώνια διάχυση φωτός (πλάγια σκέδαση ή SS) και τη διάχυση φωτός κλειστής γωνίας (πρόσθια σκέδαση ή FS). Άλλα ιστογράμματα που συνδυάζουν δύο από τις διαθέσιμες διαφορετικές παραμέτρους του κυτταρόμετρου μπορούν να χρησιμοποιηθούν υποστηρικτικά κατά το στάδιο της οριοθέτησης, ανάλογα με την εφαρμογή που επιλέγει ο χρήστης.

Ο φθορισμός των οριοθετημένων κυττάρων αναλύεται προκειμένου να είναι δυνατή η διάκριση μεταξύ των θετικά σημασμένων συμβάντων και των μη σημασμένων συμβάντων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ποσοστό των θετικών συμβάντων σε σχέση με το σύνολο των συμβάντων που ελήφθησαν από την οριοθέτηση.

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ

Το CD3 είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη, αποτελούμενη από τέσσερις τύπους πολυπεπτιδικών αλυσίδων: CD3γ, CD3δ, CD3ε και CD3ζ. Το CD3 συνδέεται με τον υποδοχέα Τ κυττάρων (TCR) για να σχηματίσει το σύμπλεγμα TCR, το οποίο ευθύνεται για την ανάπτυξη, την ενεργοποίηση και τις τελεστικές λειτουργίες των Τ κυττάρων (1). Οι ενδοκυττάριες ουρές των μορίων CD3 περιέχουν ένα μοναδικό συντηρημένο μοτίβο, που ονομάζεται «τυροσινικό μοτίβο ενεργοποίησης ανοσοϋποδοχέα» (ITAM) και είναι απαραίτητο για τη σηματοδοτική δράση του TCR (2, 3).

Το CD3 εκφράζεται στο κυτταρόπλασμα των προθυμοκυττάρων και κατόπιν στα θυμοκύτταρα του μυελού, από όπου το αντιγόνο CD3 αρχίζει να μετακινείται προς την κυτταρική μεμβράνη (4). Το μεμβρανικό CD3 εκφράζεται σε όλα τα ώριμα Τ κύτταρα και στα NK-T κύτταρα. Φαινοτυπική ανάλυση του CD3 μπορεί να διεξαχθεί με ανίχνευση είτε των περιοχών που βρίσκονται στην επιφάνεια της μεμβράνης είτε της ενδοκυττάριας ουράς. Το CD3 είναι ένας επιλεκτικός δείκτης της Τ σειράς και η έκφρασή του διατηρείται στις περισσότερες κακοήθεις νόσους των Τ κυττάρων (5, 6).

Επομένως, το CD3 περιλαμβάνεται στη συντριπτική πλειονότητα των ομάδων δοκιμασιών κυτταρομετρίας ροής για τη διάγνωση αιματολογικών λεμφοϋπερπλαστικών διαταραχών των Τ κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων της λευχαιμίας και του λεμφώματος (5, 6, 7). Η ανοσοφαινοτυπική ανάλυση των κυττάρων CD3+ σε συνδυασμό με άλλους κυτταρικούς φαινοτύπους επιτρέπει τον άμεσο χαρακτηρισμό των διάφορων λειτουργικών υποομάδων Τ κυττάρων, όπως των κυττάρων μνήμης, των τελεστικών κυττάρων και των Τ ρυθμιστικών κυττάρων (8).

Ο σχετικός και ο απόλυτος αριθμός CD3+ είναι χρήσιμοι για την αξιολόγηση της ανοσοεπάρκειας σε ορισμένες καταστάσεις ανοσοανεπάρκειας (π.χ. HIV και μετά από μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων) και την ανταπόκριση στη θεραπεία, αλλά σπάνια χρησιμοποιούνται για τη λήψη θεραπευτικών αποφάσεων (9, 10). Το CD3 χρησιμοποιείται επίσης για τη διάγνωση ή/και την παρακολούθηση της δραστηριότητας των Τ κυττάρων σε ασθενείς με πρωτοπαθή ή δευτεροπαθή ανοσοανεπάρκεια ή αυτοανοσία, και για την παρακολούθηση της ανταπόκρισης σε θεραπεία ανοσοκαταστολής με μονοκλωνικές θεραπείες κατά των Τ κυττάρων και με σφαιρίνη κατά των θυμοκυττάρων (11, 12, 13, 14, 15, 16).

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Συγκέντρωση: Δείτε το συγκεκριμένο πιστοποιητικό ανάλυσης της κάθε παρτίδας στο www.beckmancoulter.com.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

1. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης.
2. Μην καταψύχετε.
3. Αφήστε το να περιέλθει σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) πριν από τη χρήση.
4. Ελαχιστοποιήστε την έκθεση στο φως.
5. Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διαφορετικά ενδέχεται να προκύψουν ψευδή αποτελέσματα.

6. Να χειρίζεστε τα διαλύματα αντισωμάτων που περιέχουν αζίδιο του νατρίου (NaN_3) με προσοχή. Μην εισπνέετε και αποφεύγετε κάθε επαφή με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.

   Επιπλέον, σε όξινο μέσο, το αζίδιο του νατρίου μπορεί να σχηματίσει ένα δυνητικά επικίνδυνο υδραζωτικό οξύ. Αν χρειαστεί να απορριφθεί, συνιστάται η αραίωση του αντιδραστηρίου με μεγάλη ποσότητα νερού πριν από την έκχυση στο αποχετευτικό σύστημα, προκειμένου να αποφευχθεί η συσσώρευση αζιδίου του νατρίου στις μεταλλικές σωληνώσεις και να αποτραπεί ο κίνδυνος έκρηξης.
7. Πρέπει να θεωρείτε όλα τα δείγματα αίματος δυνητικά μολυσματικά και να τα χειρίζεστε με προσοχή (ειδικότερα: να φοράτε προστατευτικά γάντια, ποδιές και γυαλιά).
8. Αποφύγετε κάθε επαφή της πιπέττας με το στόμα καθώς και κάθε επαφή των δειγμάτων με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.
9. Τα σωληνάρια αίματος και το υλικό μίας χρήσης που χρησιμοποιούνται για τον χειρισμό πρέπει να απορρίπτονται σε ειδικά δοχεία που προορίζονται για αποτέφρωση.
10. Τα αντιδραστήρια και τα απόβλητα πρέπει να απομακρύνονται σύμφωνα με τις τοπικές απαιτήσεις.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ GHS

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο

SDS Το Φύλλο Δεδομένων Ασφάλειας είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση beckman.com/techdocs

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Οι υγρές συζευγμένες ουσίες διατηρούνται σε θερμοκρασίες μεταξύ 2 και 8 °C προστατευμένες από το φως, πριν και μετά από το άνοιγμα του φιαλιδίου.

Σταθερότητα κλειστού φιαλιδίου: δείτε ημερομηνία λήξης που αναγράφεται επάνω στο φιαλίδιο.

Σταθερότητα ανοιχτού φιαλιδίου: το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό για 365 ημέρες.

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Τα δείγματα φλεβικού αίματος πρέπει να διατηρούνται σε αποστειρωμένα σωληνάρια που περιέχουν άλας EDTA ως αντιπηκτικό.

Τα δείγματα θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) και δεν θα πρέπει να ανακινούνται. Πριν από τη λήψη του δείγματος προς εξέταση, τα δείγματα πρέπει να ομογενοποιούνται με ήπια ανάδευση.

Τα δείγματα πρέπει να αναλύονται εντός 24 ωρών από τη φλεβοκέντηση.

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ

Οποιαδήποτε μεταβολή στην εμφάνιση των αντιδραστηρίων είναι πιθανό να υποδεικνύει αλλοίωση και το αντιδραστήριο δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται.

Σε περίπτωση αλλοίωσης της συσκευασίας ή εάν τα δεδομένα που λήφθηκαν παρουσιάζουν κάποια αλλοίωση της απόδοσης, επικοινωνήστε με τον τοπικό σας διανομέα ή χρησιμοποιήστε την ακόλουθη διεύθυνση e-mail: immuno-techsup@beckmancoulter.com

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Το συντηρητικό αζιδίου του νατρίου μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικές ενώσεις στους μεταλλικούς αποχετευτικούς αγωγούς. Δείτε το ενημερωτικό δελτίο του NIOSH: Explosive Azide Hazard (Κίνδυνος έκρηξης αζιδίου) (16/8/76)
Για να αποφύγετε την ενδεχόμενη συσσώρευση ενώσεων αζιδίου, να εκπλένετε τους σωλήνες αποβλήτων με νερό μετά την απόρριψη μη αραιωμένου αντιδραστηρίου. Η απόρριψη του αζιδίου του νατρίου πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους αντίστοιχους τοπικούς κανονισμούς.

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΚΙΤ:

- Σωλήνες δειγματοληψίας και υλικό που είναι απαραίτητο για τη δειγματοληψία.
- Αυτόματες πιπέτες με ρύγχη μιας χρήσης για 10, 100 και 500 µL.
- Πλαστικά σωληνάρια αιμόλυσης.
- Σφαιρίδια βαθμονόμησης: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Αντιδραστήριο λύσης ερυθροκυττάρων με στάδιο πλύσης μετά τη λύση. Για παράδειγμα: VersaLyse (Ref. A09777).
- Αντιδραστήριο μονιμοποίησης λευκοκυττάρων. Για παράδειγμα: Διάλυμα μονιμοποίησης IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ισοτυπικός Έλεγχος APC-AlexaFluor750 : αντιδραστήριο IOTest (Κωδ. A79393.).
- Ρυθμιστικό διάλυμα (PBS: 0,01 M φωσφορικό νάτριο, 0,145 M χλωριούχο νάτριο, pH 7,2).
- Φυγόκεντρος.
- Αυτόματος αναδευτήρας (τύπου περιδίνησης).
- Κυτταρόμετρο ροής.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ VERSALYSE

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Η παραπάνω διαδικασία ισχύει για τις τυποποιημένες εφαρμογές. Οι όγκοι των δειγμάτων ή/και του VersaLyse για ορισμένες εφαρμογές Beckman Coulter μπορούν να διαφέρουν. Σε μια τέτοια περίπτωση, ακολουθείστε τις οδηγίες του τεχνικού φυλλαδίου της εφαρμογής.

Για κάθε δείγμα προς ανάλυση, προβλέψτε εκτός του δοκιμαστικού σωλήνα, έναν σωλήνα ελέγχου μέσα στον οποίο τα κύτταρα θα βρίσκονται υπό την παρουσία του ισοτυπικού ελέγχου (Κωδ. A79393.).

1. Προσθέστε 10 µL ειδικού συζευγμένου αντισώματος IOTest σε κάθε δοκιμαστικό σωληνάριο και 10 µL του ισοτυπικού μάρτυρα σε κάθε σωληνάριο μάρτυρα.
2. Προσθέστε 100 µL του προς εξέταση δείγματος στους 2 σωλήνες. Ανακινήστε ελαφρά με Vortex.
3. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) για 15 έως 20 λεπτά, προστατεύοντας από το φως.
4. Προχωρήστε, εάν είναι απαραίτητο, στη λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων ακολουθώντας τις οδηγίες του αντιδραστηρίου λύσης που χρησιμοποιείτε. Για παράδειγμα, εάν επιθυμείτε να χρησιμοποιήσετε το VersaLyse (Κωδ. A09777), αναφερθείτε στις τεχνικές οδηγίες και ακολουθείστε κατά προτίμηση

την διαδικασία «με συνακόλουθη στερεότητα» που συνίσταται στο να προσθέσετε 1 mL του μείγματος “Fix-and-Lyse” που κατασκευάζεται αυτοσχεδίως. Ανακινήστε αμέσως με Vortex ένα δευτερόλεπτο και επωάστε για 10 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και μακριά από εστίες φωτός. Αν το δείγμα δεν περιέχει ερυθρά αιμοσφαίρια, προσθέστε 2 mL PBS.

5. Φυγοκεντρήστε για 5 λεπτά στα 150 x g σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση.
7. Πραγματοποιήστε επαναιώρηση του κυτταρικού ιζήματος με 3 mL PBS.
8. Επαναλάβετε το βήμα 5.
9. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση και επαναιωρήστε το κυτταρικό ίζημα με:

   0,5 mL ή 1 mL PBS συν 0,1% φορμαλδεΰδη, εάν τα παρασκευάσματα πρόκειται να φυλαχθούν για λιγότερο από 24ώρες. (Μπορείτε να παρασκευάσετε διάλυμα 0,1% φορμαλδεΰδης/PBS αραιώνοντας 12,5 μL του μονιμοποιητικού διαλύματος IOTest 3 (REF A07800) 10πλάσιας συγκέντρωσης σε 1 mL PBS).

   0,5 mL ή 1 mL PBS χωρίς φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να αναλυθούν εντός 2 ωρών.

Σημείωση: Σε κάθε περίπτωση, φυλάσσετε τα παρασκευάσματα προστατευμένα από το φως, σε θερμοκρασία μεταξύ 2 και 8 °C.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Κάθε εργαστήριο οφείλει να καθιερώσει μια λίστα με τιμές αναφοράς βασισμένες σε μια ομάδα από υγιείς δότες που ανήκουν στον ντόπιο πληθυσμό. Για τη λίστα αυτή πρέπει να ληφθούν υπόψη η ηλικία, το φύλο, η εθνική καταγωγή, καθώς και η οποιαδήποτε άλλη πιθανή τοπική διαφορά.

Στα εργαστήριά μας εξετάστηκε το ολικό αίμα 50 υγιών ενηλίκων, χρησιμοποιώντας το αντιδραστήριο που περιγράφηκε παραπάνω. Τα αποτελέσματα που εξήχθησαν για την καταμέτρηση των θετικών συμβάντων με αυτό το αντιδραστήριο ομαδοποιήθηκαν στον παρακάτω πίνακα :

Λεμφοκύτταρα	Αριθμός	Μέση τιμή (%)	SD	CV (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

ΑΠΟΔΟΣΗ

Χρησιμοποιώντας την διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω γίνεται η απόκτηση των δεδομένων της επίδοσης των 24-ώρων δειγμάτων του αίματος, που συλλέγησαν προηγουμένως σε αποστειρωμένα φιαλίδια που περιείχαν άλας EDTA ως αντιπηκτικό. Η ανάλυση εκτελείται μέσα σε 2 ώρες μετά από την ανοσοχρώση.

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Τα Τ λεμφοκύτταρα συνιστούν το μεγαλύτερο μέρος των λεμφοκυττάρων περιφερικού αίματος (PBL) στον άνθρωπο (17). Τα Τ λεμφοκύτταρα χαρακτηρίζονται από την έκφραση του αντιγόνου CD3 (17, 18). Το αντιγόνο CD3 αποτελεί σύμπλεγμα 5 πολυπεπτιδικών αλυσίδων: γ, δ, ε, ζ και η, συνδεδεμένων στο σύμπλεγμα του υποδοχέα Τ κυττάρων (TCR) (19).

Οι αλυσίδες CD3 συγκεντρώνονται σε μια ομάδα δύο μη μεταβλητών διμερών γ/ε και δ/ε που συνδέονται με ένα μεταβλητό διμερές αποτελούμενο από ομοδιμερή ζ ή ζ/η ή ετεροδιμερή ζ/γ FcR (όπου γFcR είναι η αλυσίδα γ των υποδοχέων Fc) ή ομοδιμερή γFcR (19, 20, 21). Το σύμπλεγμα CD3 που συνδέεται με τον TCR συμμετέχει στην αναγνώριση των πεπτιδίων που δεσμεύονται στο μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας τάξης I και τάξης II κατά την ανοσολογική απάντηση (22).

Το αντιγόνο CD3 εκφράζεται από ώριμα Τ λεμφοκύτταρα και από μια υποομάδα θυμοκυττάρων (23).

Το μονοκλωνικό αντίσωμα UCHT1 αντιδρά με την αλυσίδα ε του συμπλέγματος CD3 (24). Αντιστοιχίστηκε στο σύμπλεγμα διαφοροποίησης CD3 κατά τη διάρκεια της 1ης Διεθνούς συνάντησης εργασίας για τα αντιγόνα διαφοροποίησης των ανθρώπινων λευκοκυττάρων, που πραγματοποιήθηκε το 1982 στο Παρίσι, Γαλλία (25).

ΕΝΔΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Την ίδια ημέρα και μέσω του ίδιου κυτταρομετρητή ροής πραγματοποιήθηκαν 12 προσδιορισμοί του ποσοστού σήμανσης ενός θετικού πληθυσμού. Τα αποτελέσματα που εξήχθησαν ομαδοποιήθηκαν στον παρακάτω πίνακα:

Θετικός στόχος	Αριθμός	Μέση τιμή (%)	SD	CV (%)
Λεμφοκύτταρα CD3-APC-A750 +	12	74,76	0,52	0,70

Γραμμικότητα

Προκειμένου να ελεγχθεί η γραμμικότητα σήμανσης αυτού του αντιδραστηρίου, μία θετική κυτταρική σειρά ((HPBALL)) και μία αρνητική κυτταρική σειρά ((DAUDI)) αναμείχθηκαν σε διαφορετικές αναλογίες και με σταθερή τελική κυτταρική ποσότητα, έτσι ώστε η αναλογία της θετικής σειράς/αρνητικής σειράς του μείγματος να κυμαίνεται από 0 έως 100%.

Τα τμήματα σημάνθηκαν σύμφωνα με τη διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω και η γραμμική παλινδρόμηση των αναμενόμενων τιμών έναντι των τιμών που παρατηρήθηκαν υπολογίστηκε.

Ειδικότητα	Γραμμική Παλινδρόμηση	Γραμμικότητα (R2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Η κυτταρομετρία ροής ενδέχεται να παράγει ψευδή αποτελέσματα αν το κυτταρόμετρο δεν είναι σωστά ευθυγραμμισμένο, αν οι διαρροές φθορισμού δεν έχουν αντισταθμιστεί σωστά και αν οι περιοχές δεν έχουν τοποθετηθεί προσεκτικά.
2. Χρησιμοποιείτε κατά προτίμηση μια τεχνική λύσης των ερυθροκυττάρων με πλύση καθώς η λειτουργία αυτού του αντιδραστηρίου δεν είναι η βέλτιστη για τις τεχνικές λύσης "χωρίς πλύση".
3. Ακριβή και επαναλήψιμα αποτελέσματα προκύπτουν στο μέτρο που οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι σύμφωνες με το ένθετο τεχνικών οδηγιών και συμβατές με τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές.
4. Το συζευγμένο αντίσωμα αυτού του αντιδραστηρίου είναι βαθμονομημένο ώστε να προσφέρει την καλύτερη αναλογία ειδικής σήμανσης/μη ειδικής σήμανσης. Γι' αυτό είναι σημαντικό να τηρείτε την αναλογία όγκου αντιδραστηρίου/όγκου δείγματος σε κάθε εξέταση.

5. Σε περίπτωση υπερλευκοκυττάρωσης, αραιώστε το αίμα σε PBS ώστε να επιτευχθεί τιμή περίπου 5 x 10^9 λευκοκύτταρα/L (26).
6. Σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις, όπως η σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια ή οι αιμοσφαιρινοπάθειες, η λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων ενδέχεται να είναι αργή, ατελής ή και ανέφικτη. Σε αυτήν την περίπτωση, συνιστάται η απομόνωση των μονοπύρηνων κυττάρων με διαβάθμιση πυκνότητας (για παράδειγμα Ficoll) πριν από τη χρώση (27).
7. Εξαιτίας της διπλής δομής του φθοροχρωμίου, το APC-AlexaFluor750 εκπέμπει επίσης φως στα 660 nm. Αυτή η δευτερογενής κορυφή εκπομπής διαφέρει μεταξύ των παρτίδων του APC-AlexaFluor750 . Επομένως, για πολυχρωματική ανάλυση, η ρύθμιση της αντιστάθμισης πρέπει να ελέγχεται προσεκτικά κατά την αλλαγή παρτίδας ενός συζυγούς APC-AlexaFluor750 .

Δείτε το Παράρτημα για παραδείγματα και παραπομπές.

ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ

Η επωνυμία Beckman Coulter, το τυποποιημένο λογότυπο και τα σήματα προϊόντων και υπηρεσιών της Beckman Coulter που αναφέρονται στο παρόν είναι εμπορικά σήματα ή σήματα κατατεθέντα της Beckman Coulter, Inc. στις Ηνωμένες Πολιτείες και σε άλλες χώρες.

Η επωνυμία Alexa Fluor είναι εμπορικό σήμα της Molecular Probes, Inc.

Υπόμνημα συμβόλων

Το γλωσσάριο συμβόλων είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση beckman.com/techdocs (αριθμός εγγράφου B60062)

	Specifikacijos
Specifiškumas	CD3
Klonas	UCHT1
Hibridoma	NS1 x balb/c
Imunogenas	T cell line + IL2
Imunoglobulinas	IgG1
Rūšis	Pelė
Išgryninimas	Gimininguмo chromatografija
Fluorochromas	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Molinis santykis	APC-AlexaFluor750/Ig: 0,5-1,5
λ žadinimas	633/638 nm
Spinduliuotės smailė	775 nm
Buferinis tirpalas	7,2 pH fosfato buferinis tirpalas plius 2 mg/ml GSA ir 0,1 % NaN_3

„IOTest“
Konjuguotas antikūnas CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 ml, 10 µl / test

***In vitro* diagnostiniam naudojimui**

NAUDOJIMO PASKIRTIS

Naudojant šį su fluorochromu konjuguotą antikūną, tėkmės citometrijos būdu galima identifikuoti ir išskaičiuoti ląstelių populiacijas, išreiškiančias CD3 antigeną, esantį žmogaus biologiniuose mėginiuose.

PRINCIPAS

Šis tyrimas pagrįstas specifinių monokloninių antikūnų gebėjimu jungtis prie antigenų determinantų, kuriuos ekspresuoja leukocitai.

Specifinis leukocitų dažymo procesas atliekamas mėginį inkubuojant reagentu „IOTest“. Tada lizuojant pašalinami eritrocitai ir srauto citometrijos būdu analizuojami leukocitai, kurie per šį etapą nepaveikiami.

Srauto citometru matuojama ląstelių šviesos sklaida ir fluorescencija. Šiuo būdu galima tiriamąją populiaciją apriboti histogramoje apibrėžtu elektroniniu langu, kuris koreliuoja su šviesos sklaida stačiu kampu (šonine sklaida arba ŠS) ir šviesos sklaida smailu kampu (priekine sklaida arba FS). Kitos citometre įdiegtos histogramos, kuriose derinami du skirtingi parametrai, gali būti naudojamos kaip papildoma priemonė nustatant atrankos intervalus, žiūrint, kokį naudojimo būdą pasirinko naudotojas.

Analizuojant apribotų ląstelių fluorescenciją, teigiamai nudažyti įvykiai atskiriami nuo neigiamai nudažytų. Rezultatai išreiškiami kaip teigiamų įvykių procentinė dalis visų įvykių, gautų nustačius atrankos intervalą, atžvilgiu.

KLINIKINIO NAUDOJIMO PAVYZDŽIAI

CD3 yra transmembraninis baltymas, kurio sudėtyje yra keturių tipų polipeptidų grandinių CD3γ, CD3δ, CD3ε ir CD3ζ. CD3 yra susijęs su T ląstelių receptoriumi (TCR) formuojant TCR kompleksą, kuris yra atsakingas už T ląstelių vystymąsi, aktyvinimą ir efektoriaus funkcijas (1). CD3 molekulių tarpląsteliniuose galuose yra vienas konservuotas motyvas, žinomas kaip imunoreceptoriaus tirozino pagrindo motyvas (arba ITAM), svarbus TCR signalizavimo funkcijai (2, 3).

CD3 išreiškiamas protimocitų citoplazmoje, o tada šerdinės dalies timocituose, kai CD3 antigenas pradeda migruoti į ląstelės membraną (4). Membranos CD3 išreiškiamas visose subrendusiose T ląstelėse ir NK-T ląstelėse. Fenotipinę CD3 analizę galima atlikti nustatant paviršiaus membranos domenus arba tarpląstelinį galą. CD3 yra T linijos selektyvus žymeklis ir jis išreiškiamas daugelyje T ląstelių navikų (5, 6).

Todėl CD3 yra įtrauktas į didžiąją daugumą tėkmės citometrijos skydelių, skirtų diagnozuoti hematologinius T ląstelių limfoproliferacinius sutrikimus, įskaitant leukemiją ir limfomą (5, 6, 7). Imunofenotipinė CD3+ ląstelių analizė, atliekama kartu su kitais ląstelių fenotipais, leidžia lengvai apibūdinti įvairių funkcinių T ląstelių poaibius, pvz., atminties, efektoriaus ir T reguliavimo ląstelių (8).

Santykinis ir absoliutusis CD3+ yra naudingas siekiant įvertinti tam tikrų imuniteto nepakankamumo būklių imunokompetenciją (pvz., ŽIV po hemopoezinių kamieninių ląstelių persodinimo) ir atsaką į gydymą, tačiau jis retai naudojamas apsisprendžiant dėl gydymo (9, 10). CD3 taip pat gali būti vertingas diagnozuojant pacientus su pirminiu arba antriniu imunodeficitu ir (arba) stebint jų T ląstelių aktyvumą, autoimunitetą ir atsaką į imunosupresinį gydymą monokloniniais antikūnais, kai taikoma anti-T ląstelių terapija ir anti-antkrūčio liaukos globulino terapija(11, 12, 13, 14, 15, 16).

REAGENTAI

Koncentracija: žr. specifinės partijos analizės sertifikatą adresu www.beckmancoulter.com.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. Reagento nenaudoti pasibaigus galiojimo laikui.
2. Neužšaldyti.
3. Prieš naudojant reikia leisti sušilti iki kambario temperatūros (18–25 °C).
4. Laikykite kuo mažiau apšviestoje vietoje.
5. Saugokite, kad reagentai nebūtų užteršti mikrobais, nes antraip gali būti gaunami klaidingi rezultatai.
6. Su antikūnų tirpalais, kurių sudėtyje yra natrio azido (NaN_3), reikia elgtis atsargiai. Nevartokite į vidų ir saugokitės, kad nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.

   Be to, rūgščioje terpėje natrio azidas gali išskirti potencialiai pavojingą hidrazo rūgštį. Jei jį reikia pašalinti, prieš pilant į nutekėjimo sistemą, reagentą rekomenduojama praskiesti dideliu vandens kiekiu, kad būtų išvengta natrio azido kaupimosi metaliniuose vamzdžiuose ir išvengta sprogimo pavojaus.

7. Visi kraujo mėginiai turi būti laikomi potencialiai užkrečiamais ir su jais turi būti elgiamasi atsargiai (itin svarbu dėvėti apsaugines pirštines, apsiaustus ir akinius).
8. Jokiu būdu netraukite pipete burna ir venkite mėginių kontakto su oda, gleivine ir akimis.
9. Panaudoti kraujo mėgintuvėliai ir vienkartinės medžiagos turėtų būti išmetami į sudeginamas ad hoc talpyklas.
10. Reagentai ir atliekos turi būti šalinami pagal vietinius reikalavimus.

GHS PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Neklasifikuojama kaip pavojinga

SDS Saugos duomenų lapą galima gauti interneto svetainėje techdocs.beckman.com

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Prieš atidarant buteliuką ir jį atidarius konjuguotas skystąsias formas reikia laikyti 2–8 °C temperatūroje ir saugoti nuo šviesos.

Uždaryto buteliuko stabilumas: žr. ant buteliuko nurodytą galiojimo laiką.

Atidaryto buteliuko stabilumas: reagentas lieka stabilus 365 d.

MĖGINIAI

Veninio kraujo mėginius reikia imti į sterilius mėgintuvėlius su EDTA druska kaip antikoaguliantu.

Mėginius reikia laikyti kambario temperatūroje (18–25 °C) ir nekratyti. Prieš paimant tiriamąjį mėginį reikia atsargiai sujudinti mėginus, kad jie taptų vienalyčiai.

Mėginiai turi būti išanalizuoti per 24 valandas po venų punkcijos.

KOKYBĖS PABLOGĖJIMO POŽYMIAI

Bet koks reagentų fizinės išvaizdos pokytis gali reikšti pablogėjusias gaminio savybes, todėl tokio reagento naudoti negalima.

Jei pastebite pakuotės gedimą arba jei gauti duomenys rodo apie tam tikrą veikimo duomenų pasikeitimą, kreipkitės į vietinį platintoją arba naudokite toliau pateiktą el. pašto adresą:

TURINYS

Natrio azido konservantas metalo vamzdynuose gali sudaryti sprogiuosius junginius. Žr. „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (Nacionalinio darbų saugos ir sveikatos instituto biuletenį: sprogstamojo azido pavojus) (76-8-16).
Norėdami išvengti galimo azido junginių susikaupimo, išpylę į kanalizacijos sistemą neatskiesto reagento, vandeniu praplaukite nutekamuosius vamzdžius. Natrio azidas turi būti šalinamas pagal taikomų vietos reglamentų reikalavimus.

REIKALINGOS, BET SU RINKINIU NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS

- Mėginiams imti reikalingi mėginių ėmimo mėgintuvėliai ir medžiagos.
- Automatinės pipetės su vienkartiniais antgaliais, skirtos 10, 100 ir 500 µl tūrio mėginiams.
- Plastikiniai hemolizės mėgintuvėliai.
- Kalibravimo kortelės: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Raudonųjų kraujo kūnelių lizavimo reagentas su plovimo etapu baigus lizuoti. Pavyzdys: „VersaLyse“ (kat. nr. A09777).
- Leukocitų fiksavimo reagentas. Pavyzdys: fiksavimo tirpalas „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800).
- Izotipinė kontrolinė medžiaga APC-AlexaFluor750: „IOTest“ reagentas (REF A79393).
- Buferinis tirpalas (fosfato buferinis tirpalas: 0,01 M natrio fosfato; 0,145 M natrio chlorido; pH 7,2).
- Nucentrifuguokite.
- Automatinis maišytuvas (sūkurinio tipo).
- Srauto citometras.

PROCEDŪRA NAUDOJANT REAGENTĄ „VERSALYSE“

Pastaba: toliau aprašoma procedūra tinka standartiniams įrenginiams. Kai kuriuose „Beckman Coulter“ įrenginiuose gali būti naudojami kitokie mėginio ir (arba) „VersaLyse“ tūriai. Tokiu atveju laikykitės įrenginio techniniame lapelyje pateikiamų instrukcijų.

Analizuojant kiekvieną mėginį, be tiriamojo mėgintuvėlio reikia naudoti vieną kontrolinį mėgintuvėlį, kuriame ląstelės sumaišytos su izotipine kontroline medžiaga (REF A79393).

1. 10 µl specifinio IOTest konjuguoto antikūno įpilkite į kiekvieną tiriamąjį mėgintuvėlį ir 10 µl izotipinės kontrolės medžiagos įpilkite į kiekvieną kontrolės mėgintuvėlį.
2. Į abu mėgintuvėlius įpilkite po 100 µl tiriamojo mėginio. Mėgintuvėlius atsargiai išmaišykite sūkuriniu būdu.
3. 15–20 minučių inkubuokite kambario temperatūroje (18–25 °C), saugodami nuo šviesos.
4. Pvz., jei norite naudoti „VersaLyse“ (nuor. A09777), žr. lankstinuką ir pageidautina vadovaukitės procedūra, vadinama „su vienalaikiu fiksavimu“, kuri apima 1 ml iškart paruošto „Fix-and-Lyse“ mišinio įpylimą. Iškart vieną sekundę maišykite ir 10 min. inkubuokite kambario temperatūroje, saugodami nuo šviesos.Jeigu bandinys sudėtyje nėra raudonųjų ląstelių, įpilkite 2 ml PBS.
5. 5 minutes centrifuguokite veikiant 150 x g jėgai kambario temperatūroje.
6. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą.
7. Iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami 3 ml fosfato buferinį tirpalą.
8. Pakartokite 5 veiksmą.
9. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą ir iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami toliau nurodytas medžiagas.

0,5 ml arba 1 ml PBS ir 0,1 % formaldehido, jeigu preparatai bus laikomi trumpiau nei 24 val. (0,1 % formaldehido PBS galima gauti, 12,5 µl 10X koncentracijos fiksatyvo tirpalo „IOTest 3“ (REF A07800) atskiedus 1 ml PBS.)

0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo be formaldehido, jeigu preparatai bus analizuojami per 2 val.

Pastaba. Visais atvejais preparatus laikykite 2–8 °C temperatūroje ir saugodami nuo šviesos.

TIKĖTINOS VERTĖS

Kiekviena laboratorija turi pagal vietinės populiacijos sveikų donorų grupės duomenis susidaryti pamatinių verčių sąrašą. Tai darant reikia atsižvelgti į amžių, lytį, etninę grupę ir visus kitus galimus regioninius skirtumus.

Mūsų laboratorijose 50 sveikų suaugusiųjų viso kraujo mėginiai buvo apdoroti pirmiau aprašytu reagentu. Toliau pateiktose lentelėse nurodyti šį reagentą naudojant gauti dominančių įvykių teigiamų atvejų skaičiaus rezultatai.

Limfocitai	Skaičius	Vidurkis (%)	SN	VK (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

VEIKIMAS

Efektyvumo duomenys gaunami pirmiau aprašytą procedūrą atliekant su 24 valandų senumo kraujo mėginiais, anksčiau paimtais į sterilius mėgintuvėlius su EDTA druska, kaip antikoaguliantu. Analizė atliekama per 2 valandas po imuninio nusidažymo.

SPECIFIŠKUMAS

T limfocitai sudaro daugumą žmogaus periferinių kraujo limfocitų (PBL) (17). T limfocitams būdinga CD3 antigeno išraiška (17, 18). CD3 antigenas yra 5 polipeptidinių grandinių kompleksas: γ, δ, ε, ζ ir η, susijęs su T ląstelių receptorių (TCR) kompleksu (19).

CD3-APC
-Alexa Fluor 750CD3 grandinės yra sukauptos dviejų nekintamų dimerų grupėje, γ/ε and δ/ε susijusioje su kintamu dimeru, kurį sudaro ζ homodimerai arba ζ/η arba ζ/γ FcR heterodimerai (γFcR, Fc° receptorių γ grandinė), arba γFcR homodimerai (19, 20, 21). CD3 kompleksas, susijęs su TCR, dalyvauja atpažįstant peptidus, prisijungusius prie pagrindinio histo suderinamumo komplekso I ir II klasės, kai yra imuninis atsakas (22).

CD3 antigenas išreiškiamas subrendusiais T limfocitais ir timocitų poaibiu (23).

UCHT1 monokloninis antikūnas reaguoja su CD3 komplekso ε grandine (24). Jis buvo priskirtas CD3 diferenciacijos klasteriui per „1-ąją konferenciją dėl žmogaus leukocitų diferencijavimo antigenų“ (ŽLDA), vykusią Paryžiuje, Prancūzijoje, 1982 m. (25).

ATKURIAMUMAS VIENOJE LABORATORIJOJE

Tą pačią dieną tuo pačiu citometru atlikta 12 teigiamų tiriamųjų objektų nusidažymų procentinio skaičiaus tyrimų. Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Teigiamas taikinys	Skaičius	Vidurkis (%)	SN	VK (%)
Limfocitai +CD3-APC-A750	12	74,76	0,52	0,70

Tiesiškumas

Tiriant šio reagento nudažymo tiesiškumą, teigiamųjų ląstelių linija (HPBALL) ir neigiamųjų ląstelių linija (DAUDI) sumaišytos įvairiomis proporcijomis, išlaikant nekintamą galutinį ląstelių skaičių, kad mišinio teigiamųjų ir neigiamųjų ląstelių santykis kito nuo 0 % iki 100 %.

Alikvotinės dalys nudažytos taikant pirmiau aprašytą procedūrą ir skaičiuota tiesinė regresija tarp laukiamų ir stebimų verčių.

Specifiškumas	Tiesinė regresija	Tiesiškumas (R^2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

RIBOJIMAI

1. Atliekant srauto citometriją klaidingi rezultatai gali būti gauti tuo atveju, jei citometras nebuvo tiksliai sureguliuotas, fluorescencijos nuotėkiai nebuvo tinkamai kompensuoti ar regionai nebuvo kruopščiai išdėstyti.
2. Pageidautina naudoti RBC lizavimo metodiką su plovimo veiksmu, nes šis reagentas nebuvo optimizuotas lizavimo be plovimo veiksmo metodikoms naudoti.
3. Tikslūs ir atkuriami rezultatai bus gaunami tol, kol naudojamos procedūros atitiks techniniame lapelyje pateiktą informaciją ir bus atliekamos laikantis geros laboratorijos praktikos.
4. Šio reagento konjuguotas antikūnas sukalibruotas taip, kad būtų gaunamas geriausias specifinio ir nespecifinio signalų santykis. Dėl šios priežasties atliekant kiekvieną tyrimą svarbu tiksliai laikytis nurodyto reagento ir mėginio tūrių santykio.
5. Hiperleukocitozės atveju kraują atskieskite fosfato buferiniu tirpalu, kad gautumėte maždaug 5 x 10^9 leukocitų/l koncentraciją (26).
6. Sergant kai kuriomis ligomis, pavyzdžiui, sunkiu inkstų nepakankamumu arba hemoglobinopatijomis, eritrocitai gali būti lėtai arba nevisiškai sulizuojami arba jų visai neįmanoma lizuoti. Tokiu atveju rekomenduojama prieš dažant atskirti vienbranduoles ląsteles tankio gradiento būdu (pavyzdžiui, Ficollo) (27).
7. Dėl tandeminės fluorochromo struktūros APC-AlexaFluor750 taip pat skleidžia šviesą ties 660 nm. Šios antrinės emisijos smailė skiriasi kiekvienoje APC-AlexaFluor750 partijoje. Todėl atliekant kelių spalvų analizę reikia atidžiai patikrinti kompensavimo matricą, kai keičiama APC-AlexaFluor750 konjugato partija.

Pavyzdžiai ir nuorodos pateikti priede.

PREKIŲ ŽENKLAI

„Beckman Coulter“, stilizuotas logotipas ir kiti šiame dokumente nurodyti „Beckman Coulter“ gaminių ir prekių ženklai yra „Beckman Coulter, Inc.“ prekių ženklai arba registruotieji prekių ženklai Jungtinėse Amerikos Valstijose ir kitose šalyse.

„Alexa Fluor“ yra „Molecular Probes, Inc.“ prekės ženklas.

Simbolių sutartiniai ženklai

Simbolių terminų žodynas pateikiamas interneto svetainėje beckman.com/techdocs (dokumento numeris B60062).

	Specifikációk
Specificitás	CD3
Klón	UCHT1
Hibridóma	NS1 x balb/c
Immunogén	T cell line + IL2
Immunglobulin	IgG1
Faj	Egér
Tisztítás	Affinitáskromatográfia
Fluorokróm	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Moláris arány	APC-AlexaFluor750 / Ig: 0,5-1,5
λ gerjesztés	633/638 nm
Kibocsátási csúcs	775 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plusz 2 mg/mL BSA és 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugált antitest
CD3-APC
-Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

***In vitro* diagnosztikai használatra.**

RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

Ez a fluorokrómmal konjugált antitest lehetővé teszi a CD3 antigént kifejező sejtpopulációk azonosítását és mennyiségi meghatározását humán biológiai mintákban, áramlási citométer segítségével.

MŰKÖDÉSI ELV

A vizsgálat azon alapul, hogy a specifikus monoklonális antitestek képesek-e kötődni a leukociták által expresszált antigén-determinánsokhoz.

A leukociták specifikus festése a mintának az IOTest reagenssel való inkubálásával történik. Az eritrocitákat ezután lízissel eltávolítják, és a leukocitákat, amelyekre nincs hatással ez a művelet, analizálni lehet áramlási citometriával.

Az áramlási citométer a sejtek fényszórását és fluoreszcenciáját méri. Ez lehetővé teszi a vizsgált populáció elhatárolását egy olyan elektronikus ablakon belül, amelyet a derékszögben szórt fény (oldalszóródás vagy SS) és a hegyes szögben szórt fény (előreszóródás vagy FS) intenzitását összehasonlító hisztogramon határoztak meg. Más, a citométer által mértek közül két paramétert kombináló hisztogramok használhatók kiegészítésként a kapuzási fázisban, a felhasználó által választott alkalmazástól függően.

Az elkülönített sejtek fluoreszcenciáját a rendszer elemzi a pozitívan festődött események megkülönböztetésére a nem festődöttektől. Az eredmények kifejezése a pozitív események százalékos arányaként történik a kapuzás által regisztrált összes eseményhez képest.

PÉLDÁK KLINIKAI ALKALMAZÁSRA

A CD3 egy transzmembrán fehérje, amely négy különböző polipeptidláncot tartalmaz, a CD3γ, a CD3δ, a CD3ε és a CD3ζ láncot. A CD3 a T-sejt-receptorhoz (TCR) kapcsolódva képezi a TCR-komplexumot, amely felelős a T-sejtek fejlődéséért, aktivációjáért és effektor funkcióiért (1). A CD3 molekula intracelluláris vége egyetlen, állandó motívumot tartalmaz, amelynek a neve immunreceptor tirozin alapú aktivációs motívum (ITAM), és elengedhetetlen a TCR jelátviteli funkciójához (2, 3).

A CD3 expresszálódik a pro-timociták citoplazmájában, majd a csontvelői timocitákban, ahol a CD3 antigén elkezd a sejtmembránon megjelenni (4). A CD3 minden érett T-sejt és természetes ölő (NK) T-sejt sejtmembránján expresszálódik. A CD3 fenotípusa vizsgálható a sejtfelszíni, transzmembrán domének vagy az intracelluláris vég kimutatásával. A CD3 a T-sejtsorra szelektíven jellemző marker, és a legtöbb T-sejtes rosszindulatú betegségben megmarad az expressziója (5, 6).

Ezért a CD3 a T-sejtes hematológiai limfoproliferatív betegségek, többek között a leukémia és a limfóma diagnosztizálására szolgáló áramlási citometriás panelek túlnyomó többségében szerepel (5, 6, 7). A CD3+ sejtek immunfenotipizálása más fenotípus-markerekkel együtt lehetővé teszi a különböző T-sejt-típusok, például a memória-, az effektor- és a szabályozó T-sejtek egyszerű megkülönböztetését (8).

A CD3+ relatív és abszolút mennyisége bizonyos immunhiányos állapotok (például HIV-fertőzés vagy a hemopoetikus őssejtek transzplantációja utáni állapot) esetén hasznos az immunkompetencia és a terápiás válasz értékelésére, azonban ritkán használják a kezelésről hozott döntéshez (9, 10). A CD3 használatos a T-sejtek aktivitásának diagnosztizálására és/vagy monitorozására primer vagy szekunder immunhiányban vagy autoimmun betegségben szenvedő betegeknél, illetve a monoklonális T-sejt elleni és a thymus-globulin elleni immunszuppresszív terápiára adott válasz értékelésére (11, 12, 13, 14, 15, 16).

REAGENSEK

Koncentráció: Lásd a tételspecifikus Analízistanúsítványt a www.beckmancoulter.com weboldalon.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

1. Ne használja a reagenst a lejárati időn túl.
2. Fagyasztani tilos.
3. Használat előtt hagyja felmelegedni szobahőmérsékletre (18–25 °C).
4. Minimalizálja a fényexpozíciót.
5. Kerülje el a reagensek mikrobiális kontaminációját, ebben az esetben hamis eredményeket kaphat.
6. A nátrium-azidot (NaN_3) tartalmazó antitestoldatokat körültekintően kell kezelni. A terméket nem szabad lenyelni, és nem érintkezhet bőrrel, nyálkahártyával vagy a szemmel.

Sőt, savas közegben a nátrium-azid potenciálisan robbanékony nitrogén-hidrogénsavat képez. Ha ártalmatlanítani kell, javasolt a reagenst nagy mennyiségű vízzel hígítani a szennyvízcsatornába öntés előtt, hogy ne halmozódhasson fel nátrium-azid a fémcsövekben, és ne keletkezzen robbanásveszély.

7. Minden vérmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és óvatosan kell kezelni (azaz védőkesztyűt, köpenyt és szemüveget viselve).
8. Soha ne pipettázzon szájjal, és kerülje a bőr és nyálkahártya mintákkal való érintkezését.
9. A vércsöveket és a kezeléshez használt, egyszer használatos anyagokat olyan ad hoc tartóedényben kell kidobni, amely égetésre szolgál.
10. A reagenseket és a hulladékot a helyi követelmények szerint kell ártalmatlanítani.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Nincs veszélyes anyagként besorolva

SDS A biztonsági adatlap elérhető a következő weboldalon: beckman.com/techdocs

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A folyékony konjugátumokat 2 és 8 °C között, fénytől védve kell tárolni az üvegcse felnyitása előtt és után is.

Stabilitás bontatlan üvegben: lásd a fiolán található címkét.

A felbontott fiola stabilitása: a reagens 365 napig stabil.

MINTÁK

A vénás vért steril, alvadásgátlóként EDTA sóját tartalmazó csövekbe kell gyűjteni.

A mintákat szobahőmérsékleten (18–25 °C között) kell tárolni, és nem szabad felrázni. A tesztminta vétele előtt a mintákat homogenizálni kell óvatos rázással.

A minták elemzését a vénaszúráshoz képest 24 órán belül el kell végezni.

A MINŐSÉGROMLÁS JELEI

A reagensek fizikai megjelenésének bármilyen megváltozása megromlásra utalhat, és a reagenst nem szabad felhasználni.

Ha a csomagolás sérült, vagy ha a visszakapott adatok a teljesítmény változását mutatják, kérjük, vegye fel a kapcsolatot helyi terjesztőjével, vagy írjon a következő email címre: immuno-techsup@beckmancoulter.com

A CSOMAG TARTALMA

A nátrium-azid tartósítószer robbanékony vegyületeket képezhet a fém lefolyócsövekben. Lásd az alábbi NIOSH-közleményt: Explosive Azide Hazard (Robbanékony azidokkal kapcsolatos veszélyek) (76. 8. 16.).
Az azidvegyületek esetleges felhalmozódásának elkerülése érdekében a hígítatlan reagens szennyvízlefolyóba történő kiöntése után a szennyvízvezetéket vízzel át kell öblíteni. A nátrium-azid ártalmatlanítását a vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell végezni.

SZÜKSÉGES, DE A KÉSZLETTEL NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK:

- Mintacsövek és a mintavételhez használt anyagok.
- Automata pipetták eldobható hegyekkel 10, 100 és 500 µL-hez.
- Műanyag hemolíziscsövek.
- Kalibráló gyöngyök: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Vörösvértesteket lizáló reagens, a lízis után mosási fázissal. Például: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leukocitafixáló reagens. Például: IOTest 3 fixálóoldat (Ref. A07800).
- Izotipikus kontrol APC-AlexaFluor750 : IOTest reagens (Ref. A79393.).
- Puffer (PBS: 0,01 M nátrium-foszfát; 0,145 M nátrium-klorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automata keverő (vortex típusú).
- Áramlási citométer.

ELJÁRÁS VERSALYSE REAGENS ESETÉN

Megjegyzés: Az alábbi műveletek az alap alkalmazások esetén érvényesek. A minta és/vagy a VersaLyse térfogatok bizonyos Beckman Coulter alkalmazások esetén különbözőek lehetnek. Ilyen esetben kövesse az alkalmazás technikai leírásában található útmutatót.

Minden analizálandó mintához a teszt csövön felül egy kontroll cső is szükséges amiben a sejteket a választott specifikus festésnek megfelelő izotipikus kontrollal vannak összekeverve (Ref. A79393.).

1. Adjon 10 minden teszt csőhöz µL specifikus IOTest konjugált antitestet, majd 10 µL izotípus kontrollt minden egyes kontroll csőhöz.
2. Adjon 100 µL teszt mintát a mindkét csőhöz. Óvatosan vortexelje a kémcsöveket.
3. Inkubálja 15–20 percig szobahőmérsékleten (18–25 °C), fénytől védett helyen.
4. Ha szükséges, végezze el a vörösvértestek lízisét a lízis reagenshez kapott ajánlások alapján. Például: ha a VersaLyse (Ref. A09777) reagenst kívánja használni, lehetőség szerint kövesse a kísérő fixálásos eljárást alkalmazó útmutatást, amelyben 1 mL “Fix-and-Lyse” frissen készített elegyet kell a mintához adni. Azonnal vortexelje egy másodpercig, és inkubálja szobahőmérsékleten, fénytől védve, 10 percig. Ha a minta nem tartalmaz vörösvértesteket adjon hozzá 2 mL PBS-t.
5. Centrifugálja 5 percig szobahőmérsékleten, 150 x g-vel.
6. Felszívás segítségével távolítsa el a felülúszót.
7. Reszuszpendálja a sejtpelletet 3 mL PBS-ben.

8. Ismételje meg az 5. lépést.
9. Felszívással távolítsa el a felülúszót, és reszuszpendálja a sejtpelletet az alábbi reagenssel:

   0,1% formaldehidet tartalmazó 0,5 mL vagy 1 mL PBS, ha a készítményt legfeljebb 24 óráig fogják tárolni. (0,1% formaldehidet tartalmazó PBS készítéséhez hígítson 12,5 µL IOTest 3 fixáló oldatot (REF A07800) a 10-szeresére 1 mL PBS-ben).

   0,5 mL vagy 1 mL PBS formaldehid nélkül, ha a preparátum elemzése 2 órán belül fog történni.

Megjegyzés: A készítményeket fénytől védve, 2 és 8 °C között kell tárolni.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

Minden laboratóriumnak meg kell határoznia saját referenciaértékeit, a helyi populációból származó egészséges donorok eredményei alapján. Ennek során a kort, nemet és etnikai csoportot, valamint bármely egyéb, esetlegesen előforduló helyi különbözőséget figyelembe kell venni.

50 egészséges felnőtt teljes vérmintáját kezeltük laboratóriumunkban a fent leírt reagenssel. A vizsgált pozitív események megszámlálásából kapott eredményeket az alábbi táblázatok tartalmazzák.

Limfociták	Szám	Átlag (%)	SD	CV (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

TELJESÍTMÉNY

A mérés működését jellemző adatokat a fent leírt módszerrel, 24 órás, előzőleg EDTA véralvadásgátlót tartalmazó steril csőbe gyűjtött vérmintán végzett mérések szolgáltatták. Az analízist 2 órával az immunfestés után kell elvégezni.

SPECIFICITÁS

A T-limfociták teszik ki a humán perifériás vérben található limfociták (PBL) többségét (17). A T-limfociták jellemzője a CD3 antigén expressziója (17, 18). A CD3 antigén 5 polipeptidláncból (γ, δ, ε, ζ és η) álló komplexum, amely a T-sejt-receptor (TCR) komplexumhoz kapcsolódik (19).

A CD3 láncai két nem változékony, dimerekből álló csoportot képeznek (γ/ε és δ/ε) amelyek egy variábilis dimerhez kapcsolódnak, amely ζ homodimerekből, ζ/η vagy ζ/γ FcR heterodimerekből (a γFcR az Fc-receptor γ lánca), vagy pedig γFcR homodimerekből áll (19, 20, 21). A TCR-hez kapcsolódott CD3 komplexum részt vesz az immunválasz során a fő hisztokompatibilitási komplex I. és II. osztályába tartozó fehérjékhez kötődött peptidek felismerésében (22).

A CD3 antigént expresszálják az érett T-limfociták és a timociták egy alcsoportja (23).

Az UCHT1 monoklonális antitest reakcióba lép a CD3 komplexum ε láncával (24). Ezt rendelték a CD3 differenciálódási csoporthoz a humán leukocita differenciációs antigénekről tartott 1. nemzetközi műhely alkalmával (1982, Párizs, Franciaország) (25).

LABORATÓRIUMOK KÖZÖTTI ÁTJÁRHATÓSÁG

Azonos napon, azonos citométert használva, 12 , a pozitív sejteket tartalmazó minták festődésének arányát mérő vizsgálatot végeztünk . A kapott eredményeket az alábbi táblázat foglalja össze:

Pozitív cél	Szám	Átlag (%)	SD	CV (%)
Limfociták CD3-APC-A750 +	12	74,76	0,52	0,70

Linearitás

A reagens festődésének linearitását az alábbiak szerint ellenőrizték. Egy pozitív sejtvonal ((HPBALL)) és egy negatív sejtvonal ((DAUDI)) sejtjeit különböző arányokban kevertek össze (a teljes sejtszámot állandónak tartva), oly módon, hogy a keverékben a pozitív/negatív sejtek aránya 0 és 100% között változott.

A keverékekből vett alikvotoknak a fenti eljárás szerinti festését követően a várt és a megfigyelt értékek közötti lineáris regressziót számították ki.

Specificitás	Lineáris Regresszió	Linearitás (R2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

KORLÁTOZÁSOK

1. Az áramlási citometria hamis eredményeket adhat, ha a citométert nem igazítják tökéletesen, ha nem kompenzálják megfelelően a fluoreszcenciaszivárgást és ha a régiókat nem pozicionálják elég gondosan.
2. Javasolt mosási lépést is tartalmazó vörösvértest lízis módszer alkalmazása, mivel ezt a reagenst nem optimalizáltuk “mosás nélküli” lízis módszerekhez.
3. Pontos és megismételhető eredmények születnek, amennyiben az eljárásokat a műszaki tájékoztató szerint és a helyes laboratóriumi gyakorlattal összhangban végzik el.
4. A reagens konjugált antitestjét úgy kalibrálták, hogy a legjobb specifikus jel/nem specifikus jel arányt produkálja. Ezért fontos, hogy minden tesztnél betartsa a reagenstérfogat/mintatérfogat arányt.
5. Emelkedett leukocitaszám esetén hígítsa a vért annyi PBS hozzáadásával, hogy a fehérvérsejtek koncentrációja körülbelül 5 x 10^9 leukocita/L legyen (26).
6. Bizonyos betegségek, például súlyos veseelégtelenség vagy hemoglobinopátiák esetében előfordulhat, hogy a vörösvértestek lízise lassú, részleges, vagy akár lehetetlen. Ilyenkor javasolt a festés előtt a mononukleáris sejtek elkülönítése egy sűrűséggradiens alapján működő eljárással (ilyen például a Ficoll) (27).
7. A fluorokróm tandem szerkezete miatt APC-AlexaFluor750 szintén fényt bocsát ki 660 nm-en. Ez a másodlagos emissziós csúcs parcelláról parcellára változik a APC-AlexaFluor750 esetében. Ezért a több színű elemzés esetén alaposan ellenőrizni kell a kompenzációs mátrixot, amikor egy APC-AlexaFluor750 -konjugátum parcelláját megváltoztatják.

A példákért és az irodalomjegyzékért lásd a Függeléket.

VÉDJEGYEK

A Beckman Coulter, a stilizált logó, valamint az itt említett Beckman Coulter termék- és szolgáltatásjegyek a Beckman Coulter, Inc. védjegyei vagy bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és más országokban.

Az Alexa Fluor a Molecular Probes, Inc. védjegye.

Szimbólumok listája

A szimbólumok jegyzéke elérhető a következő weboldalon: beckman.com/techdocs (dokumentumszám: B60062)

	Specyfikacje
Swoistość	CD3
Klon	UCHT1
Hybrydoma	NS1 x balb/c
Immunogen	T cell line + IL2
Immunoglobulina	IgG1
Gatunek	Mysz
Oczyszczanie	Chromatografia powinowactwa
Fluorochrom	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Stosunek molowy	APC-AlexaFluor750 / Ig: 0,5-1,5
Wzbudzenie λ	633/638 nm
Pik emisji	775 nm
Bufor	PBS o pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Przeciwciało skoniugowane CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

PRZEZNACZENIE

To przeciwciało skoniugowane z fluorochromem pozwala na identyfikację i zliczanie populacji komórek eksprymujących antygen CD3 obecnych w próbkach biologicznych pochodzenia ludzkiego metodą cytometrii przepływowej.

ZASADA DZIAŁANIA

Ten test jest oparty na zdolności swoistych przeciwciał monoklonalnych do wiązania się z determinantami antygenowymi ekspresjonowanymi przez lekukocyty.

Barwienie swoiste leukocytów jest wykonywane poprzez inkubację próbki z odczynnikiem IOTest. Krwinki czerwone są następnie usuwane poprzez lizę, a leukocyty, na które ta liza nie wpływa, są analizowane metodą cytometrii przepływowej.

Cytometr przepływowy mierzy rozpraszanie światła i fluorescencję komórek. Umożliwia to odgraniczenie populacji zainteresowania w elektronicznym oknie zdefiniowanym na histogramie, który koreluje ortogonalne rozpraszanie światła (rozpraszanie boczne — Side Scatter, w skrócie SS) i rozpraszanie światła pod wąskim kątem (rozpraszanie do przodu, Forward Scatter, w skrócie FS). Na etapie bramkowania, w zależności od zastosowania wybranego przez użytkownika, można używać innych histogramów łączących dwa z różnych parametrów dostępnych w cytometrze.

Fluorescencja odgraniczonych komórek jest analizowana w celu odróżnienia zdarzeń barwionych dodatnio od zdarzeń nieulegających barwieniu. Wyniki są wyrażane jako odsetek zdarzeń dodatnich względem wszystkich zdarzeń zarejestrowanych poprzez bramkowanie.

PRZYKŁADY ZASTOSOWAŃ KLINICZNYCH

CD3 to białko przezbłonowe zawierające cztery rodzaje łańcuchów polipeptydowych: CD3γ, CD3δ, CD3ε oraz CD3ζ. CD3 wiąże się do receptora komórki T (ang. T Cell Receptor, TCR) tworząc kompleks TCR, który jest odpowiedzialny za rozwój, aktywację i funkcje efektorowe komórek T (1). Ogony wewnątrzkomórkowe cząsteczek CD3 zawierają pojedynczy zakonserwowany motyw znany jako motyw aktywacji immunoreceptora opartej na tyrozynie (ang. immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM), który jest niezbędny do przekazywania sygnałów przez TCR (2, 3).

CD3 ulega ekspresji w cytoplazmie protymocytów, a następnie do tymocytów szpikowych, gdy antygen CD3 zaczyna migrować do błony komórkowej (4). Błonowy CD3 ulega ekspresji we wszystkich dojrzałych komórkach oraz komórkach NK-T. Analizę fenotypową CD3 można przeprowadzić przez detekcję powierzchniowych domen błonowych lub ogona wewnątrzkomórkowego. CD3 to selektywny wobec linii komórkowej T marker i jego ekspresja jest utrzymywana na większości nowotworów złośliwych komórek T (5, 6).

Dlatego CD3 jest uwzględnione w znacznej większości paneli cytometrii przepływowej w celu rozpoznawania hematologicznych zaburzeń limfoproliferacyjnych komórek T, w tym białaczki i chłoniaka (5, 6, 7). Analiza immunofenotypowa komórek CD3+ przeprowadzona w połączeniu z innymi fenotypami komórek umożliwia łatwą charakteryzację różnych funkcjonalnych podzbiorów komórek T, jak komórki T pamięci, efektorowe oraz regulatorowe (8).

Względny i bezwzględny CD3+ jest użyteczny w ocenie immunokomptenecji określonego stanu niedoboru odporności (np. HIV, pohematopoetyczny przeszczep komórek macierzystych) i odpowiedzi na terapię, ale jest rzadko stosowany w decyzjach terapeutycznych (9, 10). CD3 służy także do diagnostyki i (lub) monitorowania aktywności komórek T u pacjentów z pierwotnym lub wtórnym niedoborem odporności, zaburzeniami autoimmunologicznymi i odpowiedzią na terapię immunosupresyjną monoklonalnymi przeciwciałami przeciwko komórkom T oraz przeciwko globulinie grasicy (11, 12, 13, 14, 15, 16).

ODCZYNNIKI

Stężenie: patrz certyfikat analizy dla partii na stronie www.beckmancoulter.com.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Nie używać odczynników po upływie daty ważności.
2. Nie zamrażać.
3. Przed użyciem odczekać, aż osiągnie temperaturę pokojową (18–25°C).
4. Maksymalnie ograniczyć narażenie na działanie światła.
5. Nie dopuścić do skażenia mikrobiologicznego odczynników, gdyż może to spowodować uzyskanie fałszywych wyników.
6. Z roztworami przeciwciał zawierającymi azydek sodu (NaN_3) należy postępować ostrożnie. Nie spożywać i nie dopuszczać do kontaktu ze skórą, błoną śluzową oraz oczami.

Ponadto w środowisku kwaśnym azydek sodu może tworzyć potencjalnie niebezpieczny kwas azotowodorowy. W przypadku konieczności usunięcia zalecane jest rozcieńczenie odczynnika w dużej objętości wody przed wlaniem go do kanalizacji, aby uniknąć gromadzenia się azydku sodu w metalowych rurach i uniknąć ryzyka wybuchu.

7. Wszystkie próbki krwi należy uważać za potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi ostrożnie (w szczególności nosić ochronne rękawice, fartuchy i okulary).
8. Nie pipetować ustami. Unikać wszelkiego kontaktu próbek ze skórą, śluzówkami i oczami.
9. Probówki przeznaczone na krew i materiały jednorazowego użytku używane podczas procedury należy usuwać do pojemników ad hoc przeznaczonych do spalenia.
10. Odczynniki i odpady należy usuwać zgodnie z wymogami lokalnymi.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Produkt nie został sklasyfikowany jako niebezpieczny

SDS Karta charakterystyki jest dostępna pod adresem beckman.com/techdocs

MAGAZYNOWANIE I STABILNOŚĆ

Koniugaty w formie ciekłej muszą być przed otwarciem fiolki przechowywane w temperaturze 2 – 8°C, bez dostępu światła.

Stabilność zamkniętej fiolki: patrz data ważności na fiolce.

Stabilność otwartej fiolki: odczynnik zachowuje stabilność przez 365 dni.

PRÓBKI

Krew żylną należy pobierać do sterylnych probówek zawierających antykoagulant w postaci soli EDTA.

Próbki należy przechowywać w temperaturze pokojowej (18–25°C), bez wytrząsania. Przed pobraniem próbki do testu należy uzyskać jednorodną mieszaninę poprzez delikatne mieszanie.

Próbki muszą zostać zbadane w ciągu 24 godzin od pobrania krwi żylnej przez nakłucie.

OZNAKA POGORSZENIA WŁAŚCIWOŚCI

Wszelkie zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników mogą wskazywać na pogorszenie właściwości — odczynników takich nie należy używać.

W przypadku naruszenia opakowania lub jeśli uzyskane dane wskazują możliwość zmian dotyczących działania, należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub przesłać wiadomość na poniższy adres e-mail:

ZAWARTOŚĆ

Środek konserwujący, azydek sodu, może tworzyć związki wybuchowe w metalowych rurach kanalizacyjnych. Patrz NIOSH Bulletin (Biuletyn instytutu NIOSH): Explosive Azide Hazard (Niebezpieczeństwo wybuchu azydku) (16.8.76).
Po usunięciu nierozcieńczonego odczynnika należy przepłukać rury ściekowe wodą, aby uniknąć gromadzenia się azydków. Azydek sodu musi być usuwany zgodnie z odpowiednimi przepisami lokalnymi.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE Z ZESTAWEM:

- Probówki do pobierania próbek i materiały wymagane do pobierania próbek.
- Pipety automatyczne z jednorazowymi końcówkami na 10, 100 i 500 µL.
- Probówki z tworzywa sztucznego przeznaczone do hemolizy.
- Kulki kalibracyjne: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Odczynnik do lizy erytrocytów, z etapem przemywania po etapie lizy. Przykład: VersaLyse (nr ref. A09777).
- Odczynnik do utrwalania limfocytów. Przykład: Roztwór utrwalający IOTest 3 (nr ref. A07800).
- Kontrola izotypowa APC-AlexaFluor750 : IOTest reagent (Ref. A79393.).
- Bufor (PBS: 0,01 M fosforan sodu; 0,145 M chlorek sodu; pH 7,2).
- Wirówka.
- Mieszadło automatyczne (typu worteks).
- Cytometr przepływowy.

PROCEDURA Z ODCZYNNIKIEM VERSALYSE

Uwaga: Poniższa procedura obowiązuje w standardowych zastosowaniach. Niektóre zastosowania Beckman Coulter mogą wymagać innych objętości próbek i/lub odczynika VersaLyse. W takim przypadku postępować zgodnie z instrukcją zamieszczoną w instrukcji zastosowania.

Dla każdej analizowanej próbki oprócz probówki testowej wymagana jest jedna probówka kontrolna, w której komórki mieszane są w obecności kontroli izotypowej (Odn. A79393.).

1. Dodać 10 µL swoistego przeciwciała skoniugowanego IOTest do każdej probówki i 10 µL kontroli izotypowej do każdej probówki kontrolnej.
2. Dodaj po 100 µL próbki do obu probówek. Łagodnie wymieszaj probówki wytrząsarką Vortex.
3. Inkubować przez 15–20 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C), chroniąc przed światłem.
4. Następnie przeprowadź lizę erytrocytów (jeśli wymagana), postępując zgodnie z instrukcją stosowanego odczynnika do lizy. Na przykład, jeśli chcesz użyć odczynnika VersaLyse (Odn. A09777), zapoznaj się z ulotką i najlepiej zastosuj procedurę o nazwie „z równoczesnym utrwalaniem”, polegającym na dodaniu 1 mL świeżo przygotowanego roztworu „Fix-and-Lyse”. Natychmiast wymieszaj przez sekundę mikserem Vortex i inkubuj przez 10 minut w temperaturze pokojowej, bez dostępu światła. Jeśli próbka nie zawiera czerwonych krwinek, dodaj 2 mL PBS.
5. Wirować przez 5 minut przy 150 x g w temperaturze pokojowej.

6. Usunąć supernatant poprzez zasysanie.
7. Zawiesić osad komórkowy w 3 mL PBS.
8. Powtórzyć etap 5.
9. Usunąć supernatant poprzez zasysanie i ponownie zawiesić osad komórkowy w:

   0,5 mL lub 1 mL PBS oraz 0,1% formaldehydu, jeśli preparaty mają być przechowywane przez czas krótszy niż 24 godz. (0,1% roztwór formaldehydu w PBS można uzyskać, rozcieńczając 12,5 µL odczynnika utrwalającego IOTest 3 (REF A07800) w stężeniu 10X w 1 mL PBS).

   0,5 mL lub 1 mL PBS bez formaldehydu, jeśli preparaty zostaną poddane analizie w ciągu 2 godz.

Uwaga: Niezależnie od sytuacji preparaty należy przechowywać w temperaturze 2–8°C, chroniąc je przed światłem.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

Każde laboratorium musi stworzyć listę wartości odniesienia w oparciu o grupę zdrowych dawców z lokalnej populacji. Należy przy tym uwzględnić wiek, płeć i grupę etniczną oraz wszelkie dodatkowe potencjalne różnice regionalne.

W naszych laboratoriach, z wykorzystaniem opisanego powyżej odczynnika przeprowadzono badania próbek pełnej krwi 50 zdrowych osób dorosłych. Uzyskane wyniki zliczeń istotnych zdarzeń pozytywnych z odczynnikiem podano w poniższych tabelach :

Limfocyty	Liczba	Średnia (%)	SD	WZ (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

WYDAJNOŚĆ

Dane wydajności uzyskano z użyciem procedury opisanej powyżej, na 24-godzinnych próbkach krwi zebranych uprzednio do sterylnych probówek z solą EDTA jako antykoagulantem. Analizę wykonuje się w ciągu 2 godzin od wybarwiania immunologicznego.

SWOISTOŚĆ

Limfocyty T stanowią większość ludzkich limfocytów krwi obwodowej (ang. pheripheral blood lymphocytes, PBL) (17). Limfocyty T cechują się ekspresją antygenu CD3 (17, 18). Antygen CD3 to kompleks 5 łańcuchów polipeptydowych: γ, δ, ε, ζ i η powiązanych z kompleksem receptora komórki T (TCR) (19).

Łańcuchy CD3 są zgrupowane w dwa niezmienne dimery, γ/ε i δ/ε związane z dimerem zmiennym, który składa się z homodimerów ζ lub ζ/η lub heterodimerów ζ/γ FcR (γFcR będący łańcuchem γ receptorów Fc) lub homodimerów γFcR (19, 20, 21). Kompleks CD3 związany z TCR bierze udział w rozpoznawaniu peptydów związanych z głównym układem zgodności tkankowej klasy I oraz II podczas odpowiedzi immunologicznej (22).

Antygen CD3 ulega ekspresji na dojrzałych limfocytach oraz podzbiorze tymocytów (23).

Przeciwciało monoklonalne UCHT1 reaguje z łańcuchem ε kompleksu CD3 (24). Podczas Pierwszych Międzynarodowych Warsztatów Różnicowania Antygenów Leukocytów Ludzkich w Paryżu (Francja) w 1982 r. przypisano je do gronka różnicowania CD3 (25).

ODTWARZALNOŚĆ WEWNĄTRZLABORATORYJNA

Jednego dnia, za pomocą jednego cytometru, przeprowadzono 12 pomiarów procentu wybarwienia pozytywnego obiektu. Uzyskane wyniki podsumowuje tabela poniżej:

Dodatnie docelowe komórki	Liczba	Średnia (%)	SD	WZ (%)
Limfocyty CD3-APC-A750 +	12	74,76	0,52	0,70

Liniowość

W celu sprawdzenia liniowości barwienia odczynnikiem zmieszano w różnych proporcjach linie komórek dodatnich ((HPBALL)) i ujemnych ((DAUDI)), ze stałą liczbą sumaryczną komórek w taki sposób, by uzyskać stosunki komórek dodatnich i ujemnych liniowo w zakresie od 0 do 100%.

Porcje wybarwiono, stosując opisaną wyżej procedurę, a następnie wyliczono regresję liniową wartości spodziewanych i doświadczalnych.

Swoistość	Regresja liniowa	Liniowość (R2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

ORGANICZENIA

1. Wyniki cytometrii przepływowej mogą być zafałszowane, jeśli osiowanie cytometru nie było dokładne, przepuszczona fluorescencja nie została prawidłowo skompensowana, a regiony nie zostały starannie upozycjonowane.
2. Zaleca się stosowanie techniki lizy czerwonych krwinek z etapem płukania, ponieważ odczynnik nie został zoptymalizowany do technik lizy bez płukania.
3. Uzyskane wyniki będą dokładne i odtwarzalne pod warunkiem, że stosowane będą procedury zgodne z informacjami zawartymi w ulotce z danymi technicznymi oraz z dobrymi praktykami laboratoryjnymi.
4. Skoniugowane przeciwciało zawarte w tym odczynniku zostało skalibrowane tak, aby zapewniać najlepszy stosunek sygnału swoistego do nieswoistego. Dlatego ważne jest przestrzeganie stosunku objętości odczynnika do objętości próbki w każdym teście.
5. W przypadku hiperleukocytozy należy rozcieńczyć krew w PBS, aby uzyskać wartość w przybliżeniu 5 x 10^9 leukocytów/L (26).
6. W niektórych stanach chorobowych, takich jak ciężka niewydolność nerek lub hemoglobinopatie, liza krwinek czerwonych może być powolna, niepełna lub nawet niemożliwa. W takich przypadkach przed barwieniem zalecane jest wyizolowanie komórek jednojądrzastych na gradiencie gęstości (na przykład Ficoll) (27).
7. Z powodu tandemowej struktury fluorochromu, APC-AlexaFluor750 emituje także światło przy 660 nm. Ten wtórny szczyt emisji różni się pomiędzy partiami APC-AlexaFluor750 .Dlatego podczas analizy wielokolorowej należy uważnie sprawdzić macierz kompensacji w przypadku zmiany serii koniugatu z odczynnikiem APC-AlexaFluor750 .

Przykłady i piśmiennictwo można znaleźć w załączniku.

ZNAKI TOWAROWE

Beckman Coulter, stylizowane logo oraz wymienione w tym dokumencie znaki produktów i usług firmy Beckman Coulter są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Beckman Coulter, Inc. w Stanach Zjednoczonych i innych krajach.

Alexa Fluor jest znakiem towarowym firmy Molecular Probes, Inc.

Legenda symboli

Słowniczek symboli jest dostępny pod adresem beckman.com/techdocs (numer dokumentu B60062)

	Specifikace
Specificita	CD3
Klon	UCHT1
Hybridom	NS1 x balb/c
Imunogen	T cell line + IL2
Imunoglobulin	IgG1
Druhy	Myš
Purifikace	Afinitní chromatografie
Fluorochrom	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Molární poměr	APC-AlexaFluor750/Ig: 0,5-1,5
Excitace λ	633/638 nm
Emisní vrchol	775 nm
Pufr	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugovaná protilátka CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 ml, 10 µl / test

Pouze pro diagnostiku *in vitro*

URČENÉ POUŽITÍ

Tato protilátka konjugovaná s fluorochromem umožňuje metodou průtokové cytometrie identifikovat a určit počet buněk v populacích, které v lidských biologických vzorcích exprimují antigen CD3.

PRINCIP

Tento test je založen na schopnosti monoklonálních protilátek specificky se vázat na antigenní determinanty exprimované na leukocytech.

Specifické značení leukocytů se provádí inkubováním vzorku s reagencií IOTest. Červené krvinky jsou poté odstraněny provedením lýzy a bílé krvinky, jež tímto procesem nejsou ovlivněny, jsou analyzovány na průtokovém cytometru.

Průtokový cytometr měří difúzi světla a fluorescenci buněk. Umožňuje oddělit zkoumanou populaci v rámci elektronického okna definovaného na histogramu, který je v korelaci s ortogonální difúzí světla (kolmý rozptyl) a s difúzí světla v úzkém úhlu (přímý rozptyl). Jako podporu ve fázi gatování lze, v závislosti na aplikaci zvolené uživatelem, použít další histogramy s kombinací dvou různých parametrů, které jsou v cytometru k dispozici.

Fluorescence oddělených buněk je analyzována s cílem odlišit pozitivně obarvené události od neobarvených. Výsledky jsou vyjádřeny jako procentní podíl pozitivních událostí ze všech událostí zjištěných gatováním.

PŘÍKLADY KLINICKÝCH APLIKACÍ

CD3 je transmembránový protein obsahující čtyři typy polypeptidových řetězců, konkrétně CD3γ, CD3δ, CD3ε a CD3ζ. Řetězec CD3 je asociován s receptorem T-buněk (TCR) s cílem vytvořit komplex TCR, který odpovídá za vývoj, aktivaci a funkce efektoru T-buněk (1). Nitrobuněčné konce molekul CD3 obsahují jeden konzervovaný motiv známý jako motiv aktivace imuno-receptoru založený na tyrosinu (ITAM), který je důležitý pro možnosti signalizace TCR (2, 3).

Antigen CD3 je exprimován v cytoplazmatu pro-thymocytů a přechází do medulárních thymocytů, když antigen CD3 začne migrovat do membrány buňky (4). Antigen CD3 membrány je exprimován ve všech zralých T-buňkách a v NK-T-buňkách. Fenotypovou analýzu CD3 lze provádět zjišťováním domén povrchových membrán nebo nitrobuněčného konce. CD3 je selektivní marker řady T a jeho exprimace je zachována u maligních onemocnění většiny T-buněk (5, 6).

Marker CD3 je proto obsažen v převážné většině panelů průtokové cytometrie pro účely diagnostiky hematologických lymfo-proliferativních poruch T-buněk včetně leukémie a lymfomu (5, 6, 7). Imuno-fenotypová analýza buněk CD3+ prováděná v kombinaci s dalšími fenotypy buněk umožňuje snadnou charakterizaci různých funkčních podmnožin T-buněk, jako jsou paměťové buňky, efektory a regulační T-buňky (8).

Relativní a absolutní CD3+ se využívá při posuzování imuno-kompetence určitých stavů deficitu imunity (např. HIV, stav po transplantaci hematopoietických kmenových buněk) a v rámci terapeutické odezvy, jen zřídka je však využíván při rozhodování o léčbě (9, 10). CD3 se používá také při diagnostice a případně monitorování aktivity T-buněk u pacientů s primárním nebo sekundárním deficitem autoimunity a jako odezva na terapii s potlačením imunity s terapií monoklonálních anti-T-buněk a anti-globulinu brzlíku (11, 12, 13, 14, 15, 16).

REAGENCIE

Koncentrace: Viz osvědčení o analýze pro danou šarži na stránce www.beckmancoulter.com.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagencii nepoužívejte po datu exspirace.
2. Nezmrazujte.
3. Před použitím nechte vytemperovat na laboratorní teplotu (18–25 °C).
4. Minimalizujte expozici světlu.
5. Zabraňte mikrobiologické kontaminaci reagencií, jinak mohou být výsledky chybné.
6. S roztoky protilátek obsahujícími azid sodný (NaN_3) je třeba manipulovat opatrně. Neužívejte vnitřně a zabraňte veškerému kontaktu s pokožkou, sliznicemi a očima.

   V kyselém prostředí může azid sodný navíc vytvářet potenciálně nebezpečnou kyselinu azidovodíkovou. Při likvidaci se doporučuje před vylitím do odpadu reagencii zředit velkým objemem vody, aby nedocházelo k hromadění nebezpečného azidu sodného v kovovém potrubí a předešlo se tak riziku exploze.

7. Všechny vzorky krve je nutno považovat za potenciálně infekční a je nutné manipulovat s nimi opatrně (zvláště: používat ochranné rukavice, pláště a brýle).
8. Nikdy nepipetujte ústy a vyvarujte se kontaktu vzorků s pokožkou, sliznicemi a očima.
9. Zkumavky s krví a jednorázový materiál určený pro manipulaci je třeba likvidovat v kontejnerech ad hoc určených ke spálení.
10. Reagencie a odpad by měly být odstraňovány v souladu s místními požadavky.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Není klasifikované jako nebezpečné

SDS Bezpečnostní list je k dispozici na adrese beckman.com/techdocs

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Konjugované protilátky ve formě roztoku musí být uchovávány při 2 až 8 °C bez přístupu světla předtím i poté, co byla lahvička otevřena.

Stabilita uzavřené lahvičky: viz datum exspirace na lahvičce.

Stabilita již jednou otevřené lahvičky: reagencie je stabilní po dobu 365 dní.

VZORKY

Vzorky žilní krve musejí být odebrány do sterilních zkumavek obsahujících sůl EDTA jako antikoagulační činidlo.

Vzorky by měly být uchovávány při laboratorní teplotě (18–25 °C) a neměly by se protřepávat. Vzorek by měl být před odebráním vzorku k testování homogenizován mírným promícháním.

Vzorky je nutné analyzovat do 24 hodin od venepunkce.

ZNÁMKY ZHORŠENÍ KVALITY

Jakákoli změna fyzického vzhledu reagencií může znamenat jejich znehodnocení a taková reagencie by se neměla používat.

V případě poškození obalu nebo vykazují-li získaná data změnu účinnosti metody, kontaktujte svého místního distributora nebo použijte následující e-mailovou adresu:

OBSAH

Konzervační látka azid sodný může v kovovém odpadním potrubí vytvářet výbušné sloučeniny. Viz buletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečí výbušných azidů) (16.8.76).
Po vypuštění neředěné reagencie propláchněte odpadní potrubí vodou, aby se v něm nehromadily azidové sloučeniny. Likvidace azidu sodného musí být prováděna podle příslušných místních předpisů.

MATERIÁLY POTŘEBNÉ, ALE NEDODANÉ SE SOUPRAVOU:

- Zkumavky na odběr vzorků a materiál potřebný k odběru vzorků.
- Automatické pipety s jednorázovými špičkami pro 10, 100 a 500 µl.
- Plastové zkumavky na hemolýzu.
- Kalibrační kuličky: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Reagencie pro lýzu červených krvinek s fází promývání po lýze. Například: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagencie pro fixaci leukocytů. Například: Fixační roztok IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotypová kontrola APC-AlexaFluor750 : reagencie řady IOTest (Ref. A79393.).
- Pufr (PBS: 0,01 M fosforečnan sodný; 0,145 M chlorid sodný; pH 7,2).
- Odstředivka.
- Automatické míchadlo (typu vortex).
- Průtokový cytometr.

POSTUP S REAGENCIÍ VERSALYSE

Pozn. Níže popsaná metoda je vhodná pro standardní aplikace. Vzorky a/nebo objemy roztoku VersaLyse se v určitých aplikacích Beckman Coulter mohou lišit. V těchto případech dodržujte pokyny uvedené v technickém návodu konkrétní aplikace.

Pro každý analyzovaný vzorek je třeba kromě testové zkumavky připravit ještě jednu zkumavku kontrolní, kde jsou buňky smíchány s izotypovou kontrolou (Ref. A79393.).

1. Přidejte 10 µl specifické konjugované protilátky IOTest ke každé testované zkumavce a 10 µl isotypické kontroly ke každé kontrolní zkumavce.
2. Do obou zkumavek přidejte 100 µl testovaného vzorku. Zkumavky jemně promíchejte na vortexu.
3. Provádějte inkubaci po dobu 15 až 20 minut při laboratorní teplotě (18–25 °C), chraňte před světlem.
4. Pokud je to nutné, proveďte lýzu červených krvinek. Dodržujte doporučení pro lyzační roztok, který používáte. Např. při použití roztoku VersaLyse (Ref. A09777) je podle příbalové informace nejvhodnější provést metodu s fixací doprovázející lýzu vzorku, která sestává z přidání 1 ml předem připravené směsi pro fixaci a lýzu ("Fix-and-Lyse"). Vzorek ihned promíchejte jednu vteřinu na vortexu a inkubujte 10 minut při laboratorní teplotě bez přístupu světla. Jestliže vzorek neobsahuje erytrocyty, přidejte 2 ml PBS.
5. Odstřeďujte 5 minut při 150 x g při laboratorní teplotě.
6. Supernatant odsajte.
7. Resuspendujte buněčnou peletu pomocí 3 ml PBS.
8. Opakujte krok 5.

9. Odsajte supernatant a resuspendujte buněčnou peletu pomocí:

   0,5 ml nebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, pokud mají být preparáty uchovány po dobu kratší než 24 hodin. (0,1 % formaldehyd PBS lze získat ředěním 12,5 µl fixačního roztoku IOTest 3 (REF A07800) při koncentraci 10X na 1 ml PBS).

   0,5 ml nebo 1 ml PBS bez formaldehydu, pokud mají být preparáty analyzovány do 2 hodin.

Poznámka: Ve všech případech uchovávejte preparáty při teplotě mezi 2 a 8 °C a chraňte je před světlem.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Každá laboratoř musí shromáždit vlastní referenční hodnoty založené na skupině zdravých dárců vybraných z místní populace. Vúvahu je třeba brát věk, pohlaví a etnickou příslušnost dárců, stejně jako další potenciální regionální rozdíly.

V našich laboratořích byla plná krev získaná od 50 zdravých dospělých dárců inkubována s výše uvedenou reagencií. Získané výsledky, které vyjadřují zastoupení částic pozitivně označených touto reagencií, jsou uvedeny v následující tabulce :

Lymfocyty	Počet	Průměr (%)	SD (směrodatná odchylka)	VK (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Data pro stanovení charakteristiky se získávají na základě výše uvedeného postupu z 24 hodin starého krevního vzorku odebraného do sterilních zkumavek, obsahujících sůl EDTA jako antikoagulační činidlo. Analýza se provádí během 2 hodin po imunologickém barvení.

SPECIFICITA

T-lymfocyty tvoří většinu lymfocytů lidské periferní krve (PBL) (17). T-lymfocyty jsou charakterizovány exprimací antigenu CD3 (17, 18). Antigen CD3 je komplex 5 polypeptidových řetězců γ, δ, ε, ζ a η přidružených ke komplexu receptorů T-buněk (TCR) (19).

Řetězce CD3 jsou shromážděny do skupiny dvou invariantních dimerů γ/ε a δ/ε přidružených k variabilnímu dimeru, který sestává z homodimerů ζ, heterodimerů ζ/η, nebo heterodimerů ζ/γ FcR (γFcR je γ-řetězec receptorů Fc), nebo homodimerů γFcR (19, 20, 21). Komplex CD3 přidružený k TCT je zapojen do rozpoznávání peptidů svázaných s hlavní třídou komplexu histo-kompatibility I a II během vytváření imunitní odezvy (22).

Antigen CD3 je exprimován zralými T-lymfocyty a podmnožinou thymocytů (23).

Monoklonální protilátka UCHT1 reaguje s ε-řetězcem komplexu CD3 (24). Byla přidána do shluku antigenu CD3 pro rozlišování na 1. konferenci o lidských leukocytárních diferenciačních antigenech, která se konala v roce 1982 v Paříži (25).

REPRODUKOVATELNOST V RÁMCI LABORATOŘE

Bylo provedeno 12 stanovení procentuálního zastoupení pozitivních buněk na jednom vzorku. Měření proběhlo v jeden den na tomtéž průtokovém cytometru. Získané výsledky shrnuje následující tabulka:

Pozitivní nosič	Počet	Průměr (%)	SD (směrodatná odchylka)	VK (%)
Lymfocyty CD3-APC-A750 +	12	74,76	0,52	0,70

Linearita

K testování linearity stanovení při použití této reagencie byly v různých poměrech smíchány buňky pozitivní buněčné linie ((HPBALL)) a buňky negativní buněčné linie ((DAUDI)) tak, aby konečný počet buněk ve směsi byl konstantní a aby se poměr buněk pozitivní linie / negativní linie pohyboval v rozmezí 0 – 100 %.

Alikvoty byly zpracovány výše popsaným způsobem a byla provedena lineární regrese pro očekávané a získané hodnoty.

Specificita	Linear regression	Linearita (R2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

OMEZENÍ

1. Průtoková cytometrie může přinést falešné výsledky, pokud cytometr nebyl dokonale seřízen, pokud nebyly správně kompenzovány úniky fluorescence a pokud oblasti nebyly pečlivě umístěny.
2. Reagencie dosud nebyla optimalizována pro použití v lyzační technice bez promývání, proto je vhodnější použít metodu lýzy s následným promýváním vzorku.
3. Přesných a reprodukovatelných výsledků bude dosaženo, pokud jsou použité postupy v souladu s technickým příbalovým letákem a se správnou laboratorní praxí.
4. Konjugovaná protilátka této reagencie je kalibrována tak, aby poskytovala nejlepší možný poměr specifického signálu k nespecifickému signálu. Proto je důležité při každém testu dodržovat poměr objemu reagencie a objemu vzorku.
5. V případě hyperleukocytózy nařeďte krev v přípravku PBS tak, aby byla dosažena hodnota přibližně 5 x 10^9 leukocytů/l (26).
6. U určitých chorob, například závažného selhání ledvin či hemoglobinopatií, se může stát, že lýza červených krvinek bude probíhat pomalu, nedokončí se, nebo dokonce nebude možná. V tomto případě se před značením doporučuje izolovat mononukleární buňky s použitím hustotního gradientu (např. Ficoll) (27).
7. Kvůli tandemové struktuře fluorochromu APC-AlexaFluor750 rovněž emituje světlo při 660 nm. Tento sekundární emisní vrchol se liší mezi jednotlivými šaržemi APC-AlexaFluor750 . Proto je při změně šarže APC-AlexaFluor750 -konjugátu u vícebarevné analýzy vhodná důkladná kontrola kompenzační matice.

Příklady a reference jsou uvedeny v příloze.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, stylizované logo a známky produktů a služeb společnosti Beckman Coulter uvedené v tomto dokumentu jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Beckman Coulter, Inc. ve Spojených státech amerických a dalších zemích.

Alexa Fluor je ochranná známka společnosti Molecular Probes, Inc.

Klíč k symbolům

Slovníček symbolů je k dispozici na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	Špecifikácie
Špecificita	CD3
Klon	UCHT1
Hybridóm	NS1 x balb/c
Imunogén	T cell line + IL2
Imunoglobulín	IgG1
Druhy	Myš
Purifikácia	Afinitná chromatografia
Fluorochróm	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Molárny pomer	APC-AlexaFluor750/Ig: 0,5-1,5
Excitácia λ	633/638 nm
Vrchol emisií	775 nm
Tlmivý roztok	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugovaná protilátka CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 ml, 10 µl / test

Na diagnostické použitie *in vitro*

URČENÉ POUŽITIE

Táto protilátka konjugovaná s fluorochromom umožňuje metódou prietokovej cytometrie identifikovať a určiť počet buniek v populáciách, ktoré v ľudských biologických vzorkách expronujú antigén CD3

PRINCÍP

Tento test je založený na schopnosti špecifických monoklonálnych protilátok viazať sa na antigénne determinanty exprimované na leukocytoch.

Špecifické farbenie leukocytov sa vykoná inkubáciou vzorky s činidlom IOTest. Červené krvinky sa následne odstránia lýzou a leukocyty, na ktoré tento postup nemá vplyv, sa analyzujú prietokovou cytometriou.

Prietokový cytometer meria rozptyl svetla a fluorescenciu buniek. Umožňuje vymedzenie požadovanej populácie v rámci elektronického okna zadefinovaného v histograme znázorňujúcom koreláciu ortogonálneho rozptylu svetla (bočný rozptyl, SS) a rozptylu svetla v úzkom uhle (predný rozptyl, FS). Ostatné histogramy obsahujúce kombináciu dvoch rozličných parametrov dostupných na cytometri možno použiť na podporu vo fáze gatingu v závislosti od aplikácie zvolenej používateľom.

Fluorescencia vymedzených buniek sa analyzuje s cieľom odlíšiť pozitívne sfarbené udalosti od nesfarbených. Výsledky sú vyjadrené ako percento pozitívnych udalostí vzhľadom na všetky udalosti zaznamenané gatingom.

PRÍKLADY KLINICKÝCH APLIKÁCIÍ

CD3 je transmembránový proteín obsahujúci štyri typy polypeptidových reťazcov, konkrétne CD3γ, CD3δ, CD3ε a CD3ζ. CD3 sa spája s T-bunkovým receptorom (TCR) za vzniku komplexu TCR, ktorý je zodpovedný za vývojové, aktivačné a efektorové funkcie T-buniek (1). Vnútrobunkové chvosty molekúl CD3 obsahujú jeden konzervovaný motív známy ako imunoreceptorový tyrozínový aktivačný motív alebo ITAM, ktorý je nevyhnutný na signálnu funkciu TCR (2, 3).

CD3 sa exprimuje v cytoplazme protymocytov a následne do medulárnych tymocytov, keď CD3 antigén začne migrovať k plazmatickej membráne (4). Membránový CD3 sa exprimuje vo všetkých zrelých T-bunkách a NK-T bunkách. Fenotypová analýza CD3 sa môže vykonať detekciou povrchových membránových domén alebo vnútrobunkového chvosta. CD3 je selektívny marker T-línie a jeho expresia sa zachováva pri väčšine nádorových ochorení T-buniek (5, 6).

CD3 je preto zahrnutý vo veľkej väčšine prietokových cytometrických panelov na diagnostiku hematologických lymfoproliferatívnych porúch T-buniek vrátanie leukémie a lymfómu (5, 6, 7). Imunofenotypová analýza buniek CD3+ v spojení s inými fenotypmi buniek umožňuje efektívnu charakterizáciu rozličných funkčných podmnožín T-buniek, akými sú napríklad pamäťové, efektorové a regulačné T-bunky (8).

Relatívne a absolútne množstvo buniek CD3+ slúži na zhodnotenie imunokompetencie určitého stavu imunodeficiencie (napr. pri infekcii HIV, po transplantácii hematopoetických kmeňových buniek) a reakcie na liečbu, no na rozhodnutie o liečbe sa využíva zriedkavo (9, 10). Bunky CD3 tiež slúžia na diagnostiku a/alebo monitoring aktivity T-buniek u pacientov s primárnou alebo sekundárnou imunitnou nedostatočnosťou, autoimunitou a reakciou na imunosupresívnu liečbu s monoklonálnou proti-T-bunkovou liečbou a globulínom proti týmu (11, 12, 13, 14, 15, 16).

ČINIDLÁ

Koncentrácia: Pozrite certifikát analýzy špecifický pre danú šaržu, ktorý nájdete na www.beckmancoulter.com.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

1. Činidlo nepoužívajte po dátume exspirácie.
2. Nezamrazujte.
3. Pred použitím nechajte zahriať na izbovú teplotu (18 – 25 °C).
4. Minimalizujte vystavenie svetlu.
5. Zabráňte mikrobiálnej kontaminácii činidiel, inak môže dôjsť k falošným výsledkom.
6. S roztokmi protilátok obsahujúcimi azid sodný (NaN_3) by sa malo zaobchádzať opatrne. Nepožívajte ich a vyhýbajte sa akémukoľvek kontaktu s kožou, sliznicami a očami.

V médiu s obsahom kyseliny môže navyše azid sodný vytvárať potenciálne nebezpečnú kyselinu azidovodíkovú. Ak je činidlo potrebné zlikvidovať, odporúča sa ho pred vyliatím do kanalizácie zriediť vo veľkom objeme vody, aby sa predišlo riziku explózie v dôsledku hromadenia azidu sodného v kovovom potrubí.

7. Všetky vzorky krvi sa musia považovať za potenciálne infekčné, a preto sa s nimi musí narábať opatrne (predovšetkým: používajte ochranné rukavice, plášte a okuliare).
8. Nikdy nepipetujte ústami a vyvarujte sa kontaktu vzorky s pokožkou, sliznicami a očami.
9. Skúmavky na krv a jednorazový materiál používané pri manipulácii sa musia zlikvidovať do schválených nádob určených na spálenie.
10. Činidlá a odpad by sa mali eliminovať v súlade s miestnymi požiadavkami.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Nie je klasifikované ako nebezpečné

SDS Bezpečnostný list je dostupný na adrese beckman.com/techdocs

SKLADOVANIE A STABILITA

Konjugované protilátky vo forme roztoku musia byť uchovávané pri 2 až 8 °C bez prístupu svetla predtým i potom, čo bola fľaštička otvorená.

Stabilita zatvorenej fľaštičky: pozri dátum exspirácie na fľaštičke.

Stabilita otvorenej fľaštičky: činidlo je stabilné 365 dní.

VZORKY

Vzorky žilovej krvi musia byť odobraté do sterilných skúmaviek, ktoré obsahujú soľ EDTA ako antikoagulačné činidlo.

Vzorky by sa mali uchovávať pri izbovej teplote (18 – 25 °C) a nemalo by sa nimi triasť. Vzorky by sa mali pred odobratím testovacej vzorky homogenizovať jemným pretrepaním.

Vzorky sa musia analyzovať do 24 hodín od odberu.

ZNÁMKY ZNEHODNOTENIA

Akákoľvek zmena fyzického vzhľadu činidla môže svedčiť o zhoršení kvality a takéto činidlo by sa nemalo používať.

Ak je poškodené balenie alebo ak získané údaje poukazujú na zmenu funkčnosti, obráťte sa na miestneho distribútora alebo použite nasledujúcu e-mailovú adresu:

OBSAH

Konzervačné činidlo azid sodný môže v kovovej kanalizačnej sieti vytvárať výbušné zlúčeniny. Pozrite si informačný bulletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečenstvo výbušného azidu) (16. 8. 76).
Aby nedošlo k možnému nahromadeniu azidových zlúčenín, po likvidácii neriedeného činidla vypláchnite potrubie vodou. Likvidácia azidu sodného musí prebiehať v súlade s príslušnými miestnymi predpismi.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ NIE JE SÚČASŤOU SÚPRAVY:

- Vzorkovacie skúmavky a materiál potrebný na vzorkovanie.
- Automatické pipety s jednorazovými špičkami na dávkovanie objemov 10, 100 a 500 µl.
- Plastové hemolytické skúmavky.
- Kalibračné guľôčky: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Činidlo na lýzu červených krviniek s umývacou fázou po lýze. Napríklad: VersaLyse (Ref. A09777).
- Činidlo na fixáciu leukocytov. Napríklad: fixačný roztok IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotypová kontrola APC-AlexaFluor750 : reagencie rady IOTest (Ref. A79393.).
- Tlmiaci roztok (PBS: fosforečnan sodný 0,01 M; chlorid sodný 0,145 M; pH 7,2).
- Centrifúga.
- Automatické miešadlo (typ Vortex).
- Prietokový cytometer.

POSTUP S ČINIDLOM VERSALYSE

POZN. : Nižšie popísaná metóda je vhodná pre štandardné aplikácie. Vzorky a/alebo objemy roztoku VersaLyse sa v určitých aplikáciách Beckman Coulter môžu líšiť. V týchto prípadoch dodržujte pokyny uvedené v technickom návode konkrétnej aplikácie. Pre každú analyzovanú vzorku je potrebné

Pre každú analyzovanú vzorku je treba okrem testovej skúmavky pripraviť ešte jednu skúmavku kontrolnú, kde sú bunky zmiešané s izotypovou kontrolou (Ref. A79393.).

1. Do každej testovej skúmavky pridajte 10 µl špecifickej konjugovanej protilátky IOTest a do každej kontrolnej skúmavky 10 µl izotypickej kontroly.
2. Do oboch skúmaviek pridajte 100 µl testovanej vzorky. Skúmavky jemne premiešajte na vortexe.
3. Inkubujte 15 až 20 minút pri izbovej teplote (18 – 25 °C) bez prístupu svetla.
4. Pokiaľ je to nutné, vykonajte lýzu červených krviniek. Dodržujte odporúčanie pre lyzačný roztok, ktorý používate. Napr. pri použití roztoku VersaLyse (Ref. A09777) je podľa príbalovej informácie najvhodnejšie vykonať metódu s fixáciou sprevádzajúcou lýzu vzorky, ktorá pozostáva z pridania 1 ml predom pripravenej zmesi na fixáciu a lýzu (”Fix-a-Lyse“). Vzorku ihneď premiešajte jednu sekundu na vortexe a inkubujte 10 minút pri laboratórnej teplote bez prístupu svetla. Ak vzorka neobsahuje erytrocyty, pridajte 2 ml PBS.
5. Odstreďujte 5 minút pri 150 x g pri izbovej teplote.
6. Nasatím odoberte supernatant.

7. Resuspendujte bunkový pelet použitím 3 ml PBS.
8. Zopakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte bunkový pelet použitím:

   0,5 ml alebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, ak sa preparáty budú skladovať kratšie ako 24 hodín. (0,1 % roztok PBS s formaldehydom získate zriedením 12,5 µl fixačného roztoku IOTest 3 (REF A07800) s koncentráciou 10X v 1 ml PBS).

   0,5 ml alebo 1 ml PBS bez formaldehydu, ak sa preparáty budú analyzovať do 2 hodín.

Poznámka: Preparáty vždy uchovávajte pri teplote 2 až 8 °C a mimo dosahu svetla.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

Každé laboratórium musí zhromaždiť vlastné referenčné hodnoty založené na skupine zdravých darcov vybraných z miestnej populácie. Do úvahy je treba brať vek, pohlavie a etnickú príslušnosť darcov, rovnako ako ďalšie potenciálne regionálne rozdiely.

V našich laboratóriách bola plná krv získaná od 50 zdravých dospelých darcov inkubovaná s vyššie uvedenou reagenciou. Získané výsledky, ktoré vyjadrujú zastúpenie častíc pozitívne označených touto reagenciou sú uvedené v nasledujúcej tabuľke:

Lymfocyty	Počet	Priemer (%)	SD	CV (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

VÝKONNOSŤ

Údaje na stanovenie charakteristiky sa získavajú na základe vyššie uvedeného postupu z24 hodín starej krvnej vzorky odobranej do sterilných skúmaviek, obsahujúcich soľ EDTA ako antikoagulačné činidlo. Analýza sa vykonáva počas 2 hodín po imunologickom farbení.

ŠPECIFICITA

T-lymfocyty predstavujú väčšinu ľudských lymfocytov v periférnej krvi (PBL) (17). T-lymfocyty sú typické expresiou antigénu CD3 (17, 18). Antigén CD3 je komplex 5 polypeptidových reťazcov: γ, δ, ε, ζ a η spojených s komplexom T-bunkového receptora (TCR) (19).

Reťazce CD3 sú zoskupené do párov dvoch invariantných dimérov, γ/ε a δ/ε spojených s variabilným dimérom, ktorý pozostáva z homodimérov ζ alebo heterodimérov ζ/η alebo ζ/γ FcR (γFcR predstavuje reťazec γ receptorov Fc) alebo homodimérov γFcR (19, 20, 21). Komplex CD3 spojený s TCR sa počas imunitnej odpovede zúčastňuje rozpoznávania peptidov naviazaných na hlavný histokompatibilný komplex triedy I a II (22).

Antigén CD3 je exprimovaný zrelými T-lymfocytmi a subpopuláciou tymocytov (23).

Monoklonálna protilátka UCHT1 sa viaže na reťazec ε komplexu CD3 (24). Špecificita rozpoznania klastra diferenciácie CD3 touto protilátkou bola uznaná na 1. Medzinárodnej konferencii o diferenciačných antigénoch ľudských leukocytov, ktorá sa konala v roku 1982 v Paríži vo Francúzsku (25).

REPRODUKOVATEĽNOSŤ VÝSLEDKOV V RÁMCI LABORATÓRIA

Bolo vykonaných 12 stanovení percentuálneho zastúpenia pozitívnych buniek na jednej vzorke. Meranie prebehlo v jeden deň na rovnakom prietokovom cytometri. Získané výsledky zhŕňa nasledujúca tabuľka:

Pozitívny cieľ	Počet	Priemer (%)	SD	CV (%)
Lymfocyty CD3-APC-A750 +	12	74,76	0,52	0,70

Linearita

Na testovanie linearity stanovenia pri použití tejto reagencie boli v rôznych pomeroch zmiešané bunky pozitívnej bunkovej línie ((HPBALL)) a bunky negatívnej bunkovej línie ((DAUDI)) tak, aby konečný počet buniek v zmesi bol konštantný a aby sa pomer buniek pozitívnej línie / negatívnej línie pohyboval v rozmedzí od 0 - 100 %.

Alikvóty boli spracované vyššie popísaným spôsobom a bola vykonaná lineárna regresia pre očakávané a získané hodnoty.

Špecificita	Lineárna regresia	Linearita (R^2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

OBMEDZENIA

1. Prietoková cytometria môže vytvárať falošné výsledky, ak cytometer nie je správne zarovnaný, ak úniky fluorescencie nie sú správne kompenzované, alebo ak nie sú oblasti správne umiestnené.
2. Reagencia dosiaľ nebola optimalizovaná pre použitie v lyzačnej technike bez premývania, preto je vhodnejšie použiť metódu lýzy s následným premývaním vzorky.
3. Presné a reprodukovateľné výsledky sa získajú len vtedy, ak sa použijú postupy v súlade s technickými údajmi v príbalovom letáku a v súlade s osvedčenou laboratórnou praxou.
4. Konjugovaná protilátka tohto činidla sa kalibruje tak, aby ponúkala najlepší pomer špecifického signálu/nešpecifického signálu. Preto je dôležité pri každom teste dodržať pomer objem činidla/objem vzorky.
5. V prípade hyperleukocytózy zrieďte krv v PBS na koncentráciu približne 5 x 10^9 leukocytov/l (26).
6. Pri niektorých chorobných stavoch, akými sú napríklad závažné zlyhanie obličiek alebo hemoglobinopatie, môže byť lýza červených krviniek pomalá, neúplná alebo dokonca nemožná. V takom prípade sa odporúča pred farbením izolovať mononukleárne bunky pomocou hustotného gradientu (napríklad Ficoll) (27).
7. V dôsledku tandemovej štruktúry fluorochrómu vyžaruje APC-AlexaFluor750 takisto svetlo s vlnovou dĺžkou 660 nm. Sekundárne emisné maximum sa líši pri každej šarži APC-AlexaFluor750 . Z toho dôvodu je pri viacfarebnej analýze nutné pri zmene šarže konjugátu APC-AlexaFluor750 starostlivo skontrolovať kompenzačnú matricu.

Príklady a referencie nájdete v Dodatku.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, štylizované logo a známky produktov a služieb spoločnosti Beckman Coulter spomenuté v tomto dokumente sú ochranné známky alebo registrované ochranné známky spoločnosti Beckman Coulter, Inc. v USA a ďalších krajinách.

Alexa Fluor je ochranná známka spoločnosti Molecular Probes, Inc.

Popis symbolov

Slovník symbolov je dostupný na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	규격
특이도	CD3
클론	UCHT1
하이브리도마	NS1 x balb/c
면역원	T cell line + IL2
면역글로불린	IgG1
종	생쥐
정제	친화성 크로마토그래피
형광 색소	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
분자비	APC-AlexaFluor750/Ig: 0.5-1.5
λ 자극	633/638 nm
방출 피크	775 nm
완충액	PBS pH 7.2 + 2mg/mL BSA 및 0.1 % NaN_3

IOTest

복합 항체
CD3-APC
-Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0.5 mL, 10 µL / test

체외 **진단용**

사용목적

이 형광 색소 결합 항체를 이용한 유동 세포 분석법으로 사람의 생물학적 검체에 있는 CD3 항원을 나타내는 세포군을 동정하고 계수할 수 있습니다.

원리

이 검사는 백혈구로 발현되는 항원 결정기에 특이적 단일클론 항체가 결합할 수 있는 능력에 기초합니다.

백혈구의 특이적 염색은 검체를 IOTest 시약과 함께 배양하여 수행합니다. 그런 다음 적혈구를 용해하여 제거하고 이 과정에서 영향을 받지 않은 백혈구를 유세포 분석법을 통해 분석하십시오.

유세포 분석기는 세포의 빛 확산과 형광 영역을 측정합니다. 유세포 분석기를 사용하면 빛의 직교 확산(측면 산란, SS)과 좁은 각의 광확산(전방 산란, FS)의 상호 관계를 지정하는 막대그래프상에 정의된 전자 창 내에서 관심 개체의 한계를 결정할 수 있습니다. 유세포 분석기에서 사용할 수 있는 두 가지 파라메타를 결합하는 기타 막대그래프를 사용자가 선택한 애플리케이션에 따라 게이팅 단계에서 지원 자료로 사용 가능합니다.

범위가 결정된 세포의 형광 영역을 분석하여 명확하게 염색된 이벤트와 염색되지 않은 이벤트를 구분합니다. 분석 결과는 게이팅으로 획득한 전체 이벤트와 비교한 양성 이벤트의 비율로 표현합니다.

임상 적용 사례

CD3은 CD3γ, CD3δ, CD3ε 및 CD3ζ라는 4가지 유형의 폴리펩티드가 함유된 막횡단 단백질입니다. CD3은 T 세포 수용체(TCR)와 연관되어 T-세포 개발, 활성화 및 주효 기능을 담당하는 TCR 복합체를 형성합니다(1). CD3 분자의 세포 내 꼬리에는 TCR의 신호 처리 기능에 필수적인 면역 수용체 티로신 기준 활성화 모티프(ITAM, Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif)라는 단일 보존 모티프가 함유됩니다(2, 3).

CD3은 전흉선 세포의 세포질에 발현된 후 CD3 항원이 세포막으로 이전하기 시작하면 속질 흉선 세포로 발현됩니다(4). 막 CD3은 모든 성숙 T-세포와 NK-T 세포에서 발현됩니다. CD3 표현형 분석은 표면 막 영역 또는 세포 내 꼬리를 검출하여 실시할 수 있습니다. CD3은 T-직계성-선택 표지이며, 대부분의 T-세포 악성 종양에서 발현이 유지됩니다(5, 6).

따라서 CD3은 백혈병 및 림프종을 포함하여 혈액 T 세포 림프세포증식 장애 진단을 위한 대부분의 유세포 측정법 패널에 포함되어 있습니다(5, 6, 7). 다른 세포 표현형과 함께 CD3+ 세포의 면역표현형 분석을 실시하면 기억, 주효, T 조절 세포 등 서로 다른 기능의 T 세포 하위집합의 특성화가 가능합니다(8).

상대 및 절대 CD3+는 특정 면역 결핍 상태(예: HIV, 조혈 줄기 세포 이식 후)의 면역능력과 치료 반응을 평가하는 데 유용하지만 치료 결정을 내리는 데는 거의 사용되지 않습니다(9, 10). 또한 CD3은 단일 클론 항 T-세포 치료 및 항-흉선 글로불린의 면역억제 치료에 대한 반응과 일차 또는 이차 면역 결핍 및 자가면역 환자의 T 세포 활동을 진단 및/또는 모니터링하는 데 사용됩니다(11, 12, 13, 14, 15, 16).

시약

농도: 로트별 분석 증명서 (www.beckmancoulter.com)를 참조하십시오.

경고 및 주의 사항

1. 유효 기간이 지난 시약은 사용하지 마십시오.
2. 냉동하지 마십시오.
3. 사용 전 실온(18~25°C)에 두십시오.
4. 빛 노출을 최소화하십시오.
5. 시약이 미생물에 오염되지 않도록 하십시오. 그러지 않으면 잘못된 결과를 얻을 수 있습니다.
6. 아지드화나트륨(NaN_3)을 함유한 항체 용액은 주의해서 다루어야 합니다. 흡입을 피하고 피부, 점막 및 눈에 절대 닿지 않도록 하십시오.

   또한 산성 매질에 함유된 아지드화나트륨은 잠재적 위험 물질인 히드라조산을 만들어낼 수 있습니다. 시약을 폐기할 때는 금속 파이프 내 아지드화나트륨 축적과 폭발 위험을 방지하기 위해 다량의 물에 희석한 후 배수 시설로 흘려보내야 합니다.
7. 모든 혈액 검체는 잠재적으로 전염성이 있다고 간주하고 주의해서 다루어야 합니다(특히 보호용 장갑, 가운 및 보안경 착용).
8. 절대로 입으로 채취하거나 피부, 점막, 눈에 표본이 닿아서는 안 됩니다.
9. 취급에 사용한 혈액 튜브 및 일회용 물질은 소각용 특수 용기에서 폐기해야 합니다.
10. 시약 및 폐기물은 현지 요구 사항에 따라 제거해야 합니다.

GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음

SDS 안전보건자료는 techdocs.beckman.com에서 확인할 수 있습니다

보관 및 안정성

결합액은 용기를 연 후 직사광선을 피해 2 – 8°C 온도에서 보관해야 합니다.

미개봉 바이알의 안정성: 바이알에 표시된 만료일을 참조하십시오.

개봉한 바이알의 안정성: 시약은 365일 동안 안정적입니다.

검체

정맥혈은 EDTA 염을 항응고제로 포함한 무균 튜브를 사용하여 채취해야 합니다.

검체는 실온(18~25°C)에 보관해야 하며 흔들어서는 안 됩니다. 검사 검체를 채취하기 전에 부드럽게 교반하여 검체를 균질화해야 합니다.

검체는 정맥천자 후 24시간 이내에 분석해야 합니다.

성능 저하 증거

시약 외관에 물리적 변화가 있는 경우 성능 저하를 나타내는 것일 수 있으므로 시약을 사용해서는 안 됩니다.

포장이 변형되거나 획득 데이터가 일부 성능 변 화를 보여주는 경우에는 현지 판매업체에 문의 하거나 다음 이메일 주소를 이용하십시오. immuno-techsup@beckmancoulter.com

목차

소디움 아자이드 보존제는 금속 배수관에서 폭발성 화합물을 형성할 수 있습니다. NIOSH 게시판을 참조하십시오. Explosive Azide Hazard(폭발성 아지드 유해물질)(76/8/16)
아지드 화합물의 축적 가능성을 방지하려면 희석되지 않은 시약을 폐기한 다음 폐기 파이프를 물로 세척하십시오. 소디움 아자이드의 폐기는 해당 지역 규정을 따라야 합니다.

필요하지만 키트와 함께 제공되지 않는 품목:

- 검체 튜브와 검체 채취에 필요한 물질.
- 10, 100 및 500µL용 일회용 팁이 있는 자동 피펫.
- 플라스틱 용혈 튜브.
- 보정 비드: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- 용해 후 세척 단계의 적혈구 용해 시약. 예: VersaLyse(참조 A09777).
- 백혈구 고정 시약. 예: IOTest 3 고정액(참조 A07800).
- 동형 대조물질 APC-AlexaFluor750: IOTest 시약(참조 A79393).
- 완충액(PBS: 0.01M 인산나트륨, 0.145M 염화나트륨, pH 7.2).
- 원심분리기.
- 자동 교반기(교반 유형).
- 유세포 분석기.

VERSALYSE 시약을 이용한 절차

참고: 아래 절차는 표준 응용분야에 적합합니다. 특정 Beckman Coulter 응용분야의 검체 및/또는 VersaLyse 용적이 다를 수 있습니다. 그러한 경우에는 해당 응용분야의 기술 책자에 나와 있는 지침을 따르십시오.

분석할 각 검체마다 테스트 튜브 외에 동형 대조물질이 있는 상태에서 세포를 혼합하는 하나의 컨트롤 튜브가 필요합니다(참조 A79393).

1. 각 테스트 튜브에 10 µL의 특정 IOTest 결합 항체를 추가하고 각 제어 튜브에 10 µL의 아이소타입 통제를 추가합니다.
2. 100 µL의 테스트 검체를 두 튜브에 첨가합니다. 튜브를 부드럽게 교반합니다.
3. 실온(18~25°C)에서 빛을 피해 15~20분 동안 배양하십시오.
4. 그런 다음 사용할 용해 시약 권고 사항에 따라 필요한 경우 적혈구 용해를 수행합니다. 예를 들어 VersaLyse(REF A09777)를 사용하려는 경우 책자 내용을 참조하여 즉석에서 준비된 1 mL의 "고정 및 세포 용해" 혼합물을 첨가하는 "수반 고정" 절차를 따릅니다. 즉시 1초 동안 교반한 후 직사광선을 피해 상온에서 10분 동안 배양합니다. 검체에 적혈구가 없는 경우, 2 mL의 PBS를 추가합니다.
5. 상온에서 150 x g로 5분 동안 원심분리합니다.
6. 흡입 시 상청액을 제거하십시오.
7. 3mL의 PBS를 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.
8. 5단계를 반복합니다.
9. 그런 다음 흡입 방식으로 상등액을 제거하고 다음을 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.

   조제 물질을 24시간 이내로 보관하려는 경우 0.1 %의 포름알데히드가 함유된 0.5 mL 또는 1 mL의 PBS. (0.1 % 포름알데히드 PBS는 12.5 µL의 IOTest 3 고정액(REF A07800)을 10배 농도로 1 mL의 PBS에 희석하여 얻을 수 있음).

   조제 물질을 2시간 이내에 분석하려는 경우 포름알데히드가 없는 0.5mL 또는 1mL의 PBS.

참고: 조제물은 항상 빛을 피해 2~8°C로 유지하십시오.

예상 수치

각 실험실에서는 현지 개체군의 건강한 공여자 그룹을 바탕으로 한 참조 값 목록을 작성해야 합니다. 이 작업은 기타 잠재적인 지역별 차이뿐만 아니라 나이, 성별 및 인종 그룹을 고려하여 수행해야 합니다.

실험실에서 50명의 건강한 성인의 전혈 검체를 위에 설명된 시약을 사용하여 처리했습니다. 이 시약에서 관심 대상의 양성 건수 계산을 위해 얻은 결과는 아래 표와 같습니다.

림프구	번호	평균(%)	표준편차	CV(%)
CD3-APC-A750+	50	72.2	8.3	11.5

성능

성능 데이터는 위에 설명한 절차를 이용하여 이전에 EDTA 염을 항응고제로 하여 무균 튜브에서 수집한 24시간된 혈액 검체로 획득합니다. 분석은 면역 염색 후 2시간 이내에 수행됩니다.

특이도

인간 말초 혈액 림프구(PBL)의 대부분은 T 림프구로 구성됩니다(17). T 림프구는 CD3 항원 발현이 특징입니다(17, 18). CD3 항원은 T-세포 수용체(TCR) 복합체와 연관된 5 폴리펩티드 사슬(γ, δ, ε, ζ 및 η)의 복합체입니다(19).

CD3 사슬은 ζ 동종이합체 또는 ζ/η 또는 ζ/γ FcR 이질이합체(γFcR은 Fc°수용체의 γ 사슬) 또는 γFcR 동종이합체로 구성된 가변 이합체와 연관된 γ/ε 및 δ/ε의 두 가지 불변 이합체로 이루어진 그룹으로 군집됩니다(19, 20, 21). TCR과 연관된 CD3 복합체는 면역 반응 중에 주요 조직적합성 복합체 계층 I 및 II와 결합된 펩타이드의 인식에 관련됩니다(22).

CD3 항원은 성숙 T 림프구와 흉선세포의 하위집합에 의해 발현됩니다(23).

UCHT1 단일 클론 항체는 CD3 복합체의 ε 사슬과 반응합니다(24). 1982년 프랑스 파리에서 열린 1st International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens(인간 백혈구 감별 항원에 관한 제 1차 국제 워크숍)에서 CD3 감별군에 할당되었습니다(25).

실험실간 재현성

같은 날 같은 세포측정기를 사용하여 양성 표적의 염색 비율에 대한 측정을 12회 실시했습니다. 얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다:

양성 표적	번호	평균(%)	표준편차	CV(%)
림프구 +CD3-APC-A750	12	74.76	0.52	0.70

선형성

이 시약의 염색 선형성을 테스트하기 위해 양성 세포 라인(HPBALL)과 음성 세포 라인((DAUDI))을 최종 세포 수는 일정하게 하되 다양한 비율로 섞어 혼합물의 양성 세포 라인/음성 세포 라인 비율이 0~100 %가 되도록 했습니다.

위에 설명된 절차에 따라 소분 검체를 염색하고 예상 값과 관찰 값 사이의 선형회귀를 계산했습니다.

특이도	선형회귀법	선형성(R^2)
CD3-APC-A750	Y = 0.9903 X - 0.1702	0.9985

한계

1. 유세포 분석기가 완벽하게 정렬되지 않은 경우, 형광 누출이 올바르게 보정되지 않은 경우 또는 영역 위치를 신중하게 지정하지 않은 경우 유세포 분석법에서 잘못된 결과가 나올 수 있습니다.
2. 이 시약은 "무세척" 세포 용해 기법에 최적화 되지 않았으므로 세척 단계가 있는 RBC 세포 용해 기법을 사용하는 것이 좋습니다.
3. 사용한 절차가 동봉된 기술 책자의 내용을 따르고 실험실 모범 사례와 호환되는 경우 정확하고 재현 가능한 결과를 얻을 수 있습니다.
4. 이 시약의 결합 항체는 최상의 특이/비특이 신호비를 제공하도록 보정됩니다. 그러므로 모든 검사에서 시약의 용적/검체 용적 비율을 준수하는 것이 중요합니다.
5. 과백혈구 증가증의 경우 혈액을 PBS에 희석하여 대략 백혈구 5 x 10^9개/L 값을 얻어야 합니다(26).
6. 심한 신부전 또는 혈색소병증 같은 특정 질병 상태에서 적혈구의 용해는 느리거나 불완전하거나 심지어는 불가능할 수도 있습니다. 이러한 경우 염색 전에 밀도 구배(예: FicoII)를 사용하여 단핵구 세포를 분리하는 것이 좋습니다(27).
7. 형광 색소의 텐덤 구조에 따라APC-AlexaFluor750 은(는) 660 nm에서도 빛을 방출합니다. 이러한 2차 최대 방출값은형광 색소의 텐덤 구조에 따라 APC-AlexaFluor750 의 로트에 따라 다릅니다. 따라서 다색 분석의 경우형광 색소의 텐덤 구조에 따라APC-AlexaFluor750 -결합 로트를 변경할 때 보정 매트릭스를 주의깊게 확인해야 합니다.

예시와 참고 자료는 부록을 참조하십시오.

상표

본 문서에 포함된 Beckman Coulter, 스타일 로고, Beckman Coulter 제품 및 서비스 마크는 미국 및 기타 국가에서 Beckman Coulter, Inc.의 상표이거나 등록 상표입니다.

Alexa Fluor는 Molecular Probes, Inc.의 상표입니다.

기호 목록

기호 용어집은 beckman.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다(문서 번호 B60062)

	Spesifikasyonlar
Özgüllük	CD3
Klon	UCHT1
Hibridoma	NS1 x balb/c
İmmünojen	T cell line + IL2
Immunoglobulin	IgG1
Türler	Fare
Arıtma	Afinite Kromatografisi
Florokrom	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Molar oran	APC-AlexaFluor750/Ig: 0,5-1,5
λ eksitasyonu	633/638 nm
Emisyon piki	775 nm
Tampon	PBS pH 7,2 artı 2 mg/mL BSA ve %0,1 NaN_3

IOTest

Konjuge Antikor CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

***İn Vitro* Diagnostik Kullanım içindir**

KULLANIM AMACI

Bu florokrom-konjuge antikor biyolojik insan numuneleri içinde bulunan CD3 antijenini eksprese eden hücre popülasyonlarının akım sitometrisi ile tanımlanması ve sayılmasını sağlar.

İLKE

Bu test, spesifik monoklonal antikorların lökositler tarafından eksprese edilen antijenik belirleyicilere bağlanabilmesine dayanmaktadır.

Lökositlerin spesifik boyaması, örnek, IOTest reaktifi ile inkübe edilerek gerçekleştirilir. Sonra kırmızı hücreler parçalanarak giderilir ve bu işlemden etkilenmeyen lökositler, akış sitometrisi ile analiz edilir.

Akış sitometrisi ışık difüzyonunu ve hücre floresanını ölçer. Bu durum, ilgili popülasyonun, ışığın ortogonal difüzyonu (Yana Yayılma veya SS) ve dar açılı ışığın difüzyonu (İleri Yayılma veya FS) ile ilişkilendirilen histogram üzerinde tanımlanmış elektronik pencerede sınırlanmasını sağlar. Sitometredeki farklı parametrelerden ikisini birleştiren diğer histogramlar, kullanıcının seçtiği uygulamaya bağlı olarak kapılama aşamasında destek olarak kullanılabilir.

Sınırlı hücrelerin floresanı analiz edilerek pozitif boyalı olaylar boyasızlardan ayrılır. Sonuçlar pozitif olayların geçiş ile edinilmiş tüm olaylara yüzdesi olarak ifade edilir.

KLİNİK UYGULAMA ÖRNEKLERİ

CD3, CD3γ, CD3δ, CD3ε ve CD3ζ olarak adlandırılan dört polipeptid zincir türünü içeren bir transmembran proteinidir. CD3, T hücresi gelişimi, aktivasyonu ve efektör fonksiyonlarından sorumlu olan TCR kompleksini oluşturmak üzere T Hücre Reseptörü (TCR) ile ilişkilendirilmiştir (1). CD3 moleküllerinin intraselüler kuyrukları, TCR'nin sinyalizasyon kapasitesi için esansiyel olan bir immünoreseptör tirozin temelli aktivasyon motifi veya ITAM olarak bilinen tek korunmuş bir motif içerir (2, 3).

CD3 antijeni hücre membranına doğru göç etmeye başladığında, CD3 protimositlerin sitoplazmasında ve ardından medüller timositlerde eksprese edilir (4). Membran CD3'ü tüm matür T hücreleri ve NK-T hücrelerinde eksprese edilir. CD3'ün fenotipik analizi, yüzey membran alanları veya intraselüler kuyruk tespit edilerek gerçekleştirilebilir. CD3 bir T-türü-selektif işaretleyicidir ve ekspresyonu çoğu T hücre malignansilerinde sürdürülür (5, 6).

Bu nedenle CD3, lösemi ve lenfoma dahil olmak üzere, hematolojik T hücreli lenfoproliferatif bozuklukların tanısı için Akım sitometrisi panellerinin büyük çoğunluğuna eklenir (5, 6, 7). Diğer hücre fenotipleri ile birlikte gerçekleştirilen CD3+ hücrelerinin immünofenotipik analizi, bellek, efektör ve T regülatör hücreler gibi fonksiyonel T hücre alt kümelerinin kolayca karakterizasyonunu sağlar (8).

Nispi ve mutlak CD3+, belirli immün yetmezlik durumlarının (örn. HIV, hematopoietik kök hücre transplantasyonu sonrası) immunokompetansını ve tedaviye yanıtı değerlendirmek için faydalıdır ancak tedavi kararı için nadiren kullanılır (9, 10). Ayrıca CD3, primer veya sekonder immün yetmezlikli hastaların T hücre aktivitesinin tanısında ve/veya izlenmesinde, otoimmünite ve monoklonal anti T-hücre tedavileri ile anti-Timus globülinle immunosüpresyona yanıt için de kullanılır (11, 12, 13, 14, 15, 16).

REAKTİFLER

Konsantrasyon: www.beckmancoulter.com adresinde lota spesifik Analiz Sertifikasına bakın.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. Reaktifi son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
2. Dondurmayın.
3. Kullanmadan önce oda sıcaklığına (18-25°C) getirin.
4. Işığa maruz kalmasını en aza indirin.
5. Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonundan kaçının yoksa yanlış sonuçlar oluşabilir.
6. Sodyum azid (NaN_3) içeren antikor solüsyonları dikkatle işlenmelidir. Yutmayın ve cilt, mukoza ve gözlerle temasından kaçının.

   Ayrıca, asit ortamında, sodyum azid potansiyel olarak tehlikeli hidrazoik asit oluşturabilir. Atılması gerekiyorsa, metal borularda sodyum azid birikmesini ve patlama riskini önlemek için, reaktifin drenaj sistemine dökülmeden önce çok miktarda suyla seyreltilmesi önerilmektedir.
7. Tüm kan örnekleri potansiyel olarak bulaşıcı olarak kabul edilmeli ve dikkatle ele alınmalıdır (özellikle koruyucu eldiven, önlük ve gözlük takılmalıdır).
8. Asla ağızla pipetleme yapmayın ve numunelerin cilt, mukoza ve gözlerle herhangi şekilde temasından kaçının.

9. Taşıma için kullanılan kan tüpleri ve tek kullanımlık malzeme, yakma amacıyla özel kaplara atılmalıdır.
10. Reaktifler ve atıklar yerel gereksinimlere göre elimine edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır

SDS Güvenlik Veri Sayfası beckman.com/techdocs adresinde bulunabilir

SAKLAMA VE STABİLİTE

Konjuge sıvı formlar flakon açılmadan önce ve açıldıktan sonra 2 ila 8°C arasında saklanmalı ve ışıktan korunmalıdır.

Kapalı şişenin stabilitesi: şişenin üzerindeki son kullanma tarihine bakın.

Açılan şişenin stabilitesi: reaktif 365 gün stabildir.

ÖRNEKLER

Antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüpler kullanılarak venöz kan alınmalıdır.

Örnekler oda sıcaklığında (18-25°C) tutulmalı ve çalkalanmamalıdır. Örnekler test örneği alınmadan önce hafifçe çalkalanarak homojenize edilmelidir.

Örnekler venipunktür sonrası 24 saat içinde analiz edilmelidir.

BOZULMA GÖSTERGESİ

Reaktiflerin fiziksel görünümündeki herhangi bir değişiklik bozulmayı gösterebilir ve reaktif kullanılmamalıdır.

Paketleme bozulması durumunda veya elde edilen veriler performansta biraz değişiklik gösteriyorsa lütfen yerel distribütörünüzle irtibat kurun veya şu e-posta adresini kullanın:

İÇİNDEKİLER

Sodyum azid koruyucu maddesi metal kanalizasyon hatlarında patlayıcı bileşimler oluşturabilir. NIOSH Bültenine bakın: Explosive Azide Hazard (Patlayıcı Azide Tehlikesi) (16.8.76).
Azid bileşenlerinin olası birikimini engellemek amacıyla, seyreltilmemiş reaktifi çöpe attıktan sonra atık borularını bol suyla yıkayın. Sodyum azid, uygun yerel düzenlemelere göre çöpe atılmalıdır.

GEREKLİ OLAN ANCAK KİT İLE BİRLİKTE VERİLMEYEN MALZEMELER:

- Numune alma tüpleri ve numune alma için gerekli malzemeler.
- 10, 100 ve 500 µL için tek kullanımlık uçlu otomatik pipetler.
- Plastik hemoliz tüpleri.
- Kalibrasyon boncukları: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Lizis sonrası yıkama aşamasıyla birlikte eritrosit lizis reaktifi. Örneğin: VersaLyse (Ref. A09777).
- Lökosit fiksasyon reaktifi. Örneğin: IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonu (Ref. A07800).
- İzotipik kontrol APC-AlexaFluor750 : IOTest reaktifi (Ref. A79393.).
- Tampon (PBS: 0,01 M sodyum fosfat; 0,145 M sodyum klorür; pH 7,2).
- Santrifüjleyin.
- Otomatik karıştırıcı (Vorteks tipi).
- Akış sitometresi.

VERSALYSE REAKTİFİ İLE PROSEDÜR

Not: Aşağıdaki prosedür standart uygulamalar için geçerlidir. Belirli Beckman Coulter uygulamaları için numune ve/veya VersaLyse hacimleri farklı olabilir. Böyle bir durum söz konusu ise, uygulama teknik broşüründeki talimatları izleyin.

Analiz edilen her numune için, test tüpüne ek olarak içinde hücrelerin izotipik kontrol (Ref. A79393.) ile karıştırılacağı bir kontrol tüpü gereklidir.

1. Her test tüpüne 10 µL spesifik IOTest konjüge antikor ekleyin ve her kontrol tüpüne 10 µL izotipik kontrol ekleyin.
2. Her iki tüpe 100 µL test numunesi ekleyin. Tüpleri yavaşça vorteksleyin.
3. Oda sıcaklığında (18-25°C) ışıktan koruyarak 15-20 dakika boyunca inkübe edin.
4. Daha sonra kırmızı hücrelerin parçalanma işlemini, gerekirse kullanılan parçalama reaktifi ile ilgili tavsiyeleri izleyerek gerçekleştirin. Örnek olarak, VersaLyse (Ref. A09777) kullanmak istiyorsanız, broşüre bakın ve tercihen kullanıma hazır “Fix-and-Lyse” karışımından 1 mL eklenmesini içeren "konkomitant sabitleme ile" olarak adlandırılan prosedürü takip edin. Hemen bir saniye kadar vorteksleyin ve oda sıcaklığında ışıktan koruyarak 10 dakika boyunca inkübe edin. Numune kırmızı hücreler içermiyorsa, 2 mL PBS ekleyin.
5. Oda sıcaklığında 5 dakika 150 x g hızda santrifüjleyin.
6. Aspirasyon ile üst fazı alın.
7. 3 mL PBS kullanarak hücre peletini yeniden süspanse edin.
8. Adım 5'i tekrarlayın.
9. Yüzer maddeyi aspirasyonla alın ve hücre topağını şunu kullanarak yeniden süspanse edin:

   Preparatlar 24 saatten az tutulacaksa, 0,5 mL veya 1 mL PBS'nin yanı sıra %0,1 formaldehid. (%0,1 formaldehid PBS, 1 mL PBS içinde 10X konsantre IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonundan (REF A07800) 12,5 µL seyreltilerek elde edilebilir).

   0,5 mL veya 1 mL PBS formaldehidsiz, preparatlar 2 saat içinde analiz edilmelidir.

Not: Tüm durumlarda, preperatlar 2 ile 8°C arasında tutulmalı ve ışıktan korunmalıdır.

BEKLENEN DEĞERLER

Her laboratuvar yerel popülasyondaki bir grup sağlıklı donöre dayanarak bir referans değerler listesi derlemelidir. Bu derleme yaş, cinsiyet ve etnik grup ile birlikte herhangi diğer potansiyel bölgesel farklılıklar dikkate alınarak yapılmalıdır.

Bizim laboratuvarlarımızda, 50 sağlıklı yetişkinden alınan tam kan numuneleri yukarıda açıklanan reaktif kullanılarak işleme tabi tutulmuştur. Bu reaktif ile söz konusu pozitif olayların sayımı için elde edilen sonuçlar aşağıdaki tablolarda verilmektedir :

Lenfositler	Sayı	Ortalama (%)	SS	VK (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

PERFORMANS

Performans verileri, antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüplerde daha önce toplanan 24-saatlik kan numuneleri hakkında yukarıda tanımlanan prosedür kullanılarak elde edilir. Analizler immün boyamayı izleyen 2 saat içinde gerçekleştirilir.

ÖZGÜLLÜK

T lenfositler, insan periferik kan lenfositlerinin (PBL) çoğunu oluşturur (17). T lenfositler CD3 antijeninin ekspresyonu ile karakterize edilir (17, 18). CD3 antijeni 5 polipeptid zincirinden oluşan bir komplekstir: γ, δ, ε, ζ ve η T hücre reseptör (TCR) kompleksi ile ilişkilidir (19).

CD3 zincirleri, ζ homodimerleri veya γ/ε ya da ζ/γ FcR heterodimerleri (Fc°reseptörlerinin γ zinciri olan γFcR) veya γFcR homodimerlerinden oluşan değişken bir dimerle ilişkili, γ/ε ve δ/ε şeklindeki iki değişmeyen dimer grubu içinde kümelenmiştir (19, 20, 21). TCR ile ilişkili CD3 kompleksi, immün yanıt sırasında majör histokompatibilite kompleksi sınıf I ve II'ye bağlanan peptidlerin tanınmasıyla görevlidir (22).

CD3 antijeni olgun T lenfositlerinde ve timositlerin bir alt kümesi tarafından eksprese edilir (23).

UCHT1 monoklonal antikoru, CD3 kompleksinin ε zinciriyle reaksiyona girer (24). 1982 yılında Paris, Fransa'da düzenlenen İnsan Lökosit Diferansiyasyon Antijenleri ile ilgili 1. Uluslararası Çalıştay'da CD3 farklılaşma yığılım moleküllerine atanmıştır (25).

LABORATUVAR İÇİ TEKRAR ÜRETİLEBİLİRLİK

Pozitif bir hedefin boyanma yüzdesi ile ilgili 12 ölçüm aynı günde ve aynı sitometre kullanılarak gerçekleştirildi. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Pozitif Hedef	Sayı	Ortalama (%)	SS	VK (%)
Lenfositler CD3-APC-A750 +	12	74,76	0,52	0,70

Linearite

Bu reaktifin boyama özelliğinde doğrusallığın test edilmesi için bir pozitif hücre hattı ((HPBALL)) ve bir negatif hücre hattı ((DAUDI)) nihai hücre sayısı sabit kalacak şekilde farklı oranlarda karıştırılmıştır, böylelikle karışımın pozitif hat/negatif hat oranı %0 ila 100 arasında bulunmuştur.

Numuneden alınan küçük kısımlar yukarıda tarif edilen prosedürle boyanmış ve beklenen değerler ile gözlenen değerler arasındaki lineer regresyon hesaplanmıştır.

Özgüllük	Lineer regresyon	Doğrusallık (R2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

SINIRLAMALAR

1. Akış sitometrisi, sitometre mükemmel şekilde hizalanmadıysa, floresan sızıntıları doğru şekilde telafi edilmediyse ve bölgeler dikkatli bir şekilde konumlandırılmadıysa yanlış sonuçlar üretebilir.
2. Bu reaktif "yıkamasız" parçalama tekniği için optimize edilmediğinden, yıkama adımlı bir RBC parçalama tekniğinin kullanılması tercih edilir.
3. Kullanılan prosedürler teknik bilgi broşürüne uygun olduğu ve iyi laboratuvar uygulamalarına uygun olduğu sürece doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilecektir.
4. Bu reaktifin konjugat antikoru, en iyi spesifik sinyal/spesifik olmayan sinyal oranını sunacak şekilde kalibre edilir. Bu nedenle her testte reaktif hacmi/örnek hacmi oranına bağlı kalmak önemlidir.
5. Hiperlökositoz durumunda yaklaşık 5 x 10^9 lökosit/L (26) değerini elde etmek için kanı PBS içinde seyreltin.
6. Şiddetli böbrek yetmezliği veya hemoglobinopatiler gibi bazı hastalık durumlarında, eritrosit lizisi yavaş, eksik ve hatta imkansız olabilir. Bu durumda mononükleotidli hücrelerin boyama öncesinde yoğunluk gradyanı (örneğin Ficoll) kullanılarak izole edilmesi önerilmektedir (27).
7. Florokromun tandem yapısı nedeniyle APC-AlexaFluor750 ayrıca 660 nm değerinde ışık saçar. İkinci emisyon piki Florokromun tandem yapısı nedeniyle APC-AlexaFluor750 lotları arasında farklılık gösterir. Bu nedenle çok renkli analizde kompanzasyon matriksi bir Florokromun tandem yapısı nedeniyle APC-AlexaFluor750 -konjugatının lotu değiştirilirken dikkatle kontrol edilmelidir.

Örnekler ve referanslar için Ek'e bakın.

TİCARİ MARKALAR

Bu belgede belirtilen Beckman Coulter, stilize logo ve Beckman Coulter ürün ve hizmet markaları, Beckman Coulter, Inc. firmasının ABD'de ve diğer ülkelerdeki ticari veya tescilli ticari markalarıdır.

Alexa Fluor, Molecular Probes, Inc.'in ticari markasıdır.

Sembol Anahtarı

Semboller Sözlüğü beckman.com/techdocs adresinde bulunabilir (belge numarası B60062)

	Спецификации
Специфичность	CD3
Клон	UCHT1
Гибридома	NS1 x balb/c
Иммуноген	T cell line + IL2
Иммуноглобулин	IgG1
Вид	Мышь
Очистка	Аффинная хроматография
Флуорохром	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Молярное отношение	APC-AlexaFluor750 / Ig: 0,5-1,5
Возбуждение λ	633/638 nm
Пик эмиссии	775 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 мг/мл БСА и 0,1% NaN_3

Конъюгированное антитело IOTest CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 мл, 10 мкл / test

Применяется для *In Vitro* диагностики.

НАЗНАЧЕНИЕ

Данное антитело, конъюгированное с флуорохромом, позволяет идентифицировать популяции клеток, экспрессирующих антиген CD3, и подсчитывать их количество в биологических образцах человека с помощью проточной цитометрии.

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Данный тест основан на способности специфических моноклональных антител связывать антигенные детерминанты, экспрессированные лейкоцитами.

Специфическое окрашивание лейкоцитов выполняется путем инкубирования пробы с реагентом IOTest. Затем методом лизиса удаляются эритроциты, и выполняется анализ лейкоцитов, не затронутых этим процессом, методом проточной цитометрии.

Проточный цитометр измеряет светорассеяние и флуоресценцию клеток. Это дает возможность разграничения интересующей популяции в электронном окне, определенном на гистограмме, что коррелирует с ортогональным светорассеянием (боковое рассеяние, или SS) и рассеянием света под острым углом (прямое рассеяние, или FS). Другие гистограммы, сочетающие два из других параметров, доступных на цитометре, могут использоваться как вспомогательные на стадии селекции, в зависимости от приложения, выбранного пользователем.

Флуоресценцию разграниченных клеток анализируют с целью различения положительно-окрашенных и неокрашенных событий. Результаты выражаются в виде процентного отношения положительных событий ко всем событиям, полученным в ходе селекции.

ПРИМЕРЫ КЛИНИЧЕСКИХ ОБЛАСТЕЙ ПРИМЕНЕНИЯ

CD3 — это трансмембранный белок, включающий полипептидные цепочки четырех типов: CD3γ, CD3δ, CD3ε и CD3ζ. CD3 связан с Т-клеточным рецептором (TCR), вместе они образуют комплекс TCR, отвечающий за выработку, активацию Т-клеток, а также за их эффекторные функции (1). Внутриклеточные хвосты молекул CD3 содержат один хранимый мотив, который называется иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ИТАМ), необходимый для выполнения сигнализирующей функции белка TCR (2, 3).

CD3 экспрессирует в цитоплазме про-Т-лимфоцитов, а затем в медуллярных типоцитах, когда антиген CD3 начинает мигрировать в мембрану клетки (4). Мембрана CD3 экспрессирует во всех зрелых Т-клетках и NK-Т-клетках. Фенотипический анализ CD3 можно провести путем распознавания доменов с мембраной на поверхности или внутриклеточного хвоста. CD3 является селективным маркером Т-линии дифференцировки и его экспрессия сохраняется в большинстве Т-клеточных новообразований (5, 6).

Поэтому CD3 входит в подавляющее большинство панелей проточных цитометров для диагностики Т-клеточных гематологических лимфопролиферативных заболеваний, в том числе лейкемию и лимфому (5, 6, 7). Иммунофенотипический анализ клеток CD3+, проводимый совместно с другими фенотипами клеток, позволяет получить готовую характеристику различных функциональных поднаборов Т-клеток, например клеток памяти, эффекторных и регуляторных Т-клеток (8).

Относительные и абсолютные значения CD3+ используются для оценки иммунокомпетентности определенного состояния иммунодефицита (например, ВИЧ, после трансплантации гематопоэтических стволовых клеток), а также эффективности лечения, но при этом редко применяются при принятии решения о лечении (9, 10). CD3 также используется для диагностики и мониторинга активности Т-клеток у пациентов с первичным или вторичным иммунодефицитом, аутоиммунитета, а также оценки реакции на иммуноподавляющую терапию с лечением моноклональными антителами Т-клеток и антитимоцитарным глобулином (11, 12, 13, 14, 15, 16).

РЕАГЕНТЫ

Концентрация: см. сертификат анализа для партии на Интернет-сайте www.beckmancoulter.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Не используйте реагенты после истечения срока годности.
2. Не замораживать.
3. Перед использованием довести до комнатной температуры (18–25°C).
4. Минимизируют воздействие света.
5. Во избежание получения ошибочных результатов не допускайте микробной контаминации реагентов.
6. Следует с осторожностью обращаться с растворами антител, содержащими натрия азид (NaN_3). Не принимайте внутрь и избегайте любого контакта с кожей, слизистыми оболочками и глазами.

Кроме того, в кислой среде натрия азид может образовывать потенциально опасную азотистоводородную кислоту. Если требуется утилизация, рекомендуется разводить реагент в большом объеме воды, прежде чем выливать его в канализацию, чтобы избежать накопления натрия азида в металлических трубах и исключить возможность взрыва.

7. Все пробы крови должны считаться потенциально инфицированными, при обращении с ними необходимо соблюдать осторожность (в частности, использовать защитные перчатки, одежду и очки).
8. Запрещается набирать раствор в пипетку ртом. Следует избегать попадания образцов на кожу, слизистые оболочки и глаза.
9. При утилизации пробирок и одноразовых материалов следует использовать специальные предназначенные для сжигания контейнеры.
10. При утилизации реагентов и отходов необходимо следовать требованиям местного законодательства.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Не классифицируется как опасное вещество

SDS Паспорт безопасности доступен на сайте beckman.com/techdocs

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Жидкие конъюгаты до и после вскрытия флакона следует хранить при температуре от 2 до 8°C в защищенном от света месте.

Стабильность закупоренного флакона: см. срок годности флакона.

Стабильность в открытом флаконе: реагент сохраняет стабильность в течение 365 дн.

ПРОБЫ

При взятии образца венозной крови необходимо использовать стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта.

Пробы следует хранить при комнатной температуре (18–25°C), не встряхивая. Пробы следует гомогенизировать, осторожно перемешав, до отбора тестовой пробы.

Пробы требуется проанализировать в течение 24 ч после венипункции.

ПРИЗНАКИ ПОРЧИ

Любые изменения внешнего вида реагентов могут говорить о порче, использовать такой реагент не следует.

В случае нарушения упаковки или если полученные данные свидетельствуют об изменениях показателей, обратитесь к своему местному дистрибьютору или по следующему адресу электронной почты:

СОДЕРЖАНИЕ

Консервант с содержанием азида натрия может образовывать взрывоопасные соединения в металлической водопроводной арматуре. См. бюллетень Национального института по охране труда и промышленной гигиене (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Взрывоопасные азиды) (16.8.76). Чтобы избежать накопления азидных соединений, промывайте сливные трубы водой после сброса неразбавленного реагента. Утилизацию азида натрия следует проводить в соответствии с соответствующими местными нормами.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, КОТОРЫЕ НЕ ВХОДЯТ В НАБОР:

- Необходимые для взятия проб пробирки и материалы.
- Автоматические пипетки с одноразовыми наконечниками для 10, 100 и 500 мкл.
- Пластиковые пробирки для гемолиза.
- Шарики для калибровки: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Реагент для лизиса эритроцитов с этапом промывки после лизиса. Например: VersaLyse (ссылочный номер A09777).
- Реагент для фиксации лейкоцитов. Например: IOTest 3 Fixative Solution (фиксирующий раствор) (ссылочный номер A07800).
- Изотипический контроль APC-AlexaFluor750 : Реактив IOTest (Ref. A79393.).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрия фосфата; 0,145 M натрия хлорида; pH 7,2).
- Центрифугируйте.
- Автоматическая мешалка (вортексная)
- Проточный цитометр.

ПРОЦЕДУРА С РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Примечание: Описанная ниже процедура действительна для стандартных приложений. Для ряда приложений Beckman Coulter объемы образца и реактива VersaLyse могут различаться. В таких случаях необходимо следовать инструкциям, приведенным в описании приложения.

Для каждого анализируемого образца помимо тест-пробирки необходимо иметь контрольную пробирку, в которой клетки образца смешивают с изотипическим контролем (Ref. A79393.).

1. Добавьте 10 мл специфичного конъюгированного антитела IOTest в каждую пробирку для анализа и 10 мл изотипического контроля в каждую контрольную пробирку.
2. В тест-пробирку и контрольную пробирку вносят по 100 мкл образца. Осторожно встряхивают пробирки на приборе Vortex.
3. Инкубируют при комнатной температуре (18–25°C) в течение 15-20 мин, в защищенном от света месте.
4. Затем производят лизис эритроцитов, при необходимости пользуясь рекомендациями по использованию реактива для лизиса. Например, если используется VersaLyse (Ref. A09777), следует обратиться к листку-вкладышу и рекомендуется воспользоваться процедурой «с одновременной фиксацией», которая состоит в добавлении 1 мл смеси “Fix-and-Lyse” приготовляемой ex tempore. Немедленно встряхивают на Vortex в течение одной секунды, а затем инкубируют в течение 10 мин при комнатной температуре в защищенном от света месте. Если образец не содержит эритроцитов, добавляют 2 мл ФСБ.

5. Центрифугируют в течение 5 минут при 150 g при комнатной температуре.
6. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации.
7. Ресуспендируют осадок клеток, используя 3 мл PBS.
8. Повторите шаг 5.
9. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации и ресуспендируют осадок клеток, используя:

   0,5 мл или 1 мл PBS плюс 0,1% формальдегида, если препараты следует хранить менее 24 часов. (PBS с 0,1% формальдегида можно получить путем разведения 12,5 мкл фиксирующего раствора IOTest 3 (REF A07800) в концентрации 10x в 1 мл PBS).

   0,5 мл или 1 мл PBS без формальдегида, если препараты следует проанализировать в течение 2 ч.

Примечание. В обязательном порядке защищайте подготавливаемые материалы от солнечного света, храните их при температуре от 2 до 8°C.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Каждая лаборатория должна определить собственные референсные интервалы на основании исследования образцов здоровых доноров местной популяции. При этом необходимо учитывать возраст, пол и этническую принадлежность доноров, а также другие возможные межрегиональные различия.

В наших лабораториях реактивом, описанным выше, было обработано 50 образцов крови здоровых взрослых людей. Результаты определения числа положительных целевых событий с использованием данного реактива приведены в следующих таблицах :

Лимфоциты	Число	Среднее (%)	SD	CV (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Данные о работе системы получены с применением описанной выше процедуры на образцах крови, собранных за 24 часа до исследования в стерильные пробирки, содержащие ЭДТА в качестве антикоагулянта. Анализ выполнен не позднее чем через 2 часа после иммунного окрашивания.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Т-лимфоциты лежат в основе большинства периферийных лимфоцитов крови (PBL) (17). Т-лимфоциты характеризуются по наличию антигена CD3 (17, 18). Антиген CD3 представляет собой комплекс 5 полипептидных цепочек: γ, δ, ε, ζ и η связан с комплексом Т-клеточного рецептора (TCR) (19).

Цепочки CD3 объединяются в группу двух инвариантных димеров, γ/ε и δ/ε, связанных с переменным димером, который состоит из ζ гомодимеров или ζ/η, или гетеродимерами ζ/γ FcR (где гомодимер γFcR является цепочкой γ Fc-рецепторов) или гомодимеров γFcR (19, 20, 21). Комплекс CD3, связанный с TCR, участвует в распознавании пептидов, связанных с главным комплексом гистосовместимости класса I и II во время иммунной реакции (22).

Антиген CD3 экспрессируется зрелыми Т-лимфоцитами и субпопуляцией тимоцитов (23).

Моноклональное антитело UCHT1 вступает в реакцию с цепочкой ε комплекса CD3 (24). Это было отнесено к кластеру дифференцирования CD3 на 1-м международном семинаре, посвященном дифференцированию лейкоцитов человека, который проводился в Париже, Франция, в 1982 г. (25).

ВНУТРИЛАБОРАТОРНАЯ ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ

В течение одного и того же дня с использованием одного и того же цитометра было выполнено 12 измерений процентного содержания окрашенных клеток в целевой популяции. Полученные результаты обобщены в следующей таблице:

Положительная мишень	Число	Среднее (%)	SD	CV (%)
Лимфоциты CD3-APC-A750 +	12	74,76	0,52	0,70

Линейность

Чтобы проверить линейность окрашивания для данного реактива, клетки положительной линии ((HPBALL)) и клетки отрицательной линии ((DAUDI)) смешали в различных пропорциях так, чтобы все полученные смеси содержали одно и то же конечное число клеток, а отношение числа положительных клеток к числу отрицательных клеток находилось в диапазоне от 0 до 100%.

Аликвоты были окрашены в соответствии сописанной выше методикой. На основании полученных и ожидаемых значений вычислялась линейная регрессия.

Специфичность	Линейная регрессия	Линейность (R2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. При проведении проточной цитометрии возможно получение ложных результатов, если цитометр не был идеально позиционирован, не была проведена правильная компенсация утечек флуоресцентного агента или точное позиционирование областей.
2. Рекомендуется выполнять лизис эритроцитов с отмывкой, поскольку данный реагент не оптимизирован для процедуры лизирования без отмывки.
3. Для получения точных и повторяемых результатов необходимо выполнять процедуры в соответствии с инструкцией-вкладышем и требованиями надлежащей лабораторной практики.
4. Выполняется калибровка конъюгированного антитела этого реагента с целью получения наилучшего для данной конкретной задачи соотношения специфичного и неспецифичного сигнала. Поэтому при каждом тесте важно придерживаться правильного соотношения объема реагента и пробы.
5. При гиперлейкоцитозе, разбавляют кровь PBS до приблизительно 5 x 10^9 лейкоцитов/л (26).

6. При определенных заболеваниях, таких как острая почечная недостаточность или гемоглобинопатии, лизис эритроцитов может протекать медленно, быть неполным или даже невозможным. В таком случае рекомендуется изолировать одноядерные клетки, используя градиент плотности (например, фиколл), перед окрашиванием (27).
7. Благодаря тандемной структуре флуорохрома APC-AlexaFluor750 также излучает свет при 660 нм. Этот вторичный пик излучения варьирует в зависимости от партии APC-AlexaFluor750 . Поэтому для многоцветного анализа матрицу компенсации необходимо тщательно проверить при изменении партии APC-AlexaFluor750 конъюгата.

Примеры и ссылки см. в Приложении.

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

Beckman Coulter, стилизованный логотип и упоминаемые здесь знаки продукции и услуг Beckman Coulter являются товарными знаками или зарегистрированными товарными знаками корпорации Beckman Coulter, Inc. в Соединенных Штатах и других странах.

Alexa Fluor является товарным знаком Molecular Probes, Inc.

Определения символов

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (номер документа B60062)

	Spetsifikatsioonid
Spetsiifilisus	CD3
Kloon	UCHT1
Hübridoom	NS1 x balb/c
Immunogeen	T cell line + IL2
Immunoglobuliin	IgG1
Liigid	Hiir
Puhastamine	Afiinsuskromatograafia
Fluorokroom	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Molaarsuhe	APC-AlexaFluor750/Ig: 0,5-1,5
λ ergastumine	633/638 nm
Emission Peak	775 nm
Puhver	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/ml BSA ja 0,1% NaN_3

IOTest
konjugeeritud antikeha
CD3-APC
-Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 ml, 10 µl / test

***In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks**

KASUTUSOTSTARVE

See fluorokroomiga konjugeeritud antikeha võimaldab voolutsütomeetriaga tuvastada rakupopulatsioone, mis väljendavad inimese perifeerses veres esinevat antigeeni CD3.

PÕHIMÕTE

Analüüs põhineb spetsiifiliste monoklonaalsete antikehade võimel seonduda leukotsüütide sünteesitavate antigeensete determinantidega.

Leukotsüütide eriomaseks värvimiseks tuleb proovi koos tootesarja IOTest reagendiga inkubeerida. Seejärel eemaldatakse erütrotsüüdid lüüsimisega ja pärast seda analüüsitakse voolutsütomeetriaga leukotsüüte, mida see protsess ei mõjuta.

Läbivoolutsütomeeter mõõdab valguse hajumist ja rakkude fluorestsentsi. See muudab võimalikuks huvialuse populatsiooni piiristamise histogrammil määratud elektroonilisel alal. Histogramm korreleerib valguse ortogonaalset hajumist (külghajumine ehk KH) ja kitsasnurga valguse hajumist (edasihajumine ehk EH). Teisi histogramme, kus ühendatakse tsütomeetrias saadaolevat kahte parameetrit, võib kasutada lüüsimisetapis olenevalt kasutaja valitud rakendusest.

Piiritletud rakkude fluorestsentsi analüüsitakse, et eristada positiivselt värvitud sündmusi värvimata sündmustest. Tulemusi kajastatakse positiivsete sündmuste protsentuaalse osakaaluna kõigi väravdamisega hõivatud sündmuste suhtes.

NÄITEID KASUTUSEST MEDITSIINIS

CD3 on transmembraanne valk, mis sisaldab nelja liiki polüpeptiidahelaid, nimelt CD3γ, CD3δ, CD3ε ja CD3ζ. CD3 seostatakse T-raku retseptoriga (TCR), et moodustada TCR-kompleks, mis vastutab T-raku arengu, aktiveerimise ja efektorfunktsioonide eest (1). CD3 molekulide intratsellulaarsed sabad sisaldavad üksikut konserveerunud motiivi, mis on tuntud kui immuunretseptori türosiinipõhine aktiveerimise motiiv või ITAM, mis on oluline TCR-i signaalimissuutlikkuse puhul (2, 3).

CD3 väljendatakse pro-tümotsüütide tsütoplasmas ja seejärel medullaarsetes tümotsüütides, kui CD3 hakkab üle kanduma rakumembraani (4). Membraani CD3 väljendatakse kõigis küpsetes T-rakkudes ja NK-T-rakkudes. CD3 fenotüübiline analüüs teostatakse pinnamembraani domeenide või rakusise saba tuvastamisega. CD3 on T-tüvega-selektiivne marker ja selle väljendumine säilitatakse enamikes T-raku pahaloomulistes kasvajates (5, 6).

CD3 kuulub seega enamusse voolutsütomeetria paneeli, mis on mõeldud hematoloogilise T-raku lümfoproliferatiivsete häirete, sealhulgas leukeemia ja lümfoomi diagnoosimiseks (5, 6, 7). CD3+ rakkude immunofenotüübiline analüüs, mis on läbi viidud koos teiste rakkude fenotüüpidega, võimaldab erinevate funktsionaalsete T-raku alamrühmade, nagu mälu, efektori ja T regulatoorsete rakkude hõlpsat kirjeldamist (8).

Suhteline ja absoluutne CD3+ on kasulik teatud immuunpuudulikkuse oleku (nt HIV, vereloome tüvirakkude siirdamise järgne periood) immuunkompetentsuse ja ravi reaktsiooni hindamiseks, kuid raviotsuse tegemiseks kasutatakse seda harva (9, 10). CD3 kasutatakse ka primaarse või sekundaarse immuunpuudulikkuse, autoimmuunsusega patsientidel T-raku aktiivsuse ning monoklonaalse anti-T-raku teraapia ja anti-Thymus globuliiniga immunosupressioonravi reaktsiooni diagnoosimiseks ja/või jälgimiseks (11, 12, 13, 14, 15, 16).

REAGENDID

Kontsentratsioon: vaadake partiispetsiifilist analüüsisertifikaati aadressil www.beckmancoulter.com.

HOIATUS JA ETTEVAATUSABINÕUD

1. Ärge kasutage reagenti pärast aegumiskuupäeva.
2. Ärge külmutage.
3. Enne kasutamist laske tasakaalustuda toatemperatuuriga (18–25 °C).
4. Minimeerige kokkupuudet valgusega.
5. Vältige reagentide mikroobidega saastumist, vastasel juhul võite saada valed tulemused.
6. Antikehade lahuseid, mis sisaldavad naatriumasiidi (NaN_3), tuleb käsitseda ettevaatlikult. See pole mõeldud seespidiseks kasutamiseks. Vältige kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.

   Lisaks võib naatriumasiid moodustada happelises keskkonnas potentsiaalselt ohtliku hüdrasoonhappe. Kui see tuleb kõrvaldada, on soovitatav lahjendada reagenti suure hulga veega, enne kui see äravoolusüsteemi valada, et vältida plahvatusohtu ja naatriumasiidi kogunemist metalltorudesse.
7. Kõiki vereproove tuleb pidada potentsiaalselt nakkusohtlikuks ja käsitseda ettevaatusega (kasutage kaitsekindaid, kitlit ning kaitseprille).

8. Ärge pipeteerige suuga ning vältige proovide kokkupuudet naha, limaskesta, silmade ja riietega.
9. Verekatsutid ja käitlemiseks kasutatav ühekordselt kasutatav materjal tuleb hävitada põletamiseks ettenähtud spetsiaalsetes konteinerites.
10. Reagendid ja jäätmed tuleb kõrvaldada vastavalt kohalikele nõuetele.

GHS-I OHUKLASSIFIKATSIOON

Ei ole klassifitseeritud ohtlikuks

SDS Ohutuskaart on kättesaadav veebilehel beckman.com/techdocs

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Enne ja pärast viaali avamist tuleb konjugeeritud vedeliku vorme hoida temperatuuril 2 kuni 8 °C ja eemal päikesevalgusest.

Suletud viaali stabiilsus: vt viaalile märgitud aegumiskuupäeva.

Avatud viaali stabiilsus: reagent on stabiilne 365 päeva.

PROOVID

Veeniverd tuleb võtta steriilsete katsutitega, mis sisaldavad antikoagulandina etüleendiamiintetraatsetaadi (EDTA) soola.

Proove tuleb hoida toatemperatuuril (18–25 °C) ja neid ei tohi raputada. Proove tuleb ühtlustada seda enne näidisproovi võtmist ettevaatlikult loksutades.

Proove tuleb analüüsida 24 tunni jooksul alates veenipunktsioonist.

RIKNEMISE TUNNUSED

Igasugune muutus reagentide füüsilises välimuses võib viidata reagendi riknemisele ja seda ei tohi kasutada.

Pakendi riknemisel või kui saadud andmed näitavad muutusi toimivuses, võtke ühendust kohaliku edasimüüjaga või kirjutage alloleval meiliaadressil:

SISU

Naatriumasiidist konservant võib moodustada metallist kanalisatsioonitorudes plahvatusohtlikke ühendeid. Vt asutuse NIOSH teadaannet. Explosive Azide Hazard (Plahvatusohtliku asiidi oht) (16.8.76).
Vältimaks võimalikku asiidiühendite akumuleerimist, loputage äravoolutorusid pärast lahjendamata reagendi kõrvaldamist. Naatriumasiidi kõrvaldamine peab olema kooskõlas asjakohaste kohalike eeskirjadega.

VAJALIKUD, KUID KOMPLEKTI MITTEKUULUVAD MATERJALID

- Proovide kogumiseks vajalikud proovivõtukatsutid ja vahendid.
- Automaatpipetid ühekordselt kasutatavate otsakutega, mis võimaldavad teisaldada 10, 100 ja 500 µl.
- Plastist hemolüüsi katsutid.
- Kalibreerimisterad Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Erütrotsüütide lüüsireagent koos pesemisetapiga pärast lüüsi. Analüüsinäide VersaLyse (viitenr A09777).
- Leukotsüütide fikseerimisreagent. Näide Tootesarja IOTest 3 fikseerimisreagent (viitenr A07800).
- Isotüüpiline kontroll APC-AlexaFluor750: IOTesti reaktiiv (REF A79393).
- Puhver (PBS: 0,01 M naatriumfosfaat; 0,145 M naatriumkloriid; pH 7,2).
- Tsentrifuugige.
- Automaatsegisti (vibratsioonsegamise tüüpi).
- Voolutsütomeeter.

PROTSEDUUR REAGENDIGA VERSALYSE

Märkus: alltoodud protseduur kehtib standardrakenduste puhul. Proovi ja/või VersaLyse'i mahud võivad konkreetse Beckman Coulteri rakenduse puhul erineda. Sellisel juhul järgige rakenduse tehnilisi juhiseid.

Iga analüüsitud proovi kohta on peale katsuti vajalik kasutada ühte kontrollkatsutit, milles segatakse rakud isotüüpse kontrollainega (REF A79393.).

1. Lisage igasse katsutisse 10 µl spetsiifilist IOTest konjugeeritud antikeha ja igasse kontrollkatsutisse 10 µl isotüüpset kontrollainet.
2. Lisage kumbagi katsutisse 100 µl katseproovi. Keerutage katsuteid õrnalt.
3. Inkubeerige valguse eest kaitstult 15–20 minutit toatemperatuuril (18–25 °C).
4. Seejärel lüüsige vajaduse korral punaseid vereliblesid, järgides kasutatavat lüüsimisreaktiivi puudutavaid soovitusi. Kui tahate kasutada näiteks VersaLyse'i (REF A09777), vaadake selle teabelehte ja järgige eeskätt protseduuri „kaasneva fikseerimisega", mis koosneb ettevalmistuseta prepareeritud 1 ml segu „Fix-and-Lyse" lisamisest. Keerutage kohe üks sekund ning inkubeerige 10 minutit toatemperatuuril ja valguse eest kaitstult. Kui proov ei sisalda punaliblesid, lisada 2 ml PBS.
5. Tsentrifuugige 5 minutit toatemperatuuril kasutades sätet 150 x g.
6. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus.
7. Taassuspendeerige rakusade PBS-is, mille kogus on 3 ml.
8. Korrake etappi 5.
9. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus ja taassuspendeerige rakugraanuleid vahendiga:

   0,5 ml või 1 ml PBS-i ja 0,1% formaldehüüdi, kui preparaate tuleb hoida vähem kui 24 tundi. (0,1% formaldehüüdi PBS-i saamiseks tuleb lahjendada 12,5 µl IOTest 3 fiksaatorlahust (REF A07800) ja selle 10-kordset kontsentratsiooni 1 ml PBS-is).

   0,5 ml või 1 ml formaldehüüdita PBS-iga, kui valmissegusid analüüsitakse 2 tunni jooksul.

Märkus Preparaate tuleb alati hoida temperatuuril 2–8 °C ja valguse eest kaitstult.

OODATUD VÄÄRTUSED

Iga labor peab koostama võrdlusväärtuste loendi kohalikust populatsioonist pärinevate tervete doonorite grupi tulemuste põhjal. Seda tehes tuleb võtta arvesse vanust, sugu ja etnilist kuuluvust ning ka muid võimalikke piirkondlikke erinevusi.

Meie laborites testiti tervete täiskasvanute 50 täisvereproove, kasutades ülalkirjeldatud reaktiivi. Selle reaktiiviga saadud positiivsete huvipakkuvate juhtude tulemused on nähtavad alltoodud tabelites.

Lümfotsüüdid	Arv	Keskmine (%)	SH	CV (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

TOIMIMINE

Toimimisandmed saadakse, kasutades ülalkirjeldatud protseduuri 24 tunni vanustel vereproovidel, mis on kogutud steriilsetesse katsutitesse antikoagulandi EDTA naatriumsoolaga. Analüüs tehakse 2 tunni jooksul pärast immunospetsiifilist värvimist.

SPETSIIFILISUS

T-lümfotsüüdid moodustavad inimese perifeerse vere lümfotsüütidest (PBL) (17) enamiku. T-lümfotsüütidele on iseloomulik CD3 antigeeni avaldumine (17, 18). CD3 antigeen on 5 polüpeptiidahelast koosnev kompleks: γ, δ, ε, ζ ja η; seostatud T-raku retseptori (TCR) kompleksiga (19).

CD3 ahelad on koondatud kahte invariantsesse dimeeri: γ/ε ja δ/ε, mida seostatakse muutuva dimeeriga, mis koosneb ζ homodimeeridest või ζ/η või ζ/γ FcR heterodimeeridest (γFcR on Fc° retseptorite γ ahel) või γFcR homodimeeridest (19, 20, 21). TCR-ga seotud CD3 kompleks osaleb peamise koesobivuskompleksi I ja II klassiga seondunud peptiidide tuvastamises immuunvastuse ajal (22).

Seda CD3 antigeeni väljendavad küpsed T-lümfotsüüdid ja tümotsüütide alagrupp (23).

Selle UCHT1 monoklonaalne antikeha reageerib CD3 kompleksi ε ahelaga (24). See on määratud CD3 diferentseerumisklastrile 1. rahvusvahelisel inimese leukotsüütide diferentseerumise antigeenide alasel seminaril 1982. aastal Prantsusmaal Pariisis (25).

LABORISISENE KORRATAVUS

Samal päeval ja sama tsütomeetriga tehti positiivse sihtmärgi värvimise protsendi mõõtmised 12. Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis.

Positiivne siht	Arv	Keskmine (%)	SH	CV (%)
Lümfotsüüdid + CD3-APC-A750	12	74,76	0,52	0,70

Lineaarsus

Selle reaktiivi värvimise lineaarsuse testimiseks segati omavahel positiivset rakuliini (HPBALL) ja negatiivset rakuliini (DAUDI) erinevates proportsioonides püsiva rakkude lõpparvuga, nii et positiivse/negatiivse rakuliini suhe segus jäi vahemikku 0 kuni 100%.

Alikvoodid värviti, kasutades ülalkirjeldatud protseduuri, ning arvutati välja lineaarne regressioon oodatavate ja tegelikult täheldatud väärtuste vahel.

Spetsiifilisus	Lineaarne regressioon	Lineaarsus (R^2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

PIIRANGUD

1. Voolutsütomeetria võib anda valed tulemused, kui tsütomeeter ei ole ideaalselt joondatud, kui fluorestsentsi lekkeid ei ole õigesti kompenseeritud ja kui piirkonnad ei ole hoolikalt paigutatud.
2. Soovitatav on kasutada loputusega RBC-lüüsimist, kuna see reagent ei ole optimeeritud loputusega lüüsitehnikate jaoks.
3. Täpsed ja korratavad tulemused saadakse, kui kasutatavad protseduurid on kooskõlas tehnilise teabelehe ja heade laboritavadega.
4. Selle reagendi pööratud antikeha kalibreeritakse nii, et tagatud oleks parim spetsiifilise/mittespetsiifilise signaali suhe. Seetõttu on igas analüüsis oluline järgida reagendi- ja proovimahu suhet.
5. Hüperleukotsütoosi korral lahjendage verd PBS-is nii, et saadav väärtus oleks ligikaudu 5 x 10^9 leukotsüüti/l kohta (26).
6. Teatud haigusseisundite (näiteks raske neerupuudulikkuse või hemoglobinopaatia) korral võib erütrotsüütide lüüsimine olla aeglane, mittetäielik või isegi võimatu. Sellisel juhul on enne värvimist soovitatav mononukleaarsete rakkude isoleerimine tihedusgradiendi (näiteks Ficoll-gradiendi) abil (27).
7. Fluorokroomi paarisstruktuuri tõttu kiirgab APC-AlexaFluor750 valgust ka lainepikkusel 660 nm. See teisene kiirguse tipp erineb APC-AlexaFluor750 partiides. Seetõttu tuleb mitmevärvilise analüüsi korral APC-AlexaFluor750 -konjugeeritud partii muutmisel hoolikalt kontrollida kompensatsioonimaatriksit.

Vt näiteid ja viiteid lisast.

KAUBAMÄRGID

Beckman Coulter, stiliseeritud logo ning selles juhendis nimetatud ettevõtte Beckman Coulter toote- ja teenusemärgid on ettevõtte Beckman Coulter, Inc. kaubamärgid või registreeritud kaubamärgid Ameerika Ühendriikides ja teistes riikides.

Alexa Fluor on ettevõtte Molecular Probes, Inc. kaubamärk.

Sümboli tähis

Sümbolite mõisted on kättesaadavad veebilehel beckman.com/techdocs (dokument nr B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD3
Klon	UCHT1
Hibridom	NS1 x balb/c
Imunogen	T cell line + IL2
Imunoglobulin	IgG1
Vrsta	Miš
Pročišćavanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Molarni omjer	APC-AlexaFluor750 / Ig: 0,5-1,5
λ ekscitacija	633/638 nm
Vršna emisija	775 nm
Pufer	PBS pH 7,2 uz 2 mg/mL BSA i 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano antitijelo CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Za *in vitro* dijagnostičku uporabu

NAMJENA

Ovo antitijelo konjugirano fluorokromom omogućavaidentifikaciju i određivanje broja stanične populacije u humanim biološkim uzorcima kod koje je izražen CD3 antigen, pomoću protočne citometrije.

NAČELO

Ovaj je test utemeljen na mogućnosti vezivanja specifičnih monoklonskih antitijela na antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično se bojenje leukocita izvodi inkubacijom uzorka s reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utječe, analiziraju se protočnom citometrijom.

Citometar toka mjeri difuziju svjetlosti i fluorescenciju stanica. Omogućuje razgraničavanje promatrane populacije unutar elektroničkog prozora definiranog na histogramu, koji stvara korelaciju između ortogonalne difuzije svjetlosti (bočnog raspršenja (BR)) i difuzije uskokutne svjetlosti (prednjeg raspršenja (PR)). Drugi histogrami koji kombiniraju dva od više različitih parametara dostupnih na citometru mogu se upotrebljavati kao pomoć u fazi ograđivanja ovisno o primjeni koju je odabrao korisnik.

Analizira se fluorescencija ograničenih stanica da bi se pozitivno obojeni događaji odvojili od neobojenih. Rezultati se izražavaju kao postotak pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobivene ograđivanjem.

PRIMJERI KLINIČKIH PRIMJENA

CD3 je transmembranski protein koji sadrži četiri vrste polipeptidnih lanaca: CD3γ, CD3δ, CD3ε i CD3ζ. CD3 se veže s receptorom T-stanice (TCR-om) i formira TCR kompleks odgovoran za razvoj, aktivaciju i aktivatorske funkcije T-stanice (1). Intracelularni završeci molekula CD3 sadrže jedan jedini konzervirani uzorak poznat kao imunoreceptorski aktivacijski uzorak temeljen na tirozinu ili ITAM, koji je ključan za signalizacijske mogućnosti TCR-a (2, 3).

CD3 se izražava u citoplazmi protimocita, a zatim u medularnim timocitima kad antigen CD3 počne migrirati u staničnu membranu (4). Membranski CD3 izražava se u svim zrelim T-stanicama i NK-T-stanicama. Fenotipska analiza antigena CD3 može se izvesti otkrivanjem površinskih membranskih dijelova ili intracelularnog završetka. CD3 je marker koji je selektivan za T-lozu i njegov se izražaj zadržava kod većine malignih oblika T-stanica (5, 6).

CD3 je stoga uključen u većinu panela protočne citometrije radi dijagnoze hematoloških limfoproliferacijskih poremećaja T-stanica, uključujući leukemiju i limfom (5, 6, 7). Imunofenotipska analiza stanica CD3+ napravljena zajedno s drugim fenotipima stanica omogućuje izravno razlikovanje funkcionalnih podskupova T-stanica, npr. T-stanica s pamćenjem te aktivatorskih i regulatorskih T-stanica (8).

Relativni i apsolutni CD3+ koristi se za procjenu imunokompetencije određenih stanja imunodeficijencije (npr. u slučaju HIV-a, nakon transplantacije hematopoetskih matičnih stanica) i reakcije na liječenje, no rijetko se koristi za određivanje načina liječenja (9, 10). CD3 se koristi i za dijagnosticiranje i/ili nadzor aktivnosti T-stanica u bolesnika s primarnom ili sekundarnom imunodeficijencijom, autoimunim bolestima i reakcijom na imunosupresivno liječenje monoklonskim anti-T-staničnim pripravcima i antitimusnim globulinom (11, 12, 13, 14, 15, 16).

REAGENSI

Koncentracija: Podatak o koncentraciji potražite na ceritfikatu analize (Certificate of Analysis) specifičnom za svaku seriju na www.beckmancoulter.com

UPOZORENJE I MJERE OPREZA

1. Reagens nemojte upotrebljavati nakon isteka roka trajanja.
2. Nemojte zamrzavati.
3. Prije upotrebe pustite da dosegne sobnu temperaturu (18 – 25 °C).
4. Smanjite izlaganje svjetlu.
5. Izbjegavajte mikrobnu kontaminaciju reagensa ili može doći do netočnih rezultata.
6. Otopinama antitijela koje sadrže natrijev azid (NaN_3) potrebno je rukovati oprezno. Ne gutajte i izbjegavajte dodir s kožom, sluznicom i očima.

   Štoviše, natrijev azid u kiselom mediju može formirati potencijalno opasnu hidrazoičnu kiselinu. Ako je reagens potrebno odložiti u otpad, preporučuje se da ga razrijedite u velikoj količini vode prije nego što ga izlijete u odvodni sustav da biste izbjegli nakupljanje natrijeva azida u metalnim cijevima i spriječili opasnost od eksplozije.
7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno zaraznima te je njima potrebno rukovati oprezno (odnosno nositi zaštitne rukavice, odjeću i naočale).

8. Pipetu nikad ne dodirujte ustima, a uzorke držite podalje od kože, sluznice i očiju.
9. Epruvete s krvlju i otpadni materijal za rukovanje treba odložiti u jednokratne spremnike namijenjene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad potrebno je ukloniti u skladu s lokalnim zahtjevima.

KLASIFIKACIJA OPASNOSTI PREMA GHS-U

Nije klasificiran kao opasan

SDS Sigurnosno-tehnički list dostupan je na adresi beckman.com/techdocs

POHRANA I STABILNOST

Nakon otvaranja reagensa, konjugirane tekuće oblike obvezno je čuvati na temperaturama od 2 do 8 °C i zaštititi od svjetlosti.

Stabilnost zatvorene bočice: pogledajte datum isteka roka valjanosti na bočici.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 365 dana.

UZORCI

Venska krv mora se uzeti sterilnim epruvetama koje kao antikoagulans sadrže EDTA sol.

Uzorke držite na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C) i nemojte ih tresti. Prije uzimanja testnog uzorka potrebno je homogenizirati uzorke pažljivim mućkanjem.

Uzorci venske krvi moraju se analizirati u roku od 24 sata od njihova uzimanja.

DOKAZ PROPADANJA

Svaka promjena fizičkog izgleda reagensa može upućivati na propadanje te se reagens ne smije upotrebljavati.

U slučaju propadanja pakiranja ili ako dobiveni podaci pokazuju neke izmjene performansi, molimo Vas da se obratite lokalnom distributeru ili koristite sljedeću adresu e-pošte:

SADRŽAJ

Konzervans s natrijevim azidom može stvoriti eksplozivne spojeve u metalnim cjevovodima. Pogledajte bilten NIOSH: Explosive Azide Hazard (Opasnost od eksplozije azida) (16. 8. 76.).
Da biste spriječili moguće taloženje komponenata azida, prilikom odlaganja nerazrijeđenog reagensa u otpad odvodne cijevi isperite vodom. Odlaganje natrijeva azida u otpad mora biti u skladu s odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU DIO KOMPLETA:

- Epruvete za uzorke i materijal potreban za uzimanje uzoraka.
- Automatske pipete s jednokratnim nastavcima za 10, 100 i 500 µL.
- Plastične hemolitičke epruvete.
- Kuglice za kalibraciju: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Reagens za liziranje eritrocita s fazom pranja nakon liziranja. Na primjer: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primjer: Otopina za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotipska kontrola: APC-AlexaFluor750: IOTest reagens. (Ref. A79393).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijeva fosfata, 0,145 M natrijeva klorida, pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska miješalica (tip vorteks).
- Citometar toka.

POSTUPAK S REAGENSOM VERSALYSE

NAPOMENA: Postupak se odnosi na standardnu aplikaciju. Uzorak i/ili volumen VersaLyse reagensa za određene Beckman Coulter aplikacije mogu biti različiti. U tom slučaju trebate slijediti upute na priručnom letku.

Za svaki analizirani uzorak, uz testnu epruvetu, potrebno je osigurati jednu kontrolnu epruvetu u kojoj se stanice miješaju uz prisutnost izotipske kontrole (Ref. A79393).

1. Dodajte 10 µL specifičnog IOTest sjedinjenog protutijela u svaku testnu epruvetu i 10 µL izotipske kontrole u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 uL testnog uzorka u obje epruvete. Vortex mikserom nježno promiješajte epruvete.
3. Inkubirajte od 15 do 20 min na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C), zaštićeno od svjetlosti.
4. Izvršite lizu crvenih krvnih stanica, ako je potrebno, sljedeći preporuke na reagensu za lizu koji koristite. Npr., ako koristite VersaLyse (Ref. A09777), pogledajte priručni letak i slijedite upute za postupak nazvan "with concomitant fixation (s konkomitantnom fiksacijom)" koji uključuje dodavanje 1 mL "Fix-and-Lyse" smjese pripremeljne na licu mjesta. Miješajte Vortex mikserom koju sekundu i inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi, zaštićeno od svjetla. Ako uzorak ne sadrži crvene krvne stanice, dodajte 2 mL PBS-a.
5. Centrifugirajte 5 min pri 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću 3 mL PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Uklonite supernatant aspiracijom i stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću:

   0,5 mL ili 1 mL PBS-a plus 0,1 % of formaldehida ako će se pripravci manje od 24 sati. (0,1 % formaldehida PBS-a se može dobiti razrjeđivanjem 12,5 µL IOTest 3 otopine za fiksaciju (Ref. A07800) u njezinoj 10X koncentraciji u 1 mL PBS-a).

0,5 mL ili 1 mL PBS-a bez formaldehida, ako pripravak treba analizirati u roku od 2 sati.

Napomena: U svakom slučaju pripravke čuvajte zaštićene od svjetlosti na temperaturi između 2 i 8 °C.

OČEKIVANE VRIJEDNOSTI

Svaki laboaratorij obvezan je sastaviti popis referentnih vrijednosti temeljenih na skupini zdravih donatora iz lokalne populacije. Dob, spol i pripadnost određenoj etničkoj skupini kao i ostale lokalne regionalne razlike moraju se uzeti u obzir.

On Istog dana na istomcitometru, napravljeno je 12 mjerenja postotak pozitivno obojenih stanica. Dobiveni rezultati sažetisu u slijedećoj tablici.

Limfociti	Broj	Srednja vrijednost (%)	SD	CV (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

PERFORMANSE

Podaci o djelovanju dobiveni su pomoću gore opisanog postupka na 24 sata starim uzorcima krvi prethodno prikupljenoj sterilnim epruvetama s EDTA soli kao antikoagulansom. Analiza je obavljena unutar 2 sata nakon imunološkog bojenja.

SPECIFIČNOST

Većinu humanih limfocita iz periferne krvi (PBL-a) čine T-limfociti (17). T-limfociti razlikuju se prema izražaju antigena CD3 (17, 18). Antigen CD3 spoj je 5 polipeptidnih lanaca, γ, δ, ε, ζ i η, povezanih s kompleksom receptora T-stanice (TCR-om) (19).

Lanci CD3 pridruženi su grupi dvaju invarijantnih dimera, γ/ε i δ/ε, povezanih s promjenljivim dimerom koji se sastoji od homodimera ζ ili heterodimera ζ/η ili ζ/γ FcR (pri čemu je γFcR lanac γ Fc receptora) ili homodimera γFcR (19, 20, 21). Kompleks CD3 povezan s TCR-om sudjeluje u prepoznavanju peptida vezanih uz glavni kompleks histokompatibilnosti razreda I i II tijekom imunološke reakcije (22).

Antigen CD3 izražavaju zreli T-limfociti i podskup timocita (23).

Monoklonsko antitijelo UCHT1 reagira s lancem ε kompleksa CD3 (24). Dodijeljeno je diferencijacijskoj grupi CD3 na 1. međunarodnoj radionici o antigenima za razlikovanje humanih leukocita u Parizu, Francuska, 1982. godine (25).

MEĐULABORATORIJSKA OBNOVLJIVOST

On Istog dana na istomcitometru, napravljeno je 12 mjerenja postotak pozitivno obojenih stanica. Dobiveni rezultati sažetisu u slijedećoj tablici.

Pozitivna ciljna vrijednost	Broj	Srednja vrijednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti	12	74,76	0,52	0,70

Linearnost

Kako bi ispitali linearnost bojanja ovog reagensa, antigen-pozitivne (HPBALL) i antigen-negativne stanice (DAUDI) međusobno se pomiješaju u različitim omjerima uz konačan broj ukupnih stanica, tako da omjer pozitivnih i negativnih stanica u smjesi varira od 0 do 100 %.

Alikvoti se bojaju prema gore navedenom postupku te se izačunava linearna regresija između očekivanih i očitanih vrijednosti.

Specifičnost	Linearna regresija	Linearnost (R2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti pogrešne rezultate ako citometar nije savršeno poravnat, ako fluorescentna curenja nisu pravilno kompenzirana i ako regije nisu pažljivo pozicionirane.
2. Poželjno je koristiti tehniku za liziranje crvenih krvnih stanica s korakom ispiranja jer ovaj reagens nije optimiziran za tehniku liziranja "bez ispiranja".
3. Točni i ponovljivi rezultati dobivat će se sve dok se postupci izvode u skladu s tehničkom brošurom i u skladu s dobrim laboratorijskim praksama.
4. Konjugirano antitijelo tog reagensa kalibrirano je tako da pruža najbolji omjer specifičnog i nespecifičnog signala. Zato je važno pridržavati se omjera volumena reagensa i volumena uzorka prilikom svakog testiranja.
5. U slučaju hiperleukocitoze razrijedite uzorak u PBS-u da biste dobili vrijednost od približno 5 x 10^9 leukocita/L (26).
6. Pri određenim bolestima, kao što je ozbiljno zatajenje bubrega ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak i nemoguće. U tom se slučaju prije bojenja preporučuje izoliranje jednojezgrenih stanica s pomoću gradijenta gustoće (na primjer, Ficoll) (27).
7. Zbog tandem strukture fluorokroma, APC-AlexaFluor750 također emitira svijetlo na 660 nm. Ovaj sekundarni vrhunac emisije varira od puno-za-puno APC-AlexaFluor750 . Stoga, za višebojne analize, matricu kompenzacije treba pažljivo provjeriti kada se mijenja puno APC-AlexaFluor750 -spojeva.

Za primjere i reference pogledajte Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizirani logotip te oznake proizvoda i usluga tvrtke Beckman Coulter žigovi su ili registrirani žigovi tvrtke Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim državama.

Alexa Fluor je žig tvrtke Molecular Probes, Inc.

Pojmovnik simbola

Pojmovnik simbola dostupan je na web-mjestu beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Спецификации
Специфичност	CD3
Клонинг	UCHT1
Хибридома	NS1 x balb/c
Имуноген	T cell line + IL2
Имуноглобулин	IgG1
Вид	Мишка
Пречистване	Афинитетна хроматография
Флуорохром	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Моларно съотношение	APC-AlexaFluor750 / Ig: 0,5-1,5
λ възбуждане	633/638 nm
Емисионен пик	775 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 mg/mL BSA и 0,1 % NaN_3

IOTest
Конюгирано антитяло
CD3-APC
-Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

За *ин витро* диагностика

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Това конюгирано с флуорохром антитяло позволява идентифициране и изброяване на клетъчни популации, експресиращи CD3 антиген в човешки биологични проби чрез флоуцитометрия.

ПРИНЦИП

Този тест се базира на способността на специфични моноклонални антитела да се свързват с антигенни детерминанти, експресирани от левкоцитите.

Специфично оцветяване на левкоцитите се извършва чрез инкубиране на пробата с реактива IOTest. След това червените кръвни телца се отстраняват чрез лизиране, а левкоцитите, които не се повлияват от този процес, се анализират чрез поточна цитометрия.

Поточният цитометър измерва разсейването на светлината и флуоресценцията на клетките. Това прави възможно разграничаването на популацията, която се изследва, в електронния прозорец, дефиниран на една хистограма, която корелира с ортогоналната дифузия на светлината (странично разсейване) и дифузията на тесноъгълна светлина (предно разсейване). Други хистограми, комбиниращи два от различните параметри на разположение на цитометъра, могат да бъдат използвани като основа в етапа на определяне на област за анализ в зависимост от приложението, избрано от потребителя.

Флуоресценцията на разграничените клетки се анализира, за да се разграничат позитивно оцветените събития от неоцветените такива. Резултатите се изразяват като процент на положителни събития във връзка с всички събития, получени от определянето на областта за анализ.

ПРИМЕРИ ЗА КЛИНИЧНИ ПРИЛОЖЕНИЯ

CD3 е трансмембранен протеин, съдържащ четири типа полипептидни вериги – CD3γ, CD3δ, CD3ε и CD3ζ. CD3 се свързва с Т-клетъчния рецептор (TCR), за да оформи TCR комплекс, който е отговорен за Т-клетъчното развитие, активиране и ефекторни функции (1). Вътреклетъчните опашки на молекулите CD3 съдържат единичен консервативен мотив, известен като имунорецепторен тирозин-базиран активационен мотив или ITAM, който е от основно значение за капацитета на сигнализиране на TCR (2, 3).

CD3 се експресира в цитоплазмата на протимоцитите и след това в медуларните тимоцити, когато CD3 антигенът започне да мигрира към клетъчната мембрана (4). CD3 от мембраната се експресира при всички зрели Т-клетки и NK-Т-клетки. Фенотипният анализ на CD3 може да бъде провеждан чрез откриване на повърхностни мембранни домейни или вътреклетъчни опашки. CD3 е селективен маркер за Т-клетъчната линия и неговата експресия се поддържа при повечето Т-клетъчни злокачествени образувания (5, 6).

Така CD3 се включва в значително болшинство от флуоцитометричните панели за диагностика на хематологичните Т-клетъчни лимфопролиферативни нарушения, включително левкемия и лимфома (5, 6, 7). Имунофенотипичните анализи на клетките CD3+, провеждани във връзка с други клетъчни фенотипове, позволяват лесна характеризация на различни функционални Т-клетъчни подпопулации като клетки памет, ефекторни и регулаторни Т-клетки (8).

Относителният и абсолютният CD3+ е полезен при оценката на имунокомпетенцията на определен имунодефицитен статус (напр. HIV след трансплантация на хемопоетични стволови клетки) и при реакция от терапия, но рядко се използва за вземане на решение относно лечение (9, 10). CD3 се използва също при диагностика и/или проследяване за активност на Т-клетки при пациенти с първичен или вторичен имунодефицит, автоимунно заболяване и реакция на имуносупресираща терапия с моноклонални анти-Т-клетъчни терапии и антитимусен глобулин (11, 12, 13, 14, 15, 16).

РЕАКТИВИ

Концентрация: Вижте конкретния сертификат за анализ на адрес www.beckmancoulter.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Не използвайте реактива след изтичане на срока на годност.
2. Не замразявайте.
3. Оставете на стайна температура (18–25°C) преди употреба.
4. Минимизирайте излагането на светлина.
5. Избягвайте микробно замърсяване на реактивите, в противен случай е възможно да се получат погрешни резултати.

6. С разтворите на антитела, съдържащи натриев азид (NaN_3), трябва да се работи внимателно. Не приемайте вътрешно и избягвайте всякакъв контакт с кожата, лигавицата и очите.

   В допълнение, в киселинна среда натриевият азид може да образува потенциално опасната хидразоена киселина. Ако тя трябва да се изхвърли, препоръчва се реактивът да се разреди в голям обем вода, преди да се излее в дренажната система, за да се избегне натрупването на натриев азид в металните тръби и да се предотврати риск от експлозия.

7. Всички кръвни проби трябва да се считат за потенциално заразни и с тях трябва да се борави внимателно (по-специално: носене на защитни ръкавици, облекло и очила).
8. Никога не пипетирайте с уста и избягвайте всякакъв контакт с кожата, лигавиците, очите и дрехите.
9. Епруветките за кръв и материалите за еднократна употреба, използвани за боравене, трябва да се изхвърлят във временни контейнери, предназначени за изгаряне.
10. Реактивите и отпадъците трябва да бъдат елиминирани в съответствие с местните изисквания.

КЛАСИФИЦИЯ НА ОПАСНОСТИТЕ ПО GHS

Не е класифициран като опасен

SDS Информационният лист за безопасност е наличен на beckman.com/techdocs

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Конюгираните течни форми трябва да се съхраняват при 2 до 8°C и да не се излагат на светлина преди и след отваряне на флакона.

Стабилност на затворен флакон: вижте срока на годност на флакона.

Стабилност на отворен флакон: реактивът е стабилен за 365 дни.

ПРОБИ

Венозна кръв трябва да се взема в стерилни епруветки, съдържащи сол EDTA като антикоагулант.

Пробите трябва да бъдат съхранявани при стайна температура (18–25°C) и не трябва да се разклащат. Пробите трябва да бъдат хомогенизирани чрез внимателно смесване, преди да се вземе пробата за теста.

Пробите трябва да бъдат анализирани в рамките на 24 часа от венопункturата.

ДАННИ ЗА ВЛОШАВАНЕ

Всяка промяна във физическия изглед на реактивите може да е признак за влошаване и реактивът не трябва да бъде използван.

В случай на влошаване на опаковката или ако получените данни показват някаква промяна в работата, моля, свържете се с местния си дистрибутор или използвайте следния електронен адрес:

СЪДЪРЖАНИЕ

Консервантът натриев азид може да образува експлозивни съединения в метални отводнителни тръбопроводи. Вижте Бюлетина на NIOSH: Explosive Azide Hazard (Бюлетин на Националния институт по безопасност и хигиена на труда: Опасност от експлозия на азид) (16/8/76).
За да избегнете възможно натрупване на азидни съединения, промивайте канализационните тръби с вода след изхвърляне на неразтворен реактив. Изхвърлянето на натриев азид трябва да бъде в съответствие с местните разпоредби.

НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СА ДОСТАВЕНИ С КОМПЛЕКТА:

- Епруветки за проби и материали, необходими за вземане на проби.
- Автоматични пипети с накрайници за еднократна употреба за 10, 100 и 500 µL.
- Пластмасови хемолизни епруветки.
- Зърна за калибриране: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Реактив за лизис на червени кръвни телца с етап на отмиване след лизис. Например: VersaLyse (Реф. A09777).
- Реактив за левкоцитна фиксация. Например: IOTest 3 фиксиращ разтвор (Реф. A07800).
- изотипна контрола APC-AlexaFluor750 : IOTest реагент.(кат № A79393.).
- Буфер (PBS: 0,01 M натриев фосфат; 0,145 M натриев хлорид; pH 7,2).
- Центрофугирайте.
- Автоматичен агитатор (тип вортекс).
- Поточен цитометър.

ПРОЦЕДУРА С РЕАКТИВ VERSALYSE

ЗАБЕЛЕЖКА: Процедурата по-долу е валидна за стандартни приложения. Обемите на пробата и / или VersaLyse за някои Beckman Coulter приложения могат да се различават. В такъв случай следвайте указанията от техническата брошура на приложението.

За всеки анализиран материал, освен епруветка с пробата се изисква една контролна епруветка, в която клетките се смесват с избраната изотипна контрола (Ref. A79393.).

1. Добавете 10 от специфичното конюгирано антитяло за IOTest към всяка тестова епруветка и 10 µL от изотипната контрола към всяка контролна епруветка.
2. Добавете 100 µL от пробата за изследване към 2-те епруветки. Вортексирайте епруветките внимателно.
3. Инкубирайте за 15 до 20 минути при стайна температура (18–25°C), като предпазвате от светлина.
4. След това лизирайте еритроцитите, ако е необходимо, като следвате препоръките за използвания лизиращ реагент. Като пример, ако искате да използвате VersaLyse (кат № A09777), следвайте за предпочитане инструкциите в листовката по процедурата “с едновременно фиксиране

“, която се състои от добавяне на 1 мл на “Fix-and-Lyse” смес, приготвена непосредствено преди употреба. Вортексирайте веднага за една секунда и инкубирайте 10 минути при стайна температура, защитени от светлина. Ако пробата не съдържа еритроцити, се добавят 2 mL PBS.

5. Центрофугирайте 5 минути при 150 x g при стайна температура.
6. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация.
7. Разтворете отново клетъчната утайка, като използвате 3 mL PBS.
8. Повторете стъпка 5.
9. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация и ресуспендирайте клетъчната утайка с:

   0,5 mL или 1 mL PBS плюс 0,1 % формалдехид, ако препаратите трябва да бъдат съхранявани по-малко от 24 часа. (PBS с 0,1 % формалдехид може да се получи чрез разреждане на 12,5 µL IOTest 3 фиксиращ разтвор (REF A07800) с концентрация 10X в 1 mL PBS).

   0,5 mL или 1 mL PBS без формалдехид, ако препаратите ще бъдат анализирани в рамките на 2 часа.

Забележка: Във всички случаи съхранявайте препаратите при температури между 2 и 8°C и защитени от светлина.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

Всяка лаборатория трябва да състави списък с референтни стойности въз основа на група от здрави донори от местното население. При това трябва да се вземат предвид възраст, пол и етническа група, както и всякакви други потенциални регионални различия.

В нашите лаборатории, проби от периферна кръв от 50 здрави възрастни бяха третирани с описания по-горе реактив. Получените резултати за броя на положителните за този реактив събития, са дадени в таблицата по-долу:

Лимфоцити	Брой	Средна (%)	SD	CV (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данните за работата се получават чрез гореописаната процедура, която се извършва на 24-часови кръвни проби, предварително взети в стерилни епруветки със соли на етилендиаминтетраоцетната киселина като антикоагулант. Анализ се извършва в рамките на 2 часа след имунооцветяването.

СПЕЦИФИЧНОСТ

Т-лимфоцитите представляват по-голямата част от лимфоцитите в човешката периферна кръв (PBL) (17). Т-лимфоцитите се характеризират с експресия на CD3 антиген (17, 18). CD3 антигенът е комплекс от 5 полипептидни вериги: γ, δ, ε, ζ; и η, свързани с Т-клетъчния рецептор (TCR) комплекс (19).

CD3 веригите са групирани в група от два инвариантни димера, γ/ε и δ/ε, свързани с вариабилен димер, който се състои от хомодимери ζ или ζ/η или хетеродимери ζ/γ FcR (γFcR е γ верига на Fc°рецептори), или γFcR хомодимери (19, 20, 21). CD3 комплекс, свързван с TCR, участва в разпознаването на пептиди, свързани към основен хистосъвместим комплекс клас I и II по време на имунната реакция (22).

CD3 антигенът се експресира от зрелите Т-лимфоцити и от подпопулация на тимоцити (23).

UCHT1 моноклоналното антитяло реагира с ε веригата на CD3 комплекса (24). На 1-ви Международен семинар по диференциращи антигени на човешките левкоцити в Париж, Франция, през 1982 г. е отнесено към CD3 диференциращ клъстер (25).

ВЪТРЕЛАБОРАТОРНА ВЪЗПРОИЗВОДИМОСТ

В един и същи ден и използвайки един и същи флоуцитометър бяха извършени 12 измервания на процента на позитивни прицелни лимфоцити в кръв, взета от един донор. Получените резултати са обобщени в следната таблица:

Положителна цел	Брой	Средна (%)	SD	CV (%)
Лимфоцити CD3-APC-A750 +	12	74,76	0,52	0,70

Линейност

За да се тества линейността на оцветяване от този реактив, положителна клетъчна линия ((HPBALL)) и отрицателна клетъчна линия ((DAUDI)) бяха смесени в различни пропорции с постоянен краен брой на клетките, така че съотношението положителна линия / негативна линия в сместа вариране от 0 до 100 %.

Съизмерими количества бяха оцветени по описаната по горе процедура и беше изчислена линейната регресия между очакваните стойности и наблюдаванети стойности.

Специфичност	Линейна регресия	Линейност (R2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Поточната цитометрия може да даде неточни резултати, ако цитометърът не е бил идеално приравнен, ако течове на флуоресценция не са били правилно компенсирани или ако регионите не са били внимателно позиционирани.
2. За предпочитане е да се използва метод с лизиране на еритроцити с последващо промиване, тъй като този реактив не е оптимизиран за метода “лизиране без миене “.
3. Ще бъдат получени точни и възпроизводими резултати, при условие, че използваните процедури са в съответствие с техническата листовка и са съвместими с добрите лабораторни практики.
4. Конюгираното антитяло на този реактив е калибрирано, за да се осигури най-доброто съотношение между специфичен сигнал/неспецифичен сигнал. Затова е важно да се придържате към съотношението обем на реактива/обем на пробата във всеки тест.
5. В случай на хиперлевкоцитоза кръвта се разрежда в PBS, така че да се получи стойност приблизително 5 x 10^9 левкоцити/L (26).
6. При определени болестни състояния, например тежка бъбречна недостатъчност или хемоглобинопатии, лизирането на червените кръвни телца може да бъде бавно, непълно или дори невъзможно. В този случай се препоръчва да се изолират мононуклеарни клетки, като се използва градиент на плътността (Ficoll например) преди оцветяване (27).

7. Поради тандемната структура на флуорохрома, APC-AlexaFluor750 също излъчва светлина при 660 nm. Този връх на вторично излъчване варира според партидата на APC-AlexaFluor750 . Затова при многоцветен анализ компенсационната матрица трябва внимателно да бъде проверявана при промяната на партидата на APC-AlexaFluor750 -конюгат.

Вижте Приложението за примери и справки.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ

Beckman Coulter, стилизираното лого и марките на продуктите и услугите на Beckman Coulter, присъстващи в този документ, са търговски марки или регистрирани търговски марки на Beckman Coulter, Inc. в САЩ и в други държави.

Alexa Fluor е търговска марка на Molecular Probes, Inc.

Легенда на символите

Речник на символите е наличен на beckman.com/techdocs (номер на документа B60062)

	Specificații
Specificitate	CD3
Clonă	UCHT1
Hibridom	NS1 x balb/c
Imunogen	T cell line + IL2
Imunoglobulină	IgG1
Specie	Șoarece
Purificare	Cromatografia de afinitate
Fluorocrom	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Raport molar	APC-AlexaFluor750/Ig: 0,5-1,5
Excitare λ	633/638 nm
Vârful de emisie	775 nm
Soluție tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA și 0,1% NaN_3

IOTest
Anticorp conjugat CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 de teste; 0,5 ml, 10 µl/test

Pentru diagnosticare *in vitro*

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

Acești anticorpi conjugați cu fluorocrom permit identificarea și enumerarea populațiilor celulare care exprimă antigenul CD3 prezent în probele biologice umane cu ajutorul citometriei în flux.

PRINCIPIU

Acest test se bazează pe abilitatea anticorpilor monoclonali specifici de a se lega de determinanții antigenici exprimați de leucocite.

Colorarea specifică a leucocitelor este efectuată prin incubarea probei cu reactivul IOTest. Eritrocitele sunt ulterior îndepărtate prin liză, iar leucocitele, care nu sunt afectate de acest proces, sunt analizate prin citometrie în flux.

Citometrul în flux măsoară difuzia luminii și fluorescența celulelor. Acesta face posibilă delimitarea populațiilor de interes în fereastra electronică definită pe o histogramă, care corelează difuzia ortogonală a luminii (Dispersia perpendiculară sau SS – Side Scatter) și difuzia luminii sub un unghi ascuțit (Dispersia pe direcția înainte sau FS – Forward Scatter). Alte histograme care combină doi dintre parametrii diferiți disponibili pe citometru pot fi utilizate ca suporturi în faza de stabilire a porților (gating) în funcție de aplicația aleasă de către utilizator.

Fluorescența celulelor delimitate se analizează pentru distingerea evenimentelor colorate pozitiv de cele necolorate. Rezultatele sunt exprimate ca procentaj de evenimente pozitive în raport cu toate evenimentele obținute de gating.

EXEMPLE DE UTILIZĂRI CLINICE

CD3 este o proteină transmembranară care conține patru tipuri de lanțuri de polipeptide: CD3γ, CD3δ, CD3ε și CD3ζ. CD3 este asociată cu receptorul de celule T (TCR) pentru a forma complexul TCR, care este responsabil pentru funcțiile de dezvoltare, activarea și efectoare ale celulelor T (1). Cozile intracelulare ale moleculelor CD3 conțin un motiv unic conservat, cunoscut drept motiv de activare a imunoreceptorului bazat pe tirozină sau ITAM, care este esențial pentru capacitatea de semnalare a TCR (2, 3).

CD3 este prezent în citoplasma pro-thimocitelor și apoi în timocitele medulare atunci când antigenul CD3 începe să migreze în membrana celulei (4). CD3-ul din membrană este prezent în toate celulele T mature și în celulele NK-T. Analiza fenotipică a CD3 poate fi realizată prin detecția domeniilor membranei de suprafață sau a cozii intracelulare. CD3 este un marker selectiv pentru linia de celule T și prezența sa se menține la majoritatea afecțiunilor maligne ale celulelor T (5, 6).

CD3 este prin urmare inclus într-o vastă majoritate de panouri de citometrie de flux pentru diagnoza bolilor limfoproliferative hematologice ale celulelor T, inclusiv leucemia și limfoamele (5, 6, 7). Analiza imunofenotipică a celulelor CD3+ realizată împreună cu alte fenotipuri de celule permite caracterizarea rapidă a diferitelor subseturi funcționale de celule T, cum ar fi celule de memorie, celule efectoare și celule T regulatoare (8).

Studierea numerelor relative și absolute de lanțuri CD3+ este utilă pentru evaluarea imunocompetenței în anumite stadii de imunodeficiență (de exemplu: HIV, post-transplant de celule stem hematopoietice) și anumite răspunsuri la terapie, dar este rar folosită pentru a lua decizii în privința tratamentului (9, 10). CD3 mai este folosit pentru diagnosticarea și/sau monitorizarea activității celulelor T la pacienți care suferă de imunodeficiențe primare sau secundare, autoimunitate și răspuns la terapia de imunosupresie cu terapii anti celule T monoclonale și globulină anti-timus (11, 12, 13, 14, 15, 16).

REACTIVI

Concentrație: a se vedea certificatul de analiză specific lotului la adresa www.beckmancoulter.com.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Nu utilizați reactivul după data expirării.
2. Nu congelați.
3. Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei (18–25°C).
4. Reduceți la minimum expunerea la lumină.
5. Evitați contaminarea microbiană a reactivilor. În caz contrar, se pot obține rezultate false.
6. Soluțiile de anticorpi care conțin azidă de sodiu (NaN_3) trebuie manipulate cu atenție. A nu se ingera și a se evita contactul cu pielea, mucoasele și ochii.

   În plus, într-un mediu acid, azida de sodiu poate forma acid hidrazoic, un compus potențial periculos. Dacă este necesară eliminarea reactivului, se recomandă ca acesta să fie diluat într-un volum mare de apă înainte de a fi vărsat în sistemul de canalizare pentru a evita acumularea de azidă de sodiu în conductele metalice și pentru a preveni riscul de explozie.

7. Toate probele de sânge trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie manipulate cu grijă (în special: purtarea de mănuși de protecție, halate și ochelari de protecție).
8. Nu pipetați niciodată cu gura și evitați contactul probelor cu pielea, mucoasele și ochii.
9. Eprubetele pentru sânge și materialele de unică folosință utilizate pentru manipulare trebuie eliminate în recipiente ad-hoc destinate incinerării.
10. Reactivii și deșeurile trebuie eliminați în conformitate cu cerințele locale.

CLASIFICAREA RISCURILOR ÎN SISTEMUL GHS

Nu este clasificat ca periculos

SDS Fișa tehnică de securitate este disponibilă la beckman.com/techdocs

DEPOZITAREA ȘI STABILITATEA

Înainte și după desigilarea fiolei, formele lichide de conjugat trebuie păstrate la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C într-un loc ferit de lumină.

Stabilitatea fiolei sigilate: consultați data expirării de pe fiolă.

Stabilitatea fiolei desigilate: reactivul este stabil timp de 365 (de) zile.

PROBE

Sângele venos trebuie recoltat utilizând eprubete sterile care conțin o sare de EDTA drept anticoagulant.

Se recomandă păstrarea probelor la temperatura camerei (18–25°C). Acestea nu se vor scutura. Se recomandă omogenizarea probelor prin agitare ușoară înainte de recoltarea probei de test.

Proba trebuie analizată în decurs de 24 de ore de la puncția venoasă.

DOVADĂ DE DETERIORARE

Orice modificare a aspectului fizic al reactivilor poate indica degradarea. În acest caz, nu se recomandă utilizarea reactivului.

În cazul în care ambalajul este deteriorat sau datele obținute indică unele modificări ale performanței, contactați distribuitorul local sau utilizați următoarea adresă de e-mail: immuno-techsup@beckmancoulter.com

CONȚINUT

Azida de sodiu folosită drept conservant poate forma compuși cu risc de explozie în conductele de drenaj metalice. Consultați buletinul informativ al NIOSH: Explosive Azide Hazard (Azidă cu risc de explozie) (08/16/76).
Pentru a evita posibila acumulare de compuși de azidă, spălați cu apă conductele pentru evacuarea deșeurilor după eliminarea reactivului nediluat. Eliminarea azidei de sodiu trebuie realizată în conformitate cu reglementările locale aplicabile.

MATERIALE NECESARE, DAR NEFURNIZATE CU SETUL:

- Eprubete pentru probe și materiale necesare pentru prelevarea probelor.
- Pipete automate cu vârfuri de unică folosință pentru 10, 100 și 500 µl.
- Eprubete din plastic pentru hemoliză.
- Granule de calibrare: Flow-Set Pro Fluorospheres (REF A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (REF A63493)
- Reactiv de liză a eritrocitelor cu faza de spălare după liză. De exemplu: VersaLyse (ref. A09777).
- Reactiv de fixare a leucocitelor. De exemplu: Soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800).
- Ser de control izotipic APC-AlexaFluor750: reactiv IOTest (REF A79393)
- Soluție tampon (PBS: 0,01 mol de fosfat de sodiu; 0,145 mol de clorură de sodiu; pH 7,2).
- Centrifugați.
- Agitator automat (tip Vortex).
- Citometru de flux.

PROCEDURA CU REACTIVUL VERSALYSE

Observație: procedura de mai jos este valabilă pentru aplicații standard. Volumele de probe și/sau VersaLyse pentru anumite aplicații Beckman Coulter pot fi diferite. Într-un astfel de caz, urmați instrucțiunile din prospect tehnic al aplicației.

Pentru fiecare probă analizată, în afară de eprubeta de testare, este necesară o eprubetă de control în care celulele sunt amestecate în prezența serului de control izotipic (REF A79393).

1. În fiecare eprubetă, adăugați 10 µl de anticorpi conjugați IOTest specifici și 10 µl de ser de control izotipic în fiecare eprubetă de ser de control.
2. Adăugați 100 µl de probă de test în ambele eprubete. Amestecați cu grijă eprubetele în agitatorul vortex.
3. Incubați timp de 15–20 de minute la temperatura camerei (18–25°C) într-un loc ferit de lumină.
4. De exemplu, dacă doriți să utilizați VersaLyse (REF A09777), consultați prospectul și urmați, de preferat, procedura denumită „cu fixare concomitentă”, care constă în adăugarea a 1 ml de amestec „Fixare și liză” preparat extemporaneu. Amestecați imediat în agitatorul vortex timp de o secundă și incubați timp de 10 minute la temperatura camerei, într-un loc ferit de lumină. În cazul în care proba nu conține celule roșii, se adaugă 2 ml de PBS.
5. Centrifugați timp de 5 minute la 150 x g la temperatura camerei.
6. Îndepărtați supernatantul prin aspirare.
7. Resuspendați peleta de celule utilizând 3 ml de PBS.
8. Repetați pasul 5.
9. Îndepărtați supernatantul prin aspirare și resuspendați peleta de celule utilizând:

0,5 ml sau 1 ml de PBS plus 0,1% formaldehidă dacă preparatele trebuie păstrate mai puțin de 24 ore. (O soluție PBS cu 0,1% formaldehidă poate fi obținută prin diluarea unei cantități de 12,5 µl de soluție de fixare IOTest 3 (REF A07800) la concentrația de 10X în 1 ml de PBS).

0,5 ml sau 1 ml de PBS fără formaldehidă, dacă preparatele trebuie analizate în decurs de 2 (de) ore.

Observație: În toate cazurile, păstrați preparatele la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C, în locuri ferite de lumină.

VALORI PRECONIZATE

Fiecare laborator trebuie să alcătuiască o listă de valori de referință pe baza unui grup de donatori sănătoși din populația locală. Acest lucru trebuie realizat prin luarea în considerare a vârstei, sexului și grupului etnic, precum și a oricărei alte posibile diferențe regionale.

În laboratoarele noastre, probele de sânge integral de la 50 adulți sănătoși au fost tratate utilizându-se reactivul descris mai sus. Rezultatele obținute pentru numărul de evenimente pozitive de interes cu acest reactiv sunt date în tabelele de mai jos:

Limfocite	Număr	Medie (%)	SD (deviație standard)	CV (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

PERFORMANȚĂ

Datele de performanță se obțin folosindu-se procedeul descris mai sus pe probe de sânge vechi de 24 de ore recoltate anterior în eprubete sterile cu sare EDTA ca anticoagulant. Analiza se efectuează în decurs de 2 ore de la imunocolorare.

SPECIFICITATE

Limfocitele T reprezintă majoritatea limfocitelor din sângele uman periferic (PBL) (17). Limfocitele T sunt caracterizate prin prezența antigenului CD3 (17, 18). Antigenul CD3 este un complex de 5 lanțuri polipeptidice: γ, δ, ε, ζ și η, asociate cu complexul receptor de celule T (TCR) (19).

Lanțurile CD3 sunt înglobate într-un grup de doi dimeri invariabili, γ/ε și δ/ε, asociați cu un dimer variabil care constă în homodimeri ζ sau heterodimeri ζ/η sau ζ/γ FcR (γFcR reprezentând lanțul γ de receptori Fc) sau homodimeri γFcR (19, 20, 21). Complexul CD3 asociat cu TCR este implicat în recunoașterea peptidelor legate la complexul de histocompatibilitate major clasa I și II în cadrul răspunsului imun (22).

Antigenul CD3 este prezent în limfocite T mature și într-un subset de timocite (23).

Anticorpul monoclonal UCHT1 reacționează cu lanțul ε al complexului CD3 (24). El a fost asociat clusterului CD3 de diferențiere la 1st International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Primul simpozion pentru antigenii umani de diferențiere a leucocitelor), organizat la Paris, Franța, în 1982 (25).

REPRODUCTIBILITATE INTRALABORATOR

În aceeași zi și utilizându-se același citometru, au fost efectuate 12 măsurători ale procentajului de colorare a unei ținte pozitive. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul următor:

Ținta pozitivă	Număr	Medie (%)	SD (deviație standard)	CV (%)
Limfocite +CD3-APC-A750	12	74,76	0,52	0,70

Liniaritate

Pentru a testa liniaritatea colorării acestui reactiv, au fost mixate o linie pozitivă de celule (HPBALL) și o linie negativă de celule (DAUDI) în diverse proporții cu un număr final constant de celule astfel încât raportul dintre linia pozitivă și cea negativă de celule să fie cuprins între 0% și 100%.

Părțile alicote au fost colorate utilizându-se procedura descrisă mai sus și s-a calculat regresia liniară între valorile așteptate și valorile observate.

Specificitate	Regresie liniară	Liniaritate (R^2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

LIMITĂRI

1. Citometria în flux poate furniza rezultate false dacă citometrul nu a fost aliniat perfect, dacă scurgerile de fluorescență nu au fost compensate corect și dacă regiunile nu au fost poziționate corect.
2. Este de preferat să se utilizeze o tehnică de liză a eritrocitelor (RBC) cu o etapă de spălare, deoarece acest reactiv nu a fost optimizat pentru tehnici de liză „fără spălare”.
3. Se vor obține rezultate corecte și reproductibile dacă procedurile utilizate respectă prospectul tehnic și bunele practici de laborator.
4. Anticorpul conjugat din acest reactiv este calibrat astfel încât să ofere cel mai bun raport semnal specific/semnal nespecific. Prin urmare, este important ca la fiecare test să se respecte raportul volum de reactiv/volum de probă.
5. În cazul unei hiperleucocitoze, diluați sângele în PBS astfel încât să obțineți o valoare de aproximativ 5 x 10^9 leucocite/l (26).
6. În anumite stări patologice, cum ar fi insuficiența renală severă sau hemoglobinopatiile, liza eritrocitelor poate fi lentă, incompletă sau chiar imposibilă. În acest caz, se recomandă izolarea celulelor mononucleare cu ajutorul unui gradient de densitate (de exemplu, Ficoll), înainte de colorare (27).
7. Din cauza structurii în tandem a fluorocromului, și APC-AlexaFluor750 emite lumină la 660 nm. Acest al doilea vârf de emisie diferă de la un lot de APC-AlexaFluor750 la altul. Prin urmare, pentru analiza multicolorimetrică, matricea de compensare trebuie verificată atent la schimbarea lotului de conjugat -APC-AlexaFluor750.

Consultați Anexa pentru exemple și referințe.

MĂRCI COMERCIALE

Beckman Coulter, logoul stilizat și mărcile de produse și servicii Beckman Coulter menționate aici sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Beckman Coulter, Inc. în Statele Unite și în alte țări.

Alexa Fluor este o marcă comercială a Molecular Probes, Inc.

Cheie simboluri

Glosarul de simboluri este disponibil la beckman.com/techdocs (număr document B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD3
Klon	UCHT1
Hibridom	NS1 x balb/c
Imunogen	T cell line + IL2
Imunoglobulin	IgG1
Vrste	Miš
Prečišćavanje	Afinitetna hromatografija
Fluorohrom	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Molarni odnos	APC-AlexaFluor750/Ig: 0,5-1,5
λ ekscitacija	633/638 nm
Vršna vrednost emisije	775 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA i 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugovano antitelo CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 tests; 0,5 ml, 10 µl / test

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu

NAMENA

Ovo fluorohromno-konjugovano antitelo omogućava identifikaciju i numeraciju populacije ćelija izražavajući CD3 prisustvo antigena u ljudskim biološkim uzorcima pomoću protočne citometrije.

PRINCIP

Ovaj test se zasniva na sposobnosti određenih monoklonskih antitela da se vežu za antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično bojenje leukocita se obavlja inkubiranjem uzorka sa reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utiče, analiziraju se protočnom citometrijom.

Protočni citometar meri difuziju svetlosti i fluorescenciju ćelija. On omogućava razgraničenje populacije od interesa u okviru elektronskog prozora definisanog na histogramu, što je u korelaciji sa ortogonalnom difuzijom svetlosti (bočno rasejanje ili SS) i difuzijom uskougaone svetlosti (prednje rasejanje ili FS). Drugi histogrami koji kombinuju dva različita parametra koja postoje na citometru mogu se koristiti kao podrška u fazi regulacije, u zavisnosti od primene koju je korisnik odabrao.

Fluorescencija ograničenih ćelija se analizira kako bi se razlikovali pozitivno obojeni događaji od neobojenih događaja. Rezultati su prikazani kao procenat pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobijene regulacijom.

PRIMERI KLINIČKIH PRIMENA

CD3 je transmembranski protein koji sadrži četiri tipa polipeptidnih lanaca, uglavnom CD3γ, CD3δ, CD3ε i CD3ζ. CD3 je povezan sa T-ćelijskim receptorom (TCR) sa kojim formira TCR kompleks koji se odgovoran za razvoj, aktivaciju i efektorske funkcije T ćelije (1). Unutarćelijski repovi CD3 molekula sadrže jedan konzervisani motiv poznat kao imunoreceptorski tirozin-bazirani aktivacioni motiv ili ITAM, koji je od suštinskog značaja za kapacitet signalizacije TCR receptora (2, 3).

CD3 je eksprimiran u citoplazmi protimocita a zatim u medularnim timocitima kada CD3 antigen počinje da migrira do ćelijske membrane (4). Membranski CD3 je eksprimiran u svim zrelim T-ćelijama i NK-T ćelijama. Fenotipska analiza CD3 može se vršiti detektovanjem površinskih membranskih domena ili unutarćelijskog repa. CD3 je selektivni marker T-loze i njegova ekspresija se održava na većini T-ćelijskih maligniteta (5, 6).

CD3 je stoga uključen u najveći broj panela za protočnu citometriju radi dijagnostikovanja hematoloških limfoproliferativnih poremećaja T ćelija, uključujući leukemiju i limfom (5, 6, 7). Imunofenotipska analiza CD3+ ćelija sprovedena u kombinaciji sa drugim fenotipovima ćelija omogućava jednostavnu karakterizaciju različitih funkcionalnih podskupova T ćelija kao što su memorijske, efektorske i regulacione T ćelije (8).

Relativni i apsolutni CD3+ je koristan za procenu imunokompetencije određenog statusa imunodeficijencije (npr. HIV, nakon transplantacije hematopoetskih matičnih ćelija) i odgovora na terapiju, ali se retko koristi za donošenje odluke o načinu lečenja (9, 10). CD3 se takođe koristi za dijagnostikovanje i/ili praćenje aktivnosti T ćelija kod pacijenata sa primarnom ili sekundarnom imunodeficijencijom, autoimunitetom i odgovorom na imunosupresivnu terapiju sa terapijama monoklonalnim anti T-ćelijama i anti-timocitnim globulinom (11, 12, 13, 14, 15, 16).

REAGENSI

Koncentracija: Pogledajte Sertifikat analize specifičan za ovu seriju na www.beckmancoulter.com.

UPOZORENJE I MERE OPREZA

1. Ne koristite reagense nakon isteka roka trajanja.
2. Ne zamrzavajte.
3. Pre upotrebe sačekajte da se približi sobnoj temperaturi (18–25°C).
4. Izbegavati izloženost svetlosti.
5. Sprečite mikrobsku kontaminaciju reagenasa ili se mogu javiti netačni rezultati.
6. Rastvorima antitela koji sadrže natrijum azid (NaN_3) treba pažljivo rukovati. Ne uzimajte interno i izbegavajte svaki dodir sa kožom, sluzokožom i očima.

   Pored toga, u kiseloj sredini, natrijum azid može formirati potencijalno opasnu hidrazoinsku kiselinu. Ako je potrebno da se odloži u otpad, preporučuje se da se reagens razblaži u velikoj zapremini vode pre sipanja u sistem kanalizacije kako bi se izbeglo taloženje natrijum azida u metalnim cevima i sprečila opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno infektivnim i njima se mora pažljivo rukovati (posebno: nošenje zaštitnih rukavica, odeće i zaštitnih naočara).
8. Nikada ne izvlačite ustima i izbegavajte svaki kontakt uzoraka sa kožom, sluzokožom i očima.
9. Epruvete za uzorak krvi i potrošni materijal koji je korišćen za rukovanje treba odložiti u ad hoc kontejnere predviđene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad treba ukloniti prema lokalnim zahtevima.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno

SDS Bezbednosni list je dostupan na adresi beckman.com/techdocs

SKLADIŠTENJE I STABILNOST

Konjugovani tečni oblici se moraju čuvati na temperaturi između 2 i 8°C i zaštićeni od svetla, pre i nakon otvaranja bočice.

Stabilnost zatvorene bočice: pogledajte rok trajanja na bočici.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 365 dan(a).

UZORCI

Uzorci iz venske krvi moraju se uzimati sterilnim epruvetama koje sadrže EDTA so kao antikoagulans.

Uzorke treba čuvati na sobnoj temperaturi (18–25°C) i ne tresti. Uzorke treba pre uzimanja uzorka za testiranje homogenizovati blagim mešanjem.

Uzorci se moraju analizirati u roku od 24 sati od venepunkcije.

DOKAZI POGORŠANJA

Bilo koja promena u fizičkom izgledu reagensa može ukazivati na pogoršanje i reagens ne treba koristiti.

U slučaju dotrajalosti/pogoršanja stanja pakovanja ili ako dobijeni podaci ukazuju na promenu učinka, kontaktirajte svog lokalnog prodavca ili koristite sledeću adresu e-pošte:

SADRŽAJ

Konzervans sa natrijum azidom može formirati eksplozivna jedinjenja u metalnim odvodnim vodovima. Pogledajte „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (16.8.76.) (Bilten Nacionalnog instituta za bezbednost i zdravlje na radu: Opasnost od eksplozivnih azida).
Da biste sprečili moguće taloženje jedinjenja azida, isperite cevi za otpad vodom nakon odlaganja u otpad nerazblaženog reagensa. Odlaganje u otpad natrijum azida mora biti u skladu sa odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI SE NE ISPORUČUJU UZ KOMPLET:

- Epruvete za uzorkovanje i materijal potreban za uzorkovanje.
- Automatske pipete sa nastavcima za jednokratnu upotrebu za 10 100 µl i 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizu.
- Kuglice za kalibraciju: Flow-Set Pro Fluorospheres (REF A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (REF A63493)
- Reagens za liziranje eritrocita sa fazom ispiranja nakon liziranja. Na primer: VersaLyse (referentni broj A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primer: IOTest 3 fiksativni rastvor (referentni broj A07800).
- Izotipska kontrola APC-AlexaFluor750: IOTest reagens (REF A79393).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijum-fosfat; 0,145 M natrijum-hlorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska mešalica (vrtložnog tipa).
- Protočni citometar.

POSTUPAK SA VERSALYSE REAGENSOM

Napomena: Postupak naveden u nastavku važi za standardne primene. Zapremine uzorka i/ili VersaLyse reagensa za određene Beckman Coulter primene se mogu razlikovati. U tom slučaju, pratite instrukcije na tehničkom uputstvu za primenu.

Za svaki analiziran uzorak je pored epruvete za testiranje potrebna i jedna kontrolna epruveta za uzorak u kojoj se ćelije mešaju u prisustvu izotipske kontrole (REF A79393.).

1. Dodajte 10 µl specifičnih IOTest konjugovanih antitela svakoj probnoj epruveti, i 10 µl izotipske kontrole svakoj kontrolnoj epruveti.
2. Dodajte 100 µl uzorka za testiranje u obe epruvete za uzorak. Pažljivo izmešajte epruvete za uzorak u vrtložnoj mešalici.
3. Inkubirajte 15 do 20 minuta na sobnoj temperaturi (18–25°C), zaštićeno od svetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje crvenih krvnih ćelija prateći preporuke za korišćeni reagens za liziranje, ukoliko je to potrebno. Na primer, ako želite da koristite VersaLyse (REF A09777) pogledajte uputstvo i po mogućnosti sledite postupak pod nazivom „uz istovremeno fiksiranje“, koji se sastoji od dodavanja 1 ml „Fix-and-Lyse“ smeše pripremljene na licu mesta. Odmah izmešajte u vrtložnoj mešalici jednu sekundu i inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi, zaštićeno od svetlosti. Ako uzorak ne sadrži crvene krvne ćelije, dodajte 2 ml PBS-a.
5. Centrifugirajte 5 minuta na 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Ponovo suspendujte talog ćelija u 3 ml PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Aspiracijom uklonite supernatant i ponovo suspendujte talog ćelija u:

0,5 ml ili 1 ml PBS-a plus 0,1% formaldehida, ako će se preparati čuvati kraće od 24 sati. (PBS sa 0,1% formaldehida se može dobiti razređivanjem 12,5 µl IOTest 3 fiksativnog rastvora (REF A07800) sa njegovom 10X koncentracijom u 1 ml PBS-a).

0,5 ml ili 1 ml PBS-a bez formaldehida ako će se preparati analizirati u roku od ovog broja sati – 2.

Napomena: U svim slučajevima preparate čuvajte na temperaturi između 2°C i 8°C i zaštićene od svetlosti.

OČEKIVANE VREDNOSTI

Svaka laboratorija mora sastaviti listu referentnih vrednosti zasnovanih na grupi zdravih donora iz lokalne populacije. To se mora obaviti uzimajući u obzir starost, pol i etničku grupu, kao i bilo koje druge moguće regionalne razlike.

U našim laboratorijama, uzorci pune krvi 50 zdravih odraslih osoba su tretirani pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati dobijeni za broj pozitivnih događaja od interesa sa ovim reagensom navedeni su u tabelama u nastavku:

Limfociti	Broj	Srednja vrednost (%)	SD	CV (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

PERFORMANSE

Podaci o delovanju dobijeni su pomoću prethodno opisanog postupka na 24 sata starim uzorcima krvi koji su prethodno prikupljeni sterilnim epruvetama za uzorke sa EDTA solju kao antikoagulansom. Analiza se vrši u roku od 2 sata od imunobojenja.

SPECIFIČNOST

T limfociti čine većinu humanih limfocita periferne krvi (PBL) (17). T limfociti se karakterišu ekspresijom CD3 antigena (17, 18). CD3 antigen čini kompleks 5 polipeptidnih lanaca: γ, δ, ε, ζ i η koji su u vezi sa kompleksom T-ćelijskog receptora (TCR) (19).

CD3 lanci se nalaze u grupi dva invarijantna dimera, γ/ε i δ/ε, koja su u vezi sa promenljivim dimerom koji se sastoji od ζ homodimera ili ζ/η ili ζ/γ FcR heterodimera (γFcR je γ lanac Fc°receptora) ili γFcR homodimera (19, 20, 21). CD3 kompleks koji je u vezi sa TCR-om uključen je u prepoznavanje peptida vezanih za glavni kompleks histokompatibilnosti klase I i II tokom imunog odgovora (22).

CD3 antigen se eksprimira zrelim T limfocitima i podskupom timocita (23).

UCHT1 monoklonalno antitelo reaguje sa ε lancem CD3 kompleksa (24). On je pridružen klasteru diferencijacije CD3 na radionici „1st International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens“ (Prva Međunarodna konferencija o ljudskim antigenima leukocitne diferencijacije), koja je održana u Parizu, u Francuskoj, 1982. godine (25).

MEĐULABORATORIJSKA REPRODUKTIVNOST

Istog dana i upotrebom istog citometra, izvršena su 12 merenja procenta bojenja pozitivnog cilja. Dobijeni rezultati su dati u sledećoj tabeli:

Pozitivan cilj	Broj	Srednja vrednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti +CD3-APC-A750	12	74,76	0,52	0,70

Linearnost

Da bi se testirala linearnost bojenja ovog reagensa, pozitivna ćelijska linija (HPBALL) i negativna ćelijska linija (DAUDI) su mešane u različitim proporcijama sa konstantnim konačnim brojem ćelija, tako da se odnos pozitivne ćelijske linije i negativne ćelijske linije u mešavini kretao od 0 do 100%.

Alikvoti su obojeni pomoću prethodno opisanog postupka i izračunata je linearna regresija između očekivanih vrednosti i dobijenih vrednosti.

Specifičnost	Linearna regresija	Linearnost (R^2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti netačne rezultate ako citometar nije pravilno postavljen, ako fluorescentna curenja nisu ispravno kompenzirana ili ako regioni nisu pažljivo postavljeni.
2. Poželjno je da koristite tehniku RBC lize sa korakom za ispiranje jer ovaj reagens nije optimizovan za tehniku lize „bez ispiranja“.
3. Tačni i ponovljivi rezultati će se dobijati sve dok su korišćeni postupci u skladu sa listom sa tehničkim podacima i postupci kompatibilni sa smernicama dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugovano antitelo ovog reagensa je kalibrisano tako da ponudi najbolji odnos specifičnog i nespecifičnog signala. Prema tome, važno je u svakom testu koristiti utvrđeni odnos zapremine reagensa i zapremine uzorka.
5. U slučaju hiperleukocitoze, razredite krv u PBS-u kako biste dobili vrednost od približno 5 x 10^9 leukocita/l (26).
6. U određenim stanjima bolesti, kao što su teška bubrežna insuficijencija ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak nemoguće. U tom slučaju se pre bojenja preporučuje izoliranje mononuklearnih ćelija upotrebom gradijenta gustine (na primer, fikol) (27).
7. Zbog tandemske strukture fluorohroma, APC-AlexaFluor750 takođe emituje svetlost na 660 nm. Ovaj sekundarni vrhunac emitovanja varira od serije do serije APC-AlexaFluor750 . Dakle, za višebojnu analizu, matricu kompenzacije treba pažljivo proveriti prilikom promene serije APC-AlexaFluor750 -konjugata.

Za primere i referentne materijale pogledati Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizovani logotip i Beckman Coulter robni i servisni žigovi koji se navode u ovom dokumentu jesu žigovi ili registrovani žigovi kompanije Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim zemljama.

Alexa Fluor je registrovani žig kompanije Molecular Probes, Inc.

Ključ za simbole

Rečnik simbola je dostupan na adresi beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Specifikācijas
Specifika	CD3
Klons	UCHT1
Hibridoma	NS1 x balb/c
Imunogēns	T cell line + IL2
Imūnglobulīns	IgG1
Suga	Pele
Attīrīšana	Afinitātes hromatogrāfija
Fluorohroms	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Molārā attiecība	APC-AlexaFluor750/Ig: 0,5-1,5
λ ierosme	633/638 nm
Izstarojuma lielākā vērtība	775 nm
Buferšķīdums	PBS pH 7,2 ar 2 mg/ml BSA un 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugētā antiviela CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 testi; 0,5 ml, 10 µl/testā

***In vitro* diagnostikas lietošanai**

PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

Ar fluorohromu saistītā antiviela nodrošina tādu šūnu populāciju noteikšanu un aprēķināšanu, kam ir CD3 antigēna ekspresija un kas ir cilvēka bioloģiskajos paraugos, izmantojot plūsmas citometriju.

PRINCIPS

Šī testa pamatā ir specifisku monoklonālu antivielu spēja saistīties ar leikocītu izdalītām antigēnu determinantēm.

Leikocītu specifiskā iekrāsošana tiek veikta, inkubējot paraugu ar IOTest reaģentu. Pēc tam eritrocīti tiek atdalīti lizēšanas procesā, un leikocīti, ko šis process neietekmē, tiek analizēti, izmantojot plūsmas citometriju.

Plūsmas citometrs mēra gaismas difūziju un šūnu fluorescenci. Tādēļ ir iespējama interesējošās populācijas ierobežošana elektroniskajā logā, kas definēts histogrammā, kas korelē ar gaismas ortogonālo difūziju (sānu izkliede jeb SS) un šaurleņķa gaismas difūziju (priekšējā izkliede jeb FS). Kā papildu metodes sinhronizācijas procesā iespējams izmantot citas histogrammas, kurās iespējams kombinēt divus dažādus citometrā pieejamos parametrus atkarībā no lietotāja izvēlētā izmantojuma.

Tiek analizēta atdalīto šūnu fluorescence, lai atšķirtu pozitīvi iekrāsotos notikumus no neiekrāsotajiem. Rezultāti tiek izteikti kā procentuālais lielums no pozitīviem notikumiem attiecībā pret visiem notikumiem, kas iegūti selekcijā.

KLĪNISKO PIELIETOJUMU PIEMĒRI

CD3 ir transmembrānu proteīns, kas satur četrus polipeptīdu ķēžu veidus, proti, CD3γ, CD3δ, CD3ε un CD3ζ. CD3 ir saistīta ar T šūnas receptoru (TCR), lai veidotu TCR kompleksu, kas ir atbildīgs par T šūnu attīstību, aktivāciju un efektora funkcijām (1). CD3 molekulu intracelulāri gali satur vienotu saglabātu motīvu, kas pazīstams kā imūnreceptoru tirozīna aktivācijas motīvs jeb ITAM, kam ir būtiska nozīme TCR signāla nodošanas spējā (2, 3).

CD3 ekspresē protimocītu citoplazmā un tad medulārajos timocītos, kad CD3 antigēns sāk pārvietoties uz šūnu membrānu (4). Membrānas CD3 ekspresē visās nobriedušajās T šūnās un NK-T šūnās. CD3 fenotipisko analīzi var veikt, nosakot virsmas membrānas domēnus vai intracelulāro galu. CD3 ir T izcelsmes selektīvs marķieris, un tā ekspresija saglabājas lielākajā daļā ļaundabīgo T šūnu saslimšanu (5, 6).

Tāpēc CD3 ir iekļauts lielākajā daļā plūsmas citometrijas paneļu, lai diagnosticētu hematoloģiskos T šūnu limfoproliferatīvos traucējumus, ieskaitot leikēmiju un limfomu (5,6,7). CD3+ šūnu imūnfenotipiskās analīzes, kas veiktas kopā ar citiem šūnu fenotipiem, ļauj viegli raksturot dažādās funkcionālās T šūnu apakšgrupas, piemēram, atmiņas, efektora un T regulējošās šūnas (8).

Salīdzinošās un absolūtās CD3+ ir noderīgas, lai novērtētu noteikta imūndeficīta stāvokļa imūnkompetenci (piemēram, HIV, pēc hematopoētisko cilmes šūnu transplantācijas) un reakciju uz ārstēšanu, bet to reti izmanto, pieņemot lēmumu par ārstēšanu (9, 10). CD3 arī izmanto, lai diagnosticētu un/vai uzraudzītu T šūnu aktivitāti pacientiem ar primāro vai sekundāro imūndeficītu, autoimunitāti un reakciju uz imūnsupresijas terapiju ar monoklonālajām anti T šūnu terapijām un antitimocītu globulīnu (11, 12, 13, 14, 15, 16).

REAĢENTI

Koncentrācija: skatiet konkrētai partijai atbilstošo analīzes sertifikātu vietnē www.beckmancoulter.com.

BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

1. Neizmantojiet reaģentu pēc derīguma termiņa beigām.
2. Nedrīkst sasaldēt.
3. Pirms izmantošanas ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai (18–25 °C).
4. Minimizējiet ekspozīciju gaismas iedarbībai.
5. Izvairieties no reaģentu bakteriālas kontaminācijas, jo iespējami viltus rezultāti.
6. Strādājot ar antivielu šķīdumiem, kuru sastāvā ir nātrija azīds (NaN_3), jāievēro piesardzība. Neizmantojiet iekšķīgi un nepieļaujiet saskari ar ādu, gļotādu un acīm.

   Turklāt skābā vidē nātrija azīds var radīt potenciāli bīstamo hidrazoīdskābi. Ja to nepieciešams izmest, reaģentu ieteicams šķīdināt lielā daudzumā ūdens un izliet to kanalizācijas sistēmā, lai novērstu nātrija azīda uzkrāšanos metāla caurulēs un novērstu sprādziena risku.
7. Visi asins paraugi ir jāuzskata par potenciāli infekcioziem, un ar tiem jārīkojas, ievērojot piesardzību (respektīvi, jāvalkā aizsargcimdi, aizsargtērpi un brilles).
8. Nekad neizmantojiet muti, lai darbotos ar pipeti. Paraugi nedrīkst saskarties ar ādu, gļotādu un acīm.

9. Darbā izmantotās asiņu mēģenes un vienreizlietojamie materiāli ir jāizmet ad hoc konteineros, kas paredzēti sadedzināšanai.
10. Ir jāveic reaģentu un atkritumu utilizācija atbilstoši vietējām prasībām.

ĶĪMISKO VIELU KLASIFICĒŠANAS UN MARĶĒŠANAS VISPĀRĒJI SASKAŅOTĀS SISTĒMAS BĪSTAMĪBAS KLASIFIKĀCIJA

Nav klasificēts kā bīstams

SDS Drošības datu lapa ir pieejama vietnē: techdocs.beckman.com

GLABĀŠANA UN STABILITĀTE

Konjugētās šķidrās formas ir jāuzglabā 2–8 °C un jāsargā no gaismas pirms un pēc flakona atvēršanas.

Aizvērta flakona stabilitāte: skatiet uz flakona norādīto derīguma termiņu.

Atvērta flakona stabilitāte: reaģents ir stabils 365 dienas.

PARAUGI

Venozās asinis jāņem, izmantojot sterilas mēģenes, kurās kā antikoagulants ir izmantots EDTA sāls.

Paraugi ir jāuzglabā istabas temperatūrā (18–25 °C), un tos nedrīkst sakratīt. Pirms testa parauga ņemšanas ir jāveic paraugu homogenizācija, viegli saskalojot paraugus.

Paraugu analīze ir jāveic 24 stundu laikā pēc vēnas punkcijas.

SADALĪŠANĀS PAZĪMES

Jebkuras reaģentu pazīmju izmaiņas var norādīt, ka reaģents sadalās un to nedrīkst izmantot.

Ja iepakojums ir sadalījies vai iegūtajos datos ir novērojamas veiktspējas izmaiņas, sazinieties ar vietējo izplatītāju vai izmantojiet tālāk norādīto e-pasta adresi: immuno-techsup@beckmancoulter.com

SATURS

Nātrija azīda konservants var izveidot sprādzienbīstamus savienojumus metāla notekcaurulēs. Skatīt NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (NIOSH biļetens: Azīdu sprādzienbīstamība) (16.8.76.).
Lai nepieļautu iespējamo azīda savienojumu uzkrāšanos, pēc neatšķaidītā reaģenta izmešanas izskalojiet kanalizācijas caurules ar ūdeni. Nātrija azīda izmešana ir jāveic saskaņā ar atbilstošajiem vietējiem noteikumiem.

NEPIECIEŠAMIE MATERIĀLI, KAS NEIETILPST KOMPLEKTĀ

- Paraugu ņemšanai nepieciešamās mēģenes un materiāli.
- Automātiskās pipetes ar vienreizlietojamiem uzgaļiem, kas paredzētas 10, 100 un 500 µl.
- Plastmasas hemolīzes mēģenes.
- Kalibrēšanas lodītes: Flow-Set Pro Fluorospheres (REF A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (REF A63493)
- Eritrocītu lizēšanas reaģents ar mazgāšanas fāzi pēc lizēšanas. Piemērs: VersaLyse (ats. A09777).
- Leikocītu fiksācijas reaģents. Piemērs: IOTest 3 fiksatīvais šķīdums (ats. A07800).
- Izotipēšanas kontrole APC-AlexaFluor750: IOTest reaģents (REF A79393).
- Buferšķīdums (PBS: 0,01 M nātrija fosfāta; 0,145 M nātrija hlorīda; pH 7,2).
- Centrifugējiet.
- Automātisks maisītājs (samaisīšanas tipa).
- Plūsmas citometrs.

PROCEDŪRA AR REAĢENTU VERSALYSE

Piezīme. Tālāk norādītā procedūra ir derīga standarta pielietojumam. Parauga un/vai VersaLyse tilpums noteiktam Beckman Coulter pielietojumam var atšķirties. Šādā gadījumā ievērojiet norādījumus pielietojuma tehniskajā lietošanas instrukcijā.

Katram analizētajam paraugam papildus parauga mēģenei nepieciešams izmantot vienu kontroles mēģeni, kurā šūnas tiek sajauktas izotipēšanas kontroles klātbūtnē (REF A79393).

1. Pievienojiet katrai parauga mēģenei 10 µl specifiskās IOTest saistītās antivielas un 10 µl izotipēšanas kontroles katrai kontroles mēģenei.
2. Pievienojiet 100 µl analizējamā parauga abām mēģenēm. Saudzīgi saskaliniet mēģenes.
3. Inkubējiet 15–20 minūtes istabas temperatūrā (18–25 °C), sargājot no gaismas.
4. Piemēram, ja vēlaties izmantot VersaLyse (REF A09777), skatiet lietošanas instrukciju, un ir vēlams izmantot procedūru „ar vienlaikus fiksāciju", kas tiek veikta, pievienojot 1 ml īpaši sagatavota „Fiksēšana un lizēšanas" maisījuma. Nekavējoties izmantojiet Vortex metodi uz vienu sekundi un inkubējiet mēģeni 10 minūtes istabas temperatūrā, sargājot to no gaismas iedarbības. Ja paraugs nesatur eritrocīti, pievieno 2 ml PBS.
5. Centrifugējiet 5 minūtes istabas temperatūrā, izmantojot 150 x g.
6. Aspirējot noņemiet virsējo slāni.
7. Atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu ar 3 ml PBS.
8. Atkārtojiet 5. darbību.
9. Aspirējot noņemiet virsējo slāni un atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu, izmantojot:

   0,5 ml vai 1 ml PBS un 0,1 % formaldehīda, ja preparātus ir paredzēts uzglabāt mazāk nekā 24 stundas. (0,1 % formaldehīda PBS var iegūt, 1 ml PBS šķīduma izšķīdinot 12,5 µl IOTest 3 fiksatīvā šķīduma (REF A07800) 10 x koncentrācijā).

0,5 ml vai 1 ml PBS bez formaldehīda, ja ir paredzēts analizēt sagataves 2 stundu laikā.

Piezīme. Sagatavotos maisījums vienmēr uzglabājiet 2–8 °C temperatūrā un sargājiet no gaismas.

PAREDZAMĀS VĒRTĪBAS

Katrai laboratorijai jāapkopo atsauces vērtību saraksts, pamatojoties uz veseliem vietējās populācijas donoriem. Tas jādara, ņemot vērā vecumu, dzimumu un etnisko piederību, kā arī citas iespējamās reģionālās atšķirtības.

Mūsu laboratorijās tika apstrādāti 50 veselu pieaugušo pilnasins paraugi, izmantojot iepriekš aprakstīto reaģentu. Ar šo reaģentu iegūtie interesējošo pozitīvo gadījumu rezultāti skaitliskā veidā ir sniegti tālāk tabulās:

Limfocīti	Numurs	Aritmētiskais vidējais (%)	SN	Variācijas koeficients (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

VEIKTSPĒJA

Veiktspējas dati tiek iegūti, izmantojot iepriekš aprakstīto procedūru ar 24 stundu veciem asins paraugiem, kas iepriekš paņemti sterilās mēģenēs ar EDTA sāli un antikoagulantu. Analīze tiek veikta 2 stundu laikā pēc imunoloģiskās krāsošanas.

SPECIFIKA

T limfocīti veido lielāko daļu cilvēku perifēro asiņu limfocītu (PBL) (17). T limfocītus raksturo CD3 antigēnu ekspresija (17, 18). CD3 antigēns ir 5 polipeptīdu ķēžu komplekss: γ, δ, ε, ζ un η, kas saistīts ar T šūnu receptoru (TCR) kompleksu (19).

CD3 ķēdes tiek apvienotas divu invariantu dimēru grupā, γ vai ε un δ vai ε, kas saistīta ar mainīgo dimēru, kas sastāv no ζ homodimēriem, vai ζ un η, vai ζ un γFcR heterodimēriem (γFcR ir Fc receptoru γ ķēde), vai γFcR homodimēriem (19, 20, 21). CD3 komplekss, kas saistīts ar TCR, ir iesaistīts to peptīdu atpazīšanā, kas piesaistīti galvenā audu saderības kompleksa I un II klasei imūnreakcijas laikā (22).

CD3 antigēnu ekspresē nobrieduši T limfocīti un timocītu apakškopa (23).

UCHT1 monoklonālās antivielas reaģē ar CD3 kompleksa ε ķēdi (24). Tā ir piešķirta CD3 diferenciācijas klasterim seminārā 1st International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (1. Starptautiskajā seminārā saistībā ar cilvēku leikocītu diferencēšanas antigēniem) Parīzē, Francijā, 1982. gadā (25).

ATKĀRTOJAMĪBA LABORATORIJĀ

Tajā pašā dienā, izmantojot to pašu citometru, tika mērīts 12 iekrāsotā pozitīvā mērķa procentuālais lielums. Iegūtie rezultāti ir apkopoti tālāk redzamajā tabulā.

Pozitīvais mērķis	Numurs	Aritmētiskais vidējais (%)	SN	Variācijas koeficients (%)
Limfocīti +CD3-APC-A750	12	74,76	0,52	0,70

Linearitāte

Lai testētu šī reaģenta iekrāsošanās linearitāti, dažādās proporcijās ar konstantu šūnu beigu skaitu tika sajaukta pozitīvu šūnu līnija (HPBALL) un negatīvu šūnu līnija (DAUDI) tā, ka pozitīvās un negatīvās šūnu līnijas attiecība maisījumā bija diapazonā no 0 līdz 100 %.

Alikvotes tika nokrāsotas, izmantojot iepriekš aprakstīto procedūru, un tika aprēķināta paredzamo vērtību un iegūto vērtību lineārā regresija.

Specifika	Lineārā regresija	Linearitāte (R^2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

IEROBEŽOJUMI

1. Ja citometrs nav novietots precīzi līdzeni, ja nav pareizi kompensētas fluorescences noplūdes un ja reģioni nav uzmanīgi novietoti, plūsmas citometrija var radīt viltus rezultātus.
2. Ir ieteicams izmantot eritrocītu lizēšanas tehniku ar mazgāšanas soli, jo šis reaģents nav optimizēts izmantošanai lizēšanas tehnikā „bez mazgāšanas".
3. Iegūtie rezultāti ir precīzi un reproducējami, ja visas izmantotās procedūras tiek izpildītas atbilstoši tehniskajai lietošanas instrukcijai un ir saskaņā ar labu laboratorijas praksi.
4. Šī reaģenta konjugētā antiviela ir kalibrēta tā, lai nodrošinātu labāko specifiska signāla/nespecifiska signāla attiecību. Tāpēc ir ļoti svarīgi ievērot reaģenta tilpuma/parauga tilpuma attiecību katrā testā.
5. Hiperleikocitozes gadījumā atšķaidiet asinis ar PBS, lai iegūtā vērtība būtu apmēram 5 x 10^9 leikocīti/l (26).
6. Dažos slimību stāvokļos, piemēram, izteiktas nieru mazspējas vai hemoglobinopātijas gadījumā, eritrocītu lizēšana var būt lēna, nepilnīga vai pat neiespējama. Šajā gadījumā pirms iekrāsošanas ir ieteicams izolēt mononukleārās šūnas, izmantojot blīvuma gradientu (piemēram, Ficoll) (27).
7. Fluorhroma tandēma struktūras dēļ APC-AlexaFluor750 arī izstaro gaismu ar viļņa garumu 660 nm. Šī sekundārā emisijas lielākā vērtība atšķiras atkarībā no partijas. APC-AlexaFluor750. Lai veiktu daudzkrāsu analīzi, ir rūpīgi jāpārbauda kompensēšanas matrica, mainot APC-AlexaFluor750 konjugāta partiju.

Pielikumā skatiet piemērus un atsauces.

PREČU ZĪMES

Beckman Coulter, stilizētais logotips un Beckman Coulter preču un pakalpojumu zīmes, kas minētas šeit, ir Beckman Coulter, Inc. preču zīmes vai reģistrētas preču zīmes Amerikas Savienotajās Valstīs un citās valstīs.

Alexa Fluor ir Molecular Probes, Inc. preču zīme.

Simbolu skaidrojumi

Simbolu glosārijs ir pieejams vietnē beckman.com/techdocs (dokumenta numurs B60062)

	Специфікації
Специфічність	CD3
Клон	UCHT1
Гібридома	NS1 x balb/c
Імуноген	T cell line + IL2
Імуноглобулін	IgG1
Вид	Миша
Очищення	Афінна хроматографія
Флуорохром	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Молярне співвідношення	APC-AlexaFluor750/Ig: 0,5-1,5
λ-збудження	633/638 нм
Пік випромінювання	775 нм
Буфер	Розчин ФСБ pH 7,2 плюс бичачий сироватковий альбумін (БСА) 2 мг/мл та 0,1% NaN_3

Кон'юговане антитіло IOTest CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 тестів; 0,5 мл, 10 мкл/тест

Для діагностики *in vitro*.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Ці антитіла, кон'юговані з флуорохромом, дають змогу ідентифікувати та підрахувати популяції клітин, що експресують антиген CD3, присутні у біологічних зразках людини, за допомогою проточної цитометрії.

ПРИНЦИП

Цей тест базується на здатності специфічних моноклональних антитіл зв'язуватися з антигенними детермінантами, які експресуються лейкоцитами.

Специфічне забарвлення лейкоцитів здійснюється через інкубацію проби з реагентом IOTest. Еритроцити далі видаляють за допомогою лізису, а лейкоцити, на які не впливає цей процес, досліджують методом проточної цитометрії.

Проточний цитометр вимірює розсіювання світла та флуоресценцію клітин. Це робить можливим розмежування досліджуваної популяції всередині електронного вікна, що визначається на гістограмі, яка співвідносить ортогональне розсіювання світла (бічне розсіювання або Side Scatter — SS) і вузькокутове розсіювання світла (пряме розсіювання або Forward Scatter — FS). Інші гістограми, що поєднують два різні параметри, доступні на цитометрі, можна використовувати для допомоги на етапі гейтингу залежно від програми, вибраної користувачем.

Флуоресценція обмеженої популяції клітин аналізується, щоб розрізнити події з позитивно забарвленими клітинами й незабарвленими. Результати виражаються як відсоток позитивних подій відносно всіх подій, зареєстрованих за допомогою гейтингу.

ПРИКЛАДИ КЛІНІЧНИХ ЗАСТОСУВАНЬ

CD3 є трансмембранним білком, що містить чотири типи поліпептидних ланцюгів, а саме CD3γ, CD3δ, CD3ε і CD3ζ. CD3 пов'язаний з Т-клітинним рецептором (TCR) для формування TCR-комплексу, що відповідає за розвиток, активацію і ефекторні функції Т-клітин (1). Внутрішньоклітинні хвости молекул CD3 містять єдиний консервативний мотив, відомий як мотив активації імунорецептора на основі тирозину (ITAM), що має важливе значення для сигнальної здатності TCR (2,3).

CD3 експресується в цитоплазмі про-тимоцитів, а потім в серцевині тимоцитів, коли антиген CD3 починає мігрувати в клітинну мембрану (4). Мембранний CD3 експресується у всіх зрілих Т-клітинах і NK-Т-клітинах. Фенотиповий аналіз CD3 може бути проведений шляхом виявлення мембранних доменів на поверхні або внутрішньоклітинного хвоста. CD3 є селективним маркером Т-клітинної лінії і його експресія зберігається на більшості злоякісних новоутворень Т-клітин (5,6).

Через це CD3 включений в переважну більшість панелей проточної цитометрії для діагностики гематологічних Т-клітинних лімфопроліферативних розладів, в тому числі лейкемії та лімфоми (5,6,7). Імунофенотипування клітин CD3+, що проводиться спільно з іншими фенотипами клітин, дозволяє належним чином характеризувати різні функціональні підмножини Т-клітин, такі як клітини пам'яті, ефекторні клітини і регуляторні Т-клітини (8).

Відносна і абсолютна кількість CD3+ корисна для оцінки імунокомпетенції певного статусу імунодефіциту (наприклад, ВІЛ, наслідки трансплантації стовбурових клітин крові) і відповіді на терапію, але рідко використовується для вибору способу лікування (9,10). CD3 також використовується для діагностики й/або контролю за активністю Т-клітин у хворих з первинним або вторинним імунодефіцитом, автоімунним захворюваннями, а також для оцінки відповіді на імуносупресорну терапію з використанням терапії за допомогою моноклональних антитіл до Т-клітин і антитимоцитарного глобуліну (11,12,13,14,15,16).

РЕАГЕНТИ

Концентрація: див. сертифікат аналізу для партії на сайті www.beckmancoulter.com.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.
2. Не заморожуйте.
3. Доведіть до кімнатної температури (18–25°C) перед використанням.
4. Зведіть до мінімуму вплив світла.
5. Уникайте мікробної контамінації реагентів, інакше можуть бути отримані помилкові результати.
6. Розчини антитіл, які містять азид натрію (NaN_3), треба обробляти обережно. Не приймайте внутрішньо й уникайте будь-якого контакту зі шкірою, слизовими оболонками та очима.

   Крім того, у кислому середовищі азид натрію може утворити потенційно небезпечну азотистоводневу кислоту. Якщо його потрібно утилізувати, рекомендується розвести реагент у великій кількості води перед зливанням у водостічну систему, щоб уникнути накопичення азиду натрію на поверхні металевих труб і запобігти небезпеці вибуху.

7. Усі проби крові слід розглядати як потенційно інфекційні та поводитися з ними обережно (зокрема, використовуючи захисні рукавички, халати й окуляри).
8. Ніколи не піпетуйте ротом та уникайте потрапляння зразків на шкіру, слизові оболонки та в очі.
9. Пробірки для крові та одноразові матеріали, які використовуються для оброблення, слід викидати в спеціальні контейнери, вміст яких призначений для спалювання.
10. Реагенти та відходи потрібно утилізувати відповідно до місцевих вимог.

КЛАСИФІКАЦІЯ НЕБЕЗПЕКИ ЗА СИСТЕМОЮ GHS

Не класифікуються як небезпечні

SDS Паспорт безпеки доступний на сайті beckman.com/techdocs

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Кон'югати в рідкій формі потрібно зберігати при температурі від 2 до 8°C в захищеному від світла місці, як до, так і після відкриття флакона.

Стабільність закритого флакона: див. термін придатності на флаконі.

Стабільність після відкриття флакона: реагент стабільний 365 діб.

ПРОБИ

Венозну кров потрібно брати в стерильні пробірки, що містять ангикоагулянт — сіль ЕДТА.

Проби слід зберігати за кімнатної температури (18–25°C), і їх не слід струшувати. Перш ніж узяти пробу для тестування, проби потрібно гомогенізувати за допомогою обережного перемішування.

Проби потрібно проаналізувати не пізніше ніж через 24 години після венепункції.

ОЗНАКИ ПСУВАННЯ

Будь-яка зміна зовнішнього вигляду реагентів може вказувати на псування, і реагент не слід використовувати.

У разі пошкодження упаковки або якщо отримані дані показують деякі зміни в робочих характеристиках, зверніться до місцевого дистриб'ютора або скористайтеся цією адресою електронної пошти: immuno-techsup@beckmancoulter.com

ЗМІСТ

Консервант азид натрію може утворювати вибухонебезпечні сполуки в металевих зливних трубопроводах. Див. Бюлетень Національного інституту з охорони праці та промислової гігієни (NIOSH) Explosive Azide Hazard (Вибухонебезпечні азиди) (16.8.76).
Щоб уникнути можливого утворення сполук азиду, промийте зливні труби водою відразу після утилізації нерозведеного реагенту. Реагенти, що містять азид натрію, треба утилізувати з дотриманням відповідних місцевих норм.

ПОТРІБНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ У КОМПЛЕКТ

- Пробірки для проб і матеріали, потрібні для забору проб.
- Автоматичні піпетки з одноразовими наконечниками на 10, 100 і 500 мкл.
- Пластикові пробірки для гемолізу.
- Калібрувальні частки: Flow-Set Pro Fluorospheres (REF A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (REF A63493).
- Реагент для лізису еритроцитів з етапом промивання після лізису. Наприклад: VersaLyse (Ref. A09777).
- Реагент для фіксації лейкоцитів. Наприклад: розчин для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ізотипічний контроль APC-AlexaFluor750: реагент IOTest (REF A79393)
- Буфер (ФСБ: 0,01 моль фосфату натрію; 0,145 моль хлориду натрію; pH 7,2).
- Центрифугування.
- Автоматичний змішувач (типу вортекс).
- Проточний цитометр.

ПРОЦЕДУРА З РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Примітка: описана нижче процедура дійсна для стандартних застосувань. Об'єми зразків та/або реагенту VersaLyse для деяких програм Beckman Coulter можуть відрізнятися. У такому разі дотримуйтесь інструкцій у технічному аркуші.

Для кожного аналізованого зразка на додачу до тест-пробірки необхідно використовувати одну контрольну пробірку, у якій клітини змішано в присутності ізотипічного контролю (REF A79393).

1. Додайте по 10 мкл специфічних кон'югованих антитіл IOTest у кожну тестову пробірку, і 10 мкл ізотипічного контролю в кожну контрольну пробірку.
2. Додайте по 100 мкл досліджуваного зразка в обидві пробірки. Обережно перемішайте вміст пробірок у вортексі.
3. Витримайте протягом 15–20 хвилин за кімнатної температури (18–25°C) у захищеному від світла місці.
4. Потім виконайте лізис еритроцитів, якщо необхідно, дотримуючись рекомендацій щодо реагенту для лізису, що використовується. Наприклад, якщо потрібно використовувати реагент VersaLyse (REF A09777), перегляньте вкладиш і за можливості дотримуйтеся процедури під назвою «з одночасною фіксацією», яка полягає в додаванні 1 мл суміші «Fix-and-Lyse», приготовленої безпосередньо перед використанням. Відразу перемішайте на вортексі протягом однієї секунди та витримайте протягом 10 хвилин при кімнатній температурі в захищеному від світла місці. Якщо зразок не містить еритроцитів, додають 2 мл PBS.
5. Центрифугуйте за кімнатної температури протягом 5 хвилин зі швидкістю 150 g.
6. Видаліть надосадову рідину аспіратором.

7. Ресуспендуйте осад клітин у 3 мл ФСБ.
8. Повторіть крок 5.
9. Видаліть надосадову рідину аспіратором і ресуспендуйте осад клітин, використовуючи наведене далі.

   0,5 або 1 мл розчину PBS плюс 0,1% формальдегіду, якщо препарати необхідно зберігати менше 24 годин. (0,1% формальдегіду в розчині PBS можна отримати шляхом розведення 12,5 мкл фіксуючого розчину IOTest 3 (REF A07800) при його 10-кратній концентрації в 1 мл PBS).

   0,5 мл або 1 мл ФСБ без формальдегіду, якщо препарати будуть аналізувати впродовж наступних 2 годин.

Примітка. У всіх випадках препарати слід зберігати в захищеному від світла місці за температури 2–8°C.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

У кожній лабораторії мають скласти перелік еталонних значень, отриманих для групи здорових донорів із місцевого населення. Це необхідно виконати, ураховуючи вік, стать і етнічну групу, а також будь-які інші потенційні регіональні відмінності.

У наших лабораторіях зразки цільної крові 50 здорових дорослих оброблялися з використанням реагенту, описаного вище. Отримані результати підрахунку позитивних подій, які досліджуються, із використанням цього реагенту, наведено в таблицях нижче.

Лімфоцити	Число	Середнє значення (%)	СВ	КВ (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

ЕФЕКТИВНІСТЬ

Робочі показники ефективності отримуються з використанням процедури, описаної вище, на зразках крові, які були зібрані в стерильні пробірки із сіллю EDTA, що є антикоагулянтом, та зберігалися 24 години. Аналіз проводиться протягом 2 годин після імунного фарбування.

СПЕЦИФІЧНІСТЬ

Т-лімфоцити складають більшість людських лімфоцитів периферійної крові (PBL) (17). Т-лімфоцити характеризуються експресією антигену CD3 (17, 18). Антиген CD3 являє собою комплекс з 5 поліпептидних ланцюгів: γ, δ, ε, ζ і η, пов'язаних з Т-клітинним рецептором (TCR) (19).

Ланцюги CD3 згруповані в групи з двох незмінних димерів, γ/ε і δ/ε, пов'язані з варіабельним димером, який складається з гомодимеру ζ або гетеродимерів ζ/η чи ζ/γ FcR (γFcR є ланцюгом γ рецепторів Fc°), або гомодимеру γFcR (19,20,21). Комплекс CD3, пов'язаний з TCR, бере участь в розпізнаванні пептидів, пов'язаних з головним комплексом гістосумісності класу I і II під час імунної відповіді (22).

Антиген CD3 експресується зрілими Т-лімфоцитами і підмножиною тимоцитів (23).

Моноклональне антитіло UCHT1 вступає в реакцію з ланцюгом ε комплексу CD3 (24). Він був віднесений до кластеру диференціації CD3 в ході Першого Міжнародного семінару з питань антигенів для диференціації лейкоцитів людини (1st International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens), що проходив у Парижі, Франція, в 1982 році (25).

ВНУТРІШНЬОЛАБОРАТОРНА ВІДТВОРЮВАНІСТЬ

Було проведено 12 вимірювань процентного вмісту зафарбованих клітин цільової популяції клітин проведено в той самий день і з використанням того самого цитометра. Отримані результати представлено в наведеній нижче таблиці.

Цільова позитивна популяція	Число	Середнє значення (%)	СВ	КВ (%)
Лімфоцити + CD3-APC-A750	12	74,76	0,52	0,70

Лінійність

Щоб перевірити лінійність фарбування для цього реагенту, позитивну клітинну лінію (HPBALL) і негативну клітинну лінію (DAUDI) змішано в різних пропорціях із постійною кінцевою кількістю клітин таким чином, щоб співвідношення позитивної клітинної лінії та негативної клітинної лінії в суміші було в діапазоні від 0 до 100%.

Аліквоти фарбували за методикою, описаною вище, і обчислювали параметри лінійної регресії між очікуваними та спостереженими значеннями.

Специфічність	Лінійна регресія	Лінійність (R^2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

ОБМЕЖЕННЯ

1. Результати проточної цитометрії можуть бути помилковими, якщо вказане нижче не було виконано належним чином: вирівняно цитометр, скомпенсовано витік флуоресценції, здійснено позиціонування ділянок.
2. Бажано використовувати метод лізису еритроцитів з етапом промивання, оскільки цей реагент не оптимізовано для методів лізису «без промивання».
3. Буде отримано точні й відтворювані результати, якщо процедури застосовуються відповідно до технічної інструкції, що додається, і стандартів належної лабораторної практики.
4. Кон'юговані антитіла цього реагенту відкалібровано таким чином, щоб забезпечити краще співвідношення специфічного сигналу та неспецифічного сигналу. Тому важливо дотримуватися співвідношення об'єму реагенту та об'єму проби в кожному тесті.
5. У разі гіперлейкоцитозу кров слід розводити у ФСБ так, щоб отримати концентрацію приблизно 5×10^9 лейкоцитів/л (26).
6. У разі деяких захворювань або станів, як-от тяжка ниркова недостатність або гемоглобінопатії, лізис еритроцитів може бути повільним, неповним або навіть неможливим. У цьому разі рекомендується виділяти мононуклеарні клітини за градієнтом щільності (наприклад, з використанням фіколу) перед фарбуванням (27).
7. Через тандемну структуру флуорохрому APC-AlexaFluor750 також випромінює світло з довжиною хвилі 660 нм. Цей вторинний пік випромінювання різниться залежно від партії. APC-AlexaFluor750. Тому для багатоколірного аналізу матрицю компенсації необхідно ретельно перевіряти, коли змінюється партія кон'югату APC-AlexaFluor750.

Див. приклади й посилання в додатку.

ТОРГОВЕЛЬНІ МАРКИ

Beckman Coulter, стилізований логотип, товарні знаки й сервісні марки Beckman Coulter, вказані тут, є торговельними марками або зареєстрованими торговельними марками компанії Beckman Coulter, Inc. у Сполучених Штатах Америки й інших країнах.

Alexa Fluor є торговельною маркою компанії Molecular Probes, Inc.

Список символів

Глосарій символів доступний на сайті beckman.com/techdocs (документ № B60062)

	Especificações
Especificidade	CD3
Clone	UCHT1
Hibridoma	NS1 x balb/c
Imunógeno	T cell line + IL2
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Camundongo
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Razão molar	APC-AlexaFluor750/Ig: 0,5-1,5
λ de excitação	633/638 nm
Pico de emissão	775 nm
Tampão	PBS com pH de 7,2 mais 2 mg/mL de BSA e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado CD3-APC -Alexa Fluor 750

REF A94680 50 testes; 0.5 mL, 10 µL/teste

Para uso em diagnóstico *in vitro*

USO PREVISTO

Esse anticorpo conjugado com fluorocromo permite a identificação e numeração das populações de células que expressam o antígeno CD3 presente em amostras biológicas humanas utilizando a citometria de fluxo.

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade que os anticorpos monoclonais específicos têm de se ligarem aos determinantes antigênicos expressos por leucócitos.

A coloração específica de leucócitos é realizada incubando-se a amostra com o reagente IOTest. As hemácias são então removidas por lise e os leucócitos, que não são afetados por esse processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citômetro de fluxo mede a difusão da luz e a fluorescência das células. Ele possibilita a delimitação da população de interesse na janela eletrônica definida por um histograma, que correlaciona a difusão ortogonal da luz (dispersão lateral ou SS) e a difusão da luz em ângulo estreito (dispersão frontal ou FS). Outros histogramas que combinam dois dos diferentes parâmetros disponíveis no citômetro podem ser utilizados como auxílio no estágio de delimitação, dependendo da aplicação escolhida pelo usuário.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são expressos como uma porcentagem dos eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos pela delimitação.

EXEMPLOS DE APLICAÇÕES CLÍNICAS

CD3 é uma proteína transmembrana que contém quatro tipos de cadeias polipeptídicas, nomeadamente CD3γ, CD3δ, CD3ε e CD3ζ. O CD3 é associado ao receptor das células T (TCR) para formar o complexo TCR responsável pelo desenvolvimento, ativação e funções efetoras das células T (1). As caudas intracelulares das moléculas CD3 contêm um único motivo conservado conhecido como motivo de ativação do imunorreceptor baseado em tirosina, ou ITAM, essencial para a capacidade de sinalização do TCR (2, 3).

O CD3 é expresso no citoplasma de pró-timócitos e mais tarde em timócitos medulares quando o antígeno CD3 inicia a migração para a membrana celular (4). O CD3 membranar é expresso em todas as células T maduras e células T NK. A análise fenotípica de CD3 pode ser realizada detectando os domínios da membrana de superfície ou da cauda intracelular. O CD3 é um marcador seletivo da linhagem T e a sua expressão é mantida na maioria das malignidades de células T (5, 6).

Assim, o CD3 é incluído na grande maioria dos painéis de citometria de fluxo para o diagnóstico de doenças linfoproliferativas de células T hematológicas, incluindo leucemia e linfoma (5, 6, 7). A análise imunofenotípica das células CD3+, realizada em conjunto com outros fenótipos celulares, permite a caracterização imediata dos diferentes subgrupos de células T funcionais, tais como células-memória, células efetoras e T reguladoras (8).

O CD3+ relativo e absoluto é útil na avaliação da imunocompetência de determinados estados de imunodeficiência (por exemplo, HIV e transplante de células estaminais hematopoiéticas) e de resposta à terapia, mas raramente é utilizado na tomada de decisão do tratamento (9, 10). O CD3 também é utilizado no diagnóstico e/ou no monitoramento da atividade de células T em pacientes com imunodeficiência primária ou secundária, autoimunidade e resposta a terapia imunossupressora com terapias monoclonais anticélulas T e globulina anti-timo (11, 12, 13, 14, 15, 16).

REAGENTES

Concentração: consulte o certificado de análise específico do lote em www.beckmancoulter.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não use o reagente após o prazo de validade.
2. Não congele.
3. Deixe atingir a temperatura ambiente antes de usar (18-25°C).
4. Minimize a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, pois isso pode gerar falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos contendo azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não utilize internamente e evite o contato com a pele, mucosas e olhos.

Além disso, em um meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazoico potencialmente perigoso. Se precisar descartar essa substância, recomenda-se que o reagente seja diluído em um grande volume de água antes de despejá-lo no sistema de drenagem para evitar o acúmulo de azida sódica nos canos de metal e o risco de explosão.

7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas como potencialmente infecciosas e devem ser manipuladas com cuidado (em particular: uso de luvas, jalecos e óculos de proteção).
8. Nunca coloque a pipeta na boca e evite qualquer contato das amostras com a pele, mucosas e olhos.
9. Os tubos de sangue e o material descartável utilizado para manuseio deve ser descartado em recipientes ad hoc destinados à incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO DO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Folha de dados de segurança está disponível em beckman.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

As formas líquidas conjugadas devem ser mantidas entre 2 e 8°C e protegidas da luz, antes e depois do frasco ter sido aberto.

Estabilidade do frasco fechado: consulte o prazo de validade no frasco.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente é estável por 365 dias.

AMOSTRAS

Sangue venoso deve ser coletado usando tubos estéreis contendo um sal de EDTA como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas em temperatura ambiente (18-25°C) e não devem ser agitadas. A amostra deve ser homogeneizada por agitação suave antes que a amostra para teste seja retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a coleta.

EVIDÊNCIA DE DETERIORAÇÃO

Qualquer alteração no aspecto físico dos reagentes poderá indicar deterioração e o reagente não deverá ser utilizado.

No caso de deterioração da embalagem ou se os dados obtidos mostrarem alguma alteração no desempenho, entre em contato com o distribuidor local ou use o seguinte endereço de e-mail: immuno-techsup@beckmancoulter.com

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em canos de escoamento metálicos. Consulte o Boletim do NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health [Instituto de segurança e saúde ocupacional dos EUA]): Explosive Azide Hazard (Perigos de explosão de azida) (16/8/76).
Para evitar o possível acúmulo de compostos de azida, enxágue os canos de escoamento com água após o descarte do reagente não diluído. O descarte da azida sódica deve ser efetuado de acordo com as normas locais apropriadas.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostra e material necessário para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 10, 100 e 500 µL.
- Tubos plásticos de hemólise.
- Esferas de calibração: Flow-Set Pro Fluorospheres (Ref. A63492) Flow-Check Pro Fluorospheres (Ref. A63493)
- Reagente de lise de hemácias com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: Reagente VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: Solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controle isotípico APC-AlexaFluor750: reagente IOTest (REF A79393).
- Tampão (PBS: fosfato de sódio a 0,01 M; cloreto de sódio a 0,145 M; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citômetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM O REAGENTE VERSALYSE

Observação: o procedimento descrito a seguir é válido para aplicações padrões. Os volumes das amostras e/ou do VersaLyse para algumas aplicações da Beckman Coulter podem ser diferentes. Se este for o caso, siga as instruções no folheto técnico da aplicação.

Para cada amostra analisada, além do tubo de teste, é necessário um tubo de controle no qual as células são misturadas na presença do controle isotípico (REF A79393.).

1. Adicione 10 µL de anticorpos conjugados de IOTest específicos a cada tubo de teste e 10 µL do controle isotípico a cada tubo de controle.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a ambos os tubos. Agite os tubos no vórtex cuidadosamente em vórtex cuidadosamente.
3. Incube durante 15 a 20 minutos em temperatura ambiente (18-25°C), protegido da luz.
4. Em seguida, execute a lise dos glóbulos vermelhos, se necessário, seguindo as recomendações do reagente de lise utilizado. Por exemplo, se quiser usar VersaLyse (REF A09777), consulte o folheto e siga, preferencialmente, o procedimento intitulado “com fixação concomitante”, que consiste em adicionar 1 mL da mistura de “Fix-and-Lyse” preparada extemporaneamente. Agite imediatamente em vórtex por 1 segundo e incube por 10 minutos em temperatura ambiente, protegido da luz. Se a amostra não contiver glóbulos vermelhos, adicione 2 mL de PBS.
5. Centrifugue por 5 minutos a 150 x g em temperatura ambiente.

6. Retire o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita a etapa 5.
9. Retire o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular usando:

   0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído, se as preparações forem mantidas por menos de 24 horas. (É possível obter uma solução PBS com 0,1% de formaldeído diluindo-se 12,5 µL de Solução fixadora IOTest 3 [REF A07800] na sua concentração de 10X em 1 mL de PBS.)

   0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído, se as preparações forem analisadas dentro de 2 horas.

Nota: Em qualquer dos casos, mantenha as preparações entre 2 e 8°C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Cada laboratório deve compilar uma lista de valores de referência com base em um grupo de doadores saudáveis da população local. Deve-se tomar em conta a idade, o sexo e o grupo étnico, bem como qualquer outra diferença regional possível.

Em nossos laboratórios, amostras de sangue total de 50 adultos saudáveis foram tratadas usando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem de eventos de interesse positivos com este reagente são apresentados nas tabelas a seguir:

Linfócitos	Número	Média (%)	DP (Desvio padrão)	CV (%)
CD3-APC-A750+	50	72,2	8,3	11,5

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos usando o procedimento descrito anteriormente em amostras de sangue com 24 horas, coletadas previamente em tubos estéreis com sal de EDTA como anticoagulante. A análise é executada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

Os linfócitos T constituem a maioria dos linfócitos do sangue periférico (PBL) humano (17). Os linfócitos T são caracterizados pela expressão do antígeno CD3 (17, 18). O antígeno CD3 é um complexo de 5 cadeias polipeptídicas: γ, δ, ε, ζ e η, associado ao complexo do receptor de células T (TCR) (19).

As cadeias de CD3 estão aglomeradas em um grupo de dois dímeros invariantes, γ/ε e δ/ε, associados a um dímero variável que consiste em homodímeros ζ, ou heterodímeros FcR ζ/η ou ζ/γ (com γFcR sendo a cadeia γ dos receptores Fc), ou homodímeros γFcR (19, 20, 21). O complexo CD3 associado ao TCR está envolvido no reconhecimento de peptídeos ligados ao complexo principal de histocompatibilidade de classe I e II durante a resposta imunológica (22).

O antígeno CD3 é expresso por linfócitos T maduros e por um subgrupo de timócitos (23).

O anticorpo monoclonal UCHT1 reage com a cadeia ε do complexo CD3 (24). Foi atribuído ao aglomerado CD3 de diferenciação no 1º International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Workshop internacional sobre antígenos de diferenciação de leucócitos humanos) realizado em Paris, França, em 1982 (25).

REPRODUTIBILIDADE INTRALABORATORIAL

No mesmo dia e usando o mesmo citômetro, foram realizadas 12 medições da porcentagem de coloração de um alvo positivo. Os resultados obtidos são resumidos na tabela a seguir:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP (Desvio padrão)	CV (%)
Linfócitos +CD3-APC-A750	12	74,76	0,52	0,70

Linearidade

Para testar a linearidade da coloração deste reagente, foram misturadas uma linha celular positiva (HPBALL) e uma linha celular negativa (DAUDI), em diferentes proporções, com um número final constante de células, de modo que a razão da linhagem positiva/linhagem negativa da mistura se encontrasse dentro do intervalo de 0 a 100%.

As alíquotas foram coradas usando o procedimento descrito acima e foi calculada a regressão linear entre os valores observados e os esperados.

Especificidade	Regressão linear	Linearidade (R^2)
CD3-APC-A750	Y = 0,9903 X - 0,1702	0,9985

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo pode produzir resultados falsos se o citômetro não for alinhado perfeitamente, se os vazamentos de fluorescência não forem corretamente compensados e se as regiões não forem cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível utilizar a técnica de lise de RBC com uma etapa de lavagem quando o reagente não tiver sido otimizado para técnicas de lise “sem lavagem”.
3. Serão obtidos resultados exatos e reproduzíveis desde que os procedimentos utilizados estejam em conformidade com o folheto técnico e sejam compatíveis com as boas práticas de laboratório.
4. O anticorpo conjugado desse reagente é calibrado para oferecer a melhor razão entre sinal específico e sinal não específico. Por isso, é importante manter a razão entre volume do reagente e volume da amostra em cada teste.
5. No caso de hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (26).
6. Em certos estados da doença, como insuficiência renal grave e hemoglobinopatias, a lise das hemácias pode ser lenta, incompleta ou até mesmo impossível. Nesse caso, recomenda-se isolar as células mononucleadas usando um gradiente de densidade (Ficoll, por exemplo) antes da coloração (27).
7. Por conta da estrutura em tandem do fluorocromo, APC-AlexaFluor750 também emite luz a 660 nm. Esse pico de emissão secundário varia conforme o lote de APC-AlexaFluor750. Portanto, para análises multicoloridas, a matriz de compensação deve ser cuidadosamente verificada ao alterar o lote de um conjugado com APC-AlexaFluor750.

Consulte o anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logotipo estilizado e as marcas dos produtos e serviços da Beckman Coulter mencionados neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registradas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e em outros países.

Flúor Alexa é uma marca comercial da Molecular Probes, Inc.

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (documento número B60062)

	Сипаттамалары
Ерекшелік	CD3
Клон	UCHT1
Гибридома	NS1 x balb/c
Иммуноген	T cell line + IL2
Иммунды глобулин	IgG1
Түрлері	Тышқан
Тазарту	Үйірлік хроматография
Флуорохром	Allophycocyanin-Alexa Fluor 750
Молярлық қатынасы	APC-AlexaFluor750 / Ig: 0.5-1.5
λ қозу	633/638 нм
Эмиссияның жоғарғы шегі	775 нм
Буфер	PBS pH 7,2 + 2 мг / мл BSA және 0,1% NaN_3

Конъюгацияланған
IOTest антиденесі
CD3-APC
-Alexa Fluor 750

REF A94680 50 сынақ; 0,5 мл, 10 мкл / сынақ

***In Vitro* диагностикасында пайдалануға арналған**

ПАЙДАЛАНУ МАҚСАТЫ

Бұл флуорохроммен конъюгацияланған антидене адамның биологиялық үлгілерінде CD3 антигеннің болуын көрсететін жасуша популяциясын ағын цитометриясы көмегімен анықтап, нөмірлеуге мүмкіндік береді.

ҚАҒИДА

Бұл сынақ нақты моноклоналды антиденелердің лейкоциттер айқындайтын антигендік детерминанттармен байланысу қабілетіне негізделген.

Лейкоциттердің арнайы бояуы үлгіні IOTest реагентімен инкубациялау арқылы жүзеге асады. Сол кезде эритроциттер лизис арқылы шығарылады, ал осы процесс әсер етпейтін лейкоциттерге ағын цитометриясы арқылы талдау жасалады.

Ағын цитометрі жарық диффузиясы мен жасушалардың флуоресценттенуін өлшейді. Бұл гистограммада анықталған электронды терезеде қызығушылық популяциясын ажыратуға мүмкіндік береді, ол жарықтың ортогональды диффузиясын (бүйірлік шашырау немесе SS) және тар бұрышты жарықтың диффузиясын (тікелей шашырау немесе FS) байланыстырады. Цитометрде қолжетімді екі түрлі параметрді біріктіретін басқа гистограммаларды пайдаланушы таңдаған қолданбаға байланысты гейтинг кезеңінде тірек ретінде пайдалануға болады.

Оң боялған оқиғаларды боялмаған оқиғалардан ажырату үшін шектеулі жасушалардың флуоресценттенуіне талдау жүргізілді. Оның нәтижесі оң оқиғалардың гейтинг арқылы алынған барлық оқиғаларға қатынасының пайыздық көрсеткіші ретінде көрсетіледі.

КЛИНИКАЛЫҚ ҚОЛДАНУ МЫСАЛДАРЫ

CD3-бұл полипептидтік тізбектің төрт түрі бар трансмембраналық протеин, атап айтқанда CD3γ, CD3δ, CD3ε және CD3ζ. CD3 Т жасушаларының (1) дамуына, белсендірілуіне және эффекторлық функцияларына жауап беретін TCR кешенін құру үшін Т-жасуша рецепторымен (TCR) байланысты. CD3 молекулаларының жасушаішілік қалдықтарында TCR (2, 3) сигнал беру қабілеті үшін қажет тирозинге немесе ITAM негізделген иммунорецепторларды белсендіру мотиві деп аталатын бір консервативті мотив бар.

CD3 протимоциттердің цитоплазмасында, содан кейін медулярлық тимоциттерде, CD3 антигені жасуша мембранасына (4) ауыса бастағанда көрінеді. CD3 мембранасы барлық жетілген Т-жасушаларында және NK-Т жасушаларында көрінеді. CD3 фенотиптік талдауы беттік мембрана домендерді немесе жасушаішілік құйрықты анықтау арқылы жүргізілуі мүмкін. CD3-бұл Т-сызықтық-іріктемелі маркер және оның айқындалуы көптеген Т-жасушалық қатерлі ісіктерде сақталады (5, 6).

Сондықтан CD3 гематологиялық Т-жасушалық лимфопролиферативті ауруларды, соның ішінде лейкемия мен лимфоманы диагностикалау үшін ағын цитометриясы панельдерінің басым көпшілігіне кіреді (5, 6, 7). Басқа жасуша фенотиптерімен бірге жүргізілген CD3+ жасушаларына иммунофенотиптік талдауы жад жасушалары, эффектор және Т-реттеуші жасушалар (8) сияқты Т жасушаларының әртүрлі функционалды жиындарын оңай сипаттауға мүмкіндік береді.

Салыстырмалы және абсолютті CD3+ белгілі бір иммун тапшылығы жағдайы (мысалы, HIV, гемопоэздік бағаналы жасушалардың трансплантациясынан кейінгі жағдай) мен терапияға жауаптың иммунокомпетенттілігін бағалау үшін пайдалы, бірақ емдеу туралы шешім қабылдау үшін сирек қолданылады (9, 10). CD3 сонымен қатар негізгі немесе қосалқы иммун тапшылығы, аутоиммунды және иммуносупрессивті терапияға моноклоналды анти Т-жасушалық препараттармен және антитимустық глобулинмен ауыратын емделушілерде Т жасушаларының белсенділігін диагностикалау және/немесе бақылау үшін қолданылады (11, 12, 13, 14, 15, 16).

РЕАГЕНТТЕР

Концентрация: нақты топтама бойынша талдау сертификатын мына сайттан қараңыз www.beckmancoulter.com.

ЕСКЕРТУ ЖӘНЕ САҚТЫҚ ШАРАЛАРЫ

1. Жарамдылық мерзімі өткеннен кейін реагентті қолдануға болмайды.
2. Қатыруға болмайды.
3. Оны пайдаланбас бұрын, температурасының бөлме температурасына (18–25°C) жетуін күтіңіз.
4. Жарық әсерін азайтыңыз.
5. Реагенттердің микробтармен ластануына жол бермеңіз немесе жалған нәтижелер орын алуы мүмкін.

6. Құрамында натрий азиды бар антидене ерітінділермен (NaN_3) жұмыс істегенде абай болу керек. Ішке қабылдамаңыз. Теріге, шырышты қабыққа және көзге тиігізбеңіз.

   Оған қоса, қышқылды ортада натрий азиды ықтимал қауіпті азотты сутек қышқылын түзуі мүмкін. Оны жою қажет болған жағдайда реагентті алдымен судың көп мөлшерінде сұйылтып, артынан кәріз жүйесіне төгуге кеңес беріледі. Осылайша, натрий азидының металл құбырларда жиналуын болдырмай, жарылыс қаупінің алдын алуға болады.

7. Қанның барлық үлгілері ықтимал жұқпалы деп есептелуі және сақтықпен өңделуі (атап айтқанда: қорғаныс қолғабын, халат және көзілдірік кию) керек.
8. Ешқашан оны аузыңызға құймаңыз және үлгілерді теріге, шырышты қабыққа және көзге тигізбеңіз.
9. Өңдеу үшін пайдаланылатын қан түтіктері мен бір реттік материалдарды өртеуге арналған арнайы контейнерлерге тастау керек.
10. Реагенттер мен қалдықтар жергілікті талаптарға сәйкес жойылуы тиіс.

GHS ҚАУІПТЕР КЛАССИФИКАЦИЯСЫ

Қауіпті деп жіктелмейді

SDS Қауіпсіздік төлқұжаты beckman.com/techdocs мекенжайында қолжетімді

САҚТАУ ЖӘНЕ ТҰРАҚТЫЛЫҚ

Құтыны ашпай тұрып және оны ашқаннан кейін конъюгацияланған сұйықтықтарды 2–8°C температурада жарықтан қорғалған жерде сақтау керек.

Жабық құтының тұрақтылығы: құтыдағы жарамдылық мерзімін қараңыз.

Ашық құтының тұрақтылығы: реагент 365 күн бойы тұрақты болады.

ҮЛГІЛЕР

Көктамыр қанын антикоагулянт ретінде EDTA тұзы бар стерильді түтіктердің көмегімен алу керек.

Үлгілерді бөлме температурасында (18–25°C) сақтау керек және оларды шайқауға болмайды. Үлгілерді сынақ үлгісін алмастан бұрын жеңіл араластыру жолымен гомогендеу керек.

Үлгілерді көк тамырды тескен соң 24 сағат ішінде талдау қажет.

ЗАҚЫМДАЛУ БЕЛГІЛЕРІ

Реагенттердің сыртқы түрінің кез келген өзгерісі олардың зақымдалғандығын көрсетуі мүмкін және реагентті пайдаланбаған жөн.

Қаптамалау кезінде зақымдалған жағдайда немесе алынған деректерде өнімділік жөнінде біраз өзгерістер болса, жергілікті дистрибьюторға хабарласаңыз немесе төмендегі электрондық пошта мекенжайына хат жазыңыз: immuno-techsup@beckmancoulter.com

МАЗМҰНЫ

Натрий азиді консерванты металдан жасалған құбыр желілерінде жарылғыш қосылыстар түзуі мүмкін. NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76) (NIOSH бюллетенін қараңыз: азидтердің жарылу қаупі (16.08.1976)).
Азид қосылыстарының ықтимал түзілуін болдырмау үшін сұйылтылмаған реагентті жойғаннан кейін су құбырларын шайыңыз. Натрий азидін жою тиісті жергілікті ережелерге сәйкес жүзеге асырылуы тиіс.

ҚАЖЕТТІ, БІРАҚ ЖИНАҚПЕН БІРГЕ ЖЕТКІЗІЛМЕГЕН МАТЕРИАЛДАР

- Үлгі алу түтіктері және үлгі алу үшін қажетті материал.
- 10, 100 және 500 мкл ерітінділерге арналған бір реттік ұшы бар автоматты тамызғыштар.
- Эритроциттер гемолизіне арналған пластикалық түтіктер.
- Калибрлеу микросфералары: Flow-Set Pro флюоросфералары (A63492 қараңыз) Flow-Check Pro флюоросфералары (A63493 қараңыз)
- Лизистен кейін жуу әдісі пайдаланылатын эритроцит лизисінің реагенті. Мысалы: VersaLyse (Сілт A09777).
- Лейкоцит фиксация реагенті. Мысалы: IOTest 3 бекіту ерітіндісі (A07800 қараңыз).
- Изотиптік бақылауAPC-AlexaFluor750: IOTest реагенті (A79393 қараңыз).
- Буфер (PBS: 0,01 М натрий фосфаты; 0,145 М натрий хлориді; pH 7,2).
- Центрифугалау
- Автоматты араластырғыш (араластырғыш түрі).
- Ағын цитометрі.

VERSALYSE РЕАГЕНТІ КӨМЕГІМЕН ОРЫНДАЛАТЫН ПРОЦЕДУРА

Ескертпе: Төмендегі процедура стандартты қолданбалар үшін жарамды. Белгілі бір Beckman Coulter қолданбалары үшін үлгі және/немесе VersaLyse мәндері әртүрлі болуы мүмкін. Мұндай жағдайда, қолданбаның техникалық кітапшасындағы нұсқауларды орындаңыз.

Әрбір талданатын үлгі үшін сынақ түтігіне қосымша, жасушалар изотиптік бақылаудың қатысуымен араласатын бір бақылау түтігі қажет (A79393қараңыз).

1. Әрбір түтікке 10 мкл арнайы конъюгацияланған IOTest антиденесін және әрбір бақылау түтігіне 10 мкл изотиптік бақылауды қосыңыз.
2. Екі түтікке де сынақ үлгісінің 100 мкл қосыңыз. Түтіктерді абайлап араластырыңыз.
3. Жарықтан қорғалған бөлме температурасында (18–25°C) 15–20 минут инкубациялаңыз.
4. Содан кейін, қажет болған жағдайда, лизиске қолданылатын реагенттің ұсыныстарына сүйене отырып, эритроциттердің лизисін жүргізіңіз. Мысалы, егер VersaLyse (Сілт. A09777) пайдаланғыңыз келсе, брошюраға жүгініңіз және жоспардан тыс дайындалған 1 мл «Бекіту және еріту» қоспасын қосудан тұратын «ілеспе бекітумен» деп аталатын процедураны орындаңыз. Бір секунд дереу араластырыңыз және жарықтан қорғалған бөлме температурасында 10 минут бойы инкубациялаңыз. Егер үлгіде эритроциттер болмаса, 2 мл PBS ерітіндісін қосыңыз.

5. 150 x г шамасында 5 минут бойы бөлме температурасында центрифугалаңыз.
6. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастаңыз.
7. 3 мл PBS ерітіндісін пайдаланып, жасуша массасын қайта ерітіңіз.
8. 5-қадамды қайталаңыз.
9. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастап, жасуша массасын төмендегіні қолдану арқылы қайта ерітіңіз:

   Егер препараттар 24 сағаттан аз сақталатын болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне 0,1% формальдегид қосылады. (0,1% формальдегидті PBS ерітіндісі 12,5 мкл IOTest 3 бекіту ерітіндісін (Сілт. A07800) 10X концентрациясында 1 мл PBS ерітіндісін сұйылту арқылы алуға болады).

   Егер 2 сағат ішінде талдануы керек болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне формальдегид қосылмайды.

Ескертпе: барлық жағдайда препараттарды 2–8°C температурада, күн көзінен алыс жерде сақтау керек.

КҮТІЛЕТІН МӘНДЕР

Әрбір зертхана жергілікті халықтың дені сау донорлар тобы негізінде анықтамалық мәндердің тізімін жасауы тиіс. Мұны жасына, жынысына және этникалық ерекшелігіне, сондай-ақ басқа да аймақтық айырмашылықтарға байланысты жасау керек.

Біздің зертханаларда 50 дені сау ересектерден жаңа алынған қан үлгілері жоғарыда сипатталған реагентпен өңделді. Осы реагентпен қызығушылық тудыратын оң оқиғаларды санау үшін алынған нәтижелер төмендегі кестелерде келтірілген:

Лимфоциттер	Сан	Орташа мән (%)	SD	CV (%)
CD3-APC-A750+	50	72.2	8.3	11.5

ӨНІМДІЛІК

Өнімділік жөніндегі деректер 24 сағаттық үлгілерді пайдаланып, жоғарыда сипатталған процедура арқылы алынады. Бұл үлгілер алдын ала антикоагулянт ретінде EDTA тұзы арқылы стерильді түтіктерге жиналады. Талдау иммундық бояудан соң 2 сағат ішінде жасалады.

ЕРЕКШЕЛІГІ

Т лимфоциттері адамның шеткі қанындағы лимфоциттердің көпшілігін құрайды (PBL) (17). Т лимфоциттері CD3 (17, 18) антигенінің айқындалуымен сипатталады. CD3 антигені — Т-жасушалық рецептор (TCR) кешенімен байланысты (19) 5 полипептидтік тізбектің кешені: γ, δ, ε, ζ; және η.

CD3 тізбектері γ/ε және δ/ε секілді екі тұрақты димер топтарында біріктіріледі. Олар ζ немесе ζ /η гомодимерлерінен немесе ζ /γ FcR гетеродимерлерінен (γFcR — Fc рецепторларының γ тізбегі) немесе γFcR гомодимерлерінен тұратын айнымалы димермен байланысады (19, 20, 21). TCR рецепторымен байланысқан CD3 кешені иммундық жауап кезінде I және II класты негізгі гисто үйлесімділік кешенімен байланысқан пептидтерді анықтауға қатысады (22).

CD3 антигені жетілген Т-лимфоциттерімен және тимоциттердің субпопуляциясымен көрінеді (23).

UCHT1 моноклоналды антиденесі CD3 кешенінің (24) ε тізбегімен әрекеттеседі. Ол 1982 жылы Париждің Франция қаласында (25) 1st International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens («Адам лейкоциттерінің дифференциация антигендері» атты 1-ші халықаралық семинар) кезінде CD3 дифференциация кластеріне тағайындалды.

ЗЕРТХАНАІШІЛІК ЖАҢҒЫРТЫЛУ МҮМКІНДІГІ

Тура сол күні және сол цитометрдің көмегімен оңтайлы нысана бояуының пайыздық үлесіне 12 өлшеу жүргізілді. Алынған нәтижелер келесі кестеде толық көрсетіледі:

Оңтайлы нысана	Сан	Орташа мән (%)	SD	CV (%)
Лимфоциттер +CD3-APC-A750	12	74.76	0.52	0.70

Сызықтық

Бұл реагенттің бояуының сызықтығын тексеру үшін оң (HPBALL) және теріс жасуша линиялары (DAUDI) әр түрлі пропорцияда жасушалардың тұрақты соңғы санымен араластырылды, осылайша қоспадағы оң линия/ теріс жасуша линиясының қатынасы 0–100%-ға дейін болатын.

Аликвоттар жоғарыда сипатталған процедура арқылы боялды және күтілетін және бақыланатын мәндер арасындағы сызықтық регрессия есептелді.

Ерекшелік	Сызықтық регрессия	Сызықтық (R^2)
CD3-APC-A750	Y = 0.9903 X - 0.1702	0.9985

ШЕКТЕУЛЕР

1. Цитометр дұрыс бапталмаған, флуоресценттенудің ағып кетуі дұрыс өтелмеген және аймақтар мұқият орналастырмаған жағдайда, ағын цитометриясы қате нәтижелер беруі мүмкін.
2. RBC лизис әдісін жуу қадамымен пайдаланған жөн, өйткені бұл реагент «жуусыз» лизис әдістері үшін оңтайландырылмаған.
3. Жүргізілген процедуралар техникалық нұсқау брошюрасына сәйкес және тиісті зертханалық тәжірибемен үйлесімді болған жағдайда ғана дұрыс, әрі жаңғыртылуы мүмкін нәтижелерді алуға болады.
4. Осы реагенттің конъюгацияланған антиденесі арнайы сигнал мен арнайы емес сигналдың ең жақсы қатынасын қамтамасыз ететіндей калибрленген. Сондықтан әрбір сынақты жүргізгенде реагент көлемінің үлгі көлеміне қатынасын сақтау маңызды.
5. гиперлейкоцитоз жағдайында шамамен 5 x 10^9 лейкоцит/л (26) мәнін алу үшін PBS ерітіндісінде қанды сұйылтыңыз.
6. Кейбір жіті бүйрек жеткіліксіздігі немесе гемоглобинопатия сияқты аурулар жағдайында, эритроциттер лизисі баяу, толық емес немесе тіпті мүмкін емес болуы мүмкін. Бұл жағдайда бояудан бұрын тығыздық градиентін (мысалы, Ficoll) пайдаланып мононуклеарлы жасушаларды оқшаулап алу ұсынылады (27).
7. Флуорохромның тандем құрылымының арқасында, APC-AlexaFluor750 сондай-ақ 660 нм жарық шығарады. Екінші реттік эмиссияның бұл шыңы топтамадан топтамаға дейін өзгереді. APC-AlexaFluor750. Сондықтан көп түсті талдау үшін компенсация матрицасын -APC-AlexaFluor750 конъюгат топтамасын өзгерту кезінде мұқият тексеру керек.

Мысалдар мен анықтамалар алу үшін қосымшаны қараңыз.

САУДА БЕЛГІЛЕРІ

Beckman Coulter, стильденген логотип, сонымен қатар Beckman Coulter өнім мен қызмет көрсету белгілері — бұл АҚШ және басқа елдердегі Beckman Coulter, Inc. сауда белгілері немесе тіркелген сауда белгілері.

Alexa Fluor — Molecular Probes, Inc. компаниясының сауда белгісі.

Таңбалар пернесі

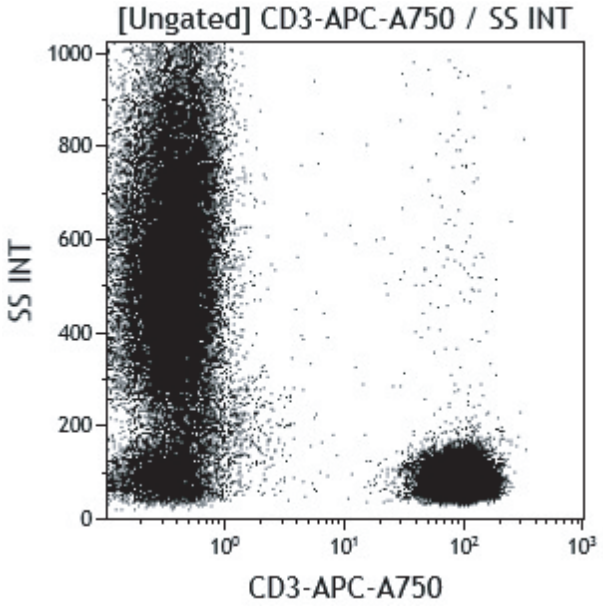
Таңбалар глоссарийі beckman.com/techdocs сайтында (құжат нөмірі: B60062) қолжетімді

APPENDIX

- EXAMPLES

Staining is with IOTest CD3-APC-A750 Conjugated Antibody.

Acquisition is performed with a Beckman Coulter Navios flow cytometer equipped with the Navios analysis software.



REFERENCES

1. A. Abbas, A Lichtman and J S Pober. Antigen Receptors and Accessory molecules of T lymphocytes. In Cellular and Molecular Immunology, New York, 2000 p 108.
2. Borroto A, Abia D, Alarcón B. Crammed signaling motifs in the T-cell receptor.
3. Smith-Garvin JE1, Koretzky GA, Jordan MS. T cell activation. Annu Rev Immunol. 2009;27:591-619.
4. Dave VP. Hierarchical role of CD3 chains in thymocyte development.
5. B. H. Davis, J.T. Holden, M. C. Bene, et al. 2006 Bethesda International Consensus Recommendations on the Flow Cytometric Immunophenotypic Analysis of Hematolymphoid Neoplasia: Medical Indications. Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 72B:S5-S13 (2007)
6. van Dongen, JJM Lhermitte L, Böttcher S, et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. Leukemia. 2012 September; 26(9): 1908-1975.
7. Watters RJ1, Liu X, Loughran TP Jr. T-cell and natural killer-cell large granular lymphocyte leukemia neoplasias. Leuk Lymphoma. 2011 Dec;52(12):2217-25.
8. Pepper M and Jenkins MK. Origins of CD4+ effector and central memory T cell.
9. Le Deist F, de Saint Basile G, Rieux-Laucat F. Expression anomalies of the CD3-TCR complex expression and immunodeficiencies. Med Sci (Paris). 2007 Feb;23(2):161-6.
10. Fischer A1, de Saint Basile G, Le Deist F. CD3 deficiencies.
11. Chatenoud L, Bluestone JA. CD3-specific antibodies: a portal to the treatment of autoimmunity.
12. Takeuchi T1, Tsuzaka K, Abe T. Altered expression of the T cell receptor-CD3 complex in systemic lupus erythematosus.
13. Dean Y1, Dépis F, Kosco-Vilbois M. Combination therapies in the context of anti-CD3 antibodies for the treatment of autoimmune diseases.
14. Okumura M, et al. The immunologic role of thymectomy in the treatment of myasthenia gravis: implication of thymus-associated B-lymphocyte subset in reduction of the anti-acetylcholine receptor antibody titer.
15. Hoegh-Petersen M, et al. Anti-thymocyte globulins capable of binding to T and B cells reduce graft-vs-host disease without increasing relapse.
16. Kho MM, et al. The effect of low and ultra-low dosages Thymoglobulin on peripheral T, B and NK cells in kidney transplant recipients.
17. Hannet, I., Erkeller-Yuksel, F., Lydyard, P., Deneys, V., DeBruyère, M., "Developmental and maturational changes in human blood lymphocyte sub-populations", 1992, Immunol. Today, 13, 215-218.
18. Sprent, J., "T lymphocytes and the thymus", 1989, Fundamental Immunology, Chap 4, 2nd Ed., 69-93.
19. Thibault, G., Bardos, P., "Compared TCR and CD3ε expression on αß and γδ cells. Evidence for the association of two TCR heterodimers with three CD3ε chains in the TCR/CD3 complex", 1995, J. Immunol.,154, 3814-3820.
20. Shores, E.W., Love, P.E., "TCR ζ -chain in T cell development and selection", 1997, Cur. Opin. Immunol., 9, 380-389.
21. Ono, S., Ohno, H., Saito, T., "Rapid turnover of the CD3 ζ chain independent of the TCR-CD3 complex in normal T cells", 1995, Immunity, 2, 639-644.
22. Julius, M., Maroun, C.R., Haughn, L., "Distinct roles for CD4 and CD8 as co-receptors in antigen receptor signalling", 1993, Immunol. Today, 14, 177-183.
23. Van Agthoven, A., Terhorst, C., Reinherz, E.L., Schlossman, S.F., "Characterization of T cell surface glycoproteins T1 and T3 present on all human peripheral T lymphocytes and functional mature T lymphocytes", 1981, Eur. J. Immunol, 11, 18-21
24. Tunnacliffe, A., Olsson, C., Traunecker, A., Krissansen, G.W., Karjalainen, K., De la Hera, A., "The majority of CD3 epitopes are conferred by the ε chain", 1989, Leucocyte Typing IV, White Cell Differentiation Antigens. W. Knapp, et al., Eds., Oxford University Press, 295-296.
25. Bernard, A., Brottier, P., Georget, E., Lepage, V., Boumsell, L., "Joint report of the first international workshop on human leucocyte differentiation antigens by the investigators of the participating laboratories", 1984, Leucocyte Typing I, Bernard, A. et al., Springer Verlag, 9-135.
26. H42-A2 Vol.27 No. 16. P30. Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry; Approved Guideline - Second Edition.
27. Ibrahim FF, Ghannam MM, Ali FM., "Effect of dialysis on erythrocyte membrane of chronically hemodialyzed patients"., 2002. Ren Fail., Nov;24(6):779-90.

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda
Alameda Rio Negro, 500, 15º andar, Torre B Alphaville Industrial
CEP 06.454-00 Barueri, São Paulo, Brasil
CNPJ: 42.160.812/0001-44 Telefone: 0800-771-8818

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

IMMUNOTECH SAS A Beckman Coulter Company, 130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France, +(33) 4 91 17 27 27
www.beckman.com

BECKMAN COULTER
MADE IN France

CE 2797

IOTest
Conjugated Antibody
Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0.5 mL, 10 µL / test

TABLE OF CONTENTS

English . . . 2
Français (France) (fr-fr) . . . 6
Deutsche (de-de) . . . 10
Italiano (it-it) . . . 15
Español (es-es) . . . 19
Português (Portugal) (pt-pt) . . . 23
Dansk (da-dk) . . . 27
Svenska (sv-se) . . . 31
Norsk (nb-no) . . . 35
Suomi (fi-fi) . . . 39
Ελληνικά (el-gr) . . . 43
日本語 (ja-jp) . . . 48
中文（中国）(zh-cn) . . . 52
Lietuvių (lt-lt) . . . 56
Magyar (hu-hu) . . . 60
Polski (pl-pl) . . . 65
Čeština (cs-cz) . . . 70
Slovák (sk-sk) . . . 74
한국어 (ko-kr) . . . 79
Türkçe (tr-tr) . . . 83
Русский (ru-ru) . . . 87
Eestlane (et-ee) . . . 92
Hrvatski (hr-hr) . . . 96
Български (bg-bg) . . . 100
中文（台灣）(zh-tw) . . . 105
Română (ro-ro) . . . 109
Slovenščina (sl-si) . . . 113
Srpski (sr-rs) . . . 117
Latviešu (lv-lv) . . . 121
Українська (uk-ua) . . . 125
Português (Brasil) (pt-br) . . . 130
Nederlands (nl-nl) . . . 134
Tiếng Việt (vi-vn) . . . 139
Қазақша (kk-kz) . . . 143
APPENDIX . . . 148
REFERENCES . . . 149

© 2024 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

	Specifications
Specificity	HLA-DR
Clone	Immu-357
Hybridoma	X63 x balb/c
Immunogen	EBV-transformed cell line
Immunoglobulin	IgG1
Species	Mouse
Purification	Affinity chromatography
Fluorochrome	Pacific Blue
Molar ratio	Pacific Blue / Ig: 5.9-7.6
λ excitation	405 nm
Emission Peak	455 nm
Buffer	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA and 0.1% NaN_3

IOTest
Conjugated Antibody
Anti-HLA-DR
-Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0.5 mL, 10 µL / test

For *in vitro* diagnostic use.

INTENDED USE

This fluorochrome-conjugated antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the HLA-DR antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

PRINCIPLE

This test is based on the ability of specific monoclonal antibodies to bind to the antigenic determinants expressed by leucocytes.

Specific staining of the leucocytes is performed by incubating the sample with the IOTest reagent. The red cells are then removed by lysis and the leucocytes, which are unaffected by this process, are analyzed by flow cytometry.

The flow cytometer measures light diffusion and the fluorescence of cells. It makes possible the delimitation of the population of interest within the electronic window defined on a histogram, which correlates the orthogonal diffusion of light (Side Scatter or SS) and the diffusion of narrow-angle light (Forward Scatter or FS). Other histograms combining two of the different parameters available on the cytometer can be used as supports in the gating stage depending on the application chosen by the user.

The fluorescence of the delimited cells is analyzed in order to distinguish the positively-stained events from the unstained ones. The results are expressed as a percentage of positive events in relation to all the events acquired by the gating.

INTENDED USER

This product is intended for laboratory professional use.

CLINICAL RELEVANCE

The Anti-HLA-DR-Pacific Blue is a Anti-HLA-DR antibody used to identify and characterize cells expressing the HLA-DR antigen by flow cytometry. This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.

When used in combination with other markers, this product can be used in one or more of the following functions:

- To aid in the differential diagnosis of hematologically abnormal patients suspected of having hematopoietic neoplasm and to monitor patients with known hematopoietic neoplasm.
- To aid in diagnosis of patients with suspected immunodeficiency and monitor patients with known immunodeficiency.
- To monitor patients with known autoimmune disease or disorder.
- To monitor transplantation process or results.

See following references :

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

SAMPLES

Venous blood must be taken using sterile tubes containing an EDTA salt as the anticoagulant.

The samples should be kept at room temperature (18 – 25°C) and not shaken. The samples should be homogenized by gentle agitation prior to taking the test sample.

The samples must be analyzed within 24 hours of venipuncture.

CONCENTRATION

See lot specific Certificate of Analysis at www.beckman.com.

WARNING AND PRECAUTIONS

1. Do not use the reagent beyond the expiry date.
2. Do not freeze.

3. Let it come to room temperature (18 – 25°C) before use.
4. Minimize exposure to light.
5. Avoid microbial contamination of the reagents, or false results may occur.
6. Antibody solutions containing sodium azide (NaN_3) should be handled with care. Do not take internally and avoid all contact with the skin, mucosa and eyes.

   Moreover, in an acid medium, sodium azide can form the potentially dangerous hydrazoic acid. If it needs to be disposed of, it is recommended that the reagent be diluted in a large volume of water before pouring it into the drainage system so as to avoid the accumulation of sodium azide in metal pipes and to prevent the risk of explosion.
7. All blood samples must be considered as potentially infectious and must be handled with care (in particular: the wearing of protective gloves, gowns and goggles).
8. Never pipet by mouth, and avoid all contact of the samples with the skin, mucosa and eyes.
9. Blood tubes and disposable material used for handling should be disposed of in ad hoc containers intended for incineration.
10. Reagents and waste should be eliminated according to local requirements.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

SDS Safety Data Sheet is available at beckmancoulter.com/techdocs

STORAGE AND STABILITY

This reagent must be kept at between 2 and 8°C and protected from light, before and after the vial has been opened.

Closed vial shelf life per stability study: 1095 days.

Stability of opened vial: the reagent is stable for 180 days.

EVIDENCE OF DETERIORATION

Any change in the physical appearance of the reagents may indicate deterioration and the reagent should not be used.

For additional information, or if damaged product is received, call Beckman Coulter Customer Service at 800-742-2345 (USA or Canada) or contact your local Beckman Coulter Representative.

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).
To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

MATERIALS NEEDED BUT NOT SUPPLIED WITH KIT:

- Sampling tubes and material necessary for sampling.
- Automatic pipettes with disposable tips for 10, 100 and 500 µL.
- Plastic haemolysis tubes.
- Red cell lysis reagent with washing stage after lysis. For example: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leucocyte fixation reagent. For example : IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800).
- Isotype control Pacific Blue : IOTest reagent (Ref. A74764).
- Buffer (PBS: 0.01 M sodium phosphate; 0.145 M sodium chloride; pH 7.2).
- Centrifuge.
- Automatic agitator (Vortex type).
- Flow cytometer.

PROCEDURE WITH VERSALYSE REAGENT

For each sample analyzed, in addition to the test tube, one control tube can be added in which the cells are mixed in the presence of the isotype control (Ref. A74764).

1. Add 10 µL of specific IOTest conjugated antibody to each test tube and if necessary, 10 µL of the isotype control to each control tube.
2. Add 100 µL of the test sample to each tube. Vortex the tubes gently.
3. Incubate for 15 to 20 minutes at room temperature (18 – 25°C), protected from light.
4. Then perform lysis of the red cells. Refer to VersaLyse (Ref. A09777) leaflet and follow preferably the procedure called “with concomitant fixation”, which consists of adding 1 mL of the “Fix-and-Lyse” mixture prepared extemporaneously. Vortex immediately for one second and incubate for 10 minutes at room temperature, protected from light.
5. Centrifuge for 5 minutes at 150 x g at room temperature.
6. Remove the supernatant by aspiration.
7. Resuspend the cell pellet using 3 mL of PBS.
8. Repeat step 5.
9. Remove the supernatant by aspiration and resuspend the cell pellet using:

- 0.5 mL or 1 mL of PBS plus 0.1% of formaldehyde if the preparations are to be kept less than 24 hours. (A 0.1% formaldehyde PBS can be obtained by diluting 12.5 µL of the IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800) at its 10X concentration in 1 mL of PBS).
- 0.5 mL or 1 mL of PBS without formaldehyde, if the preparations are to be analyzed within 2 hours.

Note: In all cases, keep the preparations between 2 and 8°C and protected from light.

EXPECTED VALUES

In our laboratories, the whole blood samples of 25 apparently healthy donors were treated using the reagent described above. The results obtained for the count of the positive events of interest with this reagent are given in the table below :

Positive Target	Number	Mean (%)	SD	CV (%)
Lymphocytes	25	26.53	12.71	47.92
Monocytes	25	97.02	2.77	2.86

These values are intended to be representative only. Each laboratory should establish its own expected values from the local population of normal donors.

PERFORMANCE

Performance data are obtained using the procedure described above on less than 24 hour-old blood samples previously collected in sterile tubes with EDTA salt as anticoagulant. Analysis is performed within 2 hours following immunostaining.

SPECIFICITY

The monoclonal antibody Immu357 recognizes an epitope carried on a monomorphic 29 - 33 kDa protein identified as HLA-DR. The HLA system (Human Leucocyte Antigen) is the name given to the major histocompatibility complex (MHC) in humans. Coded by 5 loci (DM, DO, DP, DQ and DR) of the D locus, HLA class II molecules are also called HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ and HLA-DR antigens (13,14). Expression of class II antigens is limited to antigen-presenting cells, i.e. B lymphocytes, monocytes / macrophages, dendritic and Langerhans cells of the skin (14,15). On T lymphocytes, the HLA-DR antigen is only expressed after activation (16). Stem cells and haemopoietic progenitors express it up to a certain stage in their differentiation (14,17).

PRECISION

The percent positive values were determined using Whole Blood. Each sample was run 4 times, twice a day for 1 day on 2 instruments using 2 lots of Anti-HLA-DR-Pacific Blue Monoclonal Antibody Reagents. Measurements (% positive) were made on Navios flow cytometer. Analysis was conducted based on the CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.

Our acceptance criteria is dependent on the number of positive events measured for each population:

- If positive event <1500, CV <15%
- If positive event >1500, CV <10%

Lymphocytes							
Number of positive events (Mean) = 1154							
	Inter-Operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-run	Intra-run	Total
CV (%)	1.99	3.40	3.26	0.78	0.87	2.43	4.77
RESULTS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monocytes							
Number of positive events (Mean) = 1197							
	Inter-Operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-run	Intra-run	Total
CV (%)	0.15	0.49	0.42	0.12	0.11	0.38	0.65
RESULTS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURACY

The accuracy of Anti-HLA-DR-Pacific Blue was assessed by comparing the results with a reference reagent as the predicate on a set of whole blood samples run on a Navios flow cytometer. The bias between test and reference reagent was determined based on the difference between test results. If the bias is within the allowable error range or the p-value indicates no significant difference (> 0.05), then test results for the two reagents are considered as equivalent.

The results obtained are summarized in the following table below:

Number of donors = 25				
Positive Target	Mean Δ	Δ % Cell criteria	p-value	RESULTS
Lymphocytes	-0.26	<5	0.557	PASS
Monocytes	1.04	<5	1.191	PASS

LIMIT OF BLANK AND LIMIT OF DETECTION

A study was conducted in accordance with CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures. The Limit of Detection (LOD) is the lowest concentration of analyte that can be consistently detected. Results obtained are summarized in the following table:

Positive Target	Limit of Blank (cell/µL)	Limit of Detection (cell/µL)
Lymphocytes	2	4
Monocytes	1	3

LIMITATIONS

1. Flow cytometry may produce false results if the cytometer has not been aligned perfectly, if fluorescence leaks have not been correctly compensated for and if the regions have not been carefully positioned.
2. It is preferable to use a RBC lysis technique with a washing step, as this reagent has not been optimized for "no wash" lysis techniques.

3. Accurate and reproducible results will be obtained as long as the procedures used are in accordance with the technical insert leaflet and compatible with good laboratory practices.
4. The conjugated antibody of this reagent is calibrated so as to offer the best specific signal/non-specific signal ratio. Therefore, it is important to adhere to the reagent volume/sample volume ratio in every test.
5. In the case of a hyperleucocytosis, dilute the blood in PBS so as to obtain a value of approximately 5 x 10^9 leucocytes/L (18).
6. In certain disease states, such as severe renal failure or haemoglobinopathies, lysis of red cells may be slow, incomplete or even impossible. In this case, it is recommended to isolate mononucleated cells using a density gradient (Ficoll, for example) prior to staining (19).
7. In patients treated with anti-human monoclonal antibody therapies, detection of the specific targeted antigens may be diminished or absent due to partial or complete blocking by the therapeutic antibody.
8. The Anti-HLA-DR-Pacific Blue results should be interpreted in light of the total clinical presentation of the patient, including: symptoms, clinical history, data from additional tests, and other appropriate information.

See the Appendix for examples and references.

TRADEMARKS

Beckman Coulter, the stylized logo, and the Beckman Coulter product and service marks mentioned herein are trademarks or registered trademarks of Beckman Coulter, Inc. in the United States and other countries.

Pacific Blue is a trademark of Molecular Probes, Inc.

ADDITIONAL INFORMATION

For a patient/user/third party in the European Union and in countries with identical regulatory regime (Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices); if, during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorized representative and to your national authority.

The Summary of Safety and Performance is available from the EUDAMED database: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISION HISTORY

REVISION AC:	Release date : October 2019

REVISION	**Release Date**
AW	February 2022
Updates to comply with the Beckman Coulter Global labelling Policy and according to IVD-R (EU)2017/746 requirements:	
Added sections	BSI 2797 Number, Intended User, Clinical Relevance, Concentration, Precision, Accuracy, Limit of blank and limit of detection, Additional Information, Revision History.
Added information	See sections Limitations
Phrasing or typographic updates	See sections Procedure, Performance, Limitations, Warning and Precautions, Storage and Stability.
Removed sections	Example of clinical applications, Reagents, Intra-laboratory reproducibilty, Linearity
Updated sections	Intended Use, GHS Hazard Classification, Evidence of deterioration, Procedure, Appendix.

REVISION	**Release Date**
AX	April 2023
Updated sections	Add Kazakh
Updated sections	Storage and stability

Revised Version	AY
Revised Date	May 2024
Updated Translations	**Clinical relevance :**
Updated sections	Revision History

Revised Version	AZ
Revised Date	July 2024
Updated sections	Revision History

Symbols Key

Glossary of Symbols is available at beckman.com/techdocs (document number B60062)

	Spécifications
Spécificité	HLA-DR
Clone	Immu-357
Hybridome	X63 x balb/c
Immunogène	EBV-transformed cell line
Immunoglobuline	IgG1
Espèce	Souris
Purification	Chromatographie d'affinité
Fluorochrome	Pacific Blue
Rapport molaire	Pacific Blue/Ig : 5,9-7,6
Excitation λ	405 nm
Pic d'émission	455 nm
Solution tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA et 0,1 % NaN_3

IOTest
Anticorps conjugué Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Pour un usage diagnostique *in vitro.*

UTILISATION

Cet anticorps conjugué-fluorochrome permet l'identification qualitative non automatisée des populations de cellules exprimant l'antigène HLA-DR présent dans les échantillons biologiques humains à l'aide d'une cytométrie en flux (voir la section « Échantillons » ci-dessous).

PRINCIPE

Ce test est fondé sur la capacité d'anticorps monoclonaux spécifiques de se lier à des déterminants antigéniques exprimés par les leucocytes.

Une coloration spécifique des leucocytes est effectuée en incubant l'échantillon avec le réactif IOTest. Les globules rouges sont ensuite supprimés par lyses et les leucocytes, qui ne sont pas affectés par cette procédure, sont analysés par cytométrie en flux.

Le cytomètre en flux mesure la diffusion de la lumière et la fluorescence des cellules. Il rend possible la délimitation de la population d'intérêt au sein de la fenêtre électronique définie sur un histogramme, qui met en corrélation la diffusion orthogonale de la lumière (diffusion latérale ou SS) et la diffusion de la lumière en angle étroit (dispersion avant ou FS). D'autres histogrammes combinant deux des différents paramètres disponibles sur le cytomètre peuvent être utilisés comme supports dans la phase de gating en fonction de l'application choisie par l'utilisateur.

La fluorescence des cellules délimitées est analysée de manière à distinguer les événements colorés positifs de ceux qui ne le sont pas. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'événements positifs par rapport à tous les événements acquis grâce à la méthode de gating.

UTILISATEUR PRÉVU

Ce produit est destiné à un usage professionnel en laboratoire.

PERTINENCE CLINIQUE

Le Anti-HLA-DR-Pacific Blue est un anticorps Anti-HLA-DR utilisé pour identifier et caractériser les cellules exprimant l'antigène HLA-DR par cytométrie en flux. Ce produit seul ne peut pas et n'est pas destiné à tirer des conclusions diagnostiques.

Lorsqu'il est utilisé conjointement avec d'autres marqueurs, ce produit peut être utilisé pour l'une ou plusieurs des fonctions suivantes :

- Aider au diagnostic différentiel des patients ayant une hématologie anormale et suspectés d'être atteints d'un néoplasme hématopoïétique et surveiller les patients atteints d'un néoplasme hématopoïétique connu.
- Aider au diagnostic des patients suspectés d'immunodéficience et surveiller les patients avec une immunodéficience connue.
- Surveiller les patients atteints d'un trouble ou d'une maladie auto-immune connu.
- Surveiller la procédure de greffe ou les résultats.

Voir les références suivantes :

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

ÉCHANTILLONS

Le sang veineux doit être prélevé avec des tubes stériles contenant un sel EDTA comme anticoagulant.

Les échantillons doivent être conservés à température ambiante (18–25 °C) et ne doivent pas être agités. Les échantillons doivent être homogénéisés par agitation douce avant de prélever l'échantillon de test.

Les échantillons doivent être analysés dans les 24 heures qui suivent la ponction veineuse.

CONCENTRATION

Voir le certificat d'analyse du lot spécifique sur www.beckman.com.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Ne pas utiliser le réactif au-delà de la date de péremption.
2. Ne pas congeler.
3. Laisser le réactif passer à la température ambiante (18–25 °C) avant de l'utiliser.

4. Minimiser l'exposition à la lumière.
5. Éviter la contamination microbienne des réactifs, ou des résultats erronés peuvent se produire.
6. Les solutions d'anticorps contenant de l'azide de sodium (NaN_3) doivent être manipulées avec précautions. Ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau, les muqueuses et les yeux.

   En outre, dans un milieu acide, l'azide de sodium peut former le potentiellement dangereux acide hydrazoïque. S'il doit être éliminé, il est recommandé de diluer le réactif dans un grand volume d'eau avant de le verser dans le système de drainage afin d'éviter l'accumulation d'azide de sodium dans les tubes métalliques et de prévenir le risque d'explosion.
7. Tous les échantillons de sang doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés avec soin (en particulier : port de gants, de blouses et de lunettes de protection).
8. Ne jamais pipetter avec la bouche et éviter tout contact des échantillons avec la peau, les muqueuses et les yeux.
9. Les tubes de prélèvement sanguin et les matériaux jetables utilisés pour la manipulation doivent être éliminés dans des conteneurs appropriés prévus pour incinération.
10. Les réactifs et les déchets doivent être éliminés conformément aux exigences locales.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux

SDS La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVATION ET STABILITÉ

Ce réactif doit être conservé entre 2 et 8 °C, à l'abri de la lumière, avant et après l'ouverture du flacon.

Durée de conservation du flacon fermé selon l'étude de stabilité : 1095 jours.

Stabilité du flacon ouvert : le réactif est stable pendant 180 jours.

PREUVE DE DÉTÉRIORATION

Tout changement de l'apparence physique des réactifs peut indiquer une détérioration et le réactif ne doit pas être utilisé.

Pour plus de renseignements ou si un produit défectueux est livré, appeler le service client de Beckman Coulter au 800-742-2345 (USA ou Canada), ou votre représentant de Beckman Coulter local.

CONTENU

Les agents de conservation à base d'azide de sodium peuvent former des composés explosifs dans les conduites d'évacuation métalliques. Voir le bulletin NIOSH : Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Dangers d'explosion de l'azide).
Pour éviter l'accumulation potentielle des composés d'azide, rincer les tuyaux d'évacuation à l'eau après l'élimination de réactifs non dilués. L'élimination de l'azide de sodium doit se faire conformément aux réglementations locales en vigueur.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI AVEC CE COFFRET:

- Les tubes d'échantillonnage et le matériel nécessaires pour l'échantillonnage.
- Pipettes automatiques aux embouts jetables pour 10, 100 et 500 µL.
- Tubes d'hémolyse en plastique.
- Réactif de lyse des érythrocytes avec étape de lavage post-lyse. Par exemple : VersaLyse (Réf. A09777).
- Réactif de fixation de leucocyte. Par exemple : Solution fixative IOTest 3 (Réf. A07800).
- Contrôle d'isotype Pacific Blue : Réactif IOTest (Réf. A74764).
- Tampon (PBS : 0,01 M phosphate de sodium ; 0,145 M chlorure de sodium ; pH 7,2).
- Centrifugeuse.
- Agitateur automatique (type vortex).
- Cytomètre en flux.

PROCÉDURE AVEC RÉACTIF VERSALYSE

Pour chaque échantillon analysé, en plus du tube de test, un tube de contrôle peut être ajouté dans lequel les cellules sont mélangées en présence du contrôle isotypique (Réf. A74764).

1. Ajouter 10 µL d'anticorps conjugué spécifique IOTest à chaque tube de test et si nécessaire,10 µL de contrôle isotypique dans chaque tube de contrôle.
2. Ajouter 100 µL de l'échantillon à tester dans chaque tube. Vortexer doucement les tubes.
3. Incuber pendant 15 à 20 minutes à température ambiante (18–25 °C), à l'abri de la lumière.
4. Puis effectuer la lyse des globules rouges. Consulter la notice VersaLyse (Réf. A09777) et suivre de préférence la procédure appelée « with concomitant fixation » (avec fixation concomitante), qui consiste à ajouter 1 mL du mélange « Fixer et Lyser » préparé à n'importe quel moment. Vortexer immédiatement pendant une seconde et incuber pendant 10 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière.
5. Centrifuger pendant 5 minutes à 150 x g à température ambiante.
6. Retirer le surnageant par aspiration.
7. Remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant 3 mL de PBS.
8. Répéter l'étape 5.
9. Éliminer le liquide surnageant par aspiration et remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant :

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS plus 0,1 % de formaldéhyde si les préparations doivent être conservées moins de 24 heures. (Un PBS à 0,1 % de formaldéhyde peut être obtenu en diluant 12,5 µL de solution de fixation IOTest 3 (Réf. A07800) à 10 fois sa concentration dans 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sans formaldéhyde, si les préparations doivent être analysées dans les 2 heures.

Remarque : dans tous les cas, conserver les préparations entre 2 et 8 °C et à l'abri de la lumière.

VALEURS ATTENDUES

Dans nos laboratoires, les échantillons de sang total de 25 donneurs apparemment sains ont été traités à l'aide du réactif décrit ci-dessus. Les résultats obtenus pour le compte des événements positifs d'intérêt pour ce réactif sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Cible positive	Nombre	Moyenne (%)	ET (Écart type)	CV (%)
Lymphocytes	25	26,53	12,71	47,92
Monocytes	25	97,02	2,77	2,86

Ces valeurs sont censées être uniquement représentatives. Chaque laboratoire doit établir ses valeurs attendues à partir d'une population locale de donneurs normaux.

PERFORMANCE

Les données de performance sont obtenues à l'aide de la procédure décrite ci-dessus sur des échantillons de sang de moins de 24 heures préalablement collectés dans des tubes stériles contenant du sel EDTA comme anticoagulant. L'analyse est effectuée dans les 2 heures suivant l'immunocoloration.

SPÉCIFICITÉ

L'anticorps monoclonal Immu357 reconnaît un épitope situé sur une protéine monomorphe de 29-33 kDa identifiée comme HLA-DR. Le système HLA (Human Leucocyte Antigen) est le nom donné au complexe d'histocompatibilité majeur (MHC) chez les humains. Codées par 5 loci (DM, DO, DP, DQ et DR) du locus D, les molécules HLA de classe II sont également appelées antigènes HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ et HLA-DR (13,14). L'expression des antigènes de la classe II est limitée aux cellules présentant des antigènes, c'est-à-dire lymphocytes B, monocytes/macrophages, dendritiques et cellules de Langerhans de l'épiderme (14,15). Sur les lymphocytes T, l'antigène HLA-DR est seulement exprimé après activation (16). Les cellules souches et les progéniteurs hématopoïétiques l'expriment jusqu'à un certain stade de leur différenciation (14,17).

PRÉCISION

Les valeurs de percentile positives ont été déterminées à l'aide de sang total. Chaque échantillon a été analysé 4 fois, deux fois par jour pendant 1 jour sur 2 instruments à l'aide de 2 lots de réactifs d'anticorps monoclonal Anti-HLA-DR-Pacific Blue. Les mesures (% positif) ont été effectuées sur le cytomètre en flux Navios. L'analyse a été conduite conformément au document CLSI Méthode EP5-A2 : Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Évaluation de la performance de précision des méthodes de mesures quantitatives).

Notre critère d'acceptation est dépendant du nombre d'événements positifs mesurés pour chaque population :

- Si événement positif < 1 500, CV < 15 %
- Si événement positif > 1 500, CV < 10 %

Lymphocytes							
Nombre d'événements positifs (Moyenne) = 1154							
	Inter-opérateur	Inter-cytomètre	Intra-lot	Inter-lot	Inter-analyse	Intra-analyse	Total
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
RÉSULTATS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monocytes							
Nombre d'événements positifs (Moyenne) = 1197							
	Inter-opérateur	Inter-cytomètre	Intra-lot	Inter-lot	Inter-analyse	Intra-analyse	Total
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
RÉSULTATS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUDE

L'exactitude de Anti-HLA-DR-Pacific Blue a été évaluée en comparant les résultats avec un réactif de référence comme prédicat sur un ensemble d'échantillons de sang total analysé sur un cytomètre en flux Navios. L'écart systématique entre le test et le réactif de référence a été déterminé en fonction de la différence entre les résultats du test. Si l'écart systématique se situe dans la plage d'erreurs autorisée ou que la valeur p n'indique aucune différence significative (> 0,05), alors les résultats du test pour les deux réactifs sont considérés comme équivalent.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Nombre de donneurs = 25				
Cible positive	Moyenne Δ	Critères de cellules Δ %	Valeur-p	RÉSULTATS
Lymphocytes	-0,26	<5	0,557	PASS
Monocytes	1,04	<5	1,191	PASS

LIMITE DU BLANC ET LIMITE DE DÉTECTION

Une étude a été conduite conformément au document CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Évaluation des capacités de détection des procédures de mesures biologiques cliniques). La limite de détection (LOD) est la concentration la plus basse d'analyte qui peut être systématiquement détectée. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Positive Target	Limite du blanc (cellules/µL)	Limite de détection (cellules/µL)
Lymphocytes	2	4
Monocytes	1	3

LIMITES

1. La cytométrie en flux peut produire des résultats erronés si le cytomètre n'a pas été parfaitement aligné, si les fuites de fluorescence n'ont pas été correctement compensées et si les régions n'ont pas été soigneusement positionnées.
2. Il est préférable d'utiliser une technique de lyse des GR comprenant une étape de lavage, comme ce réactif n'a pas été optimisé pour les techniques de lyse « sans lavage ».
3. Des résultats précis et reproductibles seront obtenus tant que les procédures utilisées sont en conformité avec la notice technique et compatibles avec les bonnes pratiques de laboratoire.
4. L'anticorps conjugué de ce réactif est étalonné de manière à offrir le meilleur ratio de signal spécifique/signal non spécifique. Par conséquent, il est important de respecter le ratio de volume de réactif/volume d'échantillon à chaque test.
5. En cas d'hyperleucocytose, diluer le sang dans du PBS de façon à obtenir une valeur d'approximativement 5 x 10^9 leucocytes/L (18).
6. Dans certains états pathologiques, tels qu'une grave insuffisance rénale ou une hémoglobinopathie, la lyse des globules rouges peut être lente, incomplète ou même impossible. Dans ce cas, il est recommandé d'isoler les cellules mononucléées à l'aide d'un gradient de densité (Ficoll, par exemple) avant la coloration (19).
7. Chez les patients traités par thérapie d'anticorps monoclonal anti-humain, la détection d'antigènes ciblés spécifiques peut être diminuée ou absente en raison d'un blocage partiel ou total par l'anticorps thérapeutique.
8. Les résultats de Anti-HLA-DR-Pacific Blue doivent être interprétés à la lumière du tableau clinique complet du patient, y compris : les symptômes, l'anamnèse, les résultats de tests supplémentaires et toute autre information appropriée.

Voir l'annexe pour des exemples et des références.

MARQUES

Beckman Coulter, le logo stylisé et les marques des produits et des services Beckman Coulter mentionnées ici sont des marques ou des marques déposées de Beckman Coulter, Inc. aux États-Unis et dans d'autres pays.

Pacific Blue est une marque de Molecular Probes, Inc.

INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES

Pour un patient/utilisateur/tiers de l'Union européenne et des pays ayant le même régime réglementaire (Règlement 2017/746/UE relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro) ; si, lors de l'utilisation de ce dispositif ou suite à son utilisation, un incident important se produit, veuillez le rapporter au fabricant et/ou à son représentant autorisé et à l'autorité nationale de votre pays.

Le Summary of Safety and Performance (Résumé de sécurité et de performance) est disponible sur la base de données EUDAMED : ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

RÉVISION AC :	Date de publication : octobre 2019

RÉVISION	**Date de publication**
AW	Février 2022
Mises à jour pour se conformer aux exigences de la politique d'étiquetage générale de Beckman Coulter et aux exigences IVD-R (UE)2017/746 :	
Ajout de sections	Numéro BSI 2797, Utilisateur prévu, Pertinence clinique, Concentration, Exactitude, Précision, Limite du blanc et limite de détection, Informations supplémentaires, Historique de révisions.
Ajout d'informations	Voir les sections Limites
Mises à jour typographiques et de formulations	Voir les sections Procédure, Performance, Limites, Avertissement et précautions, Conservation et stabilité.
Suppression de sections	Exemple d'applications cliniques, réactifs, reproductibilité intra-laboratoire, linéarité
Sections mises à jour	Utilisation, Classification des risques SGH, Preuve de détérioration, Procédure, Annexe.

RÉVISION	**Date de publication**
AX	Avril 2023
Sections mises à jour	Ajouter le kazakh
Sections mises à jour	Conservation et stabilité

Version révisée	AY
Date de révision	Mai 2024
Traductions mises à jour	**Pertinence clinique :**
Sections mises à jour	Historique des révisions

Version révisée	AZ
Date de révision	Juillet 2024
Sections mises à jour	Historique des révisions

Légende des symboles

Un glossaire des symboles est disponible sur beckmancoulter.com/techdocs (document numéro B60062)

	Spezifikationen
Spezifität	HLA-DR
Klon	Immu-357
Hybridom	X63 x balb/c
Immunogen	EBV-transformed cell line
Immunglobulin	IgG1
Spezies	Maus
Aufreinigung	Affinitätschromatographie
Fluorochrom	Pacific Blue
Molverhältnis	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
λ-Anregung	405 nm
Emissionspeak	455 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA und 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugierter Antikörper Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

***In-vitro*-Diagnostikum.**

VERWENDUNGSZWECK

Dieser mit einem Fluorochrom konjugierte Antikörper ermöglicht mithilfe der Durchflusszytometrie eine qualitative und nicht automatisierte Identifikation von Zellpopulationen, die das HLA-DR-Antigen exprimieren, das in biologischen Proben menschlicher Herkunft vorhanden ist (siehe den Abschnitt „Proben“ unten).

PRINZIP

Dieser Test basiert auf der Fähigkeit bestimmter monoklonaler Antikörper, an die durch Leukozyten exprimierten antigenen Determinanten zu binden.

Die spezifische Färbung der Leukozyten erfolgt durch Inkubation der Probe mit dem IOTest-Reagenz. Die Erythrozyten können dann mittels Lyse entfernt werden. Die von diesem Vorgang unberührten Leukozyten werden mittels Durchflusszytometrie analysiert.

Das Durchflusszytometer misst die Lichtstreuung und die Fluoreszenz der Zellen. Es ermöglicht die Abgrenzung der gewünschten Population innerhalb des auf einem Histogramm definierten elektronischen Fensters, welches die orthogonale Lichtstreuung (Seitwärtsstreuung, SW) und die Streuung des Lichts im flachen Winkel (Vorwärtsstreuung, VW) in Beziehung zueinander setzt. Andere Histogramme, die zwei der auf dem Zytometer verfügbaren Parameter kombinieren, können zur Unterstützung beim Gating eingesetzt werden, je nachdem welche Anwendung der Benutzer ausgewählt hat.

Die Fluoreszenz der einzelnen Zellen wird analysiert, um die positiv angefärbten Ereignisse von den nicht angefärbten zu unterscheiden. Die Ergebnisse werden als Prozentsatz positiver Ereignisse relativ zu allen durch das Gating erfassten Ereignissen angegeben.

VORGESEHENER BENUTZER

Dieses Produkt ist für den Einsatz durch Laborfachkräfte vorgesehen.

KLINISCHE RELEVANZ

Anti-HLA-DR-Pacific Blue ist ein Anti-HLA-DR-Antikörper zur durchflusszytometrischen Identifikation und Charakterisierung von Zellen, die das HLA-DR-Antigen exprimieren. Es ist weder möglich noch vorgesehen, alleine anhand dieses Produkts zu einer diagnostischen Schlussfolgerung zu kommen.

Bei Verwendung in Verbindung mit anderen Markern kann dieses Produkt für einen oder mehrere der folgenden Zwecke eingesetzt werden:

- Als Hilfsmittel zur Differenzialdiagnose von hämatologisch anormalen Patienten mit Verdacht auf ein hämatopoetisches Neoplasma und zur Überwachung von Patienten mit bestätigtem hämatopoetischem Neoplasma.
- Als Hilfsmittel zur Diagnose von Patienten mit Verdacht auf Immundefizienz und zur Überwachung von Patienten mit bestätigter Immundefizienz.
- Zur Überwachung von Patienten mit bestätigter Autoimmunerkrankung oder -störung.
- Zur Überwachung von Transplantationsverfahren bzw. -ergebnissen.

Siehe die nachstehenden Literaturhinweise:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

PROBEN

Venöses Blut muss mit sterilen Röhrchen entnommen werden, die ein EDTA-Salz als Antikoagulanz enthalten.

Die Proben bei Raumtemperatur (18–25 °C) aufbewahren und nicht schütteln. Die Proben vor Entnahme der Testprobe durch vorsichtiges Schütteln homogenisieren.

Die Proben müssen innerhalb von 24 Stunden analysiert werden.

KONZENTRATION

Siehe das chargenspezifische Analysezertifikat unter www.beckman.com.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Das Reagenz nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden.
2. Nicht einfrieren.

3. Vor der Verwendung auf Raumtemperatur (18–25 °C) bringen.
4. Vor Licht schützen.
5. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien muss vermieden werden, damit kein falsches Ergebnis erzielt wird.
6. Antikörperlösungen, die Natriumazid (NaN_3) enthalten, vorsichtig handhaben. Nicht einnehmen und Berührungen mit Haut, Schleimhäuten und Augen vermeiden.

   Zudem kann Natriumazid in einem sauren Medium zur Bildung potenziell gefährlicher Stickstoffwasserstoffsäure führen. Zur Entsorgung des Reagenzes wird empfohlen, das Reagenz mit viel Wasser zu verdünnen, bevor es in das Abwassersystem gegossen wird, um einer Ansammlung von Natriumazid in den Metallrohren und dem Risiko einer Explosion vorzubeugen.
7. Blutproben sind als potenziell infektiös zu betrachten und müssen mit Vorsicht gehandhabt werden (insbesondere durch Tragen von Schutzhandschuhen, -kittel und -brille).
8. Niemals mit dem Mund pipettieren und jeglichen Kontakt der Proben mit Haut, Schleimhaut und Augen vermeiden.
9. Blutröhrchen und Einwegmaterial, das zur Handhabung verwendet wird, müssen in dafür vorgesehenen, für die Verbrennung bestimmten Behältern entsorgt werden.
10. Reagenzien und Abfälle sind entsprechend den örtlichen Anforderungen zu entsorgen.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft

SDS Das Sicherheitsdatenblatt ist auf beckmancoulter.com/techdocs verfügbar.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Dieses Reagenz muss vor und nach dem Öffnen des Fläschchens lichtgeschützt zwischen 2 und 8 °C gelagert werden.

Haltbarkeit der geschlossenen Durchstechflasche gemäß Stabilitätsstudie: 1095 Tage.

Stabilität geöffneter Fläschchen: Das Reagenz ist 180 Tage lang stabil.

VERFALLSANZEICHEN

Ein verändertes Aussehen der Reagenzien kann ein Verfallsanzeichen sein. Entsprechende Reagenzien dürfen nicht verwendet werden.

Wenn Sie weitere Informationen wünschen oder falls das Produkt beschädigt bei Ihnen eintrifft, setzen Sie sich (innerhalb der USA und Kanada) unter der Rufnummer 800-742-2345 mit dem Kundendienst von Beckman Coulter bzw. außerhalb dieser Länder mit dem für Sie zuständigen Beckman Coulter-Mitarbeiter in Verbindung.

INHALT

Natriumazid als Konservierungsmittel kann in metallischen Abflussleitungen explosive Verbindungen bilden. Siehe NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (NIOSH-Bulletin: Gefahr durch explosive Azide).
Um eine mögliche Akkumulation von Azidverbindungen zu vermeiden, die Abwasserrohre nach der Entsorgung von unverdünntem Reagenz mit Wasser spülen. Natriumazid muss entsprechend den örtlichen behördlichen Vorschriften entsorgt werden.

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT IM KIT ENTHALTENE ARTIKEL:

- Probenahmeröhrchen und für die Probenahme benötigte Materialien.
- Automatische Pipetten mit Einwegspritzen für 10, 100 und 500 µL.
- Hämolyseröhrchen aus Kunststoff.
- Reagenz zur Lyse der Erythrozyten mit Waschstufe nach der Lyse. Beispiel: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagenz zur Leukozytenfixierung. Beispiel: IOTest 3-Fixierungslösung (Ref. A07800).
- Isotypkontrolle Pacific Blue: IOTest-Reagenz (Ref. A74764).
- Puffer (PBS: 0,01 M Natriumphosphat; 0,145 M Natriumchlorid; pH 7,2).
- Zentrifuge.
- Automatisches Mischgerät (Typ Vortex-Mischer).
- Durchflusszytometer.

VERFAHREN MIT VERSALYSE-REAGENZ

Für jede analysierte Probe kann zusätzlich zum Teströhrchen noch ein Kontrollröhrchen verwendet werden, in dem die Zellen in Gegenwart der Isotypkontrolle (Ref. A74764) gemischt werden.

1. 10 µL des spezifischen konjugierten IOTest-Antikörpers in jedes Teströhrchen und bei Bedarf 10 µL der Isotypkontrolle in jedes Kontrollröhrchen geben.
2. 100 µL der Testprobe in jedes Röhrchen geben. Die Röhrchen sachte mittels Vortex-Mischer mischen.
3. Bei Raumtemperatur (18–25 °C) 15 bis 20 Minuten lang lichtgeschützt inkubieren.
4. Im Anschluss die Erythrozyten lysieren. Das Merkblatt für VersaLyse (Ref. A09777) beachten und vorzugsweise das Verfahren mit dem Titel „with concomitant fixation“ (mit gleichzeitiger Fixierung) befolgen, das eine Zugabe von 1 mL des spontan zubereiteten „Fix-and-Lyse“(Fixierung und Lyse)-Gemisches vorsieht. Sofort eine Sekunde lang auf dem Vortex-Mischer mischen und 10 Minuten lang lichtgeschützt bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Bei 150 x g 5 Minuten lang bei Raumtemperatur zentrifugieren.
6. Den Überstand absaugen.
7. Das Zellpellet in 3 mL PBS resuspendieren.

8. Schritt 5 wiederholen.
9. Den Überstand absaugen und das Zellpellet resuspendieren mit:

- 0,5 mL oder 1 mL PBS plus 0,1 % Formaldehyd, wenn die Präparate weniger als 24 Stunden aufbewahrt werden sollen. (Ein 0,1%iges Formaldehyd-PBS-Gemisch kann hergestellt werden, indem 12,5 µL der IOTest 3-Fixierlösung (Ref. A07800) bei 10-facher Konzentration in 1 mL PBS verdünnt werden.)
- 0,5 mL oder 1 mL PBS ohne Formaldehyd, wenn die Präparate innerhalb von weniger als 2 Stunden analysiert werden sollen.

Hinweis: Die Präparate in jedem Fall zwischen 2 und 8 °C und vor Licht geschützt aufbewahren.

ERWARTETE WERTE

In unseren Laboren wurden die Vollblutproben von 25 scheinbar gesunden Spendern unter Verwendung des oben beschriebenen Reagenzes behandelt. Die Ergebnisse für die Anzahl der positiven Ereignisse von Interesse, die mit diesem Reagenz erzielt wurden, sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt:

Positives Ziel	Nummer	Mittelwert (%)	SD	VK (%)
Lymphozyten	25	26,53	12,71	47,92
Monozyten	25	97,02	2,77	2,86

Die Werte dienen nur zu Veranschaulichungszwecken. Jedes Labor muss anhand der örtlichen Population normaler Spender eigene erwartete Werte festlegen.

LEISTUNG

Leistungsdaten werden unter Anwendung des oben beschriebenen Verfahrens mit weniger als 24 Stunden alten Blutproben ermittelt, die zuvor in sterile Röhrchen mit EDTA-Salz als Antikoagulanz entnommen wurden. Die Analyse erfolgt innerhalb von 2 Stunden nach der Immunfärbung.

SPEZIFITÄT

Der monoklonale Antikörper Immu357 erkennt ein Epitop auf einem als HLA-DR identifizierten, monomorphen Protein mit 29 - 33 kDa. HLA-System (humane Leukozytenantigen) ist die Bezeichnung des Haupthistokompatibilitätskomplexes (MHC) des Menschen. Kodiert durch die 5 Loci (DM, DO, DP, DQ und DR) des D-Locus, werden die Moleküle der HLA Klasse II auch als HLA-DM-, HLA-DO-, HLA-DP-, HLA-DQ- und HLA-DR-Antigene bezeichnet (13,14). Die Expression von Klasse-II-Antigenen ist auf antigenpräsentierende Zellen, d. h. B-Lymphozyten, Monozyten/Makrophagen, dendritische und Langerhans-Zellen der Haut beschränkt (14,15). Das HLA-DR-Antigen wird auf T-Lymphozyten erst nach Aktivierung exprimiert (16). Stammzellen und hämatopoetischen Vorläufer exprimieren es bis zu einer bestimmte Stufe in ihrer Differenzierung (14,17).

PRÄZISION

Die prozentualen positiven Werte wurden unter Verwendung von Vollblut bestimmt. Jede Probe wurde zweimal täglich 1 Tag lang unter Verwendung von 2 Chargen der Reagenzien mit dem monoklonalen Antikörper Anti-HLA-DR-Pacific Blue 4 Mal auf 2 Instrumenten analysiert. Messungen (% positiv) wurden mit dem Navios-Durchflusszytometer vorgenommen. Die Analyse folgte den Vorgaben der CLSI-Methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Beurteilung der Präzisionsleistung von quantitativen Messmethoden).

Unsere Akzeptanzkriterien sind abhängig von der Anzahl an positiven Ereignissen, die für jede Population gemessen werden:

- Wenn positives Ereignis < 1 500, VK < 15 %
- Wenn positives Ereignis > 1 500, VK < 10 %

Lymphozyten							
Anzahl der positiven Ereignisse (Mittelwert) = 1154							
	Zwischen Bedienern	Zwischen Durchflusszytometern	Innerhalb einer Charge	Zwischen Chargen	Zwischen Läufen	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
VK (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
ERGEBNISSE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monozyten							
Anzahl der positiven Ereignisse (Mittelwert) = 1197							
	Zwischen Bedienern	Zwischen Durchflusszytometern	Innerhalb einer Charge	Zwischen Chargen	Zwischen Läufen	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
VK (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
ERGEBNISSE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit von Anti-HLA-DR-Pacific Blue wurde anhand eines Vergleichs der Ergebnisse mit einem Referenzreagenz als Prädikat für einen Satz aus Vollblutproben bewertet, die auf einem Navios-Durchflusszytometer analysiert wurden. Die Abweichung zwischen Test- und Referenzreagenz wurde auf der Grundlage der Differenz zwischen Testergebnissen bestimmt. Sollte die Abweichung innerhalb des zulässigen Fehlerbereichs liegen oder der p-Wert keine signifikante Differenz (> 0,05) nahelegen, gelten die Testergebnisse für die beiden Reagenzien als gleichwertig.

Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Anzahl der Spender = 25				
Positives Ziel	Mittelwert Δ	Δ % Zellkriterien	p-Wert	ERGEBNISSE
Lymphozyten	-0,26	<5	0,557	PASS
Monozyten	1,04	<5	1,191	PASS

GRENZWERT FÜR LEERWERT UND NACHWEISGRENZE

Es wurde eine Studie gemäß CLSI-Dokument EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluierung des Detektionsvermögens von klinischen Labormessverfahren), durchgeführt. Die Nachweisgrenze (LOD) ist die niedrigste Konzentration des Analyten, die durchweg nachgewiesen werden kann. Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Positive Target	Grenzwert für Leerwert (Zelle/µL)	Nachweisgrenze (Zelle/µL)
Lymphozyten	2	4
Monozyten	1	3

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Die Durchflusszytometrie kann falsche Ergebnisse liefern, wenn das Zytometer nicht perfekt ausgerichtet wurde, wenn Fluoreszenzlecks nicht korrekt kompensiert wurden und wenn die Bereiche nicht sorgfältig positioniert wurden.
2. Vorzugsweise sollte eine ERY-Lysetechnik mit einem Waschschritt angewandt werden, da dieses Reagenz nicht für Lysetechniken ohne Waschen optimiert wurde.
3. Genaue und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, sofern die verwendeten Verfahren der technischen Packungsbeilage entsprechen und mit der guten Laborpraxis kompatibel sind.
4. Der konjugierte Antikörper dieses Reagenzes ist so kalibriert, dass er das beste Verhältnis von spezifischem zu unspezifischem Signal bietet. Daher ist es wichtig, das Verhältnis Reagenzvolumen/Probenvolumen bei jedem Test einzuhalten.
5. Im Falle einer Hyperleukozytose das Blut in PBS verdünnen, um einen Wert von ungefähr 5 x 10^9 Leukozyten/L zu erhalten(18).
6. Bei bestimmten Krankheitszuständen, beispielsweise einem schweren Nierenversagen oder Hämoglobinopathien, kann die Lyse der Erythrozyten möglicherweise nur langsam oder unvollständig erfolgen oder sogar unmöglich sein. In diesem Fall empfiehlt es sich, vor dem Färben einkernige Zellen mittels eines Dichtegradienten (beispielsweise Ficoll) zu isolieren (19).
7. Bei Patienten, die sich Therapien mit anti-humanen monoklonalen Antikörpern unterziehen, kann das Nachweisvermögen für die spezifischen anvisierten Antigene aufgrund einer teilweisen oder vollständigen Blockierung durch die therapeutischen Antikörper vermindert sein oder gänzlich ausbleiben.
8. Die Ergebnisse für Anti-HLA-DR-Pacific Blue müssen unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde für den Patienten interpretiert werden, einschließlich Symptomen, klinischer Vorgeschichte, Daten zusätzlicher Tests sowie sonstiger relevanter Informationen.

Beispiele und Literaturhinweise siehe Anhang.

MARKEN

Beckman Coulter, das stilisierte Logo und die in diesem Dokument erwähnten Beckman Coulter-Produkt- und Dienstleistungsmarken sind in den USA und anderen Ländern Marken oder eingetragene Marken von Beckman Coulter, Inc.

Pacific Blue ist eine Marke von Molecular Probes, Inc.

WEITERE INFORMATIONEN

Für einen Patienten/Benutzer/Dritten in der Europäischen Union und in Ländern mit identischer Regulierungspraxis (Verordnung 2017/746/EU über In-vitro-Diagnostika) gilt Folgendes: Sollte es im Rahmen der Verwendung dieses Produktes oder infolge der Verwendung dieses Produktes zu einem schwerwiegenden Zwischenfall gekommen sein, ist dieser dem Hersteller und/oder dessen Bevollmächtigten sowie der nationalen Behörde zu melden.

Die „Summary of Safety and Performance“ (Bericht über Sicherheit und Leistung) kann aus der EUDAMED-Datenbank abgerufen werden: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSVERLAUF

REVISION AC:	Freigabedatum: Oktober 2019

REVISION	**Freigabedatum**
AW	Februar 2022
Aktualisierungen vorgenommen, um den Vorgaben der globalen Etikettierungsrichtlinie von Beckman Coulter und den Vorgaben nach IVD-R (EU) 2017/746 zu entsprechen:	
Abschnitte hinzugefügt	Nummer nach BSI 2797; Vorgesehener Benutzer; Klinische Anwendung; Konzentration; Präzision; Genauigkeit; Grenzwert für Leerwert und Nachweisgrenze; Weitere Informationen; Revisionsübersicht.
Informationen hinzugefügt	Siehe Abschnitt Einschränkungen
Formulierung oder Typografie aktualisiert	Siehe die Abschnitte Verfahren; Leistung; Einschränkungen; Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen; Lagerung und Stabilität.
Abschnitte gestrichen	Beispiel für klinische Anwendungen; Reagenzien; Reproduzierbarkeit innerhalb des Labors; Linearität
Aktualisierte Abschnitte	Verwendungszweck; GHS-Gefahrstoffklassifizierung; Verfallsanzeichen; Verfahren; Anhang.

REVISION	**Freigabedatum**
AX	April 2023
Aktualisierte Abschnitte	Kasachisch hinzufügen
Aktualisierte Abschnitte	Lagerung und Stabilität

Überarbeitete Version	AY
Überarbeitungsdatum	Mai 2024

Aktualisierte Übersetzungen	**Klinische Relevanz:**
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Überarbeitete Version	AZ
Überarbeitungsdatum	Juli 2024
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Liste der Symbole

Das Glossar der Symbole ist auf beckman.com/techdocs (Dokumentnummer B60062) verfügbar.

	Specifiche
Specificità	HLA-DR
Clone	Immu-357
Ibridoma	X63 x balb/c
Immunogeno	EBV-transformed cell line
Immunoglobulina	IgG1
Specie	Topo
Purificazione	Cromatografia di affinità
Fluorocromo	Pacific Blue
Rapporto molare	Pacific Blue / Ig: 5,9-7,6
Eccitazione λ	405 nm
Picco di emissione	455 nm
Tampone	PBS pH 7,2 più 2 mg/mL di BSA e NaN_3 0,1%

IOTest
Anticorpo coniugato Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Per uso diagnostico *in vitro.*

USO PREVISTO

Questo anticorpo coniugato con fluorocromo consente l'identificazione qualitativa e non automatizzata di popolazioni cellulari che esprimono l'antigene HLA-DR presente nei campioni biologici umani mediante citometria a flusso (vedere la sezione "Campioni" di seguito).

PRINCIPIO

Questo test si basa sulla capacità di specifici anticorpi monoclonali di legarsi ai determinanti antigenici espressi dai leucociti.

La colorazione specifica dei leucociti viene eseguita incubando il campione con il reagente IOTest. Gli eritrociti vengono quindi rimossi tramite lisi e i leucociti, non interessati da questo processo, vengono analizzati tramite citometria a flusso.

Il citometro a flusso misura la diffusione di luce e la fluorescenza delle cellule. Ciò consente la delimitazione della popolazione di interesse con la finestra elettronica definita in un istogramma, che correla la diffusione ortogonale della luce (scattering laterale o SS) e la diffusione della luce ad angolo stretto (scattering frontale o FS). Altri istogrammi che combinano due dei diversi parametri disponibili sul citometro possono essere usati come supporti nella fase di determinazione del gate in base alle applicazioni scelte dall'utente.

La fluorescenza delle cellule delimitate viene analizzata per distinguere gli eventi colorati in modo positivo e quelli non colorati. I risultati sono espressi come percentuale di eventi positivi in relazione a tutti gli eventi acquisiti mediante determinazione del gate.

UTENTE PREVISTO

Questo prodotto è destinato all'uso professionale in laboratorio.

RILEVANZA CLINICA

Anti-HLA-DR-Pacific Blue è un anticorpo Anti-HLA-DR utilizzato per identificare e caratterizzare le cellule che esprimono l'antigene HLA-DR mediante citometria a flusso. Questo prodotto da solo non può e non intende generare alcuna conclusione diagnostica.

Se impiegato in combinazione con altri marcatori, questo prodotto può essere utilizzato con una o più delle seguenti funzioni:

- Come supporto nella diagnosi differenziale di pazienti con anomalie ematologiche e sospetta neoplasia ematopoietica e nel monitoraggio di pazienti con neoplasia ematopoietica nota.
- Come supporto nella diagnosi di pazienti con sospetta immunodeficienza e nel monitoraggio di pazienti con immunodeficienza nota.
- Per monitorare i pazienti con malattie o disturbi autoimmuni noti.
- Per monitorare una procedura o i risultati di un trapianto.

Vedere i riferimenti seguenti:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

CAMPIONI

I campioni di sangue venoso devono essere prelevati utilizzando provette sterili contenenti un sale EDTA come anticoagulante.

I campioni devono essere conservati a temperatura ambiente (18-25 °C) e non devono essere agitati. I campioni devono essere omogeneizzati agitandoli con delicatezza prima di prelevare il campione per il test.

I campioni devono essere analizzati entro 24 ore dalla venipuntura.

CONCENTRAZIONE

Vedere il Certificato di analisi specifico del lotto sul sito www.beckman.com.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza.
2. Non congelare.
3. Prima dell'uso, portare a temperatura ambiente (18-25 °C).

4. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce.
5. Evitare la contaminazione microbica dei reagenti, poiché potrebbe falsare i risultati.
6. Le soluzioni di anticorpi che contengono sodio azide (NaN_3) devono essere maneggiate con cura. Non ingerire ed evitare qualsiasi contatto con cute, mucose e occhi.

   Inoltre, in un mezzo acido, il sodio azide può formare acido idrazoico, che è potenzialmente pericoloso. Per lo smaltimento, si consiglia di diluire il reagente in un grande volume di acqua prima di versarlo nell'impianto di scarico, in modo da evitare l'accumulo di sodio azide nelle tubazioni metalliche ed evitare il rischio di esplosione.
7. Tutti i campioni di sangue devono essere considerati potenzialmente infetti e devono essere maneggiati con cura (in particolare, indossando guanti, camici e occhiali protettivi).
8. Non pipettare mai usando la bocca ed evitare il contatto dei campioni con la pelle, le mucose e gli occhi.
9. Le provette per il sangue e i materiali monouso usati per la manipolazione devono essere smaltiti in appositi contenitori destinati all'inceneritore.
10. I reagenti e i rifiuti devono essere smaltiti conformemente alla normative locali.

CLASSIFICAZIONE DEI PERICOLI GHS

Classificato come non pericoloso

SDS La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile all'indirizzo beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Questo reagente deve essere mantenuto a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce, prima e dopo l'apertura della fiala.

Durata di conservazione della fiala chiusa secondo studi di stabilità: 1095 giorni.

Stabilità di una fiala aperta: il reagente è stabile per 180 giorni.

INDICI DI DETERIORAMENTO

Qualsiasi cambiamento dell'aspetto fisico dei reagenti può indicare un deterioramento. In tale caso, non utilizzare il reagente.

Per ulteriori informazioni, o nel caso in cui il prodotto ricevuto risulti danneggiato, rivolgersi all'assistenza clienti Beckman Coulter al numero 800-742-2345 (USA o Canada) o mettersi in contatto con il rappresentante locale Beckman Coulter.

SOMMARIO

Il conservante sodio azide può formare composti esplosivi nelle tubazioni metalliche di scarico. Vedere il bollettino NIOSH: Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Bollettino dell'Istituto Nazionale per la Sicurezza e la Salute sul Lavoro: Rischio di esplosione del sodio azide).
Per evitare il possibile accumulo di azidi, lavare i tubi di scarico con acqua dopo lo smaltimento del reagente puro. Il sodio azide deve essere eliminato conformemente alle normative locali applicabili.

COMPONENTI NECESSARI MA NON FORNITI CON IL KIT:

- Provette per campioni e materiale necessario per il campionamento.
- Pipette automatiche con punte monouso per 10, 100 e 500 µL.
- Provette per emolisi in plastica.
- Reagente per lisi degli eritrociti con fase di lavaggio successiva alla lisi. Ad esempio: VersaLyse (Rif. A09777).
- Reagente di fissaggio dei leucociti. Ad esempio: Soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800).
- Controllo di isotipo Pacific Blue: reagente IOTest (Rif. A74764).
- Tampone (PBS: 0,01 M di fosfato di sodio, 0,145 M di cloruro di sodio, pH 7,2).
- Centrifugare.
- Agitatore automatico (tipo Vortex).
- Citometro a flusso.

PROCEDURA CON REAGENTE VERSALYSE

Per ogni campione analizzato, oltre alla provetta del test, si può aggiungere una provetta di controllo in cui miscelare le cellule in presenza di controllo di isotipo (Rif. A74764).

1. Aggiungere 10 µL di anticorpo coniugato IOTest specifico in ogni provetta del test e, se necessario, 10 µL di controllo di isotipo in ogni provetta di controllo.
2. Aggiungere 100 µL di campione del test in ogni provetta. Agitare delicatamente le provette con Vortex.
3. Incubare a temperatura ambiente (18-25 °C) per 15-20 minuti, al riparo dalla luce.
4. Quindi eseguire la lisi degli eritrociti. Consultare il foglietto illustrativo di VersaLyse (Rif. A09777) e seguire preferibilmente la procedura denominata "with concomitant fixation" (con fissazione concomitante), che consiste nell'aggiungere 1 mL della miscela fissante e lisante preparata estemporaneamente. Miscelare immediatamente con Vortex per un secondo e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente, al riparo dalla luce.
5. Centrifugare per 5 minuti a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Rimuovere il surnatante mediante aspirazione.
7. Risospendere il pellet cellulare utilizzando 3 mL di PBS.
8. Ripetere il passaggio 5.
9. Eliminare il surnatante tramite aspirazione e risospendere il pellet cellulare tramite:

- 0,5 mL o 1 mL di PBS più 0,1% di formaldeide, se i preparati devono essere conservati per meno di 24 ore. È possibile ottenere PBS con formaldeide allo 0,1% diluendo 12,5 µL di soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800) alla sua concentrazione di 10X in 1 mL di PBS.
- 0,5 mL o 1 mL di PBS senza formaldeide, se i preparati devono essere analizzati entro 2 ore.

Nota: in tutti i casi, mantenere i preparati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce.

VALORI ATTESI

Nei nostri laboratori, i campioni di sangue intero di donatori apparentemente sani 25 sono stati trattati utilizzando il reagente descritto sopra. I risultati ottenuti dal conteggio degli eventi positivi pertinenti a questo reagente sono riportati nella tabella di seguito:

Target positivo	Numero	Media (%)	SD	CV (%)
Linfociti	25	26,53	12,71	47,92
Monociti	25	97,02	2,77	2,86

Tali valori sono forniti unicamente a scopo indicativo. Ogni laboratorio deve definire i propri valori attesi a partire dalla popolazione locale di donatori normali.

PRESTAZIONI

I dati delle prestazioni si ottengono adottando la procedura descritta in precedenza su campioni di sangue raccolti da meno di 24 ore in provette sterili con anticoagulante EDTA. L'analisi viene eseguita entro 2 ore dall'immunocolorazione.

SPECIFICITÀ

L'anticorpo monoclonale Immu357 riconosce un epitopo trasportato su una proteina monomorfica da 29-33 kDa identificata come HLA-DR. Il sistema HLA (antigene leucocitario umano) è il nome dato al complesso di istocompatibilità maggiore (MHC) nell'uomo. Codificato da 5 loci (DM, DO, DP, DQ e DR) del locus D, le molecole HLA di classe II sono denominate anche HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ e antigeni HLA-DR (13,14). L'espressione di antigeni di classe II è limitato a cellule che presentano antigene, ovvero linfociti B, monociti/macrofagi, cellule dendritiche e di Langerhans della pelle (14,15). Sui linfociti T, l'antigene HLA-DR viene espresso solo dopo l'attivazione (16). Cellule staminali e progenitori emopoietici lo esprimono fino a un certo punto della loro differenziazione (14,17).

PRECISIONE

I valori percentuali positivi sono stati determinati utilizzando sangue intero. Ogni campione è stato analizzato 4 volte, due volte al giorno per 1 giorno su 2 strumenti utilizzando 2 lotti di reagenti per anticorpi monoclonali Anti-HLA-DR-Pacific Blue. Le misurazioni (% positive) sono state eseguite sul citometro a flusso Navios. L'analisi è stata condotta secondo il metodo EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Valutazione delle prestazioni di precisione dei metodi di misurazione quantitativa).

I nostri criteri di accettazione dipendono dal numero di eventi positivi misurati per ogni popolazione:

- Se evento positivo < 1.500, CV < 15%
- Se evento positivo > 1.500, CV < 10%

Linfociti							
Numero di eventi positivi (media) = 1154							
	Inter-operatore	Inter-citometro	Intra-lotto	Inter-lotto	Inter-analisi	Intra-analisi	Totale
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
RISULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monociti							
Numero di eventi positivi (media) = 1197							
	Inter-operatore	Inter-citometro	Intra-lotto	Inter-lotto	Inter-analisi	Intra-analisi	Totale
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
RISULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURATEZZA

L'accuratezza di Anti-HLA-DR-Pacific Blue è stata valutata confrontando i risultati con un reagente di riferimento come predicato su una serie di campioni di sangue intero eseguiti su un citometro a flusso Navios. La distorsione tra il reagente in esame e quello di riferimento è stata determinata in base alla differenza tra i risultati del test. Se la distorsione rientra nell'intervallo di errore consentito o il valore p indica che non vi è una differenza significativa (> 0,05), allora i risultati dei test per i due reagenti sono considerati equivalenti.

I risultati ottenuti sono riepilogati nella tabella seguente:

Numero di donatori = 25				
Target positivo	Δ medio	Criteri cellulari Δ %	Valore p	RISULTATI
Linfociti	-0,26	<5	0,557	PASS
Monociti	1,04	<5	1,191	PASS

LIMITE DEL BIANCO E LIMITE DI RILEVAZIONE

È stato effettuato uno studio in conformità al documento EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Valutazione delle capacità di rilevamento delle procedure di misurazione del laboratorio clinico). Il limite di rilevazione (LoD) è la più bassa concentrazione di analita che può essere costantemente rilevata. I risultati ottenuti sono riepilogati nella seguente tabella:

Positive Target	Limite del bianco (cellula/µL)	Limite di rilevazione (cellula/µL)
Linfociti	2	4
Monociti	1	3

LIMITAZIONI

1. La citometria a flusso può produrre falsi risultati se il citometro non viene allineato perfettamente, le perdite di fluorescenza non vengono correttamente compensate e le regioni non vengono posizionate attentamente.
2. È preferibile utilizzare una tecnica di lisi RBC con una fase di lavaggio, in quanto il reagente non è stato ottimizzato per tecniche di lisi "senza lavaggio".
3. Seguendo le procedure descritte nel foglietto illustrativo con le informazioni tecniche, compatibili con le buone pratiche di laboratorio, è possibile ottenere risultati accurati e riproducibili.
4. L'anticorpo coniugato di questo reagente è calibrato in modo da offrire un rapporto segnale specifico/segnale non specifico ottimale. Di conseguenza, è importante rispettare il rapporto fra volume di reagente e volume di campione in tutti i test.
5. In caso di iperleucocitosi, diluire il sangue in PBS in modo da ottenere un valore di circa 5 x 10^9 leucociti/L (18).
6. In alcuni stati patologici, come insufficienza renale grave o emoglobinopatie, la lisi degli eritrociti può risultare lenta, incompleta o persino impossibile. In questo caso, è consigliabile isolare le cellule mononucleate usando un gradiente di densità (ad esempio, Ficoll) prima della colorazione (19).
7. In pazienti trattati con terapie a base di anticorpi monoclonali anti-umani, il rilevamento di antigeni specifici può essere minore o assente a causa del blocco parziale o completo da parte dell'anticorpo terapeutico.
8. I risultati Anti-HLA-DR-Pacific Blue devono essere interpretati alla luce del quadro clinico completo del paziente che comprende: sintomatologia, anamnesi clinica, risultati di altri test e altre informazioni appropriate.

Per esempi e riferimenti, vedere l'appendice.

MARCHI COMMERCIALI

Beckman Coulter, il logo stilizzato ed i marchi commerciali dei prodotti e servizi di Beckman Coulter menzionati qui, sono marchi commerciali o marchi commerciali registrati di Beckman Coulter, Inc., negli Stati Uniti e in altri paesi.

Pacific Blue è un marchio commerciale di Molecular Probes, Inc.

INFORMAZIONI AGGIUNTIVE

Per un paziente/utente/terza parte nell'Unione Europea e in paesi con identico regime normativo (Regolamento 2017/746/UE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro): se, durante l'utilizzo di questo dispositivo o in seguito al suo utilizzo, si fosse verificato un incidente grave, si prega di segnalarlo al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e all'autorità nazionale competente.

Il Summary of Safety and Performance (Sintesi relativa alla sicurezza e alle prestazioni) è disponibile nel database EUDAMED all'indirizzo: ec.europa.eu/tools/eudamed.

CRONOLOGIA REVISIONI

REVISIONE AC:	Data di pubblicazione: Ottobre 2019

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AW	Febbraio 2022
Aggiornamenti conformi alla politica sull'etichettatura globale di Beckman Coulter e ai requisiti IVD-R (UE)2017/746:	
Sezioni aggiunte	Numero BSI 2797, Utente previsto, Rilevanza clinica, Concentrazione, Precisione, Accuratezza, Limite del bianco e limite di rilevazione, Informazioni aggiuntive, Cronologia revisioni.
Aggiunta di informazioni	Vedere le sezioni Limitazioni
Aggiornamenti testuali o tipografici	Vedere le sezioni Procedura, Prestazioni, Limitazioni, Avvertenze e precauzioni, Conservazione e stabilità.
Sezioni rimosse	Esempio di applicazioni cliniche, Reagenti, Riproducibilità intra-laboratorio, Linearità
Sezioni aggiornate	Uso previsto, Classificazione pericoli GHS, Indici di deterioramento, Procedura, Appendice.

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AX	Aprile 2023
Sezioni aggiornate	Aggiungere la lingua kazaka
Sezioni aggiornate	Conservazione e stabilità

Versione revisionata	AY
Data di revisione	Maggio 2024
Traduzioni aggiornate	**Rilevanza clinica:**
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Versione revisionata	AZ
Data di revisione	Luglio 2024
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Legenda dei simboli

Il Glossario dei simboli è disponibile all'indirizzo beckman.com/techdocs (documento numero B60062)

	Especificaciones
Especificidad	HLA-DR
Clon	Immu-357
Hibridoma	X63 x balb/c
Inmunógeno	EBV-transformed cell line
Inmunoglobulina	IgG1
Especie	Ratón
Purificación	Cromatografía de afinidad
Fluorocromo	Pacific Blue
Proporción molar	Pacific Blue / Ig: 5,9-7,6
Excitación λ	405 nm
Pico de emisión	455 nm
Tampón	PBS pH 7,2 más 2 mg/mL BSA y 0,1 % NaN_3

IOTest
Anticuerpo conjugado
Anti-HLA-DR
-Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Para uso diagnóstico *in vitro.*

USO PREVISTO

Este anticuerpo conjugado con un fluorocromo permite la identificación cualitativa y no automatizada de poblaciones de células que expresan el antígeno HLA-DR presente en muestras biológicas humanas mediante citometría de flujo (véase la sección «Muestras» más adelante).

PRINCIPIO

Esta prueba se basa en la capacidad de anticuerpos monoclonales específicos para unirse a los determinantes antigénicos expresados por leucocitos.

La tinción específica de los leucocitos se realiza incubando la muestra con el reactivo IOTest. A continuación, se eliminan los eritrocitos mediante lisis y los leucocitos, que no se ven afectados por este proceso, se analizan mediante citometría de flujo.

El citómetro de flujo mide la dispersión de la luz y la fluorescencia de las células. Permite acotar la población de interés dentro de una ventana electrónica, definida en un histograma que correlaciona la dispersión lateral de luz (Side Scatter o SS) con la dispersión frontal de la luz (Forward Scatter o FS). Se pueden utilizar otros histogramas que combinen dos de los distintos parámetros disponibles en el citómetro como apoyo para la fase de selección en función de la aplicación utilizada por el usuario.

La fluorescencia de las células acotadas se analiza para distinguir los eventos con tinción positiva de los eventos sin teñir. Los resultados se expresan como un porcentaje de eventos positivos en relación con todos los eventos adquiridos mediante la selección.

USUARIO PREVISTO

Este producto está diseñado para su uso en un laboratorio profesional.

IMPORTANCIA CLÍNICA

El reactivo Anti-HLA-DR-Pacific Blue es un anticuerpo Anti-HLA-DR utilizado para identificar y caracterizar células que expresan el antígeno HLA-DR mediante citometría de flujo. Este producto por sí solo no puede y no está diseñado para generar una conclusión diagnóstica.

Cuando se usa en combinación con otros marcadores, este producto puede utilizarse en una o más de las siguientes funciones:

- Ayudar al diagnóstico diferencial de pacientes con anomalías hematológicas en los que se sospecha la presencia de una neoplasia hematopoyética y realizar el seguimiento de pacientes con una neoplasia hematopoyética conocida.
- Ayudar en el diagnóstico de pacientes con sospecha de inmunodeficiencia y realizar el seguimiento de pacientes con una inmunodeficiencia conocida.
- Realizar el seguimiento de pacientes con un trastorno o enfermedad autoinmune conocida.
- Realizar el seguimiento del proceso o los resultados de un trasplante.

Consulte las siguientes referencias:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

MUESTRAS

La sangre venosa debe recogerse en tubos de muestra estériles que contengan una sal de EDTA como anticoagulante.

Las muestras deben mantenerse a temperatura ambiente (18-25 °C) y no agitarse. Antes de tomar la muestra de prueba, es necesario homogeneizarla mediante una agitación suave.

Las muestras deben analizarse en el plazo de 24 horas tras la venopunción.

CONCENTRACIÓN

Consulte el certificado de análisis específico del lote en www.beckman.com.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. No use el reactivo después de la fecha de caducidad.
2. No lo congele.
3. Déjelo a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su utilización.

4. Minimice el tiempo de exposición a la luz.
5. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, ya que esto puede provocar resultados falsos.
6. Las soluciones de anticuerpo que contienen azida sódica (NaN_3) deben manipularse con precaución. No ingerir y evitar todo contacto con la piel, la mucosa y los ojos.

   Asimismo, en un medio ácido, la azida sódica puede formar ácido hidrazoico potencialmente peligroso. Cuando se vaya a desechar, se recomienda diluir el reactivo en abundante agua antes de verterlo en el sistema de drenaje para evitar la acumulación de azida sódica en tubos metálicos y el riesgo de explosión.
7. Todas las muestras sanguíneas deben considerarse posiblemente infecciosas y deben manipularse con cuidado (en especial, hay que llevar guantes, bata y gafas de protección).
8. No pipetee nunca con la boca y evite todo contacto de las muestras con la piel, las mucosas y los ojos.
9. Los tubos para sangre y el material desechable utilizados para la manipulación deben eliminarse en recipientes especiales previstos para la incineración.
10. Los reactivos y los desechos deben eliminarse de acuerdo con los requisitos locales.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico

SDS La ficha de datos de seguridad está disponible en beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Este reactivo debe conservarse entre 2 y 8 °C en un lugar protegido de la luz, antes y después de abrir el vial.

Vida útil del vial cerrado según estudio de estabilidad: 1095 días.

Estabilidad del vial abierto: el reactivo es estable durante 180 días.

SIGNOS DE DETERIORO

Cualquier cambio en el aspecto físico de los reactivos puede indicar un deterioro, por lo que no debe utilizarse el reactivo.

Para obtener información adicional o si el producto está dañado, llame al servicio de atención al cliente de Beckman Coulter en el 800-742-2345 (EE. UU. o Canadá) o póngase en contacto con su representante local de Beckman Coulter.

CONTENIDO

El conservante de azida sódica puede formar compuestos explosivos en las tuberías metálicas del desagüe. Véase el NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Boletín de NIOSH: Peligro de explosión con la azida) (16/8/76).
Para evitar la posible acumulación de compuestos de azida, limpie con agua los tubos de desagüe tras la eliminación del reactivo sin diluir. Para desechar la azida sódica deben seguirse las normativas locales adecuadas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS CON EL KIT:

- Tubos y material de muestras necesarios para el muestreo.
- Pipetas automáticas para puntas desechables de 10, 100 y 500 µL.
- Tubos de hemólisis de plástico.
- Reactivo de lisis de glóbulos rojos con estado de lavado después de la lisis. Por ejemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reactivo de fijación de leucocitos. Por ejemplo: Solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800).
- Control de isotipo Pacific Blue: Reactivo IOTest (Ref. A74764).
- Tampón (PBS: 0,01 M de fosfato de sodio; 0,145 M de cloruro sódico; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de flujo.

PROCEDIMIENTO CON EL REACTIVO VERSALYSE

Para cada muestra analizada, además del tubo de ensayo, se puede añadir un tubo de control en el que se mezclan las células en presencia de los controles de isotipo (Ref. A74764).

1. Añadir 10 µL de anticuerpos conjugados específicos IOTest a cada tubo de muestra problema y, si es necesario, 10 µL del control de isotipo a cada tubo de control.
2. Añadir 100 µL de la muestra problema a cada tubo. Mezclar suavemente los tubos en el Vórtex.
3. Incube entre 15 y 20 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C) y protegido de la luz.
4. A continuación, lleve a cabo la lisis de los eritrocitos. Consulte la ficha técnica VersaLyse (Ref. A09777) y siga preferiblemente el procedimiento denominado «with conconmitant fixation» (con fijación concomitante), que consiste en añadir 1 mL de la mezcla «Fijar y lisar» preparada extemporáneamente. Agite inmediatamente con vórtex durante un segundo e incube durante 10 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Elimine el sobrenadante mediante aspiración.
7. Vuelva a suspender el sedimento celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita el paso 5.
9. Retire el sobrenadante mediante aspiración y vuelva a suspender el sedimento celular con:

- 0,5 mL o 1 mL de PBS más el 0,1 % de formaldehído si las preparaciones deben conservarse menos de 24 horas. (Se puede obtener un 0,1 % de PBS de formaldehído mediante la dilución de 12,5 µL de la solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800) a su concentración de 10x en 1 mL de PBS).
- 0,5 mL o 1 mL de PBS sin formaldehído si las preparaciones deben analizarse en un plazo de 2 horas.

Nota: En todos los casos, mantenga las preparaciones protegidas de la luz entre 2 y 8 °C.

VALORES ESPERADOS

Se trataron en nuestros laboratorios las muestras de sangre total de 25 donantes aparentemente sanos utilizando el reactivo descrito. Los resultados obtenidos del recuento de eventos de interés positivos con este reactivo se proporcionan en la siguiente tabla:

Objetivo positivo	Cantidad	Media (%)	DE	CV (%)
Linfocitos	25	26,53	12,71	47,92
Monocitos	25	97,02	2,77	2,86

Estos valores tienen carácter meramente ilustrativo. Cada laboratorio deberá establecer sus valores esperados según la población local de donantes normales.

RENDIMIENTO

Los datos de rendimiento se obtuvieron utilizando el procedimiento descrito anteriormente en muestras de sangre con menos de 24 horas desde su extracción en tubos estériles con sal de EDTA como anticoagulante. El análisis se realizó en el plazo de 2 horas desde su inmunotinción.

ESPECIFICIDAD

El anticuerpo monoclonal Immu357 reconoce un epítopo transportado en una proteína monomórfica de 29-33 kDa identificada como HLA-DR. El sistema HLA (antígeno leucocitario humano) es el nombre que se da al complejo principal de histocompatibilidad (CPH) en los seres humanos. Codificado por 5 locus (DM, DO, DP, DQ y DR) del locus D, las moléculas del HLA de clase II también se denominan antígenos HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ y HLA-DR (5, 6). La expresión de antígenos de clase II se limita a las células presentadoras de antígeno, es decir, linfocitos B, monocitos / macrófagos, células dendríticas y células de Langerhans de la piel (14,15). En los linfocitos T, el antígeno HLA-DR se expreso únicamente después de la activación (16). Las células madre y los progenitores hematopoyéticos se expresan hasta una determinada etapa en su diferenciación (14,17).

PRECISIÓN

Los valores porcentuales positivos se determinaron utilizando sangre total. Cada muestra se procesó 4 veces, dos veces al día durante 1 día en 2 instrumentos utilizando 2 lotes de reactivos de anticuerpo monoclonal Anti-HLA-DR-Pacific Blue. Las mediciones (% de positivos) se realizaron en un citómetro de flujo Navios. El análisis se realizó según el método EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluación del rendimiento de la precisión de los métodos de medición cuantitativos).

Nuestro criterio de aceptación depende del número de eventos positivos determinado en cada población:

- Si el número de eventos positivos es < 1500, CV < 15 %
- Si el número de eventos positivos es > 1500, CV < 10 %

Linfocitos							
Número de eventos positivos (media) = 1154							
	Entre operadores	Entre citómetros	Intralote	Entre lotes	Entre análisis	Intraanálisis	Total
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monocitos							
Número de eventos positivos (media) = 1197							
	Entre operadores	Entre citómetros	Intralote	Entre lotes	Entre análisis	Intraanálisis	Total
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUD

La exactitud de Anti-HLA-DR-Pacific Blue se evaluó comparando los resultados con un reactivo de referencia como valor previsto en un conjunto de muestras de sangre total procesadas en un citómetro de flujo Navios. El sesgo entre la muestra problema y el reactivo de referencia se determinó en función de la diferencia entre los resultados de la prueba. Si el sesgo está dentro del rango de error permitido o el valor p indica una diferencia no significativa (> 0,05), entonces los resultados de la prueba de los dos reactivos se consideran equivalentes.

Los resultados obtenidos se resumen en la tabla que se muestra a continuación:

Número de donantes = 25				
Objetivo positivo	Δ medio	Criterios de Δ % de células	Valor p	RESULTADOS
Linfocitos	-0,26	<5	0,557	PASS
Monocitos	1,04	<5	1,191	PASS

LÍMITE DE BLANCO Y LÍMITE DE DETECCIÓN

Se realizó un estudio conforme a la norma EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluación de la capacidad de detección para procedimientos de medición en laboratorios clínicos). El límite de detección (LD) es la concentración de analito más baja que se puede detectar sistemáticamente. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla siguiente:

Positive Target	Límite de Blanco (células/µL)	Límite de Detección (células/µL)
Linfocitos	2	4
Monocitos	1	3

LIMITACIONES

1. La citometría de flujo puede producir resultados falsos si el citómetro no se ha alineado a la perfección, si las fugas de fluorescencia no se han compensado correctamente y si las regiones no se han colocado con atención.
2. Es preferible utilizar una técnica de lisis de ERIT con un paso de lavado, ya que este reactivo no se ha optimizado para técnicas de lisis «sin lavado».
3. Se obtendrán resultados exactos y reproducibles siempre que los procedimientos utilizados sean conformes al folleto técnico y compatibles con las prácticas correctas de laboratorio.
4. El anticuerpo conjugado de este reactivo se calibra para ofrecer la mejor relación de señal específica/señal no específica. Por lo tanto, es importante cumplir la relación de volumen del reactivo/volumen de la muestra en cada prueba.
5. En caso de hiperleucocitosis, diluya la sangre en PBS para obtener un valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucocitos/L (18).
6. En algunos estados de la enfermedad, como el fallo renal grave o las hemoglobinopatías, la lisis de los eritrocitos puede ser lenta, incompleta o incluso imposible. En este caso, se recomienda aislar las células mononucleares por gradiente de densidad (por ejemplo, Ficoll) antes de la tinción (19).
7. En pacientes tratados con terapias con anticuerpos monoclonales anti-humanos, la detección de los antígenos diana específicos puede estar disminuida o ausente debido al bloqueo parcial o completo por el anticuerpo terapéutico.
8. Los resultados de Anti-HLA-DR-Pacific Blue deben interpretarse a la luz del cuadro clínico total del paciente, incluidos: síntomas, historial clínico, datos de pruebas adicionales y demás información pertinente.

Consulte el anexo para ver ejemplos y referencias.

MARCAS COMERCIALES

Beckman Coulter, el logotipo estilizado y las marcas de productos y servicios de Beckman Coulter aquí mencionadas son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de Beckman Coulter, Inc. en Estados Unidos y otros países.

Pacific Blue es una marca comercial de Molecular Probes, Inc.

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para pacientes/usuarios/terceros de la Unión Europea y países con el mismo régimen normativo (Reglamento 2017/746/UE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro); si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produjese un incidente grave, informe al fabricante y/o a su representante autorizado y a la autoridad nacional.

El Summary of Safety and Performance (Resumen de seguridad y rendimiento) está disponible en la base de datos EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIAL DE REVISIONES

REVISIÓN AC:	Fecha de publicación: Octubre de 2019

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AW	Febrero de 2022
Actualizaciones para cumplir con la política de etiquetado global de Beckman Coulter y conforme a los requisitos del Reglamento (UE)2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro:	
Se han añadido secciones	Número BSI 2797, Usuario previsto, Rendimiento clínico, Concentración, Precisión, Exactitud, Límite de blanco y límite de detección, Información adicional, Historial de revisiones.
Información añadida	Véase la sección Limitaciones
Actualizaciones de redacción y tipográficas	Véanse las secciones Procedimiento, Rendimiento, Limitaciones, Advertencias y precauciones, Conservación y Estabilidad.
Se han eliminado secciones	Ejemplo de aplicaciones clínicas, Reactivos, Reproducibilidad intralaboratorio, Linealidad
Se han actualizado las secciones	Uso previsto, Clasificación de material peligroso según el SGA, Signos de deterioro, Procedimiento, Anexo.

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AX	Abril 2023
Se han actualizado las secciones	Añadir kazajo
Se han actualizado las secciones	Conservación y Estabilidad

Versión revisada	AY
Fecha de revisión	Mayo 2024
Traducciones actualizadas	**Relevancia clínica:**
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Versión revisada	AZ
Fecha de revisión	Julio 2024
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Lista de símbolos

El glosario de símbolos está disponible en beckman.com/techdocs (número de documento B60062)

	Especificações
Especificidade	HLA-DR
Clone	Immu-357
Hibridoma	X63 x balb/c
Imunogénio	EBV-transformed cell line
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Rato
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	Pacific Blue
Razão molar	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
λ de excitação	405 nm
Pico de emissão	455 nm
Tampão	PBS com pH 7,2 mais 2 mg/mL de ASB e 0,1% de NaN_3

IOTest
Anticorpo conjugado
Anti-HLA-DR
-Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Para fins de diagnóstico *in vitro.*

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Este anticorpo conjugado com fluorocromos permite a identificação qualitativa e não automatizada de populações de células que expressam o antigénio HLA-DR presente em amostras biológicas humanas utilizando citometria de fluxo (consulte a secção «Amostras» abaixo).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade de os anticorpos monoclonais específicos se ligarem aos determinantes antigénicos expressados por leucócitos.

A coloração específica dos leucócitos é realizada incubando a amostra com o reagente IOTest. Em seguida, os glóbulos vermelhos são removidos por lise e os leucócitos, que não são afetados por este processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citómetro de fluxo mede a difusão de luz e a fluorescência das células. Permite delimitar a população de interesse dentro da janela eletrónica definida num histograma que correlaciona a difusão ortogonal de luz (dispersão lateral ou DL) e a difusão de luz em ângulos estreitos (dispersão frontal ou DF). É possível utilizar outros histogramas que combinam dois dos vários parâmetros disponíveis no citómetro como suporte na fase de delimitação, consoante a aplicação escolhida pelo utilizador.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são apresentados como uma percentagem de eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos por meio da delimitação.

UTILIZADOR PREVISTO

Este produto destina-se a ser utilizado por profissionais de laboratório.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O Anti-HLA-DR-Pacific Blue é um anticorpo de Anti-HLA-DR utilizado para identificar e caracterizar células que expressam o antigénio HLA-DR por citometria de fluxo. Este produto, por si só, não pode e não se destina a gerar qualquer conclusão de diagnóstico.

Quando utilizado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser utilizado numa ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com alterações hematológicas, suspeitos de padecerem de neoplasia hematopoiética, e para monitorizar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.
- Para auxiliar no diagnóstico de pacientes com suspeita de imunodeficiência e monitorizar pacientes com imunodeficiência conhecida.
- Para monitorizar pacientes com disfunção ou doença autoimune conhecida.
- Para monitorizar os resultados ou o processo de transplante.

Consulte as seguintes referências:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

AMOSTRAS

O sangue venoso deve ser recolhido utilizando tubos estéreis que contenham um sal de AEDT como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas à temperatura ambiente (18–25 °C) e não devem ser agitadas. As amostras devem ser homogeneizadas, agitando-as levemente, antes de a amostra de teste ser retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a punção venosa.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o Certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não utilize o reagente depois da data de validade.
2. Não congele.
3. Aguarde que fique à temperatura ambiente (18–25 °C) antes da utilização.

4. Evite a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, caso contrário, poderão ocorrer falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos que contêm azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não ingira e evite qualquer contacto com a pele, as mucosas e os olhos.

   Adicionalmente, num meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazóico potencialmente perigoso. Se a sua eliminação for necessária, é recomendável que o reagente seja diluído num grande volume de água antes de ser vertido no sistema de drenagem, para evitar a acumulação de azida sódica em tubos metálicos e prevenir o risco de explosão.
7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas potencialmente infeciosas e manuseadas com cuidado (em especial, devem ser usados óculos, batas e luvas de proteção).
8. Nunca pipete com a boca e evite qualquer contacto das amostras com a pele, as mucosas e os olhos.
9. Os tubos de sangue e os materiais descartáveis utilizados para manuseamento devem ser eliminados em recipientes específicos destinados a incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Ficha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido a uma temperatura entre 2 e 8 °C e protegido da luz, antes e após a abertura do frasco.

Vida útil em frasco fechado para estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente permanece estável durante 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DEGRADAÇÃO

Uma alteração no aspeto físico dos reagentes poderá indicar deterioração, pelo que o reagente não deve ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, contacte a assistência ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou contacte o seu representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em sistemas de canalizações metálicas. Consulte o boletim do NIOSH: Explosive Azide Hazards (Perigos de explosão da azida) (16-8-76).
Para evitar a possível acumulação de compostos de azida, enxague as condutas de resíduos com água após a eliminação do reagente não diluído. A eliminação de azida sódica deve ser efetuada de acordo com os regulamentos locais adequados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostras e materiais necessários para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 10, 100 e 500 µL.
- Tubos de plástico para hemólise.
- Reagente de lise de glóbulos vermelhos com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controlo de isotipo Pacific Blue de : reagente IOTest (Ref. A74764).
- Tampão (PBS: 0,01 M de fosfato de sódio; 0,145 M de cloreto de sódio; pH 7,2).
- Centrifugue.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM REAGENTE VERSALYSE

Além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controlo a cada amostra analisada, no qual as células são misturadas na presença do controlo de isotipo (Ref. A74764).

1. Adicione 10 µL de anticorpo conjugado com IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 10 µL dos controlos de isotipo a cada tubo de controlo.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos à temperatura ambiente (18–25 °C), protegido da luz.
4. Em seguida, realize a lise dos glóbulos vermelhos. Consulte o folheto VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento denominado «with concomitant fixation» (com fixação concomitante) que consiste em adicionar 1 mL da mistura de «Fixação e lise» preparada extemporaneamente. Agite imediatamente em vórtex durante um segundo e incube durante 10 minutos à temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g à temperatura ambiente.
6. Remova o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular com 3 mL de PBS.
8. Repita o passo 5.
9. Remova o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular com o seguinte:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído se as preparações se destinarem a ser mantidas por menos de 24 horas. (É possível obter PBS com 0,1% de formaldeído diluindo 12,5 µL de solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na respetiva concentração de 10X em 1 mL de SSTF).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído se as preparações se destinarem a ser analisadas no prazo de 2 horas.

Nota: Mantenha sempre as preparações entre 2 e 8 °C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Nos nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 dadores aparentemente saudáveis foram tratadas utilizando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos de interesse positivos com este reagente são fornecidos na tabela abaixo:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP	CV (%)
Linfócitos	25	26,53	12,71	47,92
Monócitos	25	97,02	2,77	2,86

Estes valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores esperados a partir da população local de dadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos utilizando o procedimento descrito acima em amostras de sangue colhidas há menos de 24 horas em tubos de amostra estéreis com sal de AEDT como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

O Immu357 de anticorpos monoclonais reconhece uma epítope transportada numa proteína 29 - 33 kDa monomórfica identificada como HLA-DR. O sistema HLA (Human Leucocyte Antigen - Antigénio de leucócito humano) é o nome atribuído ao complexo de histocompatibilidade principal (MHC) nos humanos. Codificado por 5 loci (DM, DO, DP, DQ e DR) do locus D, as moléculas HLA da classe II também são denominadas antigénios HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ e HLA-DR (13,14). A transmissão dos antigénios da classe II é limitada às células de apresentação antigénio, ou seja, linfócitos B, monócitos/macrófagos, dendríticos e células Langerhans da pele (14,15). Nos linfócitos T, o antigénio HLA-DR só é transmitido após a activação (16). As células indiferenciadas e as progenitoras hemopoiéticas transmitem até uma determinada fase na sua diferenciação (14,17).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados utilizando sangue total. Cada amostra foi executada 4 vezes, duas vezes por dia para 1 dia em 2 instrumentos, utilizando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de Anti-HLA-DR-Pacific Blue. As medições (% de positivos) foram realizadas no citómetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação do desempenho de precisão dos métodos de medição quantitativos).

Os nossos critérios de aceitação estão dependentes do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Em caso de eventos positivos <1500, CV <15%
- Em caso de eventos positivos >1500, CV <10%

Linfócitos							
Número de eventos positivos (média) = 1154							
	Interoperador	Intercitómetro	Intralote	Interlote	Interprocessamento	Intraprocessamento	Total
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monócitos							
Número de eventos positivos (média) = 1197							
	Interoperador	Intercitómetro	Intralote	Interlote	Interprocessamento	Intraprocessamento	Total
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do Anti-HLA-DR-Pacific Blue foi avaliada através da comparação dos resultados com um reagente de referência como equivalente, num conjunto de amostras de sangue total executadas num citómetro de fluxo Navios. A tendência entre o teste e o reagente de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados do teste. Se a tendência se encontrar dentro do intervalo de erro permitido ou o valor p não indicar uma diferença significativa (>0,05), os resultados do teste de ambos os reagentes são considerados equivalentes.

Os resultados obtidos encontram-se resumidos na tabela abaixo:

Número de dadores = 25				
Alvo positivo	Δ médio	Critérios celulares de % Δ	Valor p	RESULTADOS
Linfócitos	-0,26	<5	0,557	PASS
Monócitos	1,04	<5	1,191	PASS

LIMITE DO BRANCO E LIMITE DE DETEÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com o CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de deteção para procedimentos de medição em laboratórios clínicos). O Limite de deteção (LD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detetada consistentemente. Os resultados obtidos são resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite do branco (célula/µL)	Limite de deteção (célula/µL)
Linfócitos	2	4
Monócitos	1	3

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo poderá produzir falsos resultados se o citómetro não tiver sido perfeitamente alinhado, se as fugas de fluorescência não tiverem sido compensadas corretamente e se as regiões não tiverem sido cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível utilizar uma técnica de lise de RBC com um passo de lavagem, uma vez que este reagente não foi otimizado para técnicas de lise «sem lavagem».
3. Serão obtidos resultados exatos e reprodutíveis desde que os procedimentos utilizados estejam de acordo com o folheto técnico e cumpram as boas práticas laboratoriais.
4. O anticorpo conjugado deste reagente é calibrado para proporcionar a melhor relação entre sinal específico/sinal não específico. Por conseguinte, é importante respeitar a relação entre volume do reagente/volume da amostra em todos os testes.
5. No caso de uma hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (18).
6. Em determinados estados de doença, como insuficiência renal grave ou hemoglobinopatias, a lise de glóbulos vermelhos poderá ser lenta, incompleta ou até impossível. Neste caso, recomenda-se isolar células mononucleadas utilizando um gradiente de densidade (por exemplo, Ficoll) antes da coloração (19).
7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a deteção dos antigénios específicos visados pode ser reduzida ou inexistente devido ao bloqueio parcial ou total causado pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de Anti-HLA-DR-Pacific Blue devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo sintomas, historial clínico, dados de testes adicionais e outras informações relevantes.

Consulte o Anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logótipo estilizado e as marcas de produtos e serviços da Beckman Coulter mencionadas neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e noutros países.

Pacific Blue é uma marca comercial da Molecular Probes, Inc.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/utilizador/terceiro na União Europeia e em países com um regime regulamentar idêntico (Regulamento 2017/746/UE relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico in vitro): se, durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, ocorrer um incidente grave, comunique-o ao fabricante e/ou ao respetivo representante autorizado e à autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível a partir da base de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÕES

REVISÃO AC:	Data de lançamento: Outubro de 2019

REVISÃO	**Data de lançamento**
AW	Fevereiro de 2022
Atualizações no sentido de cumprir a política de rotulagem da Beckman Coulter Global e os requisitos do regulamento IVD-R (UE)2017/746:	
Secções adicionadas	Número BSI 2797, Utilizador previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite do branco e limite de deteção, Informações adicionais, Histórico de revisões.
Informações adicionadas	Consulte as secções Limitações
Atualizações à fraseologia ou tipografia	Consulte as secções Procedimento, Realização, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Secções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Secções atualizadas	Utilização prevista, Classificação de perigo GHS, Indícios de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de lançamento**
AX	Abril 2023
Secções atualizadas	Adicionar cazaque
Secções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revista	AY
Data de revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Versão revista	AZ
Data de revisão	Julho 2024
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (número do documento B60062)

	Specifikationer
Specificitet	HLA-DR
Klon	Immu-357
Hybridom	X63 x balb/c
Immunogen	EBV-transformed cell line
Immunoglobulin	IgG1
Arter	Mus
Oprensning	Affinitets-kromatografi
Fluorokrom	Pacific Blue
Molarforhold	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
λ-magnetisering	405 nm
Emissionsspids	455 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA og 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugeret antistof Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Til *in vitro* diagnostisk brug.

TILSIGTET BRUG

Dette fluorokromkonjugerede antistof muliggør, ved hjælp af flowcytometri, kvalitativ og ikke-automatiseret identifikation af cellepopulationer, der udtrykker HLA-DR-antigenet, som findes i humane biologiske prøver (se afsnittet "Prøver" forneden).

PRINCIP

Denne test er baseret på specifikke monoklonale antistoffers evne til at binde sig til de antigene determinanter, der udtrykkes af leukocytter.

Den specifikke farvning af leukocytterne udføres ved inkubation af prøven med IOTest-reagenset. Erytrocytterne fjernes derefter med lysering, og leukocytterne, som ikke påvirkes af denne proces, analyseres ved flowcytometri.

Flowcytometeret måler lysets diffusion og cellernes fluorescens. Dette gør det muligt at afgrænse interessepopulationen inden for det elektroniske vindue, der defineres på et histogram, som korrelerer den ortogonale diffusion af lys (Side Scatter (sidespredning) eller SS) og diffusionen af lys med en snæver vinkel (Forward Scatter (forlæns spredning) eller FS). Andre histogrammer, der kombinerer to af de forskellige parametre, der er til rådighed på cytometret, kan benyttes som støtte under gating-trinnet, afhængig af den af brugeren valgte applikation.

De afgrænsede cellers fluorescens analyseres med henblik på at kunne skelne de positive farvningshændelser fra de ufarvede. Resultaterne udtrykkes som en procentdel af positive hændelser i relation til alle de hændelser, som erhverves ved gatingen.

TILSIGTET BRUGER

Dette produkt er beregnet til professionel brug i laboratoriet.

KLINISK RELEVANS

Anti-HLA-DR-Pacific Blue er et Anti-HLA-DR-antistof, der anvendes til at identificere og karakterisere celler, der udtrykker HLA-DR-antigenet ved flowcytometri. Dette produkt, anvendt alene, kan ikke og er ikke beregnet til at generere nogen diagnostisk konklusion.

Anvendt i kombination med andre markører kan dette produkt benyttes i en eller flere af følgende funktioner:

- Til hjælp ved differentialdiagnosticering af hæmatologisk unormale patienter ved formodning om hæmatopoietisk neoplasme, samt til overvågning af patienter med kendt hæmatopoietisk neoplasme.
- Til hjælp ved diagnosticering af patienter med formodede immundefekter samt til overvågning af patienter med kendte immundefekter.
- Til overvågning af patienter med kendte autoimmune sygdomme eller lidelser.
- Til overvågning af transplantationsprocessen eller -resultater.

Se følgende referencer:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

PRØVER

Prøver af venøst blod skal udtages i sterile prøverør, der indeholder et EDTA-salt som antikoagulant.

Prøverne skal opbevares ved stuetemperatur (18-25 °C) og må ikke rystes. Prøverne skal homogeniseres ved forsigtig omrysten før udtagning af analyseprøven.

Prøverne skal behandles inden for 24 timer efter venepunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analysecertifikat på www.beckman.com.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Brug ikke reagenset efter udløbsdatoen.
2. Må ikke nedfryses.
3. Bring det til stuetemperatur (18-25 °C) før brug.

4. Minimér eksponering for lys.
5. Undgå mikrobiel kontaminering reagenserne, idet det kan føre til fejlagtige resultater.
6. Antistofopløsninger, der indeholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsigtighed. Må ikke indtages, og undgå enhver kontakt med hud, slimhinder og øjne.

   I syremedier kan natriumazid desuden danne den potentielt farlige hydrogenazid. Hvis det skal bortskaffes, anbefales det, at reagenset fortyndes i en stor mængde vand, inden det hældes i kloakken, for at undgå ophobning af natriumazid i metalrør og dermed forebygge risikoen for eksplosioner.
7. Alle blodprøver skal anses som potentielt smittefarlige og skal behandles forsigtigt (husk især at bruge beskyttelseshandsker, forklæde og beskyttelsesbriller).
8. Sug aldrig med munden, og undgå at prøverne kommer i kontakt med hud, slimhinde og øjne.
9. Blodprøvetagningsrør og engangsmateriale, der bruges i forbindelse med håndteringen, skal bortskaffes i ad hoc-beholdere, der er beregnet til bortskaffelse.
10. Reagenser og affald skal bortskaffes i henhold til gældende lokale krav.

GHS FAREKLASSIFIKATION

Ikke klassificeret som farlig

SDS Sikkerhedsdatablad er tilgængelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Dette reagens skal opbevares ved mellem 2 og 8 °C og beskyttes mod lys før og efter, at hætteglasset er åbnet.

Stabilitet i lukket hætteglas: 1095 dage.

Stabilitet i åbent hætteglas: Reagenset er stabilt i 180 dage.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Ændringer i den måde, reagenset ser ud på, kan være tegn på forringelse, og reagenset må ikke anvendes.

Ring til Beckman Coulters kundeservice på 800-742-2345 (USA eller Canada), eller kontakt den lokale Beckman Coulter-repræsentant for at få flere oplysninger, eller hvis du modtager et beskadiget produkt.

INDHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive forbindelser i drænledninger af metal. Se NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (Fare for eksplosiv azid). For at undgå en eventuel akkumulering af azidforbindelser, skylles afløbsrør med vand efter bortskaffelse af ufortyndet reagens. Natriumazid skal bortskaffes i overensstemmelse med relevante lokale forskrifter.

PÅKRÆVEDE MATERIALER, SOM IKKE LEVERES MED SÆT:

- Prøvetagningsrør og materiale, der er påkrævet til prøvetagning.
- Automatiske pipetter med engangsspidser til 10, 100 og 500 µL.
- Plasthæmolyserør.
- Reagens til lysering af erytrocytter med vaskefase efter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens til leukocytfiksering. For eksempel: IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800).
- IsotypekontrolPacific Blue: IOTest-reagens (ref. A74764).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumphosphat; 0,145 M natriumchlorid; pH 7,2).
- Centrifuge
- Automatisk omrører (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MED VERSALYSE-REAGENS

Der kan tilføjes et kontrolrør for hvert prøverør, der analyseres, hvormed cellerne blandes under isotype-kontrollerne (ref. A74764).

1. Tilføj 10 µL specifikt IOTest-konjugeret antistof til hvert prøverør og, om nødvendigt, 10 µL negativ kontrol til hvert kontrolprøverør.
2. Tilføj 100 µL af prøven til hvert prøverør. Vortex rørene forsigtigt.
3. Inkubér i 15 til 20 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C), beskyttet mod lys.
4. Udfør derefter analyse af de røde celler. Se brochure fra VersaLyse (ref. A09777) og følg den foretrukne procedure kaldet “med sideløbende fiksering”, som består i at tilsætte 1 mL af blandingen “Fix-and-Lyse”, der fremstilles samtidig. Vortex øjeblikkeligt i et sekund, og inkubér i 10 minutter ved stuetemperatur, beskyttet imod lys.
5. Centrifugér i 5 minutter ved 150 x g ved stuetemperatur.
6. Fjern supernatanten via aspiration.
7. Resuspender cellepelleten med 3 mL PBS.
8. Gentag trin 5.
9. Fjern supernatanten vha. aspiration, og resuspender cellepelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyd, hvis præparaterne skal opbevares mindre end 24 timer. (En formaldehyd-PBS på 0,1% kan opnås ved fortynding af 12,5 µL af IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800) ved dets 10X koncentration i 1 mL af PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uden formaldehyd, hvis præparaterne skal analyseres inden for 2 timer.

Bemærk: Præparaterne skal under alle omstændigheder beskyttes mod lys og opbevares ved 2-8 °C.

FORVENTEDE VÆRDIER

I vores laboratorier blev fuldblodsprøver, fra 25 umiddelbart raske donorer, behandlet med det ovenfor beskrevne reagens. De opnåede resultater for optælling af relevante positive hændelser med dette reagens er angivet i nedenstående tabel:

Positivt mål	Antal	Middelværdi (%)	SD	CV (%)
Lymfocytter	25	26,53	12,71	47,92
Monocytter	25	97,02	2,77	2,86

Disse værdier er beregnet til kun at være repræsentative. Hvert laboratorium bør fastlægge deres egne forventede værdier fra den lokale population af raske donorer.

YDEEVNE

Præstationsdata opnås, når proceduren beskrevet foroven, anvendes på mindre end 24 timer gamle blodprøver, tidligere indsamlet i sterile prøverør med EDTA-salt som antikoagulant. Analyse skal foretages senest 2 timer efter immunfarvning.

SPECIFICITET

Det monoklonale antistof Immu357 genkender en epitop, der overføres på et monomorfisk 29 - 33 kDa-protein, der identificeres som HLA-DR. HLA-systemet (Human Leucocyte Antigen (Humant leukocytantigen)) er det navn, der er givet til det største histokompatibilitetskompleks (MHC) hos mennesker. Kodet med 5 loci (DM, DO, DP, DQ og DR) af D-locus kaldes HLA klasse II molekyler også HLA-DM-, HLA-DO-, HLA-DP-, HLA-DQ- og HLA-DR-antigener (13,14). Klasse II antigeners udtryk er begrænset til antigen-præsenterende celler, dvs. B-lymfocytter, monocytter / makrofager, dendritiske og Langerhans-celler i huden (14,15). På T-lymfocytter udtrykkes HLA-DR-antigenet kun efter aktivering (16). Stamceller og hæmopoietiske progenitorer udtrykker det op til et vist stadium i deres differentiering (14,17).

PRÆCISION

De procentvise positive værdier blev bestemt ved anvendelse af fuldblod. Hver prøve blev kørt 4 gange, to gange dagligt i 1 dag, på 2 instrumenter med Anti-HLA-DR-Pacific Blue monoklonale antistofreagenser fra 2 lots. Målingerne (% positiv) blev foretaget på Navios-flowcytometer. Analysen blev udført i henhold til CLSI-protokollen EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering af kvantitative målemetoders præcisionsevne).

Vores acceptkriterier afhænger af antallet af positive hændelser målt for hver population:

- Hvis positiv hændelse < 1500, CV < 15%
- Hvis positiv hændelse > 1500, CV < 10%

Lymfocytter							
Antal positive hændelser (middelværdi) = 1154							
	Inter-operatør	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-kørsel	Intra-kørsel	I alt
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monocytter							
Antal positive hændelser (middelværdi) = 1197							
	Inter-operatør	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-kørsel	Intra-kørsel	I alt
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØJAGTIGHED

Nøjagtigheden af Anti-HLA-DR-Pacific Blue blev vurderet ved sammenligning af resultaterne med et referencereagens som prædikat på et sæt fuldblodsprøver kørt på et Navios-flowcytometer. Bias mellem test- og referencereagens blev bestemt på basis af forskellen mellem testresultaterne. Hvis bias er inden for det tilladte fejlområde, eller hvis p-værdien ikke indikerer nogen signifikant forskel (> 0,05), anses testresultaterne for de to reagenser for at være ækvivalente.

De opnåede resultater opsummeres i nedenstående tabel:

Antal donorer = 25				
Positivt mål	Middelværdi Δ	Δ % cellekriterie	p-værdi	RESULTATER
Lymfocytter	-0,26	<5	0,557	PASS
Monocytter	1,04	<5	1,191	PASS

GRÆNSE FOR BLANK OG DETEKTIONSGRÆNSE

En undersøgelse blev gennemført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering af detektionsevne for kliniske laboratoriemåleprocedurer). Detektionsgrænsen (LOD) er den laveste koncentration af analyt, der kan detekteres konsekvent. De opnåede resultater er opsummeret i nedenstående tabel:

Positive Target	Grænse for blank (celle/µL)	Detektionsgrænse (celle/µL)
Lymfocytter	2	4
Monocytter	1	3

BEGRÆNSNINGER

1. Flowcytometri kan give forkerte resultater, hvis cytometeret ikke er perfekt justeret, hvis der ikke er blevet kompenseret korrekt for fluorescenslækager, eller hvis områderne ikke er blevet placeret omhyggeligt.
2. Det anbefales at anvende en RBC-lyseringsteknik med et vasketrin, da dette reagens ikke er blevet optimeret til ”no wash”-lyseringsteknikker.

3. Der genereres nøjagtige og reproducerbare resultater, så længe de anvendte procedurer er i overensstemmelse med de tekniske anvisninger på indlæsgssedlen og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerede antistof for dette reagens kalibreres for at kunne tilbyde det bedste specifikke forhold mellem signal/ikke-specifikt signal. Det er derfor vigtigt at overholde forholdet mellem reagensvolumen og prøvevolumen i hver enkelt test.
5. I tilfælde af en hyperleukocytose skal blodet fortyndes i PBS for at opnå en værdi på ca. 5 x 10^9 leukocytter/L (18).
6. I visse sygdomstilstande, f.eks. alvorligt nyresvigt eller hæmoglobinopatier, kan lysering af røde celler være langsom, ufuldstændig eller endog umulig. I dette tilfælde anbefales det at isolere enkernede celler ved hjælp af en densitetsgradient (f.eks. Ficoll) forud for farvningen (19).
7. Hos patienter behandlet med anti-humane monoklonale antistofterapier, kan påvisning af de respektive specifikke antigener være formindsket eller fraværende, på grund af delvis eller fuldstændig blokering af det terapeutiske antistof.
8. Anti-HLA-DR-Pacific Blue-resultaterne bør fortolkes i lyset af patientens samlede kliniske præsentation, herunder symptomer, sygehistorie, data fra andre tests samt anden relevant information.

Se Tillæg for eksempler og referencer.

VAREMÆRKER

Beckman Coulter, det stiliserede logo og de Beckman Coulter produkt- og servicemærker, der er omtalt heri, er varemærker eller registrerede varemærker tilhørende Beckman Coulter, Inc. i USA og andre lande.

Pacific Blue er et varemærke tilhørende Molecular Probes, Inc.

YDERLIGERE OPLYSNINGER

For en patient/bruger/tredjepart i Den Europæiske Union og i lande med identisk lovgivningsmæssig reguleringsordning (forordning 2017/746/EU om medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik); hvis der er sket en alvorlig hændelse under brugen af dette apparat eller som et resultat af dens anvendelse, skal du rapportere den til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og til din nationale myndighed.

Summary of Safety and Performance (Sammenfatning af Sikkerhed og Ydeevne) er tilgængeligt fra EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVISION AC:	Frigivelsesdato: Oktober 2019

REVISION	**Udgivelsesdato**
AW	Februar 2022
Opdateringer for at sikre overholdelse af Beckman Coulters globale mærkningspolitik og overensstemmelse med IVD-R (EU)2017/746:	
Tilføjede afsnit	BSI 2797-nummer, Tilsigtet bruger, Klinisk relevans, Koncentration, Præcision, Nøjagtighed, Grænse for blank og detektionsgrænse, Yderligere oplysninger, Revisionshistorik.
Tilføjet information	Se afsnittet Begrænsninger
Opdatering af formulering eller typografi	Se afsnittene Procedure, Præstation, Begrænsninger, Advarsel og forholdsregler, Opbevaring og Holdbarhed.
Fjernede afsnit	Eksempel på klinisk anvendelse, Reagenser, Intra-laboratorie reproducerbarhed, Linearitet
Opdaterede afsnit	Tilsigtet brug, GHS-fareklassifikation, Tegn på forringelse, Procedure, Tillæg.

REVISION	**Udgivelsesdato**
AX	April 2023
Opdaterede afsnit	Kasakhisk er blevet tilføjet
Opdaterede afsnit	Opbevaring og holdbarhed

Revideret version	AY
Revisionsdato	Maj 2024
Opdaterede oversættelser	**Klinisk relevans:**
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Revideret version	AZ
Revisionsdato	Juli 2024
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Symbolnøgle

En ordliste over symboler findes på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Specifikationer
Specificitet	HLA-DR
Klon	Immu-357
Hybridom	X63 x balb/c
Immunogen	EBV-transformed cell line
Immunglobulin	IgG1
Arter	Mus
Rening	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	Pacific Blue
Molförhållande	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
λ excitering	405 nm
Emissionstopp	455 nm
Buffert	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA och 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugerad antikropp Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

För *in vitro* diagnostiskt bruk.

AVSEDD ANVÄNDNING

Denna fluorokromkonjugerade antikropp möjliggör kvalitativ och ej automatiserad identifiering av cellpopulationer som uttrycker HLA-DR-antigenet som förekommer i humana biologiska prover med användning av flödescytometri (se avsnittet ”Prov” nedan).

PRINCIP

Detta test är baserat på förmågan hos specifika monoklonala antikroppar att bindas till de antigena determinanter som uttrycks av leukocyter.

Specifik färgning av leukocyterna utförs genom att inkubera provet med IOTest-reagenset. De röda cellerna avlägsnas sedan via lysering och leukocyterna, som inte påverkas av denna process, analyseras med flödescytometri.

Flödescytometern mäter ljusdiffusion och fluorescens av celler. Det möjliggör avgränsningen av populationen av intresse i det elektroniska fönstret definierat i ett histogram, som korrelerar den rätvinkliga ljusspridningen (sidospridning eller SS) och spridningen av snävt ljus (framåtspridning eller FS). Andra histogram som kombinerar två av de tillgängliga parametrarna på cytometern, kan användas som stöd i gating-skedet beroende på tillämpningen som användaren har valt.

Fluorescensen av de begränsade cellerna analyseras för att skilja ut positivt färgade händelser från ofärgade händelser. Resultaten uttrycks som en procentandel av positiva händelser i relation till alla händelser som samlats in med hjälp av gating.

AVSEDD ANVÄNDARE

Denna produkt är avsedd för yrkesmässig laboratorieanvändning.

KLINISK RELEVANS

Anti-HLA-DR-Pacific Blue är en Anti-HLA-DR-antikropp som används för att identifiera och egenskapsbestämma celler som uttrycker HLA-DR-antigenen med hjälp av flödescytometri. Denna produkt kan inte och är inte avsedd för att ensam ge upphov till någon diagnostisk slutsats.

Vid användning i kombination med andra markörer kan denna produkt användas i en eller flera av följande funktioner:

- Som hjälp vid differentialdiagnostisering av hematologiskt onormala patienter som misstänks ha en hematopoetisk tumör eller för övervakning av patienter med känd hematopoetisk tumör.
- Som hjälp vid diagnos av patienter med misstänkt immunbrist och övervakning av patienter med känd immunbrist.
- För övervakning av patienter med känd autoimmun sjukdom eller störning.
- För att övervaka transplantationsprocess eller -resultat.

Se följande referenser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

PROV

Venblod måste tas i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant.

Proverna bör förvaras i rumstemperatur (18–25 °C) och inte skakas. Prover bör vara homogeniserade genom försiktig omrörning innan provet tas.

Proverna måste analyseras inom 24 timmar efter venpunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analyscertifikat på www.beckman.com.

VARNING OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Använd inte reagenset efter utgångsdatumet.
2. Får ej frysas.
3. Låt den komma till rumstemperatur (18–25 °C) före användning.
4. Minimera exponering för ljus.

5. Undvik mikrobiell kontaminering av reagens. Det kan leda till felaktiga resultat.
6. Antikroppslösningar som innehåller natriumazid (NaN_3) bör hanteras med försiktighet. Inta inte internt och undvik all kontakt med hud, slemhinnor och ögon.

   I syramedium kan natriumazid dessutom bilda potentiellt farlig hydrazinsyra. Om reagensen måste kasseras rekommenderar vi att den späds ut med en stor volym vatten innan den hälls ut i avloppssystemet för att undvika explosionsrisk och att natriumazid ackumuleras i metallrören.
7. Alla blodprover måste betraktas som potentiellt smittsamma och ska hanteras med försiktighet (i synnerhet vad gäller användande av skyddshandskar, rockar och skyddsglasögon).
8. Pipettera aldrig med munnen och se till att proverna inte kommer i kontakt med hud, slemhinnor och ögon.
9. Blodprovsrör och engångsmaterial som används för hantering ska kasseras i särskilda behållare avsedda för förbränning.
10. Reagens och avfall ska kasseras i enlighet med lokala krav.

RISKKLASSIFICERING ENLIGT GHS

Ej klassat som farligt

SDS Säkerhetsdatablad finns tillgängligt på beckmancoulter.com/techdocs

FÖRVARING OCH STABILITET

Detta reagens måste hållas mellan 2 och 8 °C och skyddas mot ljus, före och efter att ampullen öppnats.

Hållbarhet för sluten ampull per stabilitetsstudie: 1095 dagar.

Stabilitet i öppen ampull: reagenset är stabilt i 180 dagar.

TECKEN PÅ FÖRSÄMRING

Alla förändringar i reagensens fysiska utseende kan indikera försämring och att reagenset inte ska användas.

För mer information eller om en skadad produkt tas emot, ring Beckman Coulter kundtjänst på 800-742-2345 (USA eller Kanada) eller kontakta din lokala Beckman Coulter-representant.

INNEHÅLL

Konserveringsmedlet natriumazid kan bilda explosiva föreningar i avloppsledningar av metall. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (76-8-16) (Bulletin från den amerikanska motsvarigheten till arbetsmiljöverket: Fara för azidexplosion).
För att undvika risken för ansamling av azidföreningar ska avloppsrören spolas igenom med vatten efter att outspädda reagenser har kasserats. Kassering av natriumazid måste ske i enlighet med tillämpliga lokala regler.

MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE FÖLJER MED KITET:

- Provrör och nödvändigt material för provtagning.
- Automatiska pipetter med engångsspetsar för 10, 100 och 500 µL.
- Hemolysrör av plast.
- Lyseringsreagens för röda blodceller med tvätt efter lyseringen. Till exempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens för leukocytfixering. Till exempel: IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800).
- Isotyp-kontroll Pacific Blue: IOTest-reagens (ref. A74764).
- Buffert (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Centrifugera.
- Automatisk omrörare (Vortex-typ).
- Flödescytometer.

PROCEDUR MED VERSALYSE-REAGENS

För varje analyserat prov kan förutom provröret ett kontrollprovrör läggas till i vilket cellerna blandas i närvaro av isotypkontrollerna (ref. A74764).

1. Tillsätt 10 µL av specifik IOTest-konjugerad antikropp till varje provrör och vid behov 10 µL av isotypkontroll till varje kontrollprovrör.
2. Tillsätt 100 µL av testprovet i varje provrör. Vortexblanda provrören försiktigt.
3. Inkubera i 15 till 20 minuter vid rumstemperatur (18–25 °C) och skyddat mot ljus.
4. Utför sedan lysering av de röda blodkropparna. Se bladet VersaLyse (ref. A09777) och följ företrädesvis proceduren som benämns ”med samtidig fixering”, som består av att tillsätta 1 mL av ”Fixera-och-lysera”-blandningen som beretts strax innan. Vortexblanda omedelbart i en sekund och inkubera i 10 minuter vid rumstemperatur och skyddat mot ljus.
5. Centrifugera i 5 minuter vid 150 x g vid rumstemperatur.
6. Avlägsna ytskiktet genom aspiration.
7. Återsuspendera cellpelleten med 3 mL PBS.
8. Upprepa steg 5.
9. Avlägsna ytskiktet genom aspiration och återsuspendera cellpelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL av PBS plus 0,1 % formaldehyd om preparaten är avsedda att förvaras mindre än 24 timmar. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan erhållas genom spädning av 12,5 µL av IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800) i dess 10X-koncentration i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS utan formaldehyd, om preparaten är avsedda att analyseras inom 2 timmar.

Anmärkning: Behåll i samtliga fall beredningarna vid 2 till 8 °C och skyddade från ljus.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

I våra laboratorier behandlades helblodsprov från 25 till synes friska donatorer med den reagens som beskrivs ovan. Erhållna resultat för antalet positiva händelser av intresse med denna reagens anges i tabellen nedan:

Positivt mål	Nummer	Medelvärde (%)	SD	CV (%)
Lymfocyter	25	26,53	12,71	47,92
Monocyter	25	97,02	2,77	2,86

Dessa värden är endast avsedda att vara representativa. Varje laboratorium ska fastställa sina egna förväntade värden utifrån den lokala populationen med normala donatorer.

PRESTANDA

Prestandadata erhålls med proceduren som beskrivs ovan på blodprov som är färskare än 24 timmar som tagits i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant. Analys utförs inom 2 timmar efter immunfärgning.

SPECIFICITET

Den monoklonala antikroppen Immu357 igenkänner en epitop på ett monomorfiskt 29-33 kDa-protein som har identifierats som HLA-DR. HLA-system (mänskligt leukocytbefriat antigen) är namnet på den stora histokompatibla komplexet (MHC) hos människor. Kodad genom 5 loci (DM, DO, DP, DQ och DR) av D-locuset, kallas HLA klass II-molekyler också HLA-DM-, HLA-DO-, HLA-DP-, HLA-DQ- och HLA-DR antigener (13,14). Uttryck för klass II-antigener är begränsade till antigen-presenterande celler, dvs B-lymfocyter, monocyter/makrofager, dendritiska celler och Langerhans-celler i huden (14,15). På T-lymfocyter uttrycks HLA-DR-antigenet endast efter aktivering (16). Stamceller och hematopoetisk förstadier uttrycker det upp till ett visst skede i deras differentiering (14,17).

PRECISION

Procentvärdet för positiva värden bestämdes med helblod. Varje prov kördes 4 gånger, två gånger om dagen under 1 dag på 2 instrument med 2 loter Anti-HLA-DR-Pacific Blue monoklonala antikroppsreagens. Mätningar (% positiva) utfördes på Navios flödescytometer. Analys utfördes baserat på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Utvärdering av precisionsprestanda för kvantitativa mätmetoder).

Våra acceptanskriterier beror på antalet positiva händelser som uppmäts för varje population:

- Om positiv händelse < 1 500, CV < 15 %
- Om positiv händelse > 1 500, CV < 10 %

Lymfocyter							
Antal positiva händelse (medelvärde) = 1154							
	Mellan operatörer	Mellan cytometrar	Inom lot	Mellan loter	Mellan körningar	Inom körning	Totalt
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
RESULTAT	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monocyter							
Antal positiva händelse (medelvärde) = 1197							
	Mellan operatörer	Mellan cytometrar	Inom lot	Mellan loter	Mellan körningar	Inom körning	Totalt
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
RESULTAT	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NOGGRANNHET

Noggrannheten hos Anti-HLA-DR-Pacific Blue bedömdes genom att jämföra resultaten med en referensreagens som predikat på en uppsättning helblodsprov körda på en Navios flödescytometer. Bias mellan test- och referensreagens bestämdes baserat på skillnaden mellan testresultat. Om bias ligger inom tillåtet felintervall eller p-värdet anger att det inte finns någon signifikant skillnad (> 0,05), så anses testresultaten för de två reagenserna vara likvärdiga.

Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell nedan:

Antal donatorer = 25				
Positivt mål	Medelvärde Δ	Δ % cellkriterier	p-värde	RESULTAT
Lymfocyter	-0,26	<5	0,557	PASS
Monocyter	1,04	<5	1,191	PASS

BLANKGRÄNS OCH DETEKTIONSGRÄNS

En studie genomfördes i enlighet med CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Utvärdering av detekteringsförmåga för kliniska laboratoriemätningsprocedurer). Detektionsgräns (LoD) är den lägsta analytkoncentrationen som konsekvent kan detekteras. Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell:

Positive Target	Blankgräns (cell/µL)	Detektionsgräns (cell/µL)
Lymfocyter	2	4
Monocyter	1	3

BEGRÄNSNINGAR

1. Flödescytometri kan ge falska resultat om cytometern inte har justerats perfekt, om fluorescensläckor inte har kompenserats korrekt och om regionerna inte har placerats noggrant.
2. Det är bäst att använda en RBC-lyseringsteknik med ett tvättsteg, eftersom denna reagens inte optimerats för lyseringstekniker ”utan tvätt”.

3. Noggranna och reproducerbara resultat kommer att erhållas så länge de förfaranden som används är i enlighet med den tekniska bipacksedeln och förenliga med god laboratoriepraxis.
4. Den konjugerade antikroppen för detta reagens är kalibrerad för att erbjuda det bästa specifik signal/icke-specifik signal-förhållandet. Därför är det viktigt att följa reagensvolym/provvolym-förhållandet i varje test.
5. Vid hyperleukocytos, späd blodet i PBS för att erhålla ett värde på cirka 5 x 10^9 leukocyter/L (18).
6. Vid vissa sjukdomstillstånd, såsom vid mycket svår njursvikt eller hemoglobinopatier, kan lysering av röda celler vara långsam, ofullständig eller till och med omöjlig. I detta fall är det rekommenderat att isolera mononukleära celler med användning av en densitetsgradient (till exempel Ficoll) innan färgningen (19).
7. Hos patienter som behandlas med anti-human monoklonala antikroppar kan detektering av de specifika eftersökta antigenerna minska eller utebli på grund av delvis eller fullständig blockering från behandlingens antikropp.
8. Resultat för Anti-HLA-DR-Pacific Blue bör tolkas med tanke på patientens totala kliniska bild, inklusive: symptom, anamnes, information från övriga test och annan lämplig information.

Se bilagan för exempel och referenser.

VARUMÄRKEN

Beckman Coulter, den stiliserade logotypen och Beckman Coulters produkt- och tjänstmärken som nämns häri är varumärken eller registrerade varumärken som tillhör Beckman Coulter, Inc. i USA eller andra länder.

Pacific Blue är ett varumärke som tillhör Molecular Probes, Inc.

YTTERLIGARE INFORMATION

För en patient/användare/tredje part inom EU och i länder med identiskt regelsystem (förordning 2017/746/EU om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik); om, vid användning av denna enhet eller som ett resultat av dess användning, en allvarlig incident inträffat ska den rapporteras till tillverkaren och/eller till dess auktoriserade representant och till den nationella myndigheten.

Summary of Safety and Performance (Sammanfattning av säkerhet och prestanda) finns tillgänglig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVIDERING AC:	Publiceringsdatum: Oktober 2019

REVISION	**Publiceringsdatum**
AW	Februari 2022
Uppdateringar för att uppfylla Beckman Coulter globala etiketteringspolicy och kraven i IVD-R (EU)2017/746:	
Tillagda avsnitt	BSI 2797 Nummer, Avsedd användare, Klinisk relevans, Koncentration, Precision, Noggrannhet, Blankgräns och detektionsgräns, Ytterligare information, Revisionshistorik.
Tillagd information	Se avsnittet Begränsningar
Ordval eller typografiska uppdateringar	Se avsnitten Procedur, Prestanda, Begränsningar, Varningar och försiktighetsåtgärder, Förvaring och stabilitet.
Borttagna avsnitt	Exempel på kliniska tillämpningar, Reagens, Reproducerbarhet inom laboratorium, Linearitet
Uppdaterade avsnitt	Avsedd användning, Faroklassificering enligt GHS, Tecken på försämring, Procedur, Bilaga.

REVISION	**Publiceringsdatum**
AX	April 2023
Uppdaterade avsnitt	Lägg till kazakiska
Uppdaterade avsnitt	Förvaring och hållbarhet

Reviderad version	AY
Datum för revidering	Maj 2024
Uppdaterade översättningar	**Klinisk relevans:**
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Reviderad version	AZ
Datum för revidering	Juli 2024
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Teckenförklaring för symboler

Ordlista för symboler finns på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Spesifikasjoner
Spesifisitet	HLA-DR
Klon	Immu-357
Hybridom	X63 x balb/c
Immunogen	EBV-transformed cell line
Immunoglobulin	IgG1
Art	Mus
Rensing	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	Pacific Blue
Molart forhold	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
λ-eksitasjon	405 nm
Strålingstopp	455 nm
Buffer	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/mL BSA og 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugert antistoff Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

For *in vitro*-diagnose.

TILTENKT BRUK

Dette fluorokromkonjugerte antistoffet muliggjør kvalitativ og ikke-automatisert identifisering av cellepopulasjoner som uttrykker HLA-DR-antigenet som finnes i humane biologiske prøver, ved hjelp av flowcytometri (se avsnittet «Prøver» nedenfor).

PRINSIPP

Denne testen er basert på evnen spesifikke monoklonale antistoffer har til å binde seg til antigendeterminantene uttrykt av leukocytter.

Spesifikk farging av leukocyttene utføres ved inkubering av prøven med IOTest-reagenset. De røde cellene fjernes deretter ved lysering, og leukocyttene, som er uberørt av denne prosessen, analyseres ved flowcytometri.

Flytcytometeret måler lysdiffusjon og cellenes fluorescens. Det gjør det mulig å avgrense populasjonen som skal undersøkes innenfor det elektroniske vinduet som er definert på et histogram, og som korrelerer den ortogonale lysspredningen (sidespredning eller SS) og spredningen av trangvinklet lys (foroverpredning eller FS). Andre histogrammer som kombinerer to av de ulike parametrene på cytometeret kan brukes som støtte ved gatingstadiet, avhengig av programmet som velges av brukeren.

Fluorescensen i de avgrensede cellene analyseres for å skille de positivt fargede hendelsene fra de ufargede. Resultatene er uttrykt som en prosentandel positive hendelser i forhold til alle hendelser innhentet ved gatingen.

TILTENKT BRUKER

Dette produktet skal brukes av profesjonelle brukere på laboratorier.

KLINISK RELEVANS

Anti-HLA-DR-Pacific Blue er et Anti-HLA-DR-antistoff som brukes til å identifisere og karakterisere celler som uttrykker HLA-DR-antigenet, ved hjelp av flowcytometri. Dette produktet alene kan ikke og er ikke ment å generere en diagnostisk konklusjon.

Når dette produktet brukes i kombinasjon med andre markører, kan det brukes i én eller flere av følgende funksjoner:

- For å bistå ved differensialdiagnostisering av hematologisk unormale pasienter med mistenkt hematopoietisk neoplasi og følge opp pasienter med kjent hematopoietisk neoplasi.
- Bistå ved diagnostisering av pasienter med mistenkt immunsvikt og overvåke pasienter med kjent immunsvikt.
- Overvåke pasienter med kjent autoimmun sykdom eller lidelse.
- Overvåke transplantasjonsprosess eller resultater.

Se følgende referanser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

PRØVER

Veneblod må tas ved bruk av sterile rør som inneholder EDTA-salt som antikoagulant.

Prøvene skal oppbevares i romtemperatur (18–25 °C) og ikke ristes. Prøvene skal homogeniseres ved forsiktig risting før du tar testprøven.

Prøvene må analyseres innen 24 timer etter venepunksjon.

KONSENTRASJON

Se lot-spesifikt analysesertifikat på www.beckman.com.

ADVARSEL OG FORHOLDSREGLER

1. Reagenset må ikke brukes etter utløpsdatoen.
2. Må ikke fryses.
3. La det nå romtemperatur (18–25 °C) før bruk.
4. Bør ikke utsettes for lys.

5. Unngå mikrobiell kontaminering av reagensene, ellers kan det gi feil resultater.
6. Antistoffløsninger som inneholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsiktighet. Ikke til innvortes bruk. Unngå all kontakt med hud, slimhinner og øyne.

   Videre kan natriumazid i et syremedium danne potensielt farlig hydrogenazid. Hvis reagenset må kasseres, anbefales det at det fortynnes i store mengder vann før det tømmes i avløpssystemet, slik at man unngår opphopning av natriumazid i metallrør, og for å hindre eksplosjonsfare.
7. Alle blodprøver må betraktes som potensielt smittefarlige og må håndteres med forsiktighet (gjelder spesielt: bruk av vernehansker, laboratoriefrakk og vernebriller).
8. Pipetter aldri med munnen, og unngå at prøvene kommer i kontakt med huden, slimhinnene og øynene.
9. Blodprøverør og engangsmateriale som brukes til håndtering, skal kastes i beholdere beregnet for forbrenning.
10. Reagenser og avfall skal kastes i henhold til lokale krav.

GHS-FAREKLASSIFISERING

Ikke klassifisert som farlig

SDS Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPPBEVARING OG STABILITET

Dette reagenset må oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttes mot lys før og etter at flasken er åpnet.

Holdbarhet i lukket flaske ifølge stabilitetsstudie: 1095 dager.

Stabilitet for åpnet flaske: reagenset er stabilt i 180 dager.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Endringer i reagensenes fysiske utseende kan være tegn på redusert kvalitet, og slike reagenser skal ikke brukes.

For ytterligere informasjon eller hvis produktet mottas skadet, kan Beckman Coulter kundeservice 800-742-2345 (USA og Canada) eller den lokale Beckman Coulter-representanten kontaktes.

INNHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive blandinger i metalliske avløpsrør. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Fare for eksplosive azider) (16.8.76). For å unngå mulig opphopning av azidforbindelser må avløpsrør skylles med vann etter avhending av ufortynnet reagens. Avfallshåndtering av natriumazid må skje i samsvar med relevante lokale forskrifter.

NØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE FØLGER MED SETTET:

- Prøvetakingsrør og materiale nødvendig for prøvetaking.
- Automatiske pipetter med engangsspisser til 10, 100 og 500 µL.
- Hemolyserør av plast.
- Rød cellelyseringsreagens med vasketrinn etter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Leukocytt-fikseringsreagens. For eksempel: IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800).
- -isotypekontroll Pacific Blue: IOTest-reagens (ref. A74764).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Sentrifuger.
- Automatisk omrører (vortekstype).
- Flytcytometer.

PROSEDYRE MED VERSALYSE-REAGENS

For hver prøve som analyseres, kan det i tillegg til testrøret legges til ett kontrollrør hvor cellene er blandet med tilstedeværelse av isotypekontrollen (ref. A74764).

1. Tilsett 10 µL spesifikt IOTest-konjugert antistoff i hvert testrør og ved behov 10 µL av isotypekontrollen i hvert kontrollrør.
2. Tilsett 100 µL av testprøven i hvert rør. Vorteks rørene forsiktig.
3. Inkuber i 15 til 20 minutter ved romtemperatur (18–25 °C), beskyttet mot lys.
4. Utfør deretter lysering av de røde blodcellene. Les brosjyren VersaLyse (ref. A09777), og prøv å følge prosedyren kalt «with concomitant fixation» (med samtidig fiksering) som består av å tilsette 1 mL av «fikserings- og lyseringsblandingen» som klargjøres prompte. Bland på vorteksmikser umiddelbart i ett sekund, og inkuber i 10 minutter ved romtemperatur, beskyttet mot lys.
5. Sentrifugeres i 5 minutter ved 150 x g ved romtemperatur.
6. Fjern supernatanten ved aspirasjon.
7. Resuspender cellepelleten i 3 mL PBS.
8. Gjenta trinn 5.
9. Fjern supernatanten ved aspirasjon, og resuspender cellepelleten ved hjelp av:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS pluss 0,1 % formaldehyd hvis preparatene skal oppbevares i mindre enn 24 timer. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan oppnås ved å fortynne 12,5 µL IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800) ved 10X konsentrasjon i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uten formaldehyd hvis preparatene skal analyseres innen 2 timer.

Merk: I alle tilfeller skal preparatene oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttet mot lys.

FORVENTEDE VERDIER

I våre laboratorier ble fullblodsprøvene fra 25 tilsynelatende friske donorer behandlet med reagenset beskrevet over. Resultatene som ble oppnådd for telling av de aktuelle positive hendelsene med dette reagenset, er angitt i tabellen nedenfor:

Positivt mål	Nummer	Gjennomsnitt (%)	SD	VK (%)
Lymfocytter	25	26,53	12,71	47,92
Monocytter	25	97,02	2,77	2,86

Disse verdiene er bare representative. Hvert enkelt laboratorium bør fastsette egne forventede verdier ut fra den lokale populasjon av normaldonorer.

YTELSE

Ytelsesdata er fremskaffet ved bruk av prosedyren som er beskrevet ovenfor på mindre enn 24 timer gamle blodprøver som tidligere er samlet i sterile rør med EDTA-salt som antikoagulant. Analysen utføres innen 2 timer etter immunfarging.

SPESIFISITET

Det monoklonale antistoffet Immu357 gjenkjenner en epitop som gjennomføres på et monomorfisk 29 - 33 kDa-protein som er identifisert som HLA-DR. HLA-systemet (Human leucocyte Antigen) er det navnet som de store histokompatibilitets-kompleksene (MHC) i mennesker har fått. De er kodet ved hjelp av 5 loci (DM, DO, DP, DQ og DR) av D-locus, og HLA-klasses II-molekyler blir dessuten kalt HLA-DM-, HLA-DO-, HLA-DP-, HLA-DQ- og HLA-DR-antigener (13,14). Uttrykk for klasse II-antigener er begrenset til antigen-presenterende celler, dvs. B-lymfocytter, monocytter/makrofager, dendrittiske og Langerhans-celler i huden (14,15). På T-lymfocytter kommer HLA-DR-antigenet til uttrykk kun etter aktivering (16). Stamceller og haemopoietiske forløpere uttrykker det opp til et visst stadium i deres differensiering (14,17).

PRESISJON

Prosentandelen positive verdier ble bestemt med fullblod. Hver prøve ble kjørt 4 ganger, to ganger om dagen i 1 dag på 2 instrumenter med 2 partier Anti-HLA-DR-Pacific Blue monoklonale antistoffreagenser. Målinger (% positiv) ble foretatt på et Navios-flytcytometer. Analysen ble utført basert på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering av presisjonsytelse ved kvantitative målemetoder).

Våre godkjenningskriterier er avhengige av antall positive hendelser som måles for hver populasjon:

- Hvis positiv hendelse < 1 500, VK < 15 %
- Hvis positiv hendelse > 1 500, VK < 10 %

Lymfocytter							
Antall positive hendelser (gjennomsnitt) = 1154							
	Mellom operatører	Mellom cytometere	Innenfor samme lot	Mellom loter	Mellom kjøringer	Innenfor samme kjøring	Total
VK (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monocytter							
Antall positive hendelser (gjennomsnitt) = 1197							
	Mellom operatører	Mellom cytometere	Innenfor samme lot	Mellom loter	Mellom kjøringer	Innenfor samme kjøring	Total
VK (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØYAKTIGHET

Nøyaktigheten til Anti-HLA-DR-Pacific Blue ble vurdert ved å sammenligne resultatene med et referansereagens som predikatet på et sett med fullblodsprøver kjørt på et Navios-flytcytometer. Skjevheten mellom test- og referansereagens ble bestemt basert på forskjellen mellom testresultater. Hvis skjevheten er innenfor det tillatte feilområdet eller p-verdien angir ingen vesentlig forskjell (> 0,05), anses testresultatene for de to reagensene som tilsvarende.

De oppnådde resultatene er oppsummert i den følgende tabellen:

Antall donorer = 25				
Positivt mål	Gjennomsnittlig Δ	Δ % cellekriterier	p-verdi	RESULTATER
Lymfocytter	-0,26	<5	0,557	PASS
Monocytter	1,04	<5	1,191	PASS

GRENSE FOR BLANKPRØVE OG DETEKSJONSGRENSE

En studie ble gjennomført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering av deteksjonsevne for måleprosedyrer på kliniske laboratorier). Deteksjonsgrensen (LOD) er den laveste analyttkonsentrasjonen som kan detekteres konsekvent. Resultatene som ble oppnådd, er oppsummert i tabellen nedenfor:

Positive Target	Grense for blankprøve (celle/µL)	Deteksjonsgrense (celle/µL)
Lymfocytter	2	4
Monocytter	1	3

BEGRENSNINGER

1. Flowcytometri kan gi falske resultater hvis cytometeret ikke har blitt justert nøyaktig, hvis fluorescenslekkasjer ikke er kompensert riktig, og hvis regionene ikke er nøye plassert.

2. Det er best å bruke en RBC-lyseringsteknikk med et vasketrinn, ettersom dette reagenset ikke er optimert for lyseringsteknikker uten vask.
3. Nøyaktige og reproduserbare resultater vil oppnås så lenge de anvendte prosedyrene er i samsvar med det tekniske pakningsvedlegget og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerte antistoffet til dette reagenset er kalibrert for å oppnå best mulig forhold mellom spesifikt signal og ikke-spesifikt signal. Derfor er det viktig å overholde forholdet mellom reagensvolum og prøvevolum i hver test.
5. Ved hyperleukocytose fortynnes blodet i PBS for å oppnå en verdi på omtrent 5 x 10^9 leukocytter/L (18).
6. Ved visse sykdomstilstander, for eksempel alvorlig nyresvikt eller hemoglobinopatier, kan lyseringen av røde celler være langsom, ufullstendig eller til og med umulig. I dette tilfellet anbefales det å isolere mononukleærerte celler ved hjelp av en densitetsgradient (for eksempel Ficoll) før farging (19).
7. Hos pasienter som behandles med antihumane, monoklonale antistoffbehandlinger, kan deteksjon av bestemte målantigener reduseres eller være fraværende på grunn av delvis eller fullstendig blokkering av det terapeutiske antistoffet.
8. Anti-HLA-DR-Pacific Blue-resultatene skal tolkes i lys av den totale kliniske vurderingen av pasienten, inkludert: symptomer, klinisk historie, data fra flere tester og annen aktuell informasjon.

Se vedlegget for eksempler og referanser.

VAREMERKER

Beckman Coulter, den stiliserte logoen og vare- og servicemerkene til Beckman Coulter som er omtalt her, er varemerker eller registrerte varemerker som tilhører Beckman Coulter, Inc. i USA og andre land.

Pacific Blue er et varemerke for Molecular Probes, Inc.

TILLEGGSINFORMASJON

For pasient/bruker/tredjepart i EU og land med identisk regelverk (EUs forordning nr. 2017/746 om in vitro-diagnostisk medisinsk utstyr); hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av dette utstyret, eller som et resultat av bruken, skal dette rapporteres til produsenten og/eller den autoriserte representanten samt til nasjonal myndighet.

Summary of Safety and Performance (Sammendrag av sikkerhet og ytelse) er tilgjengelig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISJONSHISTORIE

REVISJON AC:	Utgivelsesdato: Oktober 2019

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AW	Februar 2022
Oppdateringer skal overholde de globale merkingsreglene til Beckman Coulter og være i samsvar med krav iht. IVD-R (EU)2017/746:	
Innsatte avsnitt	BSI 2797-nummer, Tiltenkt bruker, Klinisk relevans, Konsentrasjon, Presisjon, Nøyaktighet, Grense for blankprøve og deteksjonsgrense, Tilleggsinformasjon, Revisjonshistorie.
Innsatt informasjon	Se avsnittet Begrensninger
Oppdatering av formulering eller typografi	Se avsnittene Prosedyre, Ytelse, Begrensninger, Advarsler og forholdsregler, Oppbevaring og stabilitet.
Fjernede avsnitt	Eksempel på kliniske bruksområder, Reagenser, Reproduserbarhet innenfor samme laboratorium, Linearitet
Oppdaterte avsnitt	Tiltenkt bruk, GHS-fareklassifisering, Tegn på nedbryting, Prosedyre, Vedlegg.

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AX	april 2023
Oppdaterte avsnitt	Lagt til kasakhisk
Oppdaterte avsnitt	Oppbevaring og stabilitet

Revidert versjon	AY
Revisjonsdato	mai 2024
Oppdatert oversettelser	**Klinisk relevans:**
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Revidert versjon	AZ
Revisjonsdato	juli 2024
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Symbolforklaring

Symbolordliste er tilgjengelig på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Tekniset tiedot
Spesifisyys	HLA-DR
Klooni	Immu-357
Hybridooma	X63 x balb/c
Immunogeeni	EBV-transformed cell line
Immunoglobuliini	IgG1
Lajit	Hiiri
Puhdistus	Affiniteettikromatografia
Fluorokromi	Pacific Blue
Moolisuhde	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
λ-viritys	405 nm
Säteilyhuippu	455 nm
Puskuri	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA:ta ja 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugoitunut vasta-aine Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 testiä; 0,5 ml, 10 µl / test

Diagnostiseen *in vitro* -käyttöön.

KÄYTTÖTARKOITUS

Tämän fluorokromikonjugoidun vasta-aineen avulla voidaan kvalitatiivisesti ja muilla kuin automaattisilla tavoilla tunnistaa solupopulaatioita, jotka ilmentävät ihmisen biologisissa näytteissä esiintyvää HLA-DR-antigeeniä virtaussytometriaa käyttämällä (katso jäljempää kohta Näytteet).

PERIAATE

Testi perustuu tiettyjen monoklonaalisten vasta-aineiden kykyyn sitoutua leukosyyttien ilmentämiin antigeenideterminantteihin.

Leukosyyttien spesifinen värjäys tehdään inkuboimalla näyte IOTest-reagenssilla. Punasolut poistetaan sen jälkeen lyysaamalla, ja leukosyytit, joihin tämä prosessi ei vaikuta, analysoidaan virtaussytometrialla.

Virtaussytometri mittaa valonhajontaa ja solujen fluoresenssia. Sen avulla on mahdollista rajata kiinnostuksen kohteena olevan populaatio pylväskaavioon määritetyssä elektronisessa ikkunassa, jossa ortogonaalinen valonhajonta (sivusironta eli SS) vastaa kapean kulman valonhajontaa (eteenpäinsironta eli FS). Muita sytometrin kahta eri parametria yhdistäviä pylväskaavioita voidaan käyttää rajaamisvaiheen tukena käyttäjän valitseman sovelluksen mukaan.

Rajattujen solujen fluoresenssi analysoidaan, jotta positiivisesti värjäytyneet tapahtumat voidaan erottaa värjäytymättömistä tapahtumista. Tulokset ilmaistaan positiivisten tapahtumien prosenttimääränä suhteessa kaikkiin rajauksella kerättyihin tapahtumiin.

AIOTTU KÄYTTÄJÄ

Tämä tuote on tarkoitettu ammattimaiseen laboratoriokäyttöön.

KLIININEN RELEVANSSI

Anti-HLA-DR-Pacific Blue on Anti-HLA-DR-vasta-aine, jota käytetään HLA-DR-antigeeniä ilmentävien solujen tunnistamiseen ja karakterisointiin virtaussytometrian avulla. Pelkästään tämän tuotteen avulla ei voi tehdä mitään diagnostisia johtopäätöksiä, eikä sitä ole tarkoitettu diagnostisten johtopäätösten tekemiseen.

Kun sitä käytetään yhdessä muiden merkkiaineiden kanssa, tuotetta voidaan käyttää yhteen tai useaan seuraavista toiminnoista:

- Erotusdiagnostiikan tueksi hematologisesti poikkeavilla potilailla, joilla epäillään olevan hematopoieettisia kasvaimia, ja sellaisten potilaiden seurantaan, joilla tiedetään olevan hematopoieettisia kasvaimia.
- Sellaisten potilaiden diagnosoinnin tueksi, joilla epäillään immuunipuutostilaa, ja sellaisten potilaiden seurantaan, joilla tiedetään olevan immuunipuutostila.
- Sellaisten potilaiden seurantaan, joilla tiedetään olevan autoimmuunisairaus tai -häiriö.
- Transplantaatioprosessin tai sen tulosten seurantaan.

Katso seuraavat viitteet:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

NÄYTTEET

Laskimoverinäytteet on otettava käyttäen steriilejä putkia, joissa on antikoagulanttina EDTA-suolaa.

Näytteet on säilytettävä huoneenlämmössä (18–25 °C), eikä niitä saa ravistaa. Näytteet on homogenoitava sekoittamalla hellävaraisesti ennen testinäytteen ottamista.

Näytteet on analysoitava 24 tunnin sisällä laskimopunktiosta.

PITOISUUS

Katso eräkohtainen analyysitodistus osoitteesta www.beckman.com.

VAROITUS JA VAROTOIMET

1. Älä käytä reagenssia viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
2. Ei saa jäätyä.
3. Anna sen lämmetä huoneenlämpöiseksi (18–25 °C) ennen käyttöä.

4. Minimoi altistuminen valolle.
5. Vältä reagenssien mikrobikontaminaatiota, muutoin vaarana ovat virheelliset tulokset.
6. Natriumatsidia (NaN_3) sisältäviä vasta-aineliuoksia tulee käsitellä varoen. Sitä ei saa niellä, ja sen joutumista iholle, limakalvoille ja silmiin on vältettävä.

   Lisäksi happamassa liuoksessa natriumatsidi voi muodostaa mahdollisesti vaarallista hydratsoehappoa. Jos reagenssi on hävitettävä, se on suositeltavaa laimentaa suureen vesimäärään ennen sen kaatamista viemäriin, jotta natriumatsidia ei pääse kertymään metalliputkiin ja vältetään räjähdysvaara.
7. Kaikkia verinäytteitä on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina, ja niitä on käsiteltävä varovaisesti (erityisesti on muistettava suojakäsineiden, -pukujen ja -lasien käyttö).
8. Älä koskaan pipetoi suulla ja vältä näytteiden kaikkea kosketusta ihoon, limakalvoihin ja silmiin.
9. Veriputket ja käsittelyyn käytetyt kertakäyttöiset materiaalit on hävitettävä poltettaviksi tarkoitetuissa ad hoc -astioissa.
10. Reagenssit ja jätteet on hävitettävä paikallisten vaatimusten mukaisesti.

GHS-VAARALUOKITUS

Ei luokiteltu vaaralliseksi

SDS Käyttöturvallisuustiedote on saatavana osoitteessa beckmancoulter.com/techdocs

SÄILYTYS JA STABILITEETTI

Tätä reagensseja on säilytettävä 2–8 °C:n lämpötilassa ja suojattava valolta ennen ampullin avaamista ja sen jälkeen.

Suljetun ampullin säilyvyysaika stabiliteettitutkimuksen mukaan: 1095 päivää.

Avatun ampullin stabiliteetti: reagenssi on stabiili 180 päivän ajan.

MERKIT PILAANTUMISESTA

Mahdolliset muutokset reagenssin fyysisessä ulkonäössä voivat viitata huonontumiseen, eikä reagenssia saa tällöin käyttää.

Jos tarvitset lisätietoja tai jos sait vahingoittuneen tuotteen, soita Beckman Coulter -asiakaspalveluun numeroon 800 742 2345 (USA ja Kanada) tai ota yhteyttä Beckman Coulterin paikalliseen edustajaan.

SISÄLTÖ

Natriumatsidi-säilöntäaine saattaa muodostaa räjähtäviä yhdisteitä metallisissa viemäriputkissa. Katso NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.08.1976). Huuhtele viemäriputket vedellä laimentamattoman reagenssin poiston jälkeen mahdollisen atsidiyhdisteiden kerääntymisen estämiseksi. Hävitä natriumatsidi asianmukaisten paikallismääräysten mukaisesti.

TARVITTAVAT MATERIAALIT, JOITA EI TOIMITETA SARJAN MUKANA:

- Näytteenottoon tarvittavat näytteenottoputket ja materiaalit.
- Automaattiset pipetit, joissa kertakäyttökärjet 10, 100 ja 500 µl.
- Muoviset hemolyysiputket.
- Punasolujen lyysireagenssi ja pesuvaihe lyysin jälkeen. Esimerkiksi: VersaLyse (viite A09777).
- Leukosyyttien kiinnitysreagenssi. Esimerkiksi: IOTest 3 -fiksatiiviliuos (viite A07800).
- Isotyyppinen kontrolli Pacific Blue: IOTest-reagenssi (viite A74764).
- Puskuri (PBS: 0,01 M natriumfosfaattia, 0,145 M natriumkloridia, pH 7,2).
- Sentrifugi.
- Automaattinen sekoitin (Vortex-/pyörretyyppinen).
- Virtaussytometri.

VERSALYSE-REAGENSSIN MENETTELY

Jokaiselle analysoidulle näytteelle voidaan lisätä testiputken lisäksi yksi kontrolliputki, jossa solut sekoitetaan käyttämällä isotyyppistä kontrollia (ref. A74764).

1. Lisää 10 µl spesifisiä IOTest-konjugoituja vasta-aineita jokaiseen testiputkeen ja tarvittaessa 10 µl isotyyppistä kontrollia jokaiseen kontrolliputkeen.
2. Lisää 100 µl testinäytettä kuhunkin putkeen. Sekoita putkia vorteksilla varovaisesti.
3. Inkuboi 15–20 minuuttia huoneenlämmössä (18–25 °C), valolta suojattuna.
4. Tee sitten punasolujen lyysaus. Tutustu VersaLyse (viite A09777) -selosteeseen ja noudata mieluiten menettelyä, jonka nimessä on mainint a ”rinnakkaiskiinnityksen kanssa” ja johon sisältyy ohje lisätä 1 ml kiinnitys- ja lyysiseosta, joka on valmistettu kyseistä tapausta varten. Sekoita välittömästi vorteksilla yhden sekunnin ajan ja inkuboi 10 minuuttia huoneenlämmössä, valolta suojattuna.
5. Sentrifugoi 150 x g 5 minuutin ajan huoneenlämmössä.
6. Poista supernatantti aspiroimalla.
7. Suspendoi solupelletti uudelleen käyttämällä 3 ml PBS:ää.
8. Toista vaihe 5.
9. Poista supernatantti aspiroimalla ja suspendoi solupelletti käyttämällä:

- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää plus 0,1 % formaldehydiä, jos valmisteet aiotaan säilyttää alle 24 tuntia. (0,1 % formaldehydiä sisältävä PBS saadaan laimentamalla 12,5 µl IOTest 3 -fiksatiiviliuosta (viite A07800) sen 10-kertaisella pitoisuudella 1 ml:aan PBS:ää).
- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää ilman formaldehydiä, jos valmisteet tullaan analysoimaan 2 tunnin sisällä.

Huomautus: Pidä valmisteet kaikissa tapauksissa 2–8 °C:n lämpötilassa ja valolta suojattuna.

ODOTETUT ARVOT

Laboratorioissamme 25 ilmeisesti terveen luovuttajan kokoverinäytteet käsiteltiin edellä kuvatulla reagenssilla. Seuraavassa taulukossa esitetään tällä reagenssilla saadut tulokset, kun kiinnostuksen kohteena olleet positiiviset tapahtumat laskettiin:

Positiivinen kohde	Lukumäärä	Keskiarvo (%)	SD	CV (%)
Lymfosyytit	25	26,53	12,71	47,92
Monosyytit	25	97,02	2,77	2,86

Nämä arvot on tarkoitettu vain esimerkeiksi. Jokaisen laboratorion tulee luoda omat odotetut arvonsa paikallisen normaalien luovuttajien populaation mukaan.

SUORITUSKYKY

Suorituskykytiedot saadaan edellä kuvatulla menetelmällä käyttämällä alle 24 tunnin ikäisistä näytteistä, jotka on aiemmin kerätty steriileihin putkiin, joissa antikoagulanttina on EDTA-suola. Analyysi suoritetaan 2 tunnin kuluessa immunovärjäyksestä.

SPESIFISYYS

Monoklonaalinen vasta-aine Immu357 tunnistaa monomorfisen 29–33 kDa:n proteiinin kantaman epitoopin, joka tunnetaan HLA-DR:nä. HLA-järjestelmä (Human Leucocyte Antigen, ihmisen leukosyyttiantigeeni) on nimi, joka on annettu ihmisen tärkeimmälle histokompatibiliteettikompleksille (MHC). HLA-luokan II molekyylejä koodataan viidellä D-lokuksella (DM, DO, DP, DQ ja DR), ja niitä kutsutaan myös HLA-DM-, HLA-DO-, HLA-DP-, HLA-DQ- ja HLA-DR-antigeeneiksi (13,14). Luokan II antigeenien ilmentäminen rajoittuu antigeeniä ilmentäviin soluihin, kuten B-lymfosyytteihin, monosyytteihin/makrofageihin, dendriitisoluihin ja ihon Langerhansin soluihin (14,15). T-lymfosyyteissä HLA-DR-antigeeniä ilmennetään vasta aktivoinnin jälkeen (16). Kantasolut ja hematopoieettiset esisolut ilmentävät sitä tiettyyn vaiheeseen saakka niiden erottelun aikana (14,17).

TARKKUUS

Positiivisten arvojen prosenttimäärät määritettiin kokoverta käyttämällä. Jokainen näyte käsiteltiin 4 kertaa, kahdesti päivässä päivänä 1 2 laitteessa käyttämällä 2 erää Anti-HLA-DR-Pacific Blue monoklonaalisia vasta-ainereagensseja. Mittaukset (% positiivinen) tehtiin Navios-virtaussytometrillä. Analyysi tehtiin perustuen CLSI-menetelmään EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (kvantitatiivisten mittausmenetelmien tarkkuuden arviointi).

Hyväksyntäkriteerimme on riippuvainen kussakin populaatiossa mitattujen positiivisten tapahtumien määrästä:

- Jos tapahtuma on positiivinen < 1 500, CV < 15 %
- Jos tapahtuma on positiivinen > 1 500, CV < 10 %

Lymfosyytit							
Positiivisten näytteiden lukumäärä (keskiarvo) = 1154							
	Käyttäjien välinen	Sytometrin sisäinen	Erän sisäinen	Erien välinen	Ajojen välinen	Ajon sisäinen	Yhteensä
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
TULOKSET	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monosyytit							
Positiivisten näytteiden lukumäärä (keskiarvo) = 1197							
	Käyttäjien välinen	Sytometrin sisäinen	Erän sisäinen	Erien välinen	Ajojen välinen	Ajon sisäinen	Yhteensä
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
TULOKSET	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ULKOINEN TARKKUUS

Kohteen Anti-HLA-DR-Pacific Blue tarkkuus arvioitiin vertaamalla tuloksia viitereagenssiin, joka toimi Navios-virtaussytometrilla käsitellyn kokoverinäytesarjan predikaattina. Poikkeama testi- ja viitereagenssin välillä määritettiin testitulosten erojen perusteella. Jos poikkeama on sallitulla virhealueella tai p-arvo ei osoita merkitsevää eroa (> 0,05), kahden reagenssin testituloksia pidetään toisiaan vastaavina.

Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Luovuttajien määrä = 25				
Positiivinen kohde	Keskiarvo Δ	Δ % -solukriteeri	p-arvo	TULOKSET
Lymfosyytit	-0,26	<5	0,557	PASS
Monosyytit	1,04	<5	1,191	PASS

NOLLAMITTAUKSEN YLÄRAJA JA MITTAUKSEN ALARAJA

Tutkimus tehtiin CLSI EP17-A2:n mukaisesti, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Detektiokyvyn arviointi kliinisissä laboratoriomittausmenettelyissä). Mittauksen alaraja (LoD) on analyytin alhaisin pitoisuus, joka voidaan havaita johdonmukaisesti. Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Positive Target	Nollamittauksen yläraja (solu/µl)	Mittauksen alaraja (solu/µl)
Lymfosyytit	2	4
Monosyytit	1	3

RAJOITUKSET

1. Virtaussytometrialla saadut tulokset voivat olla virheellisiä, jos sytometri on kohdistettu epätarkasti, jos fluoresenssivuotoja ei ole kompensoitu oikein ja jos alueita ei ole sijoitettu tarkasti.
2. On suositeltavaa käyttää punasolujen lyysaukseen pesuvaiheen sisältävää tekniikkaa, koska tätä reagenssia ei ole optimoitu lyysaustekniikoille, joihin ei sisälly pesua.

3. Tulokset oivat tarkkoja ja toistettavissa, kunhan käytetyt menetelmät ovat teknisen selosteen mukaisia ja noudattavat hyviä laboratoriokäytäntöjä.
4. Tämän reagenssin konjugoitu vasta-aine kalibroidaan siten, että saadaan paras spesifisen signaalin ja epäspesifisen signaalin suhde. Siksi on tärkeää noudattaa reagenssin tilavuuden / näytteen suhdetta jokaisessa testissä.
5. Jos kyseessä on hyperleukosytoosi, laimenna veri PBS:ään siten, että saat arvoksi noin 5 x 10^9 leukosyyttiä/l (18).
6. Tietyissä sairaustiloissa, kuten vaikeassa munuaisten vajaatoiminnassa tai hemoglobinopatioissa, punasolujen hajoaminen voi olla hidasta, epätäydellistä tai jopa mahdotonta. Tässä tapauksessa yksitumaiset solut on suositeltavaa eristää käyttämällä tiheysgradienttia (esimerkiksi Ficoll) ennen värjäystä (19).
7. Potilailla, joita on hoidettu muun kuin ihmisen monoklonaalisilla vasta-aineilla, kohdeantigeenin havaitseminen voi heikentyä tai estyä osittain tai kokonaan hoidossa käytetyn vasta-aineen vaikutuksesta.
8. Anti-HLA-DR-Pacific Blue-tulosten tulkinnassa on otettava huomioon potilaan kaikki kliiniset tiedot, mukaan lukien oireet, kliininen historia, lisätestien tiedot ja muut asianmukaiset tiedot.

Katso esimerkkejä ja viitteitä liitteestä.

TAVARAMERKIT

Beckman Coulter, tyylitelty logo ja tässä mainitut Beckman Coulter -tuotteiden ja palveluiden merkit ovat Beckman Coulter, Inc:in tavaramerkkejä tai rekisteröityjä tavaramerkkejä Yhdysvalloissa ja muissa maissa.

Pacific Blue on Molecular Probes, Inc:n tavaramerkki.

LISÄTIETOJA

Potilaalle / käyttäjälle / kolmannelle osapuolelle Euroopan unionin alueella ja maissa, joissa on samanlainen sääntelyjärjestelmä (in vitro -diagnostiikkaan tarkoitettuja lääkinnällisiä laitteita koskeva asetus 2017/746/EU): jos tämän laitteen käytön aikana tai sen käytön seurauksena on tapahtunut vakava tapahtuma, ilmoita siitä valmistajalle ja/tai valmistajan valtuutetulle edustajalle sekä kansalliselle viranomaiselle.

Turvallisuutta ja suorituskykyä koskeva yhteenveto on saatavilla EUDAMED-tietokannasta osoitteesta ec.europa.eu/tools/eudamed.

TARKISTUSHISTORIA

VERSIO AC:	Julkaisupäivä: Lokakuu 2019

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AW	Helmikuu 2022
Päivitetty noudattamaan Beckman Coulterin maailmanlaajuista merkintämenettelyä ja IVD-R (EU)2017/746 -standardin vaatimuksia:	
Lisätyt osat	BSI 2797 -numero, Käyttötarkoituksen mukainen käyttäjä, Kliininen relevanssi, Pitoisuus, Tarkkuus, Ulkoinen tarkkuus, Nollamittauksen yläraja ja mittauksen alaraja, Lisätietoja, Tarkistushistoria.
Lisätyt tiedot	Katso kohta Rajoitukset
Sanamuodot tai typografiset päivitykset	Katso kohdat Menettely, Suorituskyky, Rajoitukset, Varoitus ja varotoimet, Säilytys ja stabiliteetti.
Poistetut osat	Esimerkki kliinisistä käyttötarkoituksista, Reagenssit, Laboratorionsisäinen toistettavuus, Lineaarisuus
Päivitetyt osat	Käyttötarkoitus, GHS-vaaraluokitus, Merkit pilaantumisesta, Menettely, Liite.

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AX	Huhtikuu 2023
Päivitetyt osat	Lisää kazakki
Päivitetyt osat	Säilytys ja stabiliteetti

Tarkistettu versio	AY
Tarkistuksen päivämäärä	Toukokuu 2024
Päivitetyt käännökset	**Kliininen merkitys:**
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Tarkistettu versio	AZ
Tarkistuksen päivämäärä	Heinäkuu 2024
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Symboliluettelo

Symbolisanasto on saatavana osoitteessa beckman.com/techdocs (asiakirjan numero B60062)

	Προδιαγραφές
Ειδικότητα	HLA-DR
Κλώνος	Immu-357
Υβρίδωμα	X63 x balb/c
Ανοσογόνο	EBV-transformed cell line
Ανοσοσφαιρίνη	IgG1
Είδος	Μυς
Κάθαρση	Χρωματογραφία συγγένειας
Φθορόχρωμα	Pacific Blue
Γραμμομοριακή αναλογία	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
διέγερση λ	405 nm
Μέγιστη τιμή εκπομπών	455 nm
Ρυθμιστικό Διάλυμα	PBS pH 7,2 συν 2 mg/mL BSA και 0,1% NaN_3

IOTest
Συζευγμένο αντίσωμα
Anti-HLA-DR
-Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Αυτό το συζευγμένο με φθοροχρώματα αντίσωμα επιτρέπει την ποιοτική και μη αυτοματοποιημένη ταυτοποίηση των κυτταρικών πληθυσμών που εκφράζουν το αντιγόνο HLA-DR που απαντάται σε ανθρώπινα βιολογικά δείγματα, με χρήση κυτταρομετρίας ροής (δείτε την παρακάτω ενότητα «Δείγματα»).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Αυτή η εξέταση βασίζεται στην ικανότητα συγκεκριμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων να δεσμεύονται στους αντιγονικούς καθοριστές που εκφράζονται από τα λευκοκύτταρα.

Η ειδική χρώση των λευκοκυττάρων πραγματοποιείται μέσω της επώασης του δείγματος με το αντιδραστήριο IOTest. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια αφαιρούνται στη συνέχεια με λύση και τα λευκοκύτταρα, τα οποία δεν επηρεάζονται από αυτήν τη διαδικασία, αναλύονται με κυτταρομετρία ροής.

Το κυτταρόμετρο ροής μετρά τη διάχυση φωτός και τον φθορισμό των κυττάρων. Καθιστά δυνατή την οριοθέτηση του πληθυσμού ενδιαφέροντος εντός του ηλεκτρονικού παραθύρου που ορίζεται σε ένα ιστόγραμμα, το οποίο συσχετίζει την ορθογώνια διάχυση φωτός (πλάγια σκέδαση ή SS) και τη διάχυση φωτός κλειστής γωνίας (πρόσθια σκέδαση ή FS). Άλλα ιστογράμματα που συνδυάζουν δύο από τις διαθέσιμες διαφορετικές παραμέτρους του κυτταρόμετρου μπορούν να χρησιμοποιηθούν υποστηρικτικά κατά το στάδιο της οριοθέτησης, ανάλογα με την εφαρμογή που επιλέγει ο χρήστης.

Ο φθορισμός των οριοθετημένων κυττάρων αναλύεται προκειμένου να είναι δυνατή η διάκριση μεταξύ των θετικά σημασμένων συμβάντων και των μη σημασμένων συμβάντων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ποσοστό των θετικών συμβάντων σε σχέση με το σύνολο των συμβάντων που ελήφθησαν από την οριοθέτηση.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΟΣ ΧΡΗΣΤΗΣ

Αυτό το προϊόν προορίζεται για επαγγελματική εργαστηριακή χρήση.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΝΑΦΕΙΑ

Το Anti-HLA-DR-Pacific Blue είναι ένα αντίσωμα Anti-HLA-DR που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό κυττάρων που εκφράζουν το αντιγόνο HLA-DR με κυτταρομετρία ροής. Αυτό το προϊόν από μόνο του δεν μπορεί να παράγει οποιοδήποτε διαγνωστικό συμπέρασμα και δεν προορίζεται για αυτήν τη χρήση.

Όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλους δείκτες, αυτό το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μία ή περισσότερες από τις ακόλουθες λειτουργίες:

- Ως βοήθημα στη διαφορική διάγνωση μη φυσιολογικών αιματολογικά ασθενών με υποψία αιμοποιητικής νεοπλασίας και για την παρακολούθηση ασθενών με γνωστή αιμοποιητική νεοπλασία.
- Ως βοήθημα στη διάγνωση ασθενών με υποψία ανοσοανεπάρκειας και για την παρακολούθηση ασθενών με γνωστή ανοσοανεπάρκεια.
- Για την παρακολούθηση ασθενών με γνωστή αυτοάνοση νόσο ή διαταραχή.
- Για την παρακολούθηση της διαδικασίας μεταμόσχευσης ή των αποτελεσμάτων.

Δείτε τις ακόλουθες παραπομπές:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Τα δείγματα φλεβικού αίματος πρέπει να διατηρούνται σε αποστειρωμένα σωληνάρια που περιέχουν άλας EDTA ως αντιπηκτικό.

Τα δείγματα θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) και δεν θα πρέπει να ανακινούνται. Πριν από τη λήψη του δείγματος προς εξέταση, τα δείγματα πρέπει να ομογενοποιούνται με ήπια ανάδευση.

Τα δείγματα πρέπει να αναλύονται εντός 24 ωρών από τη φλεβοκέντηση.

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ

Δείτε το ειδικό για την παρτίδα πιστοποιητικό ανάλυσης στη διεύθυνση www.beckman.com.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

1. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης.

2. Μην καταψύχετε.
3. Αφήστε το να περιέλθει σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) πριν από τη χρήση.
4. Ελαχιστοποιήστε την έκθεση στο φως.
5. Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διαφορετικά ενδέχεται να προκύψουν ψευδή αποτελέσματα.
6. Να χειρίζεστε τα διαλύματα αντισωμάτων που περιέχουν αζίδιο του νατρίου (NaN_3) με προσοχή. Μην εισπνέετε και αποφεύγετε κάθε επαφή με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.

   Επιπλέον, σε όξινο μέσο, το αζίδιο του νατρίου μπορεί να σχηματίσει ένα δυνητικά επικίνδυνο υδραζωτικό οξύ. Αν χρειαστεί να απορριφθεί, συνιστάται η αραίωση του αντιδραστηρίου με μεγάλη ποσότητα νερού πριν από την έκχυση στο αποχετευτικό σύστημα, προκειμένου να αποφευχθεί η συσσώρευση αζιδίου του νατρίου στις μεταλλικές σωληνώσεις και να αποτραπεί ο κίνδυνος έκρηξης.
7. Πρέπει να θεωρείτε όλα τα δείγματα αίματος δυνητικά μολυσματικά και να τα χειρίζεστε με προσοχή (ειδικότερα: να φοράτε προστατευτικά γάντια, ποδιές και γυαλιά).
8. Μην χρησιμοποιείτε ποτέ πιπέτα με το στόμα και αποφεύγετε κάθε επαφή των δειγμάτων με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.
9. Τα σωληνάρια αίματος και το υλικό μίας χρήσης που χρησιμοποιούνται για τον χειρισμό πρέπει να απορρίπτονται σε ειδικά δοχεία που προορίζονται για αποτέφρωση.
10. Τα αντιδραστήρια και τα απόβλητα πρέπει να απομακρύνονται σύμφωνα με τις τοπικές απαιτήσεις.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ GHS

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο

SDS Το δελτίο δεδομένων ασφάλειας διατίθεται στη διεύθυνση beckmancoulter.com/techdocs

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Πρέπει να φυλάσσετε αυτό το αντιδραστήριο σε θερμοκρασία 2 έως 8 °C και να το προστατεύετε από το φως πριν και μετά το άνοιγμα του φιαλιδίου.

Διάρκεια ζωής κλειστού φιαλιδίου ανά μελέτη σταθερότητας: 1095 ημέρες.

Σταθερότητα ανοιχτού φιαλιδίου: το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό για 180 ημέρες.

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ

Οποιαδήποτε μεταβολή στην εμφάνιση των αντιδραστηρίων είναι πιθανό να υποδεικνύει αλλοίωση και το αντιδραστήριο δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται.

Για επιπλέον πληροφορίες ή σε περίπτωση παραλαβής ελαττωματικού προϊόντος, επικοινωνήστε με την υπηρεσία εξυπηρέτησης πελατών της Beckman Coulter στο 800-742-2345 (για ΗΠΑ και Καναδά) ή με τον τοπικό αντιπρόσωπο της Beckman Coulter.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Το συντηρητικό αζιδίου του νατρίου μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικές ενώσεις στους μεταλλικούς αποχετευτικούς αγωγούς. Δείτε το ενημερωτικό δελτίο του NIOSH: Explosive Azide Hazard (Κίνδυνος έκρηξης αζιδίου) (16/8/76)
Για να αποφύγετε την ενδεχόμενη συσσώρευση ενώσεων αζιδίου, να εκπλένετε τους σωλήνες αποβλήτων με νερό μετά την απόρριψη μη αραιωμένου αντιδραστηρίου. Η απόρριψη του αζιδίου του νατρίου πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους αντίστοιχους τοπικούς κανονισμούς.

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΚΙΤ:

- Σωλήνες δειγματοληψίας και υλικό που είναι απαραίτητο για τη δειγματοληψία.
- Αυτόματες πιπέτες με ρύγχη μιας χρήσης για 10, 100 και 500 µL.
- Πλαστικά σωληνάρια αιμόλυσης.
- Αντιδραστήριο λύσης ερυθροκυττάρων με στάδιο πλύσης μετά τη λύση. Για παράδειγμα: VersaLyse (Ref. A09777).
- Αντιδραστήριο μονιμοποίησης λευκοκυττάρων. Για παράδειγμα: Διάλυμα μονιμοποίησης IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ισοτυπικός μάρτυρας Pacific Blue: Αντιδραστήριο IOTest (Ref. A74764).
- Ρυθμιστικό διάλυμα (PBS: 0,01 M φωσφορικό νάτριο, 0,145 M χλωριούχο νάτριο, pH 7,2).
- Φυγόκεντρος.
- Αυτόματος αναδευτήρας (τύπου περιδίνησης).
- Κυτταρόμετρο ροής.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ VERSALYSE

Για κάθε δείγμα που αναλύεται, εκτός του σωληναρίου εξέτασης, μπορεί να προστεθεί ένα σωληνάριο μάρτυρα μέσα στο οποίο αναμειγνύονται τα κύτταρα παρουσία του ισοτυπικού μάρτυρα (Ref. A74764).

1. Προσθέστε 10 µL ειδικού συζευγμένου αντισώματος IOTest σε κάθε δοκιμαστικό σωληνάριο και, εάν απαιτείται, 10 µL του ισοτυπικού μάρτυρα σε κάθε σωληνάριο μάρτυρα.
2. Προσθέστε 100 µL του αναλυόμενου δείγματος σε κάθε σωληνάριο. Περιδινήστε απαλά τα σωληνάρια.
3. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) για 15 έως 20 λεπτά, προστατεύοντας από το φως.
4. Στη συνέχεια, πραγματοποιήστε λύση των ερυθροκυττάρων. Ανατρέξτε στο φύλλο οδηγιών του VersaLyse (Ref. A09777) και ακολουθήστε κατά προτίμηση τη διαδικασία «με ταυτόχρονη μονιμοποίηση», που περιλαμβάνει την προσθήκη 1 mL μείγματος «μονιμοποίησης και λύσης», το οποίο παρασκευάστηκε πρόχειρα. Περιδινήστε αμέσως επί ένα δευτερόλεπτο και επωάστε επί 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, προστατεύοντας από το φως.
5. Φυγοκεντρήστε για 5 λεπτά στα 150 x g σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση.

7. Πραγματοποιήστε επαναιώρηση του κυτταρικού ιζήματος με 3 mL PBS.
8. Επαναλάβετε το βήμα 5.
9. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση και επαναιωρήστε το κυτταρικό ίζημα με:

- 0,5 mL ή 1 mL PBS συν 0,1% φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να φυλαχθούν για λιγότερο από 24 ώρες. (Μπορείτε να παρασκευάσετε διάλυμα 0,1% φορμαλδεΰδης/PBS με αραίωση 12,5 μL του μονιμοποιητικού διαλύματος IOTest 3 (Ref. A07800) 10πλάσιας συγκέντρωσης σε 1 mL PBS).
- 0,5 mL ή 1 mL PBS χωρίς φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να αναλυθούν εντός 2 ωρών.

Σημείωση: Σε κάθε περίπτωση, φυλάσσετε τα παρασκευάσματα προστατευμένα από το φως, σε θερμοκρασία μεταξύ 2 και 8 °C.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Στα εργαστήριά μας, τα δείγματα ολικού αίματος από 25 φαινομενικά υγιείς δότες υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με χρήση του αντιδραστηρίου που περιγράφεται παραπάνω. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν για την καταμέτρηση των θετικών συμβάντων ενδιαφέροντος με αυτό το αντιδραστήριο παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

Θετικός στόχος	Αριθμός	Μέση τιμή (%)	SD	CV (%)
Λεμφοκύτταρα	25	26,53	12,71	47,92
Μονοκύτταρα	25	97,02	2,77	2,86

Οι τιμές αυτές παρέχονται αποκλειστικά για ενδεικτικούς σκοπούς. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να ορίσει τις δικές του αναμενόμενες τιμές βάσει του τοπικού πληθυσμού των φυσιολογικών δοτών.

ΑΠΟΔΟΣΗ

Τα δεδομένα απόδοσης λαμβάνονται με χρήση της διαδικασίας που περιγράφηκε παραπάνω σε δείγματα αίματος ηλικίας μικρότερης των 24 ωρών που συλλέχθηκαν προηγουμένως σε αποστειρωμένα σωληνάρια με άλας EDTA ως αντιπηκτικό. Η ανάλυση εκτελείται εντός 2 ωρών από την ανοσοχρώση.

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Το μονοκλωνικό αντίσωμα Immu357 αναγνωρίζει ένα επίτοπο σε μια μονομορφική πρωτεΐνη 29 - 33 kDa που αναγνωρίζεται ως HLA-DR. Το σύστημα HLA (Human Leucocyte Antigen) είναι η ονομασία που δίνεται στο μείζων σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας (major histocompatibility complex - MHC) στους ανθρώπους. Τα μόρια HLA τάξης II, που κωδικοποιούνται από 5 θέσεις (DM, DO, DP, DQ και DR) της θέσης D, καλούνται επίσης αντιγόνα HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ και HLA-DR (13,14). Η έκφραση των αντιγόνων τάξης II περιορίζεται στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, δηλ. τα λεμφοκύτταρα Β, τα μονοκύτταρα / μακροφάγα, τα δενδριτικά κύτταρα και τα κύτταρα Langerhans του δέρματος (14,15). Στα λεμφοκύτταρα Τ, το αντιγόνο HLA-DR εκφράζεται μόνο μετά από ενεργοποίηση (16). Τα αρχέγονα κύτταρα και τα αιμοποιητικά προγονικά κύτταρα το εκφράζουν μέχρι ένα συγκεκριμένο στάδιο της διαφοροποίησής τους (14,17).

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Οι ποσοστιαίες θετικές τιμές προσδιορίστηκαν με χρήση ολικού αίματος. Κάθε δείγμα αναλύθηκε 4 φορές, δύο φορές την ημέρα για 1 ημέρα σε 2 όργανα με χρήση 2 παρτίδων αντιδραστηρίων μονοκλωνικού αντισώματος Anti-HLA-DR-Pacific Blue. Οι μετρήσεις (% θετικών) πραγματοποιήθηκαν σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με βάση τη μέθοδο CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Αξιολόγηση της απόδοσης ακρίβειας για μεθόδους ποσοτικής μέτρησης).

Τα κριτήρια έγκρισης εξαρτώνται από τον αριθμό των θετικών συμβάντων που μετρώνται για κάθε πληθυσμό:

- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος <1.500, <15% CV
- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος >1.500, <10% CV

Λεμφοκύτταρα							
Αριθμός θετικών συμβάντων (μέσος όρος) = 1154							
	Μεταξύ χειριστών	Μεταξύ κυτταρόμετρων	Εντός παρτίδας	Μεταξύ παρτίδων	Μεταξύ αναλύσεων	Εντός ανάλυσης	Σύνολο
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Μονοκύτταρα							
Αριθμός θετικών συμβάντων (μέσος όρος) = 1197							
	Μεταξύ χειριστών	Μεταξύ κυτταρόμετρων	Εντός παρτίδας	Μεταξύ παρτίδων	Μεταξύ αναλύσεων	Εντός ανάλυσης	Σύνολο
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ακρίβεια του Anti-HLA-DR-Pacific Blue αξιολογήθηκε μέσω σύγκρισης των αποτελεσμάτων με ένα αντιδραστήριο αναφοράς ως μέσο πρόγνωσης, σε ένα σύνολο δειγμάτων ολικού αίματος που αναλύθηκε σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Το συστηματικό σφάλμα μεταξύ εξέτασης και αντιδραστηρίου αναφοράς προσδιορίστηκε με βάση τη διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δοκιμής. Εάν το συστηματικό σφάλμα βρίσκεται εντός του επιτρεπόμενου εύρους σφαλμάτων ή η τιμή p δεν υποδεικνύει καμία σημαντική διαφορά (>0,05), τα αποτελέσματα δοκιμών για τα δύο αντιδραστήρια θεωρούνται ισοδύναμα.

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον πίνακα που ακολουθεί:

Αριθμός δοτών = 25				
Θετικός στόχος	Μέση τιμή Δ	Κριτήρια κυττάρων Δ %	Τιμή p	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
Λεμφοκύτταρα	-0,26	<5	0,557	PASS
Μονοκύτταρα	1,04	<5	1,191	PASS

ΟΡΙΟ ΤΥΦΛΟΥ ΚΑΙ ΟΡΙΟ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

Διεξήχθη μια μελέτη με βάση τις οδηγίες του CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Αξιολόγηση της ικανότητας ανίχνευσης για διαδικασίες μέτρησης κλινικών εργαστηρίων). Το όριο ανίχνευσης (ΟΑ) είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση αναλυόμενης ουσίας που μπορεί να ανιχνευτεί σταθερά. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Positive Target	Όριο τυφλού (κύτταρο/μL)	Όριο ανίχνευσης (κύτταρο/μL)
Λεμφοκύτταρα	2	4
Μονοκύτταρα	1	3

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Η κυτταρομετρία ροής ενδέχεται να παράγει ψευδή αποτελέσματα αν το κυτταρόμετρο δεν είναι σωστά ευθυγραμμισμένο, αν οι διαρροές φθορισμού δεν έχουν αντισταθμιστεί σωστά και αν οι περιοχές δεν έχουν τοποθετηθεί προσεκτικά.
2. Η τεχνική λύσης RBC είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται με ένα βήμα πλύσης, καθώς το συγκεκριμένο αντιδραστήριο δεν έχει βελτιστοποιηθεί για τεχνικές λύσης «χωρίς πλύση».
3. Ακριβή και επαναλήψιμα αποτελέσματα προκύπτουν στο μέτρο που οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι σύμφωνες με το ένθετο τεχνικών οδηγιών και συμβατές με τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές.
4. Το συζευγμένο αντίσωμα αυτού του αντιδραστηρίου είναι βαθμονομημένο ώστε να προσφέρει την καλύτερη αναλογία ειδικής σήμανσης/μη ειδικής σήμανσης. Γι' αυτό είναι σημαντικό να τηρείτε την αναλογία όγκου αντιδραστηρίου/όγκου δείγματος σε κάθε εξέταση.
5. Σε περίπτωση υπερλευκοκυττάρωσης, αραιώστε το αίμα σε PBS ώστε να επιτευχθεί τιμή περίπου 5 x 10^9 λευκοκύτταρα/L (18).
6. Σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις, όπως η σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια ή οι αιμοσφαιρινοπάθειες, η λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων ενδέχεται να είναι αργή, ατελής ή και ανέφικτη. Σε αυτήν την περίπτωση, συνιστάται η απομόνωση των μονοπύρηνων κυττάρων με διαβάθμιση πυκνότητας (για παράδειγμα Ficoll) πριν από τη χρώση (19).
7. Σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπείες με αντι-ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα, η ανίχνευση των ειδικών στοχευόμενων αντιγόνων ενδέχεται να είναι μειωμένη ή να απουσιάζει λόγω μερικού ή πλήρους αποκλεισμού από το θεραπευτικό αντίσωμα.
8. Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων Anti-HLA-DR-Pacific Blue θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η συνολική κλινική εικόνα του ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων των συμπτωμάτων, του κλινικού ιστορικού, των δεδομένων πρόσθετων εξετάσεων και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Δείτε το Παράρτημα για παραδείγματα και παραπομπές.

ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ

Η επωνυμία Beckman Coulter, το τυποποιημένο λογότυπο και τα σήματα προϊόντων και υπηρεσιών της Beckman Coulter που αναφέρονται στο παρόν είναι εμπορικά σήματα ή σήματα κατατεθέντα της Beckman Coulter, Inc. στις Ηνωμένες Πολιτείες και σε άλλες χώρες.

Η επωνυμία Pacific Blue είναι εμπορικό σήμα της Molecular Probes, Inc.

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Για ασθενή/χρήστη/τρίτους στην Ευρωπαϊκή Ένωση και σε χώρες με όμοιο ρυθμιστικό καθεστώς (Οδηγία 2017/746/ΕΕ σχετικά με τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα), εάν, κατά τη χρήση αυτής της συσκευής ή ως αποτέλεσμα της χρήσης της, προκύψει σοβαρό περιστατικό, πρέπει να το αναφέρετε στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στις εθνικές αρχές της χώρας στην οποία κατοικείτε.

Το Summary of Safety and Performance (Σύνοψη ασφάλειας και απόδοσης) είναι διαθέσιμο στη βάση δεδομένων EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΕΩΝ

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ AC:	Ημερομηνία έκδοσης: Οκτώβριος 2019

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AW	Φεβρουάριος 2022
Ενημερώσεις για την επίτευξη συμμόρφωσης με την παγκόσμια πολιτική σήμανσης της Beckman Coulter και σύμφωνα με τις απαιτήσεις IVD-R (ΕΕ)2017/746:	
Προσθήκη ενοτήτων	Αριθμός BSI 2797, προβλεπόμενος χρήστης, κλινική συνάφεια, συγκέντρωση, πιστότητα, ακρίβεια, όριο τυφλού και όριο ανίχνευσης, πρόσθετες πληροφορίες, ιστορικό αναθεωρήσεων.
Προσθήκη πληροφοριών	Δείτε τις ενότητες «Περιορισμοί»
Εκφραστικές ή τυπογραφικές ενημερώσεις	Δείτε τις ενότητες «Διαδικασία», «Απόδοση», «Περιορισμοί», «Προειδοποίηση και προφυλάξεις», «Αποθήκευση και σταθερότητα».
Αφαίρεση ενοτήτων	Παράδειγμα κλινικών εφαρμογών, αντιδραστήρια, διεργαστηριακή επαναληψιμότητα, γραμμικότητα
Ενημερωμένες ενότητες	Προβλεπόμενη χρήση, Ταξινόμηση επικινδυνότητας κατά GHS, Ενδείξεις αλλοίωσης, Διαδικασία, Παράρτημα.

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AX	Απρίλιος 2023
Ενημερωμένες ενότητες	Προσθήκη Καζακικών
Ενημερωμένες ενότητες	Φύλαξη και σταθερότητα

Αναθεωρημένη έκδοση	AY
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Μάιος 2024
Ενημέρωση μεταφράσεων	**Κλινική συνάφεια:**
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθεωρημένη έκδοση	AZ
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Ιούλιος 2024
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Υπόμνημα συμβόλων

Το γλωσσάριο συμβόλων είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση beckman.com/techdocs (αριθμός εγγράφου B60062)

	仕様
特異性	HLA-DR
クローン	Immu-357
ハイブリドーマ	X63 x balb/c
免疫原	EBV-transformed cell line
免疫グロブリン	IgG1
動物種	マウス
精製	アフィニティークロマトグラフィー
蛍光色素	Pacific Blue
モル比	Pacific Blue / Ig： 5.9-7.6
λ励起	405 nm
発光のピーク	455 nm
緩衝化剤	PBS(pH 7.2) + 2 mg/mL BSAおよび0.1% NaN_3

IOTest

コンジュゲート抗体
Anti-HLA-DR
-Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0.5 mL, 10 µL / test

体外診断用。

用途

この蛍光色素結合抗体混合物により、フローサイトメトリーを用いてヒト生物検体に存在するHLA-DR抗原を発現する細胞集団の定性的かつ非自動での同定が可能になります（以下の「検体」の項を参照）。

原理

このテストは、白血球が発現する抗原決定因子に対する特異的モノクローナル抗体の結合能に基づいています。

白血球の特異的染色は、検体をIOTest試薬とインキュベートすることによって行います。次に、赤血球を溶解によって除去し、このプロセスの影響を受けない白血球をフローサイトメトリーによって分析します。

フローサイトメーターは、細胞の光拡散および蛍光を測定します。これにより、直角散乱光（側方散乱、SS）および鋭角散乱光（前方散乱、FS）と相関するヒストグラム上で規定した電子枠内で対象集団の限界設定が可能になります。ユーザーが選択したアプリケーションに依存して、サイトメーターで利用可能な種々のパラメーターの2つを組み合わせたその他のヒストグラムが、ゲーティング段階の補助として利用できます。

陽性染色イベントと未染色イベントを鑑別するために、区分した細胞の蛍光を測定します。結果は、ゲーティングで得られた全イベントに対する陽性イベントの比率として表します。

対象ユーザー

本製品は、検査室での専門的な使用を目的としています。

臨床的妥当性

Anti-HLA-DR-Pacific Blueは、フローサイトメトリーでHLA-DR抗原を発現する細胞を同定および特性評価するために使用するAnti-HLA-DR抗体です。この製品だけで診断の結論を下すことはできず、そのように意図されていません。

本製品は、他のマーカーと組み合わせて使用する場合、次の機能の1つまたは複数で使用できます。

- 造血系新生物が疑われる血液学的に異常な患者の鑑別診断を補助し、既知の造血系新生物を有する患者をモニタリングするため。
- 免疫不全が疑われる患者の診断を補助し、既知の免疫不全患者をモニタリングするため。
- 既知の自己免疫疾患または障害のある患者をモニタリングするため。
- 移植プロセスまたは結果をモニターするため。

以下の参考文献を参照してください。

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

検体

静脈血は、抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブを用いて採取しなければなりません。

検体は室温（18～25°C）で保管し、揺らさないようにする必要があります。検体は、テスト検体を採取する前に、穏やかな撹拌によって均質化する必要があります。

この検体は、静脈穿刺から24時間以内に分析する必要があります。

濃度

www.beckman.comでロット固有の分析証明書を参照してください。

警告および注意

1. 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
2. 凍結しないでください。
3. 使用前に室温（18～25°C）にしてください。
4. 露光をできるだけ避けてください。

5. 試薬の微生物汚染を避けてください。誤った結果の原因となる場合があります。
6. アジ化ナトリウム（NaN_3）を含む抗体溶液は慎重に扱う必要があります。体内に摂取してはならず、皮膚、粘膜および眼との接触はすべて避けてください。

   また、酸性媒体では、アジ化ナトリウムから潜在的危険性のあるアジ化水素酸が生成されることがあります。アジ化ナトリウムを含む試薬を廃棄する必要がある場合、金属製のパイプにアジ化ナトリウムが蓄積しないように、また爆発の危険性を防ぐために、試薬を多量の水で希釈してから排水システムに廃棄することを推奨します。
7. すべての血液検体は感染性の可能性があるとみなして慎重に取り扱う必要があります（特に保護手袋、実験着、ゴーグルの着用）。
8. 絶対に口でピペットを吸わないでください。また、皮膚、粘膜、目に検体が接触しないようにしてください。
9. 使用済みの採血管およびディスポーザブル製品は、焼却用の専用容器に入れて廃棄してください。
10. 試薬や廃棄物は地方自治体の要件に従って廃棄してください。

GHSハザード分類

危険有害物質には分類されない

SDS　安全性データシートは、beckmancoulter.com/techdocsで入手できます。

保管および安定性

この試薬は、バイアル開封の前後に2～8℃で保管し、遮光する必要があります。

各安定性試験におけるクローズドバイアルの保存期間：1095日間

開封後のバイアル：試薬は180日間安定しています。

変質や劣化の兆候

試薬の物理的な外観の変化は劣化の徴候である場合があり、その試薬を使用してはなりません。

追加情報に関して、または損傷している製品をお受け取りになった場合、ベックマン・コールターのカスタマーサービス800-742-2345（米国またはカナダ）にお電話をくださるか、最寄りの代理店に連絡してください。

内容

保存剤のアジ化ナトリウムは、金属製排水管内で爆発性化合物を生成するおそれがあります。 NIOSH Bulletinを参照してください: アジド爆発危険性（76/8/16）
アジド化合物が蓄積する可能性を回避するため、未希釈の試薬を廃棄した後は排水管を水で洗い流します。アジ化ナトリウムは地方自治体の規定に従い適切に廃棄してください。

ご用意いただくもの:

- サンプリングに必要なサンプリングチューブと材料。
- 使い捨てチップ付き自動ピペット（100および500 µL用）。10
- プラスチックの溶血チューブ。
- 溶血処理後に洗浄操作した赤血球溶血試薬。例：VersaLyse（製品番号A09777）。
- 白血球固定試薬。例：IOTest 3固定液（製品番号A07800）。
- アイソタイプ対照Pacific Blue：IOTest試薬（製品番号A74764）。
- 緩衝化剤（PBS：0.01 Mリン酸ナトリウム、0.145 M塩化ナトリウム、pH 7.2）。
- 遠心機
- 自動アジテーター（ボルテックスタイプ）。
- フローサイトメーター

VERSALYSE試薬による手順

測定する各検体について、テストチューブのほか、アイソタイプ対照存在下で細胞を混合した対照チューブ1本を追加することができます（製品番号A74764）。

1. 各テストチューブに10 µLの特異的IOTest結合抗体を加え、必要に応じて10 µLのアイソタイプ対照を各対照チューブに加えます。
2. 各チューブに100 µLのテスト検体を添加します。チューブを穏やかに攪拌します。
3. 遮光した状態で、室温（18～25°C）で15～20分間インキュベートします。
4. 次に、赤血球の溶解を行います。VersaLyse(製品番号A09777)のリーフレットを参照し、できれば「同時固定」と呼ばれる手順に従います。この手順では、その場で調製した「固定/溶解」混合液1 mLを加えます。直ちに1秒間撹拌し、室温、遮光下で10分間インキュベートします。
5. 室温で5分間遠心分離（150 x g）します。
6. 吸引により上清を除去します。
7. 3 mLのPBSを用いて細胞ペレットを懸濁します。
8. ステップ5を繰り返します。
9. 吸引により上清を除去し、以下により細胞ペレットを再懸濁します。

- 調製液の保存期間が24時間未満の場合、ホルムアルデヒド0.1%を含むPBS 0.5 mLまたは1 mL。（0.1%ホルムアルデヒドを含むPBSは、12.5 µLの10倍濃度のIOTest 3固定液（製品番号A07800）を1 mLのPBSに希釈して作製できます）。
- 調製液を2時間以内に分析する場合、ホルムアルデヒドを含まないPBS 0.5 mLまたは1 mL。

注記：いかなる場合でも、調製液は2～8°Cに保ち、遮光してください。

期待値

弊社検査室では、上記の試薬を用いて見かけ上健常なドナー25名の全血検体を処理しました。本試薬による陽性イベント数測定で得た結果を以下の表に示します。

陽性標的細胞	番号	平均（%）	SD	CV（%）
リンパ球	25	26.53	12.71	47.92
単球	25	97.02	2.77	2.86

これらの値は、代表的な値であることのみを意図しています。各検査室は、正常なドナーの現地の集団から独自の期待値を確立してください。

性能

性能データは、以前に抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブに採取した24時間未満経過した血液検体を対象に、上述の手順を用いて取得しなければなりません。分析は、免疫染色後2時間以内に行います。

特異性

モノクローム抗体 Immu357 は、HLA-DR として同定される分子量が 29 ~ 33 kDa の単形性タンパク質のエピトープを認識します。HLA 系 (ヒト白血球抗原) は、ヒトの主要組織適合性遺伝子複合体 (MHC) に与えられた名称です。5 つの D 遺伝子座 (DM、DO、DP、DQ および DR) でコード化され、HLA クラス II 分子は HLA-DM、HLA-DO、HLA-DP、HLA-DQ および HLA-DR 抗原とも呼ばれます (13,14)。クラス II 抗原の発現は 抗原提示細胞、つまり B リンパ球、単球 / マクロファージ、皮膚の樹枝状細胞およびランゲルハンス細胞のみで見られます (14,15)。T リンパ球では、HLA-DR 抗原が活性化の後のみで発現します (16). 肝細胞および造血前駆体では、分化の特定の時期まで HLA-DR 抗原を発現します(14,17)。

精密性

陽性値の割合は、全血を使用して決定しました。各検体について、2つの装置で各4回を1日に2回、2ロットのAnti-HLA-DR-Pacific Blueモノクローナル抗体試薬を使用して測定しました。Naviosフローサイトメーターで測定（%陽性）しました。CLSIメソッドEP5-A2に基づいて分析しました。Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.（定量的測定メソッドの精密性性能の評価。）

当社の判定基準は、各集団について測定された陽性イベントの数によって異なります。

- 陽性イベント< 1,500の場合、CV< 15%
- 陽性イベント> 1,500の場合、CV< 10%

リンパ球							
陽性イベント数（平均） = 1154							
	オペレータ間	血球計算器間	ロット内	ロット間	測定間	測定内	総計
CV（%）	1.99	3.40	3.26	0.78	0.87	2.43	4.77
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

単球							
陽性イベント数（平均） = 1197							
	オペレータ間	血球計算器間	ロット内	ロット間	測定間	測定内	総計
CV（%）	0.15	0.49	0.42	0.12	0.11	0.38	0.65
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

正確性

Anti-HLA-DR-Pacific Blueの正確度は、一連の全血検体についてNaviosフローサイトメーターで測定した規準としての参照試薬と、結果を比較して評価しました。テスト試薬と参照試薬との間のバイアスは、テスト結果の差に基づいて決定しました。バイアスが許容誤差範囲内にある場合、またはp値が有意差を示さない場合（> 0.05）、2つの試薬のテスト結果は同等と見なされます。

得られた結果を、下表にまとめます。

ドナー数 = 25				
陽性標的細胞	平均Δ	Δ % 細胞基準	p値	結果
リンパ球	-0.26	<5	0.557	PASS
単球	1.04	<5	1.191	PASS

ブランク上限と検出限界

試験は、CLSI EP17-A2、Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（臨床検査室測定手順の検出能力の評価）に基づいて実施されました。検出限界（LoD）とは、一貫して検出可能な分析物の最小濃度です。取得した結果は、下表に表示されています。

Positive Target	ブランク上限（細胞/µL）	検出限界（細胞/µL）
リンパ球	2	4
単球	1	3

制限事項

1. フローサイトメトリーは、血球計数器が完全に配列されていない場合、蛍光リークが正しく相殺されていない場合、および領域が慎重に配置されていない場合、誤った結果を示す可能性があります。
2. この試薬は「洗浄なし」溶解手法用に最適化されていないため、洗浄ステップでRBC溶解法を使用することをお勧めします。
3. 取扱説明書および対応する検査室の実施基準に従って作業する限り、正確かつ再現性のある結果が得られます。
4. この試薬の結合抗体は、特異的シグナル/非特異的シグナル比が最適となるようにキャリブレーションされています。そのため、各テストでは、試薬量/検体量比を順守することが重要です。

5. 白血球増加症の場合、白血球数がおよそ5 x 10^9個/Lとなるよう、血液をPBSで希釈してください（18）。
6. 重度の腎不全やヘモグロビン異常など、特定の疾患状態では、赤血球の溶解が遅くなったり、不完全になったり、あるいは溶解できないことさえあります。この場合、染色する前に密度勾配（Ficollなど）を使用して単核細胞を分離することを推奨します（19）。
7. 抗ヒトモノクローナル抗体療法で治療を受けた患者では、治療用抗体による部分的または完全な遮断により、特定の標的抗原の検出が減少または消失する場合があります。
8. Anti-HLA-DR-Pacific Blueの結果は、患者の総合的な臨床像、例えば諸症状、病歴、他のテストデータ、その他の該当情報などを踏まえて解釈する必要があります。

附録にある例および参考文献を参照してください。

商標

ここに記載されているBeckman Coulter、ロゴマーク、ならびにベックマン・コールターの製品およびサービスマークは、ベックマン・コールターの米国およびその他の国における商標と登録商標です。

Pacific BlueはMolecular Probes, Incの商標です。

その他

欧州連合、および規制制度が欧州連合と同一の国の患者/ユーザー/第三者（体外診断医療機器規制2017/746/EU）については、本機器の使用中または使用の結果、重大な事故が発生した場合、製造元および/または認定代理店ならびに所管の行政機関に報告してください。

「安全性および性能の概要」はEUDAMEDデータベース：ec.europa.eu/tools/eudamedより入手できます。

改訂履歴

改訂番号 AC：	発売日：2019年10月

改訂	**発行日**
AW	2022年2月
ベックマン・コールターのグローバルラベリングポリシーおよびIVD-R（EU）2017/746の要件に準拠するための更新：	
セクションの追加	BSI 2797番号、対象ユーザー、臨床関連性、濃度、精度、正確度、ブランク上限および検出限界、その他、改訂履歴。
情報を追加	「制限事項」のセクションを参照してください
言い回しまたはタイプミスの更新	「手順」、「性能」、「制限」、「警告および注意」、「保管および安定性」のセクションを参照してください。
セクションの削除	臨床応用の例、試薬、検査室内再現性、直線性
セクションの更新	用途、GHSハザード分類、変質や劣化の兆候、手順、附録。

改訂	**発行日**
AX	4月 2023
セクションの更新	カザフ語を追加
セクションの更新	コントロールの調製

改訂版	AY
改訂日	5月 2024
更新された翻訳	**臨床的妥当性：**
セクションの更新	保管および安定性

改訂版	AZ
改訂日	7月 2024
セクションの更新	保管および安定性

記号凡例

記号一覧は、beckman.com/techdocsで入手できます（文書番号B60062）

	规格
特异性	HLA-DR
克隆	Immu-357
杂交瘤	X63 x balb/c
免疫原	EBV-transformed cell line
免疫球蛋白	IgG1
种类	小鼠
纯化	亲和层析色谱法
荧光染料	Pacific Blue
摩尔比率	Pacific Blue/Ig： 5.9-7.6
λ 激励	405 nm
辐射峰值	455 nm
缓冲液	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 和 0.1% NaN_3

IOTest

结合抗体
Anti-HLA-DR
-Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0.5 mL, 10 µL / test

供*体外*诊断使用。

预期用途

此种荧光染料结合抗体可通过流式细胞术对人体生物样本中存在的 HLA-DR 抗原表达细胞群进行定性和非自动化鉴别（参阅下文“样本”部分）。

原理

该测试以特异性单克隆抗体能够与白细胞表达的抗原决定簇相结合这一特性为基础。

将样本与 IOTest 试剂一起培育，以便进行白细胞的特异性染色。然后通过裂解去除红细胞，再使用流式细胞术分析不受裂解过程影响的白细胞。

流式细胞仪可测定细胞的光漫射和荧光。这样可以限定直方图上定义的电子窗口内的感兴趣群体，直方图可以关联光的正交漫射（侧向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。细胞仪上可用的结合两个不同参数的其他直方图可以用于支持设门阶段，具体取决于用户所选的应用。

为了区分阳性染色事件和未染色事件，我们对划定细胞的荧光进行了分析。结果表示为阳性事件相对于设门获得的所有事件的百分比。

预期用户

本产品的预期用户为实验室专业人员。

临床意义

Anti-HLA-DR-Pacific Blue 是一种 Anti-HLA-DR 抗体，用于通过流式细胞分析鉴定和表征表达 HLA-DR 抗原的细胞。单独使用此产品不能产生任何诊断结论，这也并非其预期用途。

与其他标志物结合使用时，本产品可用于以下一种或多种用途：

- 对疑似有造血系统肿瘤的血液学异常患者进行辅助鉴别诊断，并对已知患有造血系统肿瘤的患者进行监测。
- 辅助诊断疑似有免疫缺陷的患者，并监测已知患有免疫缺陷的患者。
- 监测已知患有自身免疫性疾病的患者。
- 监测移植过程或结果。

参阅以下参考文献：

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

样本

必须使用含有 EDTA 盐作为抗凝血剂的无菌试管采集静脉血。

样本应保存在室温 (18-25°C) 条件下，并注意避免摇动。在吸取测试样本之前，应通过轻轻搅动使样本均质化。

样本必须在静脉采血后的 24 小时内分析。

浓度

请参阅 www.beckman.com 上的特定批次分析证书。

警告和注意事项

1. 请勿使用已过失效日期的试剂。
2. 切勿冷冻。
3. 使用前使其达到室温 (18–25°C)。
4. 尽量减少曝光。
5. 避免试剂受到微生物污染，否则可能出现错误结果。
6. 应小心处理含有叠氮化钠 (NaN_3) 的抗体溶液。请勿内服，并避免接触皮肤、粘膜和眼睛。

此外，在中度酸性条件下，叠氮化钠可形成具有潜在危害的叠氮酸。若需要对其进行处置，建议您在将试剂倒入排污系统前用大量清水将其稀释，以避免叠氮化钠在金属管中累积并预防爆炸。

7. 所有血样都必须被视为具有潜在传染性，并且必须小心处理（具体地讲：穿戴防护手套、防护服和护目镜）。
8. 不得通过嘴巴移液，并避免样本以任何方式接触皮肤、黏膜和眼睛。
9. 用于处理的血液试管和一次性材料应丢弃于专门用于焚化的容器中。
10. 应根据当地要求处置试剂和废物。

GHS 危险等级分类

未被归为危险品

SDS 化学品安全技术说明书发布在 beckmancoulter.com/techdocs 上

存储和稳定性

在开瓶前后，必须将此试剂保存在 2-8°C 环境下，并注意避免光照。

根据稳定性研究的开封前保质期：1095 天。

已开瓶试剂的稳定性：试剂可稳定保存 180 天。

变质的迹象

试剂物理外观的任何变化都可能表明试剂变质，此时不应使用试剂。

有关其他信息，或者如果收到受损产品，请致电贝克曼库尔特公司客服：800-742-2345（美国或加拿大），或联系您当地的贝克曼库尔特代表。

目录

叠氮化钠防腐剂可在金属下水管道中形成易爆化合物。 请参阅 NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76)（美国国家职业安全与卫生研究所公报：易爆的叠氮化物危险品 [76/8/16]）。
为避免可能产生的叠氮化合物堆积，请在丢弃未经稀释的试剂后用水冲洗排污管。对叠氮化钠的丢弃必须符合当地的相关规定。

试剂盒中未提供的必需材料：

- 采样所需的采样管和材料。
- 可吸取 10100 和 500 µL 试剂的带有一次性吸头的自动移液器。
- 塑料溶血管。
- 红细胞溶解试剂在溶解后清洗。例如：VersaLyse（REF A09777）。
- 白细胞固定剂。例如：IOTest 3 固定剂（REF A07800）。
- 同型质控品 Pacific Blue：IOTest 试剂（REF A74764）。
- 缓冲液（PBS：0.01 M 磷酸钠；0.145 M 氯化钠；pH 7.2）。
- 离心处理。
- 自动搅动器（旋涡型）。
- 流式细胞仪。

VERSALYSE 试剂的使用程序

对于分析的每种样本，除使用分析测试试管外，还可增加一个质控品试管，以在其中混合细胞与同型质控品（REF A74764）。

1. 将 10 µL 特异性 IOTest 结合抗体添加到每个分析测试试管中，并视需要将 10 µL 同型质控品添加到每个质控品试管中。
2. 添加 100 µL 测试样本到每个试管中。轻轻摇动试管。
3. 在室温 (18–25°C) 下避光孵育 15-20 分钟。
4. 然后进行红细胞裂解。请参阅 VersaLyse（REF A09777）说明书，最好按照名为“同时固定”的程序实施：加入 1 mL 临时配制的“固定-裂解”混合液。立即摇动 1 秒，并在室温条件下培育 10 分钟，注意避光。
5. 在室温下以 150 x g 离心处理 5 分钟。
6. 通过吸样去除上层清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新悬浮细胞微粒。
8. 重复第 5 步。
9. 通过吸样去除上层清液并使用以下溶液重新悬浮细胞微粒：

- 0.5 mL 或 1 mL PBS 与 0.1% 甲醛，若备品的保存时间低于 24 小时。（可通过在 1 mL PBS 中稀释 10 倍浓度的 12.5 µL IOTest 3 固定剂 [REF A07800] 获取含 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 0.5 mL 或 1 mL PBS，无甲醛，若制剂将在 2 小时内分析。

注释：任何情况下，制备试剂均需在 2-8°C 下避光保存。

预计值

我们在实验室中采用上述试剂处理了 25 名表观健康供体的全血样本。使用该试剂进行阳性目标颗粒计数得到的结果如下表所示：

阳性目标	数量	平均值 (%)	标准差	CV (%)
淋巴细胞	25	26.53	12.71	47.92
单核细胞	25	97.02	2.77	2.86

这些值仅供参考。各实验室应通过当地正常供体群体确定自己的预期值。

性能

使用上文描述的程序，通过分析之前采集在无菌试管（含有 EDTA 盐作为抗凝血剂）中未达 24 小时的血液样本获得了性能数据。在免疫染色后的 2 小时内进行分析。

特异性

单克隆抗体 Immu357 识别单型 29 - 33 kDa 蛋白（确定为 HLA-DR）上携带的表位。 人类白细胞抗原 (HLA) 系统是对人体主要组织相容性复合体 (MHC) 的命名。HLA II 类分子由五种基因座（DM、DO、DP、DQ 和 DR）进行编码，也称作 HLA-DM、HLA-DO、HLA-DP、 HLA-DQ 和 HLA-DR 抗原 (13,14)。II 类抗原表达仅限于表达抗原的细胞，例如 B淋巴细胞、单核细胞/巨噬细胞、皮肤上的树状细胞和朗格汉斯细胞 (14,15)。在 T 淋巴细胞中，HLA-DR 抗原仅在激活后表达 (16)。干细胞和造血祖细胞在其进入特定分化阶段后表达 (14,17)。

精度

阳性百分比值用全血测定。每份样本使用 2 个批次的 Anti-HLA-DR-Pacific Blue 单克隆抗体试剂，在 2 台仪器上运行 4 次，每天 2 次，持续 1 天。使用 Navios 流式细胞仪进行测量（阳性 %）。分析基于 CLSI method EP5-A2：Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：定量测量方法精度性能的评估）。

我们的接受限取决于针对每个群体所测得的阳性颗粒数：

- 如果阳性颗粒数 < 1,500，则 CV < 15%
- 如果阳性颗粒数 > 1,500，则 CV < 10%

淋巴细胞							
阳性颗粒数（平均值） = 1154							
	操作人员间	细胞仪间	批次内	批次间	运行间	运行内	总数
CV (%)	1.99	3.40	3.26	0.78	0.87	2.43	4.77
结果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

单核细胞							
阳性颗粒数（平均值） = 1197							
	操作人员间	细胞仪间	批次内	批次间	运行间	运行内	总数
CV (%)	0.15	0.49	0.42	0.12	0.11	0.38	0.65
结果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

准确性

评估 Anti-HLA-DR-Pacific Blue 的准确性的方法为：将其与参考试剂分别应用于一组全血样本，然后用 Navios 流式细胞仪进行检测，之后比较结果。该测试与参考试剂之间的偏差根据测试结果的差异而确定。如果偏差在允许的错误范围内，或者 p 值没有显著差异 (> 0.05)，则认为这两种试剂的测试结果是等效的。

所得结果如下表所示：

献血人次 = 25				
阳性目标	平均值 Δ	Δ % 细胞标准	p 值	结果
淋巴细胞	-0.26	<5	0.557	PASS
单核细胞	1.04	<5	1.191	PASS

空白检测限和检测限

研究人员根据 CLSI EP17-A2 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2 临床实验室测量程序检测能力的评估）进行了一项研究。检测限 (LOD) 指可被一致检出的最低分析物浓度。所得结果如下表所示：

Positive Target	空白检测限（个细胞/µL）	检测限（个细胞/µL）
淋巴细胞	2	4
单核细胞	1	3

限制

1. 若流式细胞术未完全校准、荧光泄漏未得到正确补偿或未在该区域谨慎定位，则流式细胞术可能会产生错误结果。
2. 最好使用包含洗涤步骤的 RBC 裂解技术，因为该试剂未针对“无洗涤”裂解技术进行优化。
3. 只要所使用的程序符合技术插页说明书并遵守实验室管理规范，就可以获得准确和可重现的结果。
4. 校准该试剂的结合抗体，以提供最佳的特异性信号/非特异性信号比率。因此，在每次测试中都务必遵从此试剂体积/样本体积比率。
5. 如果白细胞过多，请在 PBS 中稀释血液，使白细胞浓度降低到约 5 x 10^9 个/L (18)。
6. 在严重肾衰竭、血红蛋白病等特定疾病状态中，红细胞裂解会变得缓慢、不完全，甚至无法实现。在这种情况下，建议在染色前通过密度梯度（例如聚蔗糖）隔离单核细胞 (19)。
7. 接受抗人单克隆抗体治疗的患者可能会因治疗抗体的部分或完全阻断而难以或无法检测特定的靶抗原。
8. 在判读 Anti-HLA-DR-Pacific Blue 结果时，需参照患者的整体临床表现，包括：症状、临床病史、其他检查数据和其他适用的信息。

请参阅附录中的示例和参考文献。

商标

Beckman Coulter、标志以及文中提及的贝克曼库尔特产品和服务标记均是美国贝克曼库尔特有限公司在美国和其他国家/地区的商标或注册商标。

Pacific Blue 是 Molecular Probes, Inc. 的商标。

其他信息

对于欧盟及具有相同监管制度的国家/地区的患者/用户/第三方（Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices [有关体外诊断医疗装置的法规 2017/746/EU]）：如果在使用本装置期间或由于使用本装置而发生严重事件，请向制造商和/或其授权代表以及当地国家主管部门报告。

Summary of Safety and Performance（安全和性能摘要）提供在 EUDAMED 数据库中：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修订历史

修订版本 AC：	发布日期：2019 年 10 月

修订	**发布日期**
AW	2022 年 2 月
更新文档以符合贝克曼库尔特公司全球标签政策和 IVD-R (EU)2017/746 的要求：	
新增章节	BSI 2797 编号、预期用户、临床意义、浓度、精度、准确性、空白检测限和检测限、其他信息、修订记录。
添加了信息	参阅“限制”章节
更新了措辞或版面	参阅程序、性能、限制、警告和注意事项、储存和稳定性章节。
删除了几个章节	临床应用示例、试剂、实验室内重复性、线性度
更新后章节	预期用途、GHS 危险等级分类、变质的迹象、程序、附录。

修订	**发布日期**
AX	4 月 2023
更新后章节	添加哈萨克语
更新后章节	储存及稳定性

修订版本	AY
修订日期	5 月 2024
更新的翻译	**临床意义**：
更新后章节	修订历史

修订版本	AZ
修订日期	7 月 2024
更新后章节	修订历史

符号注解

符号词汇表发布于 beckman.com/techdocs（文档编号 B60062）

	Specifikacijos
Specifiškumas	HLA-DR
Klonas	Immu-357
Hibridoma	X63 x balb/c
Imunogenas	EBV-transformed cell line
Imunoglobulinas	IgG1
Rūšis	Pelė
Išgryninimas	Gimininguмo chromatografija
Fluorochromas	Pacific Blue
Molinis santykis	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
λ žadinimas	405 nm
Spinduliuotės smailė	455 nm
Buferinis tirpalas	7,2 pH fosfato buferinis tirpalas plius 2 mg/ml GSA ir 0,1 % NaN_3

„IOTest“
Konjuguotas antikūnas Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 ml, 10 µl / test

Diagnostikai *in vitro*.

NAUDOJIMO PASKIRTIS

Naudojant šį su fluorochromu konjuguotą antikūną, srauto citometrijos būdu galima kokybiškai ir neautomatizuotu būdu identifikuoti ląstelių populiacijas, išreiškiančias HLA-DR antigeną, esantį žmogaus biologiniuose mėginiuose (žr. paskesnį skyrių „Mėginiai“).

PRINCIPAS

Šis tyrimas pagrįstas specifinių monokloninių antikūnų gebėjimu jungtis prie antigenų determinantų, kuriuos ekspresuoja leukocitai.

Specifinis leukocitų dažymo procesas atliekamas mėginį inkubuojant reagentu „IOTest“. Tada lizuojant pašalinami eritrocitai ir srauto citometrijos būdu analizuojami leukocitai, kurie per šį etapą nepaveikiami.

Srauto citometru matuojama ląstelių šviesos sklaida ir fluorescencija. Šiuo būdu galima tiriamąją populiaciją apriboti histogramoje apibrėžtu elektroniniu langu, kuris koreliuoja su šviesos sklaida stačiu kampu (šonine sklaida arba ŠS) ir šviesos sklaida smailu kampu (priekine sklaida arba FS). Kitos citometre įdiegtos histogramos, kuriose derinami du skirtingi parametrai, gali būti naudojamos kaip papildoma priemonė nustatant atrankos intervalus, žiūrint, kokį naudojimo būdą pasirinko naudotojas.

Analizuojant apribotų ląstelių fluorescenciją, teigiamai nudažyti įvykiai atskiriami nuo neigiamai nudažytų. Rezultatai išreiškiami kaip teigiamų įvykių procentinė dalis visų įvykių, gautų nustačius atrankos intervalą, atžvilgiu.

NUMATOMAS NAUDOTOJAS

Šis gaminys skirtas naudoti specialistams laboratorijose.

KLINIKINĖ SVARBA

Anti-HLA-DR-Pacific Blue yra Anti-HLA-DR antikūnas, naudojamas HLA-DR antigeną ekspresuojančioms ląstelėms identifikuoti ir charakterizuoti srauto citometrijos būdu. Naudojant vien šį gaminį negalima padaryti jokios diagnostinės išvados ir jis nėra tam skirtas.

Kartu su kitais žymenimis naudojamas šis gaminys gali būti naudojamas vienu ar keliais iš toliau nurodytų tikslų.

- Hematologiškai nenormalių pacientų, kuriems įtariama kraujodaros sistemos neoplazma, diferencinei diagnozei palengvinti ir pacientams, kuriems jau nustatyta kraujodaros sistemos neoplazma, stebėti.
- Pacientų, kuriems įtariamas imunodeficitas, diferencinei diagnozei palengvinti ir pacientams, kuriems jau nustatytas imunodeficitas, stebėti.
- Pacientams, kuriems nustatyta autoimuninė liga arba sutrikimas, stebėti.
- Transplantacijos procesui arba rezultatams stebėti.

Žr. šias nuorodas:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

MĖGINIAI

Veninio kraujo mėginius reikia imti į sterilius mėgintuvėlius su EDTA druska kaip antikoaguliantu.

Mėginius reikia laikyti kambario temperatūroje (18–25 °C) ir nekratyti. Prieš paimant tiriamąjį mėginį reikia atsargiai sujudinti mėginus, kad jie taptų vienalyčiai.

Mėginiai turi būti išanalizuoti per 24 valandas po venų punkcijos.

KONCENTRACIJA

Žr. konkrečios partijos analizės sertifikatą, pateikiamą interneto svetainėje www.beckman.com.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. Reagento nenaudoti pasibaigus galiojimo laikui.
2. Neužšaldyti.
3. Prieš naudojant reikia leisti sušilti iki kambario temperatūros (18–25 °C).
4. Laikykite kuo mažiau apšviestoje vietoje.

5. Saugokite, kad reagentai nebūtų užteršti mikrobais, nes antraip gali būti gaunami klaidingi rezultatai.
6. Su antikūnų tirpalais, kurių sudėtyje yra natrio azido (NaN_3), reikia elgtis atsargiai. Nevartokite į vidų ir saugokitės, kad nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.

   Be to, rūgščioje terpėje natrio azidas gali išskirti potencialiai pavojingą hidrazo rūgštį. Jei jį reikia pašalinti, prieš pilant į nutekėjimo sistemą, reagentą rekomenduojama praskiesti dideliu vandens kiekiu, kad būtų išvengta natrio azido kaupimosi metaliniuose vamzdžiuose ir išvengta sprogimo pavojaus.
7. Visi kraujo mėginiai turi būti laikomi potencialiai užkrečiamais ir su jais turi būti elgiamasi atsargiai (itin svarbu dėvėti apsaugines pirštines, apsiaustus ir akinius).
8. Jokiu būdu nesiurbkite burna ir saugokitės, kad mėginių nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.
9. Panaudoti kraujo mėgintuvėliai ir vienkartinės medžiagos turėtų būti išmetami į sudeginamas ad hoc talpyklas.
10. Reagentai ir atliekos turi būti šalinami pagal vietinius reikalavimus.

GHS PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Neklasifikuojama kaip pavojinga

SDS Saugos duomenų lapą galima gauti interneto svetainėje beckmancoulter.com/techdocs

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Prieš atidarant ir atidarius buteliuką reagentas turi būti laikomas 2–8 °C temperatūroje ir saugomas nuo šviesos.

Uždaryto buteliuko tinkamumo naudoti laikas pagal stabilumo tyrimą: 1095 d.

Atidaryto buteliuko stabilumas: reagentas lieka stabilus 180 d.

KOKYBĖS PABLOGĖJIMO POŽYMIAI

Bet koks reagentų fizinės išvaizdos pokytis gali reikšti pablogėjusias gaminio savybes, todėl tokio reagento naudoti negalima.

Prireikus papildomos informacijos arba gavę sugadintą gaminį skambinkite į „Beckman Coulter“ klientų aptarnavimo skyrių telefonu 800-742-2345 (JAV arba Kanadoje) arba susisiekite su vietiniu „Beckman Coulter“ atstovu.

TURINYS

Natrio azido konservantas metalo vamzdynuose gali sudaryti sprogiuosius junginius. Žr. „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (Nacionalinio darbų saugos ir sveikatos instituto biuletenį: sprogstamojo azido pavojus) (76-8-16).
Norėdami išvengti galimo azido junginių susikaupimo, išpylę į kanalizacijos sistemą neatskiesto reagento, vandeniu praplaukite nutekamuosius vamzdžius. Natrio azidas turi būti šalinamas pagal taikomų vietos reglamentų reikalavimus.

REIKALINGOS, BET SU RINKINIU NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS

- Mėginiams imti reikalingi mėginių ėmimo mėgintuvėliai ir medžiagos.
- Automatinės pipetės su vienkartiniais antgaliais, skirtos 10, 100 ir 500 µl tūrio mėginiams.
- Plastikiniai hemolizės mėgintuvėliai.
- Raudonųjų kraujo kūnelių lizavimo reagentas su plovimo etapu baigus lizuoti. Pavyzdys: „VersaLyse“ (kat. nr. A09777).
- Leukocitų fiksavimo reagentas. Pavyzdys: fiksavimo tirpalas „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800).
- Izotipų kontrolinė medžiaga Pacific Blue: „IOTest“ reagentas (kat. Nr. A74764).
- Buferinis tirpalas (fosfato buferinis tirpalas: 0,01 M natrio fosfato; 0,145 M natrio chlorido; pH 7,2).
- Nucentrifuguokite.
- Automatinis maišytuvas (sūkurinio tipo).
- Srauto citometras.

PROCEDŪRA NAUDOJANT REAGENTĄ „VERSALYSE“

Analizuojant kiekvieną mėginį, be tiriamojo mėgintuvėlio galima naudoti vieną kontrolinį mėgintuvėlį, kuriame ląstelės sumaišytos su izotipine kontroline medžiaga (kat. Nr. A74764).

1. Į kiekvieną tiriamąjį mėgintuvėlį įpilkite po 10 µl specifinio su „IOTest“ konjuguoto antikūno ir prireikus į kiekvieną kontrolinį mėgintuvėlį įpilkite po 10 µl kiekvieno izotipo kontrolinės medžiagos.
2. Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite po 100 µl tiriamojo mėginio. Mėgintuvėlius atsargiai išmaišykite sūkuriniu būdu.
3. 15–20 minučių inkubuokite kambario temperatūroje (18–25 °C), saugodami nuo šviesos.
4. Tai padarę sulizuokite eritrocitus. Žr. „VersaLyse“ (kat. Nr. A09777) informacinį lapelį; rekomenduojama laikytis procedūros, vadinamos „su vienalaikiu fiksavimu“, kurios metu įpilama 1 ml prieš pat naudojant paruošto fiksavimo ir lizavimo mišinio. Tuojau pat vieną sekundę maišykite sūkuriniu būdu ir 10 minučių inkubuokite kambario temperatūroje, saugodami nuo šviesos.
5. 5 minutes centrifuguokite veikiant 150 x g jėgai kambario temperatūroje.
6. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą.
7. Iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami 3 ml fosfato buferinį tirpalą.
8. Pakartokite 5 veiksmą.
9. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą ir iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami toliau nurodytas medžiagas.

- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo ir 0,1 % formaldehido, jeigu preparatai bus laikomi mažiau nei 24 val. (0,1 % formaldehido fosfato buferinio tirpalo galima gauti 12,5 µl 10X koncentracijos fiksavimo tirpalo „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800) atskiedus 1 ml fosfato buferinio tirpalo.)
- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo be formaldehido, jeigu preparatai bus analizuojami per 2 val.

Pastaba. Visais atvejais preparatus laikykite 2–8 °C temperatūroje ir saugodami nuo šviesos.

TIKĖTINOS VERTĖS

Mūsų laboratorijose 25 tariamai sveikų donorų viso kraujo mėginiai buvo apdoroti pirmiau aprašytu reagentu. Toliau pateiktoje lentelėje nurodyti dominančių teigiamų įvykių skaičiaus rezultatai, gauti naudojant šį reagentą.

Teigiamas taikinys	Skaičius	Vidurkis (%)	SN	VK (%)
Limfocitai	25	26,53	12,71	47,92
Monocitai	25	97,02	2,77	2,86

Šios vertės tėra reprezentacinės. Kiekviena laboratorija turi iš vietinės normalių donorų populiacijos nustatyti savo numatomas vertes.

VEIKIMAS

Veikimo duomenys gauti, pirmiau aprašytą procedūrą atliekant su mažiau nei 24 val. senumo mėginiais, kurie buvo anksčiau paimti į sterilius mėgintuvėlius su antikoaguliantu EDTA druska. Analizė atliekama ne vėliau kaip 2 val. po imunodažymo.

SPECIFIŠKUMAS

Monokloninis antikūnas Immu357 atpažįsta epitopą, esantį ant monomorfinio 29–33 kDa baltymo, kuris identifikuotas kaip HLA-DR. HLA sistema (žmogaus leukocitų antigenas, angl. „Human Leucocyte Antigen“) yra žmogaus pagrindiniam audinių suderinamumo kompleksui (angl. „Major histocompatibility complex“, MHC) suteiktas pavadinimas. D lokuso 5 lokusais (DM, DO, DP, DQ ir DR) koduojamos HLA II klasės molekulės taip pat vadinamos HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ ir HLA-DR antigenais (13,14). II klasės antigenų raiška apribota antigeną pateikiančiomis ląstelėmis, t. y. B limfocitais, monocitais / makrofagais, dendritinėmis ir odos Langerhanso ląstelėmis (14,15). T limfocituose HLA-DR antigenas išreiškiamas tik po aktyvavimo (16). Kamieninėse ląstelėse ir kraujodaros pirmtakinėse ląstelėse jis išreiškiamas iki tam tikros jų diferenciacijos stadijos (14,17).

GLAUDUMAS

Procentinės teigiamosios vertės nustatytos naudojant visą kraują. Kiekvienas mėginys buvo analizuojamas 4 kartus: 1 dieną, po du kartus, naudojant 2 prietaisus ir 2 Anti-HLA-DR-Pacific Blue monokloninių antikūnų reagentų partijas. Matavimai (% teigiamų) buvo atlikti srauto citometru „Navios“. Analizė atlikta pagal „CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods“ (CLSI metodą EP5-A2 „Kiekybinių matavimo metodų glaudumo veikimo vertinimas“).

Mūsų priėmimo kriterijai priklauso nuo kiekvienoje populiacijoje nustatyto teigiamų įvykių skaičiaus:

- jeigu teigiamų įvykių < 1 500, VK < 15 %
- Jeigu teigiamų įvykių > 1 500, VK < 10 %

Limfocitai							
Teigiamų įvykių skaičius (vidurkis) = 1154							
	Skirtingų operatorių	Skirtingų citometrų	Tos pačios partijos	Skirtingų partijų	Skirtingų analizių	Tos pačios analizės	Iš viso
VK (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
REZULTATAI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monocitai							
Teigiamų įvykių skaičius (vidurkis) = 1197							
	Skirtingų operatorių	Skirtingų citometrų	Tos pačios partijos	Skirtingų partijų	Skirtingų analizių	Tos pačios analizės	Iš viso
VK (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
REZULTATAI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TIKSLUMAS

Anti-HLA-DR-Pacific Blue tikslumas vertintas palyginant rezultatus su etaloniniu reagentu kaip patvirtinamąja priemone, srauto citometru „Navios“ analizuojant viso kraujo mėginių rinkinį. Bandomojo ir etaloninio reagentų paklaida nustatyta pagal tyrimo rezultatų skirtumą. Jeigu paklaida neviršija leidžiamojo paklaidų diapazono arba p reikšmė nerodo reikšmingo skirtumo (> 0,05), abiejų reagentų tyrimo rezultatai laikomi lygiaverčiais.

Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Donorų skaičius = 25				
Teigiamas taikinys	Vidurkis Δ	Δ % ląstelių kriterijai	p reikšmė	REZULTATAI
Limfocitai	-0,26	<5	0,557	PASS
Monocitai	1,04	<5	1,191	PASS

RUOŠINIO RIBA IR APTIKIMO RIBA

Pagal CLSI EP17-A2 dokumentą „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Klinikinių laboratorinių matavimų procedūrų aptikimo pajėgumų vertinimas) atliktas mokslinis tyrimas. Aptikimo riba (LOD) yra mažiausioji analitės koncentracija, kurią galima nuolat aptikti. Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Positive Target	Ruošinio riba (ląst./µl)	Aptikimo riba (ląst./µl)
Limfocitai	2	4
Monocitai	1	3

RIBOJIMAI

1. Atliekant srauto citometriją klaidingi rezultatai gali būti gauti tuo atveju, jei citometras nebuvo tiksliai sureguliuotas, fluorescencijos nuotėkiai nebuvo tinkamai kompensuoti ar regionai nebuvo kruopščiai išdėstyti.

2. Pageidautina taikant RBC lizavimo metodą atlikti plovimo etapą, nes šis reagentas nėra optimizuotas lizavimo „be plovimo“ metodikoms.
3. Tikslūs ir atkuriami rezultatai bus gaunami tol, kol naudojamos procedūros atitiks techniniame lapelyje pateiktą informaciją ir bus atliekamos laikantis geros laboratorijos praktikos.
4. Šio reagento konjuguotas antikūnas sukalibruotas taip, kad būtų gaunamas geriausias specifinio ir nespecifinio signalų santykis. Dėl šios priežasties atliekant kiekvieną tyrimą svarbu tiksliai laikytis nurodyto reagento ir mėginio tūrių santykio.
5. Hiperleukocitozės atveju kraują atskieskite fosfato buferiniu tirpalu, kad gautumėte maždaug 5 x 10^9 leukocitų/l koncentraciją (18).
6. Sergant kai kuriomis ligomis, pavyzdžiui, sunkiu inkstų nepakankamumu arba hemoglobinopatijomis, eritrocitai gali būti lėtai arba nevisiškai sulizuojami arba jų visai neįmanoma lizuoti. Tokiu atveju rekomenduojama prieš dažant atskirti vienbranduoles ląsteles tankio gradiento būdu (pavyzdžiui, Ficollo) (19).
7. Jeigu pacientams atliekama žmogaus monokloninių antikūnų terapija, specifiniai tiksliniai antigenai gali būti aptinkami prasčiau arba visai neaptinkami dėl dalinio arba visiško terapinio antikūno blokavimo.
8. Anti-HLA-DR-Pacific Blue rezultatai turi būti interpretuojami remiantis bendra paciento klinikine būkle, atsižvelgiant į: simptomus, klinikinę anamnezę, papildomų tyrimų duomenis ir kitą atitinkamą informaciją.

Pavyzdžiai ir nuorodos pateikti priede.

PREKIŲ ŽENKLAI

„Beckman Coulter“, stilizuotas logotipas ir kiti šiame dokumente nurodyti „Beckman Coulter“ gaminių ir prekių ženklai yra „Beckman Coulter, Inc.“ prekių ženklai arba registruotieji prekių ženklai Jungtinėse Amerikos Valstijose ir kitose šalyse.

„Pacific Blue“ yra „Molecular Probes, Inc.“ prekės ženklas.

PAPILDOMA INFORMACIJA

Pacientams / naudotojams / trečiosioms šalims Europos Sąjungoje ir šalyse, kuriose galioja identiški reguliaciniai reikalavimai (Reglamentas (ES) 2017/746 dėl in vitro diagnostikos medicinos priemonių): jeigu naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko sunkus incidentas, apie jį praneškite gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui ir savo šalies nacionalinei institucijai.

„Summary of Safety and Performance“ (Saugos ir veikimo suvestinė) pateikiama EUDAMED interneto svetainėje ec.europa.eu/tools/eudamed.

PERŽIŪRŲ ISTORIJA

PERŽIŪRA AC:	Leidimo data: 2019 m. spalis

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AW	2022 m. vasaris
Atnaujinta pagal „Beckman Coulter“ visuotinių ženklinimo taisyklių ir IVD-R (ES)2017/746 reikalavimus.	
Pridėti skyriai	BSI 2797 numeris, „Numatomas naudotojas“, „Klinikinė svarba“, „Koncentracija“, „Glaudumas“, „Tikslumas“, „Ruošinio riba ir aptikimo riba“, „Papildoma informacija“, „Peržiūrų istorija“.
Pridėta informacija	Žr. skyrių „Ribojimai“
Frazavimo arba tipografiniai atnaujinimai	Žr. skyrius „Procedūra“, „Veikimas“, „Ribojimai“, „Įspėjimai ir atsargumo priemonės“, „Laikymas ir stabilumas“.
Pašalinti skyriai	„Klinikinio naudojimo pavyzdys“, „Reagentai“, „Laboratorijos vidaus atkartojamumas“, „Tiesiškumas“
Atnaujinti skyriai	„Paskirtis“, „Visuotiniai suderintos sistemos (GHS) pavojingumo klasifikacija“, „Kokybės pablogėjimo požymiai“, „Procedūra“, priedas.

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AX	Balandis 2023
Atnaujinti skyriai	Pridėta kazachų kalba
Atnaujinti skyriai	Laikymas ir stabilumas

Peržiūrėta versija	AY
Peržiūros data	Gegužė 2024
Atnaujintas vertimas	**Klinikinė svarba:**
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Peržiūrėta versija	AZ
Peržiūros data	Liepa 2024
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Simbolių sutartiniai ženklai

Simbolių terminų žodynas pateikiamas interneto svetainėje beckman.com/techdocs (dokumento numeris B60062).

	Specifikációk
Specificitás	HLA-DR
Klón	Immu-357
Hibridóma	X63 x balb/c
Immunogén	EBV-transformed cell line
Immunglobulin	IgG1
Faj	Egér
Tisztítás	Affinitás kromatográfia
Fluorokróm	Pacific Blue
Moláris arány	Pacific Blue / Ig: 5,9-7,6
λ gerjesztés	405 nm
Kibocsátási csúcs	455 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plusz 2 mg/mL BSA és 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugált antitest
Anti-HLA-DR
-Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

***In vitro* diagnosztikai használatra.**

RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

Ez a fluorokrómmal konjugált antitest lehetővé teszi a humán biológiai mintákban a(z) HLA-DR antigént expresszáló sejtpopulációk áramlási citometriával végzett kvalitatív és nem automatizált azonosítását (lásd a „Minták” című alábbi fejezet).

MŰKÖDÉSI ELV

A vizsgálat azon alapul, hogy a specifikus monoklonális antitestek képesek-e kötődni a leukociták által expresszált antigén-determinánsokhoz.

A leukociták specifikus festése a mintának az IOTest reagenssel való inkubálásával történik. Az eritrocitákat ezután lízissel eltávolítják, és a leukocitákat, amelyekre nincs hatással ez a művelet, analizálni lehet áramlási citometriával.

Az áramlási citométer a sejtek fényszórását és fluoreszcenciáját méri. Ez lehetővé teszi a vizsgált populáció elhatárolását egy olyan elektronikus ablakon belül, amelyet a derékszögben szórt fény (oldalszóródás vagy SS) és a hegyes szögben szórt fény (előreszóródás vagy FS) intenzitását összehasonlító hisztogramon határoztak meg. Más, a citométer által mértek közül két paramétert kombináló hisztogramok használhatók kiegészítésként a kapuzási fázisban, a felhasználó által választott alkalmazástól függően.

Az elkülönített sejtek fluoreszcenciáját a rendszer elemzi a pozitívan festődött események megkülönböztetésére a nem festődöttektől. Az eredmények kifejezése a pozitív események százalékos arányaként történik a kapuzás által regisztrált összes eseményhez képest.

CÉLFELHASZNÁLÓ

Ez a termék laboratóriumi szakemberek általi használatra készült.

KLINIKAI JELENTŐSÉG

A Anti-HLA-DR-Pacific Blue a Anti-HLA-DR antitest, amely a(z) HLA-DR antigént expresszáló sejtek áramlási citometriás azonosítására és jellemzésére szolgál. Ez a termék önmagában nem képes arra, és nem is arra a célra lett kialakítva, hogy bármilyen diagnosztikai következtetést generáljon.

Más markerekkel kombinált használata esetén ez a termék az alábbiak közül egy vagy több célra használható:

- Segít azon rendellenes vérképű betegek differenciáldiagnózisában, akiknél hemopoetikus neoplasia gyanítható, valamint segít az ismerten hemopoetikus neoplasiaval rendelkező betegek monitorozásában.
- Segít azon betegek diagnózisában, akiknél fennáll az immundeficiencia gyanúja, valamint az ismerten immunhiányos betegek monitorozásában.
- Ismert autoimmun betegséggel vagy rendellenességgel rendelkező páciensek monitorozására.
- A transzplantációs folyamat vagy eredmények monitorozására.

Lásd a következő hivatkozásokat:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

MINTÁK

A vénás vért steril, alvadásgátlóként EDTA sóját tartalmazó csövekbe kell gyűjteni.

A mintákat szobahőmérsékleten (18–25 °C között) kell tárolni, és nem szabad felrázni. A tesztminta vétele előtt a mintákat homogenizálni kell óvatos rázással.

A minták elemzését a vénaszúráshoz képest 24 órán belül el kell végezni.

KONCENTRÁCIÓ

Lásd: www.beckman.com, tételspecifikus analitikai bizonylat.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

1. Ne használja a reagenst a lejárati időn túl.
2. Fagyasztani tilos.
3. Használat előtt hagyja felmelegedni szobahőmérsékletre (18–25 °C).
4. Minimalizálja a fényexpozíciót.

5. Kerülje el a reagensek mikrobiális kontaminációját, ebben az esetben hamis eredményeket kaphat.
6. A nátrium-azidot (NaN_3) tartalmazó antitestoldatokat körültekintően kell kezelni. A terméket nem szabad lenyelni, és nem érintkezhet bőrrel, nyálkahártyával vagy a szemmel.

   Sőt, savas közegben a nátrium-azid potenciálisan robbanékony nitrogén-hidrogénsavat képez. Ha ártalmatlanítani kell, javasolt a reagenst nagy mennyiségű vízzel hígítani a szennyvízcsatornába öntés előtt, hogy ne halmozódhasson fel nátrium-azid a fémcsövekben, és ne keletkezzen robbanásveszély.
7. Minden vérmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és óvatosan kell kezelni (azaz védőkesztyűt, köpenyt és szemüveget viselve).
8. Soha ne pipettázzon szájjal, és a minták soha ne érintkezzenek szemmel, bőrrel vagy nyálkahártyával!
9. A vércsöveket és a kezeléshez használt, egyszer használatos anyagokat olyan ad hoc tartóedényben kell kidobni, amely égetésre szolgál.
10. A reagenseket és a hulladékot a helyi követelmények szerint kell ártalmatlanítani.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Nincs veszélyes anyagként besorolva

SDS A biztonsági adatlap megtalálható a következő weboldalon: beckmancoulter.com/techdocs

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A reagenst a fiola kibontása előtt és után is 2 és 8 °C között, fénytől védve kell tárolni.

A lezárt fiola eltarthatósági ideje a stabilitási vizsgálat alapján: 1095 nap.

A felbontott fiola stabilitása: a reagens 180 napig stabil.

A MINŐSÉGROMLÁS JELEI

A reagensek fizikai megjelenésének bármilyen megváltozása megromlásra utalhat, és a reagenst nem szabad felhasználni.

További információkért, illetve sérült termék kézhezvétele esetén hívja a Beckman Coulter ügyfélszolgálatát a 800-742-2345-es számon (az Amerikai Egyesült Államokban és Kanadában), vagy lépjen kapcsolatba a Beckman Coulter területileg illetékes képviselőjével.

A CSOMAG TARTALMA

A nátrium-azid tartósítószer robbanékony vegyületeket képezhet a fém lefolyócsövekben. Lásd az alábbi NIOSH-közleményt: Explosive Azide Hazard (Robbanékony azidokkal kapcsolatos veszélyek) (76. 8. 16.).
Az azidvegyületek esetleges felhalmozódásának elkerülése érdekében a hígítatlan reagens szennyvízlefolyóba történő kiöntése után a szennyvízvezetéket vízzel át kell öblíteni. A nátrium-azid ártalmatlanítását a vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell végezni.

SZÜKSÉGES, DE A KÉSZLETTEL NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK:

- Mintacsövek és a mintavételhez használt anyagok.
- Automata pipetták eldobható hegyekkel 10, 100 és 500 µL-hez.
- Műanyag hemolíziscsövek.
- Vörösvértesteket lizáló reagens, a lízis után mosási fázissal. Például: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leukocitafixáló reagens. Például: IOTest 3 fixálóoldat (Ref. A07800).
- Izotípus-kontroll Pacific Blue: IOTest reagens (Ref. A74764).
- Puffer (PBS: 0,01 M nátrium-foszfát; 0,145 M nátrium-klorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automata keverő (vortex típusú).
- Áramlási citométer.

ELJÁRÁS VERSALYSE REAGENS ESETÉN

Mindegyik analizált minta esetében a vizsgált mintacsövön kívül a vizsgálatot ki lehet egészíteni egy kontrollmintacsővel is, amelyben a sejtek az izotípus-kontroll jelenlétében vannak összekeverve (Ref. A74764).

1. Adjon mindegyik mintacsőhöz 10 µL specifikus IOTest konjugált antitestet, és szükség esetén mindegyik kontrollmintacsőhöz 10 µL izotípuskontrollt.
2. Adjon 100 µL tesztmintát mindegyik mintacsőhöz. Óvatosan vortexelje a mintacsöveket.
3. Inkubálja 15–20 percig szobahőmérsékleten (18–25 °C), fénytől védett helyen.
4. Ezután végezze el a vörösvértestek lízisét. Kövesse a VersaLyse (Ref. A09777) füzet utasításait és lehetőség szerint a „konkomittáns fixációval” nevű eljárást alkalmazza, amelynek során 1 mL, akkor és ott elkészített „Fix-and-Lyse” keveréket kell hozzáadni a mintához. Azonnal vortexelje egy másodpercig, majd inkubálja 10 percig szobahőmérsékleten, fénytől védve.
5. Centrifugálja 5 percig szobahőmérsékleten, 150 x g-vel.
6. Felszívás segítségével távolítsa el a felülúszót.
7. Reszuszpendálja a sejtpelletet 3 mL PBS-ben.
8. Ismételje meg az 5. lépést.
9. Felszívással távolítsa el a felülúszót, és reszuszpendálja a sejtpelletet az alábbi reagenssel:

- 0,1% formaldehidet tartalmazó 0,5 mL vagy 1 mL PBS, ha a készítményt kevesebb mint 24 óráig fogják tárolni. (0,1% formaldehidet tartalmazó PBS készítéséhez hígítson 12,5 µL IOTest 3 fixálóoldatot (Ref. A07800) a 10X koncentrációra 1 mL PBS-ben.)
- 0,5 mL vagy 1 mL PBS formaldehid nélkül, ha a preparátum elemzése 2 órán belül fog történni.

Megjegyzés: A készítményeket fénytől védve, 2 és 8 °C között kell tárolni.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

A laboratóriumainkban látszólag egészséges 25 donorok teljesvér-mintáit kezeltük a fent ismertetett reagenssel. Az ezzel a reagenssel kapott vizsgált pozitív események számolási eredményeit az alábbi táblázat tartalmazza:

Pozitív cél	Szám	Átlag (%)	SD	CV (%)
Limfociták	25	26,53	12,71	47,92
Monociták	25	97,02	2,77	2,86

Ezek az értékek csak tájékoztatásul szolgálnak. Az egyes laboratóriumoknak meg kell határozniuk a saját várt értékeiket a helyi egészséges donorok populációjából.

TELJESÍTMÉNY

A teljesítményadatokat a fent leírt eljárás segítségével lehet megkapni az alvadásgátlóként EDTA-sót tartalmazó steril csövekbe levett vérmintákból a vérvételt követő kevesebb mint 24 órán belül. Az analízist az immunfestést követő 2 órán belül kell elvégezni.

SPECIFICITÁS

Az Immu357 monoklonális antitest felismeri a monomorfikus 29 - 33 kDa molekulatömegű, HLA-DR-ként azonosított protein által hordozott izotópot. HLA rendszernek (emberi leukocita antigén) nevezik a fő hisztokompatibilitási kompex-et (MHC) az embernél. Ezeket a D lókusz 5 lókusza (DM, DO, DP, DQ és DR) által kódolt HLA II-es osztályú molekulákat HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ és HLA-DR antigéneknek is nevezzük (13,14). A II-es osztályú antigének kimutatása az antigén-mutató sejtekre korlátozódik, pl. B limfociták, monociták/makrofágok, dendritek és a bőr Langerhans sejtjei (14,15). A T limfocitákon csak aktiválást követően mutatható ki a HLA-DR antigén (16). Az őssejtekben és a vérképző progenitorokban is kimutatható differenciálódásuk bizonyos szakaszát követően (14,17).

PRECIZITÁS

A százalékos pozitív értékeket teljes vér felhasználásával határozták meg. Mindegyik mintát 4-szer futtatták, naponta kétszer 1 napig, 2 berendezésen, a Anti-HLA-DR-Pacific Blue monoklonális antitest reagensek 2 gyártási tételének felhasználásával. A méréseket (pozitív %) Navios áramlási citométerrel végezték. Az analízist a CLSI által közzétett EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (A kvantitatív mérési módszerek precizitási teljesítményének értékelése) módszer alapján végezték.

Az elfogadhatósági kritériumaink az egyes populációknál mért pozitív események számától függ:

- Ha a pozitív esemény < 1500, CV < 15%
- Ha a pozitív esemény > 1500, CV < 10%

Limfociták							
Pozitív események száma (átlag) = 1154							
	Felhasználók közötti	Citométerek közötti	Egy gyártási tételen belüli	Eltérő gyártási tételek közötti	Futtatások közötti	Egy futtatáson belüli	Összes
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
EREDMÉNYEK	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monociták							
Pozitív események száma (átlag) = 1197							
	Felhasználók közötti	Citométerek közötti	Egy gyártási tételen belüli	Eltérő gyártási tételek közötti	Futtatások közötti	Egy futtatáson belüli	Összes
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
EREDMÉNYEK	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PONTOSSÁG

A Anti-HLA-DR-Pacific Blue pontosságának értékeléséhez összevetették egy referencia reagenssel és a Navios áramlási citométeren futtatott teljesvér-minták eredményeit. A teszt- és a referenciareagens közötti torzítást a teszteredmények közötti különbségek alapján határozták meg. Ha a torzítás a megengedhető hibatartományon belül maradt, vagy ha a p-érték nem jelzett szignifikáns különbséget (> 0,05), akkor a két reagenssel kapott teszteredményeket egyenértékűnek tekintették.

Az eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Donorok száma = 25				
Pozitív cél	Átlag Δ	Δ % sejt kritériumok	p-érték	EREDMÉNYEK
Limfociták	-0,26	<5	0,557	PASS
Monociták	1,04	<5	1,191	PASS

VAK HATÁRÉRTÉK ÉS KIMUTATHATÓSÁGI HATÁRÉRTÉK

Vizsgálatot végeztek a CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (A klinikai laboratóriumi mérési eljárások kimutatási képességének értékelése) útmutatónak megfelelően. Kimutathatósági határérték (LOD) – a vizsgált anyag következetesen kimutatható legalacsonyabb koncentrációja. A kapott eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Positive Target	Vak határérték (sejt/µL)	Kimutathatósági határérték (sejt/µL)
Limfociták	2	4
Monociták	1	3

KORLÁTOZÁSOK

1. Az áramlási citometria hamis eredményeket adhat, ha a citométert nem igazítják tökéletesen, ha nem kompenzálják megfelelően a fluoreszcenciaszivárgást és ha a régiókat nem pozicionálják elég gondosan.
2. Érdemes egy mosási lépést is tartalmazó vörösvértest lizáló módszert alkalmazni, mivel ezt a reagenst nem optimalizálták „mosás nélküli” lizáló módszerekhez.
3. Pontos és megismételhető eredmények születnek, amennyiben az eljárásokat a műszaki tájékoztató szerint és a helyes laboratóriumi gyakorlattal összhangban végzik el.
4. A reagens konjugált antitestjét úgy kalibrálták, hogy a legjobb specifikus jel/nem specifikus jel arányt produkálja. Ezért fontos, hogy minden tesztnél betartsa a reagenstérfogat/mintatérfogat arányt.
5. Emelkedett leukocitaszám esetén hígítsa a vért annyi PBS hozzáadásával, hogy a fehérvérsejtek koncentrációja körülbelül 5 x 10^9 leukocita/L legyen (18).
6. Bizonyos betegségek, például súlyos veseelégtelenség vagy hemoglobinopátiák esetében előfordulhat, hogy a vörösvértestek lízise lassú, részleges, vagy akár lehetetlen. Ilyenkor javasolt a festés előtt a mononukleáris sejtek elkülönítése egy sűrűséggradiens alapján működő eljárással (ilyen például a Ficoll) (19).
7. A humán antigén elleni monoklonális antitest terápiában részesülő betegek esetében a specifikus célantigén kimutatásának mértéke csökkenhet vagy sikertelen lehet az alkalmazott terápiás antitest által okozott részleges vagy teljes gátlás miatt.
8. Az Anti-HLA-DR-Pacific Blue eredményeket a beteg teljes klinikai képének fényében kell értelmezni, figyelembe véve a tüneteket, a kórtörténetet, más tesztek eredményeit és egyéb releváns adatokat.

A példákért és az irodalomjegyzékért lásd a Függeléket.

VÉDJEGYEK

A Beckman Coulter, a stilizált logó, valamint az itt említett Beckman Coulter termék- és szolgáltatásjegyek a Beckman Coulter, Inc. védjegyei vagy bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és más országokban.

A Pacific Blue a Molecular Probes, Inc. védjegye.

TOVÁBBI INFORMÁCIÓK

Az Európai Unióban, illetve az EU-val azonos szabályozási rendszerrel (lásd: az EU 2017/746 rendelete az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökről) rendelkező országokban élő beteg/felhasználó/harmadik fél esetében: ha a jelen eszköz használata során vagy használata eredményeként súlyos váratlan esemény történik, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy hivatalos területi képviselőjének, valamint az illetékes nemzeti hatóságnak.

A Summary of Safety and Performance (A biztonság és a teljesítmény összefoglalása) című dokumentum elérhető az EUDAMED adatbázisban: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ÁTDOLGOZÁSOK

AC ÁTDOLGOZÁS:	Kiadás dátuma: 2019. október

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AW	2022. február
A Beckman Coulter globális címkézési szabályzatának megfelelő, valamint az IVD-R (EU) 2017/746 követelmények szerinti frissítések:	
Hozzáadott szakaszok	BSI 2797 szám, Célfelhasználó, Klinikai jelentőség, Koncentráció, Precizitás, Pontosság, Vak határérték és kimutathatósági határérték, További információk, Átdolgozások.
Új információk	Lásd a Korlátozások című részeket
Megfogalmazási vagy tipográfiai frissítések	Lásd az Eljárás, Teljesítmény, Korlátozások, Figyelmeztetések és óvintézkedések, Tárolás és stabilitás című részeket.
Eltávolított szakaszok	Példa klinikai alkalmazásra, Reagensek, Laboratóriumon belüli reprodukálhatóság, Linearitás
Frissített szakaszok	Rendeltetésszerű használat, GHS szerinti veszélyességi besorolás, A minőségromlás jelei, Eljárás, Függelék.

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AX	Április 2023
Frissített szakaszok	Kazak nyelv hozzáadása
Frissített szakaszok	Tárolás és stabilitás

Átdolgozott verzió	AY
Átdolgozás dátuma	Május 2024
Frissített fordítások	**Klinikai jelentőség:**
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Átdolgozott verzió	AZ
Átdolgozás dátuma	július 2024
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Szimbólumok listája

A szimbólumok jegyzéke elérhető a következő weboldalon: beckman.com/techdocs (dokumentumszám: B60062)

	Specyfikacje
Swoistość	HLA-DR
Klon	Immu-357
Hybrydoma	X63 x balb/c
Immunogen	EBV-transformed cell line
Immunoglobulina	IgG1
Gatunek	Mysz
Oczyszczanie	Chromatografia powinowactwa
Fluorochrom	Pacific Blue
Stosunek molowy	Pacific Blue / Ig: 5,9-7,6
Wzbudzenie λ	405 nm
Pik emisji	455 nm
Bufor	PBS o pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Przeciwciało skoniugowane Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Do użytku diagnostycznego *in vitro*.

PRZEZNACZENIE

To przeciwciało skoniugowane z fluorochromem umożliwia jakościową i niezautomatyzowaną identyfikację populacji komórek wykazujących ekspresję antygenu HLA-DR obecnego w ludzkich próbkach biologicznych metodą cytometrii przepływowej (zobacz część „Próbki" poniżej).

ZASADA DZIAŁANIA

Ten test jest oparty na zdolności swoistych przeciwciał monoklonalnych do wiązania się z determinantami antygenowymi ekspresjonowanymi przez lekukocyty.

Barwienie swoiste leukocytów jest wykonywane poprzez inkubację próbki z odczynnikiem IOTest. Krwinki czerwone są następnie usuwane poprzez lizę, a leukocyty, na które ta liza nie wpływa, są analizowane metodą cytometrii przepływowej.

Cytometr przepływowy mierzy rozpraszanie światła i fluorescencję komórek. Umożliwia to odgraniczenie populacji zainteresowania w elektronicznym oknie zdefiniowanym na histogramie, który koreluje ortogonalne rozpraszanie światła (rozpraszanie boczne — Side Scatter, w skrócie SS) i rozpraszanie światła pod wąskim kątem (rozpraszanie do przodu, Forward Scatter, w skrócie FS). Na etapie bramkowania, w zależności od zastosowania wybranego przez użytkownika, można używać innych histogramów łączących dwa z różnych parametrów dostępnych w cytometrze.

Fluorescencja odgraniczonych komórek jest analizowana w celu odróżnienia zdarzeń barwionych dodatnio od zdarzeń nieulegających barwieniu. Wyniki są wyrażane jako odsetek zdarzeń dodatnich względem wszystkich zdarzeń zarejestrowanych poprzez bramkowanie.

UŻYTKOWNIK DOCELOWY

Produkt jest przeznaczony do profesjonalnego użytku w laboratoriach.

ZNACZENIE KLINICZNE

Anti-HLA-DR-Pacific Blue to przeciwciało Anti-HLA-DR służące do identyfikowania i charakteryzowania komórek wykazujących ekspresję antygenu HLA-DR za pomocą cytometrii przepływowej. Ten produkt nie może samodzielnie generować i nie jest przeznaczony do generowania jakichkolwiek wniosków diagnostycznych.

W połączeniu z innymi markerami produkt ten może służyć do jednego lub kilku z następujących zastosowań:

- Do wspomagania diagnostyki różnicowej pacjentów z nieprawidłowym obrazem hematologicznym i podejrzeniem nowotworu układu krwiotwórczego oraz do monitorowania pacjentów ze stwierdzonym nowotworem układu krwiotwórczego.
- Do wspomagania diagnostyki pacjentów z podejrzeniem niedoboru odporności oraz do monitorowania pacjentów z rozpoznanym niedoborem odporności.
- Do monitorowania stanu pacjentów z rozpoznaną chorobą lub zaburzeniem autoimmunologicznym.
- Do monitorowania procesu lub wyników przeszczepiania.

Zobacz poniższe piśmiennictwo:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

PRÓBKI

Krew żylną należy pobierać do sterylnych probówek zawierających antykoagulant w postaci soli EDTA.

Próbki należy przechowywać w temperaturze pokojowej (18–25°C), bez wytrząsania. Przed pobraniem próbki do testu należy uzyskać jednorodną mieszaninę poprzez delikatne mieszanie.

Próbki muszą zostać zbadane w ciągu 24 godzin od pobrania krwi żylnej przez nakłucie.

STĘŻENIE

Zobacz świadectwo analizy właściwe dla serii pod adresem www.beckman.com.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Nie używać odczynników po upływie daty ważności.
2. Nie zamrażać.

3. Przed użyciem odczekać, aż osiągnie temperaturę pokojową (18–25°C).
4. Maksymalnie ograniczyć narażenie na działanie światła.
5. Nie dopuścić do skażenia mikrobiologicznego odczynników, gdyż może to spowodować uzyskanie fałszywych wyników.
6. Z roztworami przeciwciał zawierającymi azydek sodu (NaN_3) należy postępować ostrożnie. Nie spożywać i nie dopuszczać do kontaktu ze skórą, błoną śluzową oraz oczami.

   Ponadto w środowisku kwaśnym azydek sodu może tworzyć potencjalnie niebezpieczny kwas azotowodorowy. W przypadku konieczności usunięcia zalecane jest rozcieńczenie odczynnika w dużej objętości wody przed wlaniem go do kanalizacji, aby uniknąć gromadzenia się azydku sodu w metalowych rurach i uniknąć ryzyka wybuchu.
7. Wszystkie próbki krwi należy uważać za potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi ostrożnie (w szczególności nosić ochronne rękawice, fartuchy i okulary).
8. Nigdy nie wolno pipetować ustami. Nie dopuszczać do kontaktu próbek ze skórą, błonami śluzowymi i oczami.
9. Probówki przeznaczone na krew i materiały jednorazowego użytku używane podczas procedury należy usuwać do pojemników ad hoc przeznaczonych do spalenia.
10. Odczynniki i odpady należy usuwać zgodnie z wymogami lokalnymi.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Produkt nie został sklasyfikowany jako niebezpieczny

SDS Karta charakterystyki jest dostępna pod adresem beckmancoulter.com/techdocs

MAGAZYNOWANIE I STABILNOŚĆ

Ten odczynnik musi być przechowywany w temperaturze 2–8°C z zapewnieniem ochrony przed światłem, zarówno przed otwarciem fiolki jak i po jej otwarciu.

W oparciu o wyniki badania stabilności dopuszczalny okres przechowywania w zamkniętej fiolce ustalono na: 1095 dni.

Stabilność otwartej fiolki: odczynnik zachowuje stabilność przez 180 dni.

OZNAKA POGORSZENIA WŁAŚCIWOŚCI

Wszelkie zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników mogą wskazywać na pogorszenie właściwości — odczynników takich nie należy używać.

W celu otrzymania dodatkowych informacji lub w przypadku otrzymania uszkodzonego produktu należy skontaktować się z działem obsługi klienta firmy Beckman Coulter pod numerem telefonu 800-742-2345 (USA lub Kanada) lub z miejscowym przedstawicielem firmy Beckman Coulter.

ZAWARTOŚĆ

Środek konserwujący, azydek sodu, może tworzyć związki wybuchowe w metalowych rurach kanalizacyjnych. Patrz NIOSH Bulletin (Biuletyn instytutu NIOSH): Explosive Azide Hazard (Niebezpieczeństwo wybuchu azydku) (16.8.76).
Po usunięciu nierozcieńczonego odczynnika należy przepłukać rury ściekowe wodą, aby uniknąć gromadzenia się azydków. Azydek sodu musi być usuwany zgodnie z odpowiednimi przepisami lokalnymi.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE Z ZESTAWEM:

- Probówki do pobierania próbek i materiały wymagane do pobierania próbek.
- Pipety automatyczne z jednorazowymi końcówkami na 10, 100 i 500 µL.
- Probówki z tworzywa sztucznego przeznaczone do hemolizy.
- Odczynnik do lizy erytrocytów, z etapem przemywania po etapie lizy. Przykład: VersaLyse (nr ref. A09777).
- Odczynnik do utrwalania limfocytów. Przykład: Roztwór utrwalający IOTest 3 (nr ref. A07800).
- Kontrola izotypowa Pacific Blue: Odczynnik IOTest (nr ref. A74764).
- Bufor (PBS: 0,01 M fosforan sodu; 0,145 M chlorek sodu; pH 7,2).
- Wirówka.
- Mieszadło automatyczne (typu worteks).
- Cytometr przepływowy.

PROCEDURA Z ODCZYNNIKIEM VERSALYSE

Do każdej badanej próbki, dodatkowo oprócz probówki testowej, można dodać jedną probówkę kontrolną, w której komórki są mieszane w obecności kontroli izotypowej (nr ref. A74764).

1. Dodać po 10 µL swoistego przeciwciała skoniugowanego IOTest do każdej probówki testowej i, w razie potrzeby, po 10 µL kontroli izotypowej do każdej probówki kontrolnej.
2. Do każdej probówki dodać 100 µL próbki testowej. Łagodnie worteksować probówki.
3. Inkubować przez 15–20 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C), chroniąc przed światłem.
4. Następnie przeprowadzić lizę krwinek czerwonych. Zapoznać się z ulotką VersaLyse (nr ref. A09777). Preferowane jest postępowanie zgodnie z procedurą „z towarzyszącym utrwalaniem”, która polega na dodaniu 1 mL przygotowanej wcześniej mieszaniny do utrwalania i lizy (Fix-and-Lyse). Bezzwłocznie worteksować przez jedną sekundę i inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej, chroniąc przed światłem.
5. Wirować przez 5 minut przy 150 x g w temperaturze pokojowej.
6. Usunąć supernatant poprzez zasysanie.
7. Zawiesić osad komórkowy w 3 mL PBS.
8. Powtórzyć etap 5.

9. Usunąć supernatant poprzez zasysanie i ponownie zawiesić osad komórkowy w:

- 0,5 mL lub 1 mL PBS oraz 0,1% formaldehydu, jeśli preparaty mają być przechowywane przez mniej niż 24 godz. (0,1% roztwór formaldehydu w PBS można uzyskać, rozcieńczając 12,5 µL roztworu utrwalającego IOTest 3 (nr ref. A07800) stężonego 10X w 1 mL PBS).
- 0,5 mL lub 1 mL PBS bez formaldehydu, jeśli preparaty zostaną poddane analizie w ciągu 2 godz.

Uwaga: Niezależnie od sytuacji preparaty należy przechowywać w temperaturze 2–8°C, chroniąc je przed światłem.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

W naszych laboratoriach próbki krwi pełnej od 25 dawców niewykazujących objawów chorobowych poddano obróbce z użyciem opisanego powyżej odczynnika. Uzyskane wyniki w zakresie liczby dodatnich zdarzeń zainteresowania w przypadku tego odczynnika podano w tabeli poniżej:

Dodatnie docelowe komórki	Liczba	Średnia (%)	SD	WZ (%)
Limfocyty	25	26,53	12,71	47,92
Monocyty	25	97,02	2,77	2,86

Wartości te są przeznaczone wyłącznie do celów poglądowych. Każde laboratorium powinno ustalić własne wartości oczekiwane z użyciem próbek reprezentatywnych dla lokalnej populacji zdrowych dawców.

WYDAJNOŚĆ

Dane dotyczące wydajności uzyskano z wykorzystaniem procedury opisanej powyżej na próbkach krwi mających mniej niż 24 godziny, uprzednio pobranych do sterylnych probówek z solą EDTA jako antykoagulantem. Badanie przeprowadzono w ciągu 2 godzin po barwieniu immunologicznym.

SWOISTOŚĆ

Przeciwciało monoklonalne Immu357 rozpoznaje epitop na monomorficznym białku 29 - 33 kDa, identyfikowanym jako HLA-DR. Układ HLA (ludzki antygen limfocytarny) to nazwa nadana głównemu kompleksowi zgodności tkankowej (MHC) u ludzi. Kodowane przez 5 loci (DM, DO, DP, DQ i DR) locus D, cząsteczki HLA klasy II są także nazywane antygenami HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ i HLA-DR (13,14). Ekspresja antygenów klasy II jest ograniczona do komórek prezentujących antygen, tj. limfocytów B, monocytów/makrofagów, komórek dendrytycznych i Langerhansa w skórze (14,15). Na limfocytach T, antygen HLA-DR ulega ekspresji wyłącznie po aktywacji (16). W komórkach macierzystych i hematopoetycznych komórkach progenitorowych ekspresja występuje do określonego stadium różnicowania (14,17).

PRECYZJA

Odsetek wartości dodatnich określono przy użyciu krwi pełnej. Każdą próbkę oznaczano 4 razy, dwa razy na dobę przez 1 dzień na 2 analizatorach przy użyciu 2 serii odczynnika przeciwciała monoklonalnego Anti-HLA-DR-Pacific Blue. Pomiary (% dodatnich) przeprowadzono na cytometrze przepływowym Navios. Badanie przeprowadzono na podstawie metody opisanej w wytycznych CLSI w dokumencie EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Ocena wydajności precyzji metody pomiarów ilościowych).

Nasze kryteria akceptacji są uzależnione od liczby zdarzeń dodatnich zmierzonych w każdej populacji:

- Jeśli zdarzenie dodatnie < 1500, WZ < 15%
- Jeśli zdarzenie dodatnie > 1500, WZ < 10%

Limfocyty							
Liczba zdarzeń dodatnich (średnia) = 1154							
	Między operatorami	Między cytometrami	W ramach serii	Między seriami	Między oznaczeniami	W ramach analizy	Łącznie
WZ (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
WYNIKI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monocyty							
Liczba zdarzeń dodatnich (średnia) = 1197							
	Między operatorami	Między cytometrami	W ramach serii	Między seriami	Między oznaczeniami	W ramach analizy	Łącznie
WZ (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
WYNIKI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOKŁADNOŚĆ

Dokładność odczynnika Anti-HLA-DR-Pacific Blue oceniano poprzez porównanie wyników uzyskanych za pomocą tego odczynnika z wynikami uzyskanymi za pomocą odczynnika referencyjnego, wykorzystywanego jako odniesienie, na zestawie próbek krwi pełnej oznaczanych na cytometrze przepływowym Navios. Odchylenie między odczynnikiem testowym i referencyjnym określono na podstawie różnicy między wynikami testu. Jeśli odchylenie mieści się w dopuszczalnym zakresie błędu lub wartość p wskazuje na brak istotnej różnicy (> 0,05), wyniki testu dla dwóch odczynników są uznawane za równoważne.

W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Liczba dawców = 25				
Dodatnie docelowe komórki	Średnia Δ	Kryteria Δ % komórki	Wartość p	WYNIKI
Limfocyty	-0,26	<5	0,557	PASS
Monocyty	1,04	<5	1,191	PASS

GRANICA PRÓBY ŚLEPEJ I GRANICA WYKRYWALNOŚCI

Przeprowadzono badanie zgodnie z dokumentem CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zdolności wykrywania dla procedur pomiarowych w laboratoriach medycznych). Granica wykrywalności (LOD) to najniższe stężenie analitu, które może być powtarzalnie wykrywane. W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Positive Target	Granica próby ślepej (l. komórek/µL)	Granica wykrywalności (l. komórek/µL)
Limfocyty	2	4
Monocyty	1	3

ORGANICZENIA

1. Wyniki cytometrii przepływowej mogą być zafałszowane, jeśli osiowanie cytometru nie było dokładne, przepuszczona fluorescencja nie została prawidłowo skompensowana, a regiony nie zostały starannie upozycjonowane.
2. Preferowane jest stosowanie techniki lizy RBC z etapem przemywania, ponieważ odczynnik ten nie został zoptymalizowany dla technik lizy „bez przemywania".
3. Uzyskane wyniki będą dokładne i odtwarzalne pod warunkiem, że stosowane będą procedury zgodne z informacjami zawartymi w ulotce z danymi technicznymi oraz z dobrymi praktykami laboratoryjnymi.
4. Skoniugowane przeciwciało zawarte w tym odczynniku zostało skalibrowane tak, aby zapewniać najlepszy stosunek sygnału swoistego do nieswoistego. Dlatego ważne jest przestrzeganie stosunku objętości odczynnika do objętości próbki w każdym teście.
5. W przypadku hiperleukocytozy należy rozcieńczyć krew w PBS, aby uzyskać wartość w przybliżeniu 5 x 10^9 leukocytów/L (18).
6. W niektórych stanach chorobowych, takich jak ciężka niewydolność nerek lub hemoglobinopatie, liza krwinek czerwonych może być powolna, niepełna lub nawet niemożliwa. W takich przypadkach przed barwieniem zalecane jest wyizolowanie komórek jednojądrzastych na gradiencie gęstości (na przykład Ficoll) (19).
7. U pacjentów poddawanych terapii anty-ludzkimi przeciwciałami monoklonalnymi, wykrywanie swoistych antygenów docelowych może być osłabione lub niemożliwe z powodu częściowego lub całkowitego zablokowania przez przeciwciało terapeutyczne.
8. Wyniki oznaczenia Anti-HLA-DR-Pacific Blue należy interpretować w świetle ogólnego obrazu klinicznego pacjenta, w tym objawów, historii klinicznej, danych z dodatkowych testów oraz innych właściwych informacji.

Przykłady i piśmiennictwo można znaleźć w załączniku.

ZNAKI TOWAROWE

Beckman Coulter, stylizowane logo oraz wymienione w tym dokumencie znaki produktów i usług firmy Beckman Coulter są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Beckman Coulter, Inc. w Stanach Zjednoczonych i innych krajach.

Pacific Blue jest znakiem towarowym firmy Molecular Probes, Inc.

DODATKOWE INFORMACJE

Dotyczy pacjentów/użytkowników/stron trzecich w Unii Europejskiej i w krajach o identycznym systemie regulacyjnym (rozporządzenie 2017/746/UE w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro) — jeśli podczas lub w wyniku korzystania z tego wyrobu wystąpi poważny incydent, należy zgłosić go producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz odpowiedniemu organowi krajowemu.

Dokument The Summary of Safety and Performance (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania) jest dostępne w bazie danych EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIA ZMIAN

WERSJA AC:	Data wydania: październik 2019 r.

WERSJA	**Data wydania**
AW	Luty 2022 r.
Aktualizacje w celu zapewnienia zgodności z globalnymi zasadami oznakowania firmy Beckman Coulter i według wymogów rozporządzenia IVD-R (UE)2017/746:	
Dodano części	Numer BSI 2797, Użytkownik docelowy, Znaczenie kliniczne, Stężenie, Precyzja, Dokładność, Granica próby ślepej i granica wykrywalności, Informacje dodatkowe, Historia zmian.
Dodano informacje	Zobacz części Ograniczenia
Aktualizacje wyrażeń lub typograficzne	Zobacz części Procedura, Wydajność, Ograniczenia, Ostrzeżenia i środki ostrożności, Magazynowanie i stabilność.
Usunięte części	Przykłady zastosowań klinicznych, Odczynniki, Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna, Liniowość
Zaktualizowane części	Przeznaczenie, Klasyfikacja zagrożeń wg GHS, Dowód pogorszenia jakości, Procedura, Załącznik.

WERSJA	**Data wydania**
AX	Kwiecień 2023
Zaktualizowane części	Dodano język kazachski
Zaktualizowane części	Przechowywanie i stabilność

Wersja zmieniona	AY
Data zmiany	Maj 2024
Zaktualizowano tłumaczenia	**Znaczenie kliniczne:**
Zaktualizowane części	Historia zmian

Wersja zmieniona	AZ
Data zmiany	Lipiec 2024
Zaktualizowane części	Historia zmian

Legenda symboli

Słowniczek symboli jest dostępny pod adresem beckman.com/techdocs (numer dokumentu B60062)

	Specifikace
Specificita	HLA-DR
Klon	Immu-357
Hybridom	X63 x balb/c
Imunogen	EBV-transformed cell line
Imunoglobulin	IgG1
Druhy	Myš
Purifikace	Afinitní chromatografie
Fluorochrom	Pacific Blue
Molární poměr	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
Excitace λ	405 nm
Emisní vrchol	455 nm
Pufr	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugovaná protilátka Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 ml, 10 µl / test

Pro diagnostické účely *in vitro*.

URČENÉ POUŽITÍ

Tato protilátka konjugovaná s fluorochromem umožňuje kvalitativní a neautomatizovanou identifikaci buněčných populací exprimujících antigen HLA-DR v lidských biologických vzorcích (viz část „Vzorky“ níže) pomocí průtokové cytometrie.

PRINCIP

Tento test je založen na schopnosti monoklonálních protilátek specificky se vázat na antigenní determinanty exprimované na leukocytech.

Specifické značení leukocytů se provádí inkubováním vzorku s reagencií IOTest. Červené krvinky jsou poté odstraněny provedením lýzy a bílé krvinky, jež tímto procesem nejsou ovlivněny, jsou analyzovány na průtokovém cytometru.

Průtokový cytometr měří difúzi světla a fluorescenci buněk. Umožňuje oddělit zkoumanou populaci v rámci elektronického okna definovaného na histogramu, který je v korelaci s ortogonální difúzí světla (kolmý rozptyl) a s difúzí světla v úzkém úhlu (přímý rozptyl). Jako podporu ve fázi gatování lze, v závislosti na aplikaci zvolené uživatelem, použít další histogramy s kombinací dvou různých parametrů, které jsou v cytometru k dispozici.

Fluorescence oddělených buněk je analyzována s cílem odlišit pozitivně obarvené události od neobarvených. Výsledky jsou vyjádřeny jako procentní podíl pozitivních událostí ze všech událostí zjištěných gatováním.

ZAMÝŠLENÝ UŽIVATEL

Tento produkt je určen pro profesionální laboratorní použití.

KLINICKÁ VÝZNAMNOST

Anti-HLA-DR-Pacific Blue je protilátka Anti-HLA-DR používaná k identifikaci a charakterizaci buněk exprimujících antigen HLA-DR pomocí průtokové cytometrie. Tento produkt sám o sobě nevytváří a nemá vytvářet žádný diagnostický závěr.

Při použití v kombinaci s dalšími markery lze tento produkt použít k jedné nebo více z následujících funkcí:

- Jako pomůcka pro diferenciální diagnostiku pacientů s hematologickými abnormalitami, u kterých je podezření na hematopoetickou neoplazii, a k monitorování pacientů se známou hematopoetickou neoplazií.
- Jako pomůcka pro diagnostiku pacientů s podezřením na imunodeficienci a k monitorování pacientů se známou imunodeficiencí.
- K monitorování pacientů se známým autoimunitním onemocněním či autoimunitní poruchou.
- K monitorování procesu nebo výsledků transplantace.

Viz následující odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

VZORKY

Vzorky žilní krve musejí být odebrány do sterilních zkumavek obsahujících sůl EDTA jako antikoagulační činidlo.

Vzorky by měly být uchovávány při laboratorní teplotě (18–25 °C) a neměly by se protřepávat. Vzorek by měl být před odebráním vzorku k testování homogenizován mírným promícháním.

Vzorky je nutné analyzovat do 24 hodin od venepunkce.

KONCENTRACE

Viz certifikát o analýze specifický pro šarži na www.beckman.com.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagencii nepoužívejte po datu exspirace.
2. Nezmrazujte.
3. Před použitím nechte vytemperovat na laboratorní teplotu (18–25 °C).
4. Minimalizujte expozici světlu.

5. Zabraňte mikrobiologické kontaminaci reagencií, jinak mohou být výsledky chybné.
6. S roztoky protilátek obsahujícími azid sodný (NaN_3) je třeba manipulovat opatrně. Neužívejte vnitřně a zabraňte veškerému kontaktu s pokožkou, sliznicemi a očima.

   V kyselém prostředí může azid sodný navíc vytvářet potenciálně nebezpečnou kyselinu azidovodíkovou. Při likvidaci se doporučuje před vylitím do odpadu reagencii zředit velkým objemem vody, aby nedocházelo k hromadění nebezpečného azidu sodného v kovovém potrubí a předešlo se tak riziku exploze.
7. Všechny vzorky krve je nutno považovat za potenciálně infekční a je nutné manipulovat s nimi opatrně (zvláště: používat ochranné rukavice, pláště a brýle).
8. Nikdy nepipetujte ústy a zabraňte tomu, aby se vzorky dostaly do kontaktu s kůží, sliznicí ani očima.
9. Zkumavky s krví a jednorázový materiál určený pro manipulaci je třeba likvidovat v kontejnerech ad hoc určených ke spálení.
10. Reagencie a odpad by měly být odstraňovány v souladu s místními požadavky.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Není klasifikované jako nebezpečné

SDS Bezpečnostní list je k dispozici na internetové adrese beckmancoulter.com/techdocs.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Před otevřením lahvičky a po jejím otevření musí být tato reagencie uchovávána při teplotě mezi 2 a 8 °C a chráněna před světlem.

Doba použitelnosti uzavřené lahvičky podle studie stability: 1095 dnů/dní.

Stabilita již jednou otevřené lahvičky: reagencie je stabilní po dobu 180 dní.

ZNÁMKY ZHORŠENÍ KVALITY

Jakákoli změna fyzického vzhledu reagencií může znamenat jejich znehodnocení a taková reagencie by se neměla používat.

Pokud potřebujete další informace nebo jste obdrželi poškozený produkt, zavolejte na telefonní číslo zákaznické služby společnosti Beckman Coulter 800-742-2345 (USA nebo Kanada) nebo se obraťte na místního zástupce společnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervační látka azid sodný může v kovovém odpadním potrubí vytvářet výbušné sloučeniny. Viz buletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečí výbušných azidů) (16.8.76).
Po vypuštění neředěné reagencie propláchněte odpadní potrubí vodou, aby se v něm nehromadily azidové sloučeniny. Likvidace azidu sodného musí být prováděna podle příslušných místních předpisů.

MATERIÁLY POTŘEBNÉ, ALE NEDODANÉ SE SOUPRAVOU:

- Zkumavky na odběr vzorků a materiál potřebný k odběru vzorků.
- Automatické pipety s jednorázovými špičkami pro 10, 100 a 500 µl.
- Plastové zkumavky na hemolýzu.
- Reagencie pro lýzu červených krvinek s fází promývání po lýze. Například: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagencie pro fixaci leukocytů. Například: Fixační roztok IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotypová kontrola Pacific Blue: Reagencie IOTest (ref. A74764).
- Pufr (PBS: 0,01 M fosforečnan sodný; 0,145 M chlorid sodný; pH 7,2).
- Odstředivka.
- Automatické míchadlo (typu vortex).
- Průtokový cytometr.

POSTUP S REAGENCIÍ VERSALYSE

Pro každý analyzovaný vzorek lze kromě testovací zkumavky přidat jednu kontrolní zkumavku, v níž jsou buňky promíchány v přítomnosti izotypové kontroly (ref. A74764).

1. Do každé z testovacích zkumavek přidejte 10 µl konjugované protilátky specifické pro IOTest a podle potřeby do každé ze zkumavek kontroly přidejte 10 µl kontroly izotypu.
2. Do každé zkumavky přidejte 100 µl testovaného vzorku. Zkumavky jemně promíchejte na vortexové míchačce.
3. Provádějte inkubaci po dobu 15 až 20 minut při laboratorní teplotě (18–25 °C), chraňte před světlem.
4. Poté lyzujte červené krvinky. Postupujte dle brožury VersaLyse (ref. A09777) a řiďte se, pokud možno, postupem nazvaným „s průvodní fixací“, který spočívá v přidání 1 ml fixační a lyzační směsi připravené bezprostředně před použitím. Ihned vortexujte po dobu jedné sekundy a inkubujte po dobu 10 minut při laboratorní teplotě, přičemž chraňte před světlem.
5. Odstřeďujte 5 minut při 150 x g při laboratorní teplotě.
6. Supernatant odsajte.
7. Resuspendujte buněčnou peletu pomocí 3 ml PBS.
8. Opakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte buněčnou peletu pomocí:

- 0,5 ml nebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, pokud mají být preparáty uchovány po dobu kratší než 24 hodin. (PBS s 0,1 % formaldehydu lze získat zředěním 12,5 µl fixačního roztoku IOTest 3 (ref. A07800) o koncentraci 10x v 1 ml PBS.)

- 0,5 ml nebo 1 ml PBS bez formaldehydu, pokud mají být preparáty analyzovány do 2 hodin.

Poznámka: Ve všech případech uchovávejte preparáty při teplotě mezi 2 a 8 °C a chraňte je před světlem.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratořích bylo 25 vzorků plné krve zjevně zdravých dárců zpracováno za použití výše popsané reagencie. Získané výsledné počty cílových pozitivních událostí s touto reagencií jsou uvedeny v následující tabulce:

Pozitivní nosič	Počet	Průměr (%)	SD (směrodatná odchylka)	VK (%)
Lymfocyty	25	26,53	12,71	47,92
Monocyty	25	97,02	2,77	2,86

Tyto hodnoty by měly být pouze reprezentativní. Každá laboratoř si musí stanovit vlastní očekávané hodnoty na základě místní populace normálních dárců.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Data o výkonu se získávají výše popsaným postupem na vzorcích krve starých méně než 24 hodin, které byly odebrány do sterilních zkumavek se solí EDTA jakožto antikoagulačním činidlem. Analýza se provádí do 2 hodin od imunobarvení.

SPECIFICITA

Monoklonální protilátka Immu357 rozpoznává epitop nesený na monomorfním 29–33kDa proteinu označovaném jako HLA-DR. Systém HLA (Human Leucocyte Antigen) je název přidělený hlavnímu histokompatibilnímu komplexu (MHC) u lidí. Molekuly HLA třídy II jsou kódovány 5 lokusy (DM, DO, DP, DQ a DR) na lokusu D a jsou proto též nazývány jako antigeny HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ a HLA-DR (13,14). Exprese antigenů třídy II je omezena na antigen-prezentující buňky, tj. B lymfocyty, monocyty/makrofágy, dendritické a Langerhansovy buňky kůže (14,15). Na T lymfocytech je antigen HLA-DR exprimován pouze po aktivaci (16). Kmenové buňky a hemopoetické progenitory jej exprimují až v určitém stádiu své diferenciace (14,17).

PRECIZNOST

Procentuální pozitivní hodnoty byly stanoveny použitím plné krve. Každý vzorek byl analyzován 4krát, dvakrát denně v průběhu 1 dne na 2 přístrojích pomocí 2 šarží reagencií s monoklonální protilátkou Anti-HLA-DR-Pacific Blue. Měření (% pozitivních) byla provedena na průtokovém cytometru Navios. Analýza byla provedena na základě metody CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vyhodnocení výkonu preciznosti kvantitativních měřicích metod).

Naše kritéria přijatelnosti závisí na počtu pozitivních událostí změřených pro každou populaci:

- Pokud pozitivní událost < 1 500, VK < 15 %
- Pokud pozitivní událost > 1 500, VK < 10 %

Lymfocyty							
Počet pozitivních událostí (průměr) = 1154							
	Mezi obslužnými pracovníky	Mezi cytometry	V rámci šarže	Mezi šaržemi	Mezi cykly	V rámci cyklu	Celkem
VK (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monocyty							
Počet pozitivních událostí (průměr) = 1197							
	Mezi obslužnými pracovníky	Mezi cytometry	V rámci šarže	Mezi šaržemi	Mezi cykly	V rámci cyklu	Celkem
VK (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PŘESNOST

Přesnost Anti-HLA-DR-Pacific Blue byla vyhodnocena porovnáním výsledků s referenční reagencií sloužící jako srovnávací látka na sadě vzorků plné krve analyzované na průtokovém cytometru Navios. Na základě rozdílu mezi výsledky testů byla stanovena odchylka mezi testem a referenční reagencií. Pokud je odchylka v rámci rozsahu přípustné chyby nebo hodnota p naznačuje, že nedošlo k žádnému významnému rozdílu (> 0,05), výsledky testů daných dvou reagencií se považují za shodné.

Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Počet dárců = 25				
Pozitivní nosič	Průměr Δ	Kritéria Δ % buněk	Hodnota p	VÝSLEDKY
Lymfocyty	-0,26	<5	0,557	PASS
Monocyty	1,04	<5	1,191	PASS

MEZ PRÁZDNÉHO VZORKU A MEZ MĚŘITELNOSTI

Byla provedena studie v souladu se směrnicí CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnocení schopnosti detekce pro klinické laboratorní postupy měření). Mez měřitelnosti (LOD) je nejnižší koncentrace analytu, kterou lze spolehlivě detekovat. Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Positive Target	Mez prázdného vzorku (buňky/µl)	Mez měřitelnosti (buňky/µl)
Lymfocyty	2	4
Monocyty	1	3

OMEZENÍ

1. Průtoková cytometrie může přinést falešné výsledky, pokud cytometr nebyl dokonale seřízen, pokud nebyly správně kompenzovány úniky fluorescence a pokud oblasti nebyly pečlivě umístěny.
2. Je vhodné používat techniku lýzy RBC s promývacím krokem, protože tato reagencie není optimalizována pro techniku lýzy bez promývání.
3. Přesných a reprodukovatelných výsledků bude dosaženo, pokud jsou použité postupy v souladu s technickým příbalovým letákem a se správnou laboratorní praxí.
4. Konjugovaná protilátka této reagencie je kalibrována tak, aby poskytovala nejlepší možný poměr specifického signálu k nespecifickému signálu. Proto je důležité při každém testu dodržovat poměr objemu reagencie a objemu vzorku.
5. V případě hyperleukocytózy nařeďte krev v přípravku PBS tak, aby byla dosažena hodnota přibližně 5 x 10^9 leukocytů/l (18).
6. U určitých chorob, například závažného selhání ledvin či hemoglobinopatií, se může stát, že lýza červených krvinek bude probíhat pomalu, nedokončí se, nebo dokonce nebude možná. V tomto případě se před značením doporučuje izolovat mononukleární buňky s použitím hustotního gradientu (např. Ficoll) (19).
7. U pacientů léčených pomocí monoklonálních protilátek proti lidským antigenům může být detekce specificky cílených antigenů snížena nebo může chybět kvůli částečné nebo celkové blokaci terapeutickými protilátkami.
8. Výsledky analýzy Anti-HLA-DR-Pacific Blue je nutné interpretovat s přihlédnutím k celkovému klinickému obrazu pacienta, včetně symptomů, klinické anamnézy, údajů z dalších testů a dalších vhodných informací.

Příklady a reference jsou uvedeny v příloze.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, stylizované logo a známky produktů a služeb společnosti Beckman Coulter uvedené v tomto dokumentu jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Beckman Coulter, Inc. ve Spojených státech amerických a dalších zemích.

Pacific Blue je ochranná známka společnosti Molecular Probes, Inc.

DALŠÍ INFORMACE

Pro pacienty, uživatele nebo třetí osoby v Evropské unii a v zemích se stejným regulačním režimem (nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro); pokud při používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání dojde k závažné nehodě, prosím ohlaste tuto nehodu výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a kompetentnímu vnitrostátnímu orgánu.

Summary of Safety and Performance (Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti) je k dispozici v databázi EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIE REVIZÍ

REVIZE AC:	Datum vydání: Říjen 2019

REVIZE	**Datum vydání**
AW	Únor 2022
Aktualizace kvůli shodě s globálními zásadami označování společnosti Beckman Coulter a dle požadavků IVD-R (EU) 2017/746:	
Přidání částí	Číslo BSI 2797, Určený uživatel, Klinická významnost, Koncentrace, Preciznost, Přesnost, Mez prázdného vzorku a mez měřitelnosti, Další informace, Historie změn.
Přidány informace	Viz část Omezení
Aktualizace formulací a typografické aktualizace	Viz části Postup, Výkon, Omezení, Varování a bezpečnostní opatření, Skladování a stabilita.
Odstranění částí	Příklad klinických použití, Reagencie, Reprodukovatelnost v rámci laboratoře, Linearita
Aktualizované části	Určené použití, Klasifikace nebezpečí podle GHS, Známky znehodnocení, Postup, Příloha.

REVIZE	**Datum vydání**
AX	duben 2023
Aktualizované části	Přidání kazašského jazyka
Aktualizované části	Skladování a stabilita

Revidovaná verze	AY
Datum revize	Květen 2024
Aktualizované překlady	**Klinická významnost:**
Aktualizované části	Historie revizí

Revidovaná verze	AZ
Datum revize	cervenec 2024
Aktualizované části	Historie revizí

Klíč k symbolům

Slovníček symbolů je k dispozici na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	Špecifikácie
Špecificita	HLA-DR
Klon	Immu-357
Hybridóm	X63 x balb/c
Imunogén	EBV-transformed cell line
Imunoglobulín	IgG1
Druhy	Myš
Purifikácia	Afinita Chromatografia
Fluorochróm	Pacific Blue
Molárny pomer	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
Excitácia λ	405 nm
Vrchol emisií	455 nm
Tlmivý roztok	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugovaná protilátka Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 ml, 10 µl / test

Na *in vitro* diagnostické použitie.

URČENÉ POUŽITIE

Táto protilátka konjugovaná s fluorochrómom umožňuje pomocou prietokovej cytometrie vykonávať kvalitatívnu, neautomatizovanú identifikáciu populácie buniek exprimujúcich antigén HLA-DR v ľudských biologických vzorkách (pozri časť „vzorky“ nižšie).

PRINCÍP

Tento test je založený na schopnosti špecifických monoklonálnych protilátok viazať sa na antigénne determinanty exprimované na leukocytoch.

Špecifické farbenie leukocytov sa vykoná inkubáciou vzorky s činidlom IOTest. Červené krvinky sa následne odstránia lýzou a leukocyty, na ktoré tento postup nemá vplyv, sa analyzujú prietokovou cytometriou.

Prietokový cytometer meria rozptyl svetla a fluorescenciu buniek. Umožňuje vymedzenie požadovanej populácie v rámci elektronického okna zadefinovaného v histograme znázorňujúcom koreláciu ortogonálneho rozptylu svetla (bočný rozptyl, SS) a rozptylu svetla v úzkom uhle (predný rozptyl, FS). Ostatné histogramy obsahujúce kombináciu dvoch rozličných parametrov dostupných na cytometri možno použiť na podporu vo fáze gatingu v závislosti od aplikácie zvolenej používateľom.

Fluorescencia vymedzených buniek sa analyzuje s cieľom odlíšiť pozitívne sfarbené udalosti od nesfarbených. Výsledky sú vyjadrené ako percento pozitívnych udalostí vzhľadom na všetky udalosti zaznamenané gatingom.

URČENÝ POUŽÍVATEĽ

Tento produkt je určený na profesionálne laboratórne použitie.

KLINICKÝ VÝZNAM

Anti-HLA-DR-Pacific Blue je protilátka proti Anti-HLA-DR používaná na identifikáciu a charakterizáciu buniek exprimujúcich antigén HLA-DR pomocou prietokovej cytometrie. Tento produkt sám osebe nemôže a ani nemá slúžiť na vyvodzovanie akýchkoľvek diagnostických záverov.

Pri použití v kombinácii s inými markermi možno tento produkt použiť na jeden alebo viac z týchto účelov:

- Ako pomôcka pri diferenciálnej diagnostike hematologicky abnormálnych pacientov s podozrením na hematopoetickú neoplazmu a na monitorovanie pacientov so známou hematopoetickou neoplazmou.
- Ako pomôcka pri diagnostike pacientov s podozrením na imunitnú nedostatočnosť a na monitorovanie pacientov so známou imunitnou nedostatočnosťou.
- Na monitorovanie pacientov so známym autoimunitným ochorením alebo poruchou.
- Na monitorovanie transplantačného procesu alebo výsledkov.

Pozrite si nasledujúce odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

VZORKY

Vzorky žilovej krvi musia byť odobraté do sterilných skúmaviek, ktoré obsahujú soľ EDTA ako antikoagulačné činidlo.

Vzorky by sa mali uchovávať pri izbovej teplote (18 – 25 °C) a nemalo by sa nimi triasť. Vzorky by sa mali pred odobratím testovacej vzorky homogenizovať jemným pretrepaním.

Vzorky sa musia analyzovať do 24 hodín od odberu.

KONCENTRÁCIA

Pozrite si certifikát analýzy pre konkrétnu šaržu na adrese www.beckman.com.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

1. Činidlo nepoužívajte po dátume exspirácie.
2. Nezamrazujte.

3. Pred použitím nechajte zahriať na izbovú teplotu (18 – 25 °C).
4. Minimalizujte vystavenie svetlu.
5. Zabráňte mikrobiálnej kontaminácii činidiel, inak môže dôjsť k falošným výsledkom.
6. S roztokmi protilátok obsahujúcimi azid sodný (NaN_3) by sa malo zaobchádzať opatrne. Nepožívajte ich a vyhýbajte sa akémukoľvek kontaktu s kožou, sliznicami a očami.

   V médiu s obsahom kyseliny môže navyše azid sodný vytvárať potenciálne nebezpečnú kyselinu azidovodíkovú. Ak je činidlo potrebné zlikvidovať, odporúča sa ho pred vyliatím do kanalizácie zriediť vo veľkom objeme vody, aby sa predišlo riziku explózie v dôsledku hromadenia azidu sodného v kovovom potrubí.
7. Všetky vzorky krvi sa musia považovať za potenciálne infekčné, a preto sa s nimi musí narábať opatrne (predovšetkým: používajte ochranné rukavice, plášte a okuliare).
8. Nikdy nepipetujte ústami a zabráňte akémukoľvek kontaktu vzoriek s pokožkou, sliznicami a očami.
9. Skúmavky na krv a jednorazový materiál používané pri manipulácii sa musia zlikvidovať do schválených nádob určených na spálenie.
10. Činidlá a odpad by sa mali eliminovať v súlade s miestnymi požiadavkami.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Nie je klasifikované ako nebezpečné

SDS Bezpečnostný list je dostupný na adrese beckmancoulter.com/techdocs

SKLADOVANIE A STABILITA

Toto činidlo sa musí skladovať pri teplote od 2 do 8 °C a chrániť pred svetlom pred aj po otvorení fľaštičky.

Doba použiteľnosti uzavretej fľaštičky podľa štúdie stability: 1095 dní.

Stabilita otvorenej fľaštičky: činidlo je stabilné 180 dní.

ZNÁMKY ZNEHODNOTENIA

Akákoľvek zmena fyzického vzhľadu činidla môže svedčiť o zhoršení kvality a takéto činidlo by sa nemalo používať.

Ak potrebujete ďalšie informácie alebo ak je výrobok poškodený, kontaktujte stredisko zákazníckych služieb spoločnosti Beckman Coulter na telefónnom čísle 800-742-2345 (ak sa nachádzate v USA alebo Kanade) alebo kontaktujte miestneho zástupcu spoločnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervačné činidlo azid sodný môže v kovovej kanalizačnej sieti vytvárať výbušné zlúčeniny. Pozrite si informačný bulletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečenstvo výbušného azidu) (16. 8. 76).
Aby nedošlo k možnému nahromadeniu azidových zlúčenín, po likvidácii neriedeného činidla vypláchnite potrubie vodou. Likvidácia azidu sodného musí prebiehať v súlade s príslušnými miestnymi predpismi.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ NIE JE SÚČASŤOU SÚPRAVY:

- Vzorkovacie skúmavky a materiál potrebný na vzorkovanie.
- Automatické pipety s jednorazovými špičkami na dávkovanie objemov 10, 100 a 500 µl.
- Plastové hemolytické skúmavky.
- Činidlo na lýzu červených krviniek s umývacou fázou po lýze. Napríklad: VersaLyse (Ref. A09777).
- Činidlo na fixáciu leukocytov. Napríklad: fixačný roztok IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotypová kontrolaPacific Blue: činidlo IOTest (Ref. A74764).
- Tlmiaci roztok (PBS: fosforečnan sodný 0,01 M; chlorid sodný 0,145 M; pH 7,2).
- Centrifúga.
- Automatické miešadlo (typ Vortex).
- Prietokový cytometer.

POSTUP S ČINIDLOM VERSALYSE

Na každú analyzovanú vzorku je možné okrem testovacej skúmavky pridať aj jednu kontrolnú skúmavku, v ktorej sa zmiešajú bunky v prítomnosti izotypovej kontroly (Ref. A74764).

1. Pridajte 10 µl špecifickej konjugovanej protilátky IOTest do každej testovacej skúmavky a v prípade potreby 10 µl izotopovej kontroly do každej kontrolnej skúmavky.
2. Do každej skúmavky pridajte 100 µl testovanej vzorky. Skúmavky jemne vortexujte.
3. Inkubujte 15 až 20 minút pri izbovej teplote (18 – 25 °C) bez prístupu svetla.
4. Potom vykonajte lýzu červených krviniek. Postupujte podľa písomnej informácie VersaLyse (Ref. A09777) a ideálne použite postup označený ako „so sprievodnou fixáciou“, ktorý zahŕňa pridanie 1 ml bezprostredne pripravenej zmesi „na fixáciu a lýzu“. Ihneď premiešajte jednu sekundu a inkubujte 10 minút pri izbovej teplote a chráňte pred svetlom.
5. Odstreďujte 5 minút pri 150 x g pri izbovej teplote.
6. Nasatím odoberte supernatant.
7. Resuspendujte bunkový pelet použitím 3 ml PBS.
8. Zopakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte bunkový pelet použitím:

- 0,5 ml alebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, ak sa preparáty budú skladovať kratšie ako 24 hodín. (Roztok PBS s 0,1 % formaldehydu možno pripraviť zriedením 12,5 µl fixačného roztoku IOTest 3 (Ref. A07800) v 10X koncentrácii v 1 ml roztoku PBS).
- 0,5 ml alebo 1 ml PBS bez formaldehydu, ak sa preparáty budú analyzovať do 2 hodín.

Poznámka: Preparáty vždy uchovávajte pri teplote 2 až 8 °C a mimo dosahu svetla.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratóriách sa vzorky plnej krvi od 25 zjavne zdravých darcov spracovali pomocou vyššie popísaného činidla. Získané výsledky pre príslušné počty skúmaných pozitívnych udalostí s týmto činidlom sú uvedené v tabuľke nižšie:

Pozitívny cieľ	Počet	Priemer (%)	SD	CV (%)
Lymfocyty	25	26,53	12,71	47,92
Monocyty	25	97,02	2,77	2,86

Tieto hodnoty slúžia len ako reprezentatívne údaje. Každé laboratórium by si malo určiť vlastné očakávané hodnoty na základe miestnej populácie normálnych darcov.

VÝKONNOSŤ

Údaje o výkonnosti boli získané pomocou vyššie opísaného postupu z menej ako 24 hodín starých vzoriek krvi odobraných do sterilných skúmaviek so soľou EDTA ako antikoagulačným činidlom. Analýza prebehla do 2 hodín od imunologického farbenia.

ŠPECIFICITA

Monoklonálna protilátka Immu357 rozoznáva epitop na monomorfickom proteíne o hmotnosti 29 – 33 kDa identifikovanom ako HLA-DR. Systém HLA (ľudský leukocytárny antigén) je názov pre hlavný histokompatibilný komplex (MHC) u ľudí. Molekuly HLA triedy II, kódované 5 lokusmi (DM, DO, DP, DQ a DR) lokusu D, sa takisto označujú ako antigény HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ a HLA-DR (13,14). Expresia antigénov triedy II je limitovaná na antigén prezentujúce bunky, tzn. B-lymfocyty, monocyty/ makrofágy, dendritické a Langerhansove bunky kože (14,15). Na T-lymfocytoch sa antigén HLA-DR exprimuje iba po aktivácii (16). Kmeňové bunky a hematopoetické progenitorne bunky ho exprimujú v určitom štádiu ich diferenciácie (14,17).

PRESNOSŤ

Percentuálne pozitívne hodnoty boli stanovené s použitím plnej krvi. Každá vzorka bola analyzovaná 4-krát, dva razy denne počas 1 dňa na 2 prístrojoch pri použití 2 šarží činidiel s monoklonálnymi protilátkami proti Anti-HLA-DR-Pacific Blue. Merania (% pozitívnych) sa vykonávali na prietokovom cytometri Navios. Analýza sa vykonávala podľa metódy CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Hodnotenie zhodnosti pri metódach kvantitatívneho merania).

Naše kritériá prijateľnosti závisia od počtu pozitívnych udalostí nameraného v jednotlivých populáciách:

- Ak je pozitívnych udalostí < 1500, CV < 15 %
- Ak je pozitívnych udalostí > 1500, CV < 10 %

Lymfocyty							
Počet pozitívnych udalostí (priemer) = 1154							
	Medzi operátormi	Medzi cytometrami	V rámci jednej šarže	Medzi šaržami	Medzi analýzami	V rámci jednej analýzy	Celkovo
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monocyty							
Počet pozitívnych udalostí (priemer) = 1197							
	Medzi operátormi	Medzi cytometrami	V rámci jednej šarže	Medzi šaržami	Medzi analýzami	V rámci jednej analýzy	Celkovo
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRESNOSŤ

Presnosť Anti-HLA-DR-Pacific Blue bola vyhodnotená porovnaním výsledkov s porovnávacím referenčným činidlom na súbore vzoriek plnej krvi analyzovaných v prietokovom cytometri Navios. Odchýlka medzi testovaným a referenčným činidlom bola stanovená na základe rozdielu medzi výsledkami testov. Ak je odchýlka v medziach prípustného chybového rozsahu, alebo ak p-hodnota svedčí o nevýznamnom rozdiele (> 0,05), výsledky testovania daných dvoch činidiel sa považujú za rovnocenné.

Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Počet darcov = 25				
Pozitívny cieľ	Priemer Δ	Kritériá Δ % buniek	p-hodnota	VÝSLEDKY
Lymfocyty	-0,26	<5	0,557	PASS
Monocyty	1,04	<5	1,191	PASS

MEDZA PRÁZDNEJ VZORKY A MEDZA MERATEĽNOSTI

Bola vykonaná štúdia v súlade s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnotenie detekčnej schopnosti pre postupy klinických laboratórnych meraní). Medza merateľnosti (LoD) je najnižšia koncentrácia analytu, ktorú možno konzistentne detegovať. Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Positive Target	Medza prázdnej vzorky (buniek/µl)	Medza merateľnosti (buniek/µl)
Lymfocyty	2	4
Monocyty	1	3

OBMEDZENIA

1. Prietoková cytometria môže vytvárať falošné výsledky, ak cytometer nie je správne zarovnaný, ak úniky fluorescencie nie sú správne kompenzované, alebo ak nie sú oblasti správne umiestnené.
2. Vhodnejšie je používať metódu lýzy RBC s krokom premývania, keďže toto činidlo nie je optimalizované na metódy lýzy „bez premývania“.
3. Presné a reprodukovateľné výsledky sa získajú len vtedy, ak sa použijú postupy v súlade s technickými údajmi v príbalovom letáku a v súlade s osvedčenou laboratórnou praxou.
4. Konjugovaná protilátka tohto činidla sa kalibruje tak, aby ponúkala najlepší pomer špecifického signálu/nešpecifického signálu. Preto je dôležité pri každom teste dodržať pomer objem činidla/objem vzorky.
5. V prípade hyperleukocytózy zrieďte krv v PBS na koncentráciu približne 5 x 10^9 leukocytov/l (18).
6. Pri niektorých chorobných stavoch, akými sú napríklad závažné zlyhanie obličiek alebo hemoglobinopatie, môže byť lýza červených krviniek pomalá, neúplná alebo dokonca nemožná. V takom prípade sa odporúča pred farbením izolovať mononukleárne bunky pomocou hustotného gradientu (napríklad Ficoll) (19).
7. U pacientov liečených monoklonálnymi protilátkami proti ľudským protilátkam môže byť detekcia špecifických cieleným antigénom znížená alebo môže úplne chýbať v dôsledku čiastočného alebo úplného blokovania terapeutickej protilátky.
8. Pri interpretácii výsledkov Anti-HLA-DR-Pacific Blue treba brať do úvahy celkový klinický obraz pacienta vrátane symptómov, klinickej anamnézy, výsledkov ďalších testov a iných súvisiacich informácií.

Príklady a referencie nájdete v Dodatku.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, štylizované logo a známky produktov a služieb spoločnosti Beckman Coulter spomenuté v tomto dokumente sú ochranné známky alebo registrované ochranné známky spoločnosti Beckman Coulter, Inc. v USA a ďalších krajinách.

Pacific Blue je ochranná známka spoločnosti Molecular Probes, Inc.

DOPLŇUJÚCE INFORMÁCIE

Pre pacienta/používateľa/tretiu stranu v Európskej únii a v krajinách s identickým regulačným režimom (Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/746 o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro): ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne vážna nehoda, nahláste ju výrobcovi a/alebo jeho autorizovanému zástupcovi a vášmu národnému orgánu.

Summary of Safety and Performance (Súhrn informácií o bezpečnosti a výkonnosti) je k dispozícii v databáze EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRIA REVÍZIÍ

REVÍZIA AC:	Dátum vydania: Október 2019

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AW	Február 2022
Aktualizácie kvôli súladu s dokumentom Beckman Coulter Global Labelling Policy (Globálne pravidlá označovania spoločnosti Beckman Coulter) a podľa požiadaviek nariadenia IVDR (EÚ) 2017/746:	
Pridané časti	Číslo BSI 2797, Určený používateľ, Klinický význam, Koncentrácia, Zhodnosť, Presnosť, Medza prázdnej vzorky a medza merateľnosti, Doplňujúce informácie, História revízií.
Pridané informácie	Pozri časti Obmedzenia
Aktualizácie formulácií alebo typografické aktualizácie	Pozri časti Postup, Výkonnosť, Obmedzenia, Výstraha a opatrenia, Skladovanie a stabilita.
Odstránené časti	Príklad klinických aplikácií, Činidlá, Intralaboratórna reprodukovateľnosť, Linearita
Aktualizované časti	Určené použitie, Klasifikácia nebezpečenstiev podľa GHS, Známky zhoršenia kvality, Postup, Dodatok.

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AX	Apríl 2023
Aktualizované časti	Pridať kazaštinu
Aktualizované časti	Skladovanie a stabilita

Revidovaná verzia	AY
Dátum revízie	Máj 2024
Aktualizované preklady	**Klinický význam:**
Aktualizované časti	História revízií

Revidovaná verzia	AZ
Dátum revízie	Júl 2024
Aktualizované časti	História revízií

Popis symbolov

Slovník symbolov je dostupný na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	규격
특이도	HLA-DR
클론	Immu-357
하이브리도마	X63 x balb/c
면역원	EBV-transformed cell line
면역글로불린	IgG1
종	생쥐
정제	친화성 크로마토그래피
형광색소	Pacific Blue
분자비	Pacific Blue/Ig: 5.9-7.6
λ 자극	405 nm
방출 피크	455 nm
완충액	PBS pH 7.2 + 2mg/mL BSA 및 0.1 % NaN_3

IOTest

복합 항체
Anti-HLA-DR
-Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0.5 mL, 10 µL / test

체외 **진단용으로 사용합니다.**

사용목적

본 형광색소 결합 항체를 사용 시 유세포 분석법으로 인간의 생물학적 검체에 있는 HLA-DR 항원을 나타내는 세포군의 정성적 동정 및 비자동 동정을 수행할 수 있습니다(아래 "검체" 섹션 참조).

원리

이 검사는 백혈구로 발현되는 항원 결정기에 특이적 단일클론 항체가 결합할 수 있는 능력에 기초합니다.

백혈구의 특이적 염색은 검체를 IOTest 시약과 함께 배양하여 수행합니다. 그런 다음 적혈구를 용해하여 제거하고 이 과정에서 영향을 받지 않은 백혈구를 유세포 분석법을 통해 분석하십시오.

유세포 분석기는 세포의 빛 확산과 형광 영역을 측정합니다. 유세포 분석기를 사용하면 빛의 직교 확산(측면 산란, SS)과 좁은 각의 광확산(전방 산란, FS)의 상호 관계를 지정하는 막대그래프상에 정의된 전자 창 내에서 관심 개체의 한계를 결정할 수 있습니다. 유세포 분석기에서 사용할 수 있는 두 가지 파라메타를 결합하는 기타 막대그래프를 사용자가 선택한 애플리케이션에 따라 게이팅 단계에서 지원 자료로 사용 가능합니다.

범위가 결정된 세포의 형광 영역을 분석하여 명확하게 염색된 이벤트와 염색되지 않은 이벤트를 구분합니다. 분석 결과는 게이팅으로 획득한 전체 이벤트와 비교한 양성 이벤트의 비율로 표현합니다.

의도된 사용자

본 제품은 실험실 전문가용입니다.

임상 관련성

Anti-HLA-DR-Pacific Blue(은)는 HLA-DR 항원을 발현하는 세포를 유세포 분석법으로 동정하고 분석하는 데 사용되는 Anti-HLA-DR 항체입니다. 본 제품만 사용하여 진단과 관련된 결론을 내릴 수 없으며, 해당 용도로 사용해서도 안 됩니다.

다른 표지자와 함께 사용하는 경우 이 제품은 다음 중 하나 이상의 기능에 사용할 수 있습니다.

- 조혈세포성 종양이 의심되고 혈액학적 이상을 동반하는 환자의 감별 진단을 위한 보조 수단으로 활용하거나 알려진 조혈세포성 종양을 가진 환자를 모니터링하는 데 사용합니다.
- 면역결핍이 의심되는 환자의 진단을 위한 보조 수단으로 활용하거나 알려진 면역결핍증이 있는 환자를 모니터링하는 데 사용합니다.
- 알려진 자가면역 질환 또는 장애가 있는 환자를 모니터링합니다.
- 이식 과정 또는 결과를 모니터링합니다.

다음 참조를 살펴보십시오.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

검체

정맥혈은 EDTA 염을 항응고제로 포함한 무균 튜브를 사용하여 채취해야 합니다.

검체는 실온(18~25°C)에 보관해야 하며 흔들어서는 안 됩니다. 검사 검체를 채취하기 전에 부드럽게 교반하여 검체를 균질화해야 합니다.

검체는 정맥천자 후 24시간 이내에 분석해야 합니다.

농도

www.beckman.com에서 로트별 분석증명서를 확인할 수 있습니다.

경고 및 주의 사항

1. 유효 기간이 지난 시약은 사용하지 마십시오.
2. 냉동하지 마십시오.
3. 사용 전 실온(18~25°C)에 두십시오.
4. 빛 노출을 최소화하십시오.

5. 시약이 미생물에 오염되지 않도록 하십시오. 그러지 않으면 잘못된 결과를 얻을 수 있습니다.
6. 아지드화나트륨(NaN_3)을 함유한 항체 용액은 주의해서 다루어야 합니다. 흡입을 피하고 피부, 점막 및 눈에 절대 닿지 않도록 하십시오.

   또한 산성 매질에 함유된 아지드화나트륨은 잠재적 위험 물질인 히드라조산을 만들어낼 수 있습니다. 시약을 폐기할 때는 금속 파이프 내 아지드화나트륨 축적과 폭발 위험을 방지하기 위해 다량의 물에 희석한 후 배수 시설로 흘려보내야 합니다.
7. 모든 혈액 검체는 잠재적으로 전염성이 있다고 간주하고 주의해서 다루어야 합니다(특히 보호용 장갑, 가운 및 보안경 착용).
8. 피펫을 절대 입으로 사용하지 않도록 하고 검체가 피부, 점막 및 눈에 닿지 않도록 하십시오.
9. 취급에 사용한 혈액 튜브 및 일회용 물질은 소각용 특수 용기에서 폐기해야 합니다.
10. 시약 및 폐기물은 현지 요구 사항에 따라 제거해야 합니다.

GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음

SDS 안전보건자료는 beckmancoulter.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다.

보관 및 안정성

이 시약은 바이알 개봉 전후에 2~8°C로 유지하면서 빛으로부터 보호해야 합니다.

안정성 시험에 따른 밀봉 바이알 유효 기간: 1095일.

개봉한 바이알의 안정성: 시약은 180일 동안 안정적입니다.

성능 저하 증거

시약 외관에 물리적 변화가 있는 경우 성능 저하를 나타내는 것일 수 있으므로 시약을 사용해서는 안 됩니다.

자세한 정보가 필요하거나 손상된 제품을 받은 경우에는 Beckman Coulter 고객 서비스에 800-742-2345(미국 또는 캐나다)로 또는 현지 Beckman Coulter 담당자에게 문의하십시오.

목차

소디움 아자이드 보존제는 금속 배수관에서 폭발성 화합물을 형성할 수 있습니다. NIOSH 게시판을 참조하십시오. Explosive Azide Hazard(폭발성 아지드 유해물질)(76/8/16)
아지드 화합물의 축적 가능성을 방지하려면 희석되지 않은 시약을 폐기한 다음 폐기 파이프를 물로 세척하십시오. 소디움 아자이드의 폐기는 해당 지역 규정을 따라야 합니다.

필요하지만 키트와 함께 제공되지 않는 품목:

- 검체 튜브와 검체 채취에 필요한 물질.
- 10, 100 및 500µL용 일회용 팁이 있는 자동 피펫.
- 플라스틱 용혈 튜브.
- 용해 후 세척 단계의 적혈구 용해 시약. 예: VersaLyse(참조 A09777).
- 백혈구 고정 시약. 예: IOTest 3 고정액(참조 A07800).
- 동형 정도관리물질Pacific Blue: IOTest 시약(참조 A74764).
- 완충액(PBS: 0.01M 인산나트륨, 0.145M 염화나트륨, pH 7.2).
- 원심분리기.
- 자동 교반기(교반 유형).
- 유세포 분석기.

VERSALYSE 시약을 이용한 절차

분석할 각 검체마다 검사 튜브와 더불어 동형 대조물질이 있는 상태에서 세포를 혼합하는 하나의 정도관리물질 튜브를 추가할 수 있습니다(참조 A74764).

1. 10µL의 특정 IOTest 결합 항체를 각 검사 튜브에 첨가하고, 필요에 따라 10µL의 동형 정도관리물질을 각 정도관리물질 튜브에 첨가합니다.
2. 100µL의 검사 검체를 각 튜브에 첨가합니다. 튜브를 부드럽게 교반합니다.
3. 실온(18~25°C)에서 빛을 피해 15~20분 동안 배양하십시오.
4. 그런 다음 적혈구 용해를 수행합니다. VersaLyse(참조 A09777) 책자 내용을 참조하여 즉석에서 준비한 1mL의 "고정 및 세포 용해" 혼합물을 첨가하는 "수반 고정" 절차를 따릅니다. 즉시 1초 동안 교반한 후 직사광선을 피해 상온에서 10분 동안 배양합니다.
5. 상온에서 150 x g로 5분 동안 원심분리합니다.
6. 흡입 시 상청액을 제거하십시오.
7. 3mL의 PBS를 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.
8. 5단계를 반복합니다.
9. 그런 다음 흡입 방식으로 상등액을 제거하고 다음을 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.

- 조제 물질을 24시간 미만으로 보관하려는 경우 0.1 %의 포름알데히드가 함유된 0.5mL 또는 1mL의 PBS. (0.1 % 포름알데히드 PBS는 12.5µL의 IOTest 3 고정액(참조 A07800)을 1mL의 PBS에 10X 농도로 희석하여 얻을 수 있습니다).
- 조제 물질을 2시간 이내에 분석하려는 경우 포름알데히드가 없는 0.5mL 또는 1mL의 PBS.

참고: 조제물은 항상 빛을 피해 2~8°C로 유지하십시오.

예상 수치

실험실에서 25명의 건강한 공여자의 전혈 검체를 위에 설명된 시약을 사용하여 처리했습니다. 이 시약에서 관심 대상의 양성 이벤트 수 계산을 위해 얻은 결과는 아래 표와 같습니다.

양성 표적	번호	평균(%)	표준편차	CV(%)
림프구	25	26.53	12.71	47.92
단핵구	25	97.02	2.77	2.86

위 값은 전형적인 값으로만 참고해야 합니다. 각 실험실은 소재 지역의 정상 공여자 집단을 통해 고유한 예상값을 설정해야 합니다.

성능

성능 데이터는 위에 설명한 절차를 이용하여 이전에 EDTA 염을 항응고제로 하여 무균 튜브에서 수집한 지 24시간 미만인 혈액 검체로 획득합니다. 분석은 면역염색 후 2시간 이내에 수행됩니다.

특이도

단일 클론 항체 Immu357은 HLA-DR로 식별되는 단형 29 - 33 kDa 단백질을 통해 운반되는 에피토프를 인식합니다. HLA 시스템 (인간 백혈구 항원)은 인체 주요 조직 적합 유전자 복합체(MHC)에 부여된 이름입니다. HLA 클래스 II는 D 영역의 5개 영역(DM, DO, DP, DQ 및 DR)으로 코드화되며 HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ 및 HLA-DR 항원이라고도 합니다 (13,14). 클래스 II 항원 표현은 항원 표현 세포(예: B 림프구, 단핵 백혈구 / 대식 세포, 피부 가지 돌기 및 랑게르한스 세포)로 제한됩니다 (14,15). T 림프구의 경우 HLA-DR 항원은 활성화 후에만 표현됩니다 (16). 줄기 세포와 조혈 원종은 특정 분화 단계까지 표현됩니다 (14,17).

정밀도

양성 비율 값은 전혈을 사용하여 측정되었습니다. 각 검체는 2개의 Anti-HLA-DR-Pacific Blue 단일 클론 항체 시약 로트를 사용하여 2개의 장비에서 하루 동안 일일 2회씩 4번 실행되었습니다. 측정값(양성 비율)은 Navios 유세포 분석기로 도출했습니다. 분석은 CLSI 방법 EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods(EP5-A2: 정량적 측정 방법의 정밀도 성능 평가)를 기반으로 수행했습니다.

허용 기준은 각 집단에서 측정한 양성 이벤트 수에 따라 다릅니다.

- 양성 이벤트 수가 < 1,500인 경우 CV < 15 %
- 양성 이벤트 수가 > 1,500인 경우 CV < 10 %

림프구							
양성 이벤트 수(평균) = 1154							
	작업자 간	유세포 분석기 간	로트 내	로트 간	실행 간	실행 내	총계
CV(%)	1.99	3.40	3.26	0.78	0.87	2.43	4.77
결과	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

단핵구							
양성 이벤트 수(평균) = 1197							
	작업자 간	유세포 분석기 간	로트 내	로트 간	실행 간	실행 내	총계
CV(%)	0.15	0.49	0.42	0.12	0.11	0.38	0.65
결과	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

정확도

Anti-HLA-DR-Pacific Blue의 정확도는 그 결과를 Navios 유세포 분석기로 처리된 전혈 검체에 공인 참조 시약을 가한 값과 비교하여 평가했습니다. 검사 시약과 참조 시약 간 바이어스는 검사 결과 간 차이를 기반으로 지정되었습니다. 바이어스가 허용 가능한 오차 범위 내에 있거나 p-값이 유의한 차이를 나타내지 않는 경우(> 0.05) 두 시약의 검사 결과는 동일한 것으로 간주됩니다.

얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

공여자 수 = 25				
양성 표적	평균 Δ	Δ % 세포 기준	p-값	결과
림프구	-0.26	<5	0.557	PASS
단핵구	1.04	<5	1.191	PASS

공시료 최저 검출한계 및 검출한계

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures(CLSI EP17-A2, 임상 실험실 측정 절차에 대한 검출 능력 평가)에 따라 연구를 실시했습니다. 검출한계(LoD)는 일관되게 검출 가능한 분석물질의 최저 농도입니다. 얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

Positive Target	공시료 최저 검출한계(세포/µL)	검출한계(세포/µL)
림프구	2	4
단핵구	1	3

한계

1. 유세포 분석기가 완벽하게 정렬되지 않은 경우, 형광 누출이 올바르게 보정되지 않은 경우 또는 영역 위치를 신중하게 지정하지 않은 경우 유세포 분석법에서 잘못된 결과가 나올 수 있습니다.
2. 이 시약은 "비세척" 용해 기법에 최적화되지 않았으므로 세척 단계를 포함한 적혈구 용해법을 사용하는 것이 바람직합니다.
3. 사용한 절차가 동봉된 기술 책자의 내용을 따르고 실험실 모범 사례와 호환되는 경우 정확하고 재현 가능한 결과를 얻을 수 있습니다.
4. 이 시약의 결합 항체는 최상의 특이/비특이 신호비를 제공하도록 보정됩니다. 그러므로 모든 검사에서 시약의 용적/검체 용적 비율을 준수하는 것이 중요합니다.

5. 과백혈구 증가증의 경우 혈액을 PBS에 희석하여 대략 백혈구 5 x 10^9개/L 값을 얻어야 합니다(18).
6. 심한 신부전 또는 혈색소병증 같은 특정 질병 상태에서 적혈구의 용해는 느리거나 불완전하거나 심지어는 불가능할 수도 있습니다. 이러한 경우 염색 전에 밀도 구배(예: Ficoll)를 사용하여 단핵구 세포를 분리하는 것이 좋습니다(19).
7. 항 인간 단일 클론 항체 요법으로 치료받은 환자에서, 특이 표적 항원의 검출이 치료 항체에 의한 일부 또는 전체 차단으로 인해 감소하거나 이루어지지 않을 수 있습니다.
8. Anti-HLA-DR-Pacific Blue 결과는 증상, 병력, 추가 검사 데이터, 기타 적절한 정보 등 환자의 모든 임상 증상을 고려하여 해석해야 합니다.

예시와 참고 자료는 부록을 참조하십시오.

상표

본 문서에 포함된 Beckman Coulter, 스타일 로고, Beckman Coulter 제품 및 서비스 마크는 미국 및 기타 국가에서 Beckman Coulter, Inc.의 상표이거나 등록 상표입니다.

Pacific Blue는 Molecular Probes, Inc.의 상표입니다.

추가 정보

유럽 연합 및 이와 동일한 규정 체제(EU 규정 2017/746, 체외 진단용 의료 기기 관련)를 사용하는 국가에 거주하는 환자/사용자/타사의 경우, 이 장치의 사용 중이나 사용으로 인해 심각한 상황이 발생했다면 제조업체 및/또는 공인 담당자와 해당 국가의 담당 기관에 신고하십시오.

Summary of Safety and Performance(안전성 및 성능에 관한 개요)는 ec.europa.eu/tools/eudamed 주소의 EUDAMED 데이터베이스에서 확인할 수 있습니다.

개정 이력

개정판 AC:	출시일: 2019년 10월

개정	**발행 날짜**
AW	2022년 2월
Beckman Coulter 글로벌 라벨 지정 정책 및 IVD-R (EU) 2017/746 요건에 따라 업데이트했습니다.	
추가된 섹션	BSI 2797 번호, 대상 사용자, 임상적 관련성, 농도, 정밀도, 정확도, 공시료 최저 검출한계 및 검출한계, 추가 정보, 개정 이력.
추가된 정보	한계 섹션 참조
언어적 표현이나 글자 배치를 업데이트했습니다.	절차, 성능, 한계, 경고 및 주의 사항, 보관 및 안정성 섹션을 참조하십시오.
삭제된 섹션	임상 용도의 예, 시약, 실험실 내 재현성, 직선성
업데이트된 섹션	사용목적, GHS 유해물질 등급, 성능 저하 증거, 절차, 부록.

개정	**발행 날짜**
AX	4월 2023
업데이트된 섹션	카자흐어 추가
업데이트된 섹션	보관 및 안정성

개정된 버전	AY
개정 날짜	5월 2024
업데이트된 번역	**임상적 관련성:**
업데이트된 섹션	개정 이력

개정된 버전	AZ
개정 날짜	7월 2024
업데이트된 섹션	개정 이력

기호 목록

기호 용어집은 beckman.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다(문서 번호 B60062)

	Spesifikasyonlar
Özgüllük	HLA-DR
Klon	Immu-357
Hibridoma	X63 x balb/c
İmmünojen	EBV-transformed cell line
Immunoglobulin	IgG1
Türler	Fare
Arıtma	Afinite kromatografisi
Florokrom	Pacific Blue
Molar oran	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
λ eksitasyonu	405 nm
Emisyon piki	455 nm
Tampon	PBS pH 7,2 artı 2 mg/mL BSA ve %0,1 NaN_3

IOTest
Konjuge Antikor
Anti-HLA-DR
-Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

***İn vitro* diagnostik kullanım içindir.**

KULLANIM AMACI

Bu florokrom konjuge antikor, akış sitometrisi kullanılarak insan biyolojik örneklerinde var olan HLA-DR antijenini eksprese eden hücre popülasyonlarının otomatik olmayan ve kalitatif tanımlamasına olanak tanır (aşağıdaki "Örnekler" bölümüne bakın).

İLKE

Bu test, spesifik monoklonal antikorların lökositler tarafından eksprese edilen antijenik belirleyicilere bağlanabilmesine dayanmaktadır.

Lökositlerin spesifik boyaması, örnek, IOTest reaktifi ile inkübe edilerek gerçekleştirilir. Sonra kırmızı hücreler parçalanarak giderilir ve bu işlemden etkilenmeyen lökositler, akış sitometrisi ile analiz edilir.

Akış sitometrisi ışık difüzyonunu ve hücre floresanını ölçer. Bu durum, ilgili popülasyonun, ışığın ortogonal difüzyonu (Yana Yayılma veya SS) ve dar açılı ışığın difüzyonu (İleri Yayılma veya FS) ile ilişkilendirilen histogram üzerinde tanımlanmış elektronik pencerede sınırlanmasını sağlar. Sitometredeki farklı parametrelerden ikisini birleştiren diğer histogramlar, kullanıcının seçtiği uygulamaya bağlı olarak kapılama aşamasında destek olarak kullanılabilir.

Sınırlı hücrelerin floresanı analiz edilerek pozitif boyalı olaylar boyasızlardan ayrılır. Sonuçlar pozitif olayların geçiş ile edinilmiş tüm olaylara yüzdesi olarak ifade edilir.

HEDEF KULLANICI

Bu ürün, laboratuvarda profesyonel kullanım için tasarlanmıştır.

KLİNİK GEÇERLİLİK

Anti-HLA-DR-Pacific Blue, akış sitometrisiyle HLA-DR antijenini eksprese eden hücreleri tanımlamak ve karakterize etmek amacıyla kullanılan bir -Anti-HLA-DR antikorudur. Bu ürün tek başına, herhangi bir tanı sonucu oluşturamaz ve tanı sonucu oluşturmak üzere tasarlanmamıştır.

Bu ürün, diğer belirteçlerle birlikte kullanıldığında aşağıdaki işlevlerden biri veya daha fazlası için kullanılabilir:

- Hematopoetik neoplazmı olduğundan şüphelenilen hematolojik olarak anormal hastalarda ayırıcı tanıya yardımcı olmak ve bilinen hematopoetik neoplazmı olan hastaları izlemek için.
- İmmün yetmezliği olduğundan şüphelenilen hastaların tanısına yardımcı olmak ve immün yetmezliği olduğu bilinen hastaları izlemek için.
- Bilinen otoimmün hastalığı veya bozukluğu olan hastaları izlemek için.
- Nakil işlemini veya sonuçlarını izlemek için.

Şu referanslara bakın:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

ÖRNEKLER

Antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüpler kullanılarak venöz kan alınmalıdır.

Örnekler oda sıcaklığında (18-25°C) tutulmalı ve çalkalanmamalıdır. Örnekler test örneği alınmadan önce hafifçe çalkalanarak homojenize edilmelidir.

Örnekler venipunktür sonrası 24 saat içinde analiz edilmelidir.

KONSANTRASYON

Lota özel Analiz Sertifikası için www.beckman.com adresine bakın.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. Reaktifi son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
2. Dondurmayın.
3. Kullanmadan önce oda sıcaklığına (18-25°C) getirin.
4. Işığa maruz kalmasını en aza indirin.

5. Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonundan kaçının yoksa yanlış sonuçlar oluşabilir.
6. Sodyum azid (NaN_3) içeren antikor solüsyonları dikkatle işlenmelidir. Yutmayın ve cilt, mukoza ve gözlerle temasından kaçının.

   Ayrıca, asit ortamında, sodyum azid potansiyel olarak tehlikeli hidrazoik asit oluşturabilir. Atılması gerekiyorsa, metal borularda sodyum azid birikmesini ve patlama riskini önlemek için, reaktifin drenaj sistemine dökülmeden önce çok miktarda suyla seyreltilmesi önerilmektedir.
7. Tüm kan örnekleri potansiyel olarak bulaşıcı olarak kabul edilmeli ve dikkatle ele alınmalıdır (özellikle koruyucu eldiven, önlük ve gözlük takılmalıdır).
8. Asla ağızla pipetleme yapmayın ve örneklerin cilt, mukoza veya gözle herhangi bir şekilde temas etmesini önleyin.
9. Taşıma için kullanılan kan tüpleri ve tek kullanımlık malzeme, yakma amacıyla özel kaplara atılmalıdır.
10. Reaktifler ve atıklar yerel gereksinimlere göre elimine edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır

SDS Güvenlik Bilgi Formuna beckmancoulter.com/techdocs adresinden ulaşılabilir

SAKLAMA VE STABİLİTE

Bu reaktifin, şişe açılmadan önce ve açıldıktan sonra 2 ile 8°C arasında tutulması ve ışıktan korunması gereklidir.

Stabilite çalışması için şişe raf ömrü: 1095 gün.

Açılan şişenin stabilitesi: reaktif 180 gün stabildir.

BOZULMA GÖSTERGESİ

Reaktiflerin fiziksel görünümündeki herhangi bir değişiklik bozulmayı gösterebilir ve reaktif kullanılmamalıdır.

Ek bilgi almak isterseniz veya aldığınız ürün hasarlı çıktıysa, 800-742-2345 numaralı telefondan (ABD veya Kanada) Beckman Coulter Müşteri Hizmetlerini arayın veya yerel Beckman Coulter Temsilcinizle temas kurun.

İÇİNDEKİLER

Sodyum azid koruyucu maddesi metal kanalizasyon hatlarında patlayıcı bileşimler oluşturabilir. NIOSH Bültenine bakın: Explosive Azide Hazard (Patlayıcı Azide Tehlikesi) (16.8.76).
Azid bileşenlerinin olası birikimini engellemek amacıyla, seyreltilmemiş reaktifi çöpe attıktan sonra atık borularını bol suyla yıkayın. Sodyum azid, uygun yerel düzenlemelere göre çöpe atılmalıdır.

GEREKLİ OLAN ANCAK KİT İLE BİRLİKTE VERİLMEYEN MALZEMELER:

- Numune alma tüpleri ve numune alma için gerekli malzemeler.
- 10, 100 ve 500 µL için tek kullanımlık uçlu otomatik pipetler.
- Plastik hemoliz tüpleri.
- Lizis sonrası yıkama aşamasıyla birlikte eritrosit lizis reaktifi. Örneğin: VersaLyse (Ref. A09777).
- Lökosit fiksasyon reaktifi. Örneğin: IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonu (Ref. A07800).
- İzotip kontrolüPacific Blue: IOTest reaktifi (Ref. A74764).
- Tampon (PBS: 0,01 M sodyum fosfat; 0,145 M sodyum klorür; pH 7,2).
- Santrifüjleyin.
- Otomatik karıştırıcı (Vorteks tipi).
- Akış sitometresi.

VERSALYSE REAKTİFİ İLE PROSEDÜR

Analiz edilen her örnek için test tüpüne ek olarak, hücrelerin izotip kontrolü varlığında karıştırıldığı bir kontrol tüpü eklenebilir (Ref. A74764).

1. Her test tüpüne 10 µL spesifik IOTest konjuge antikor ve gerekirse, her kontrol tüpüne, 10 µL izotip kontrolü ekleyin.
2. Her bir tüpe 100 µL test örneği ekleyin. Tüpleri yavaşça vorteksleyin.
3. Oda sıcaklığında (18-25°C) ışıktan koruyarak 15-20 dakika boyunca inkübe edin.
4. Ardından kırmızı hücrelerin lizisini gerçekleştirin. VersaLyse (Ref. A09777) broşürüne bakın ve tercihen “birlikte kullanılan fiksasyon ile” adlı, doğaçlama hazırlanan 1 mL “Fiksasyon ve Lizis” karışımını eklemeyi içeren prosedürü izleyin. Hemen bir saniye boyunca vorteksleyin ve ışıktan koruyarak, 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
5. Oda sıcaklığında 5 dakika 150 x g hızda santrifüjleyin.
6. Aspirasyon ile üst fazı alın.
7. 3 mL PBS kullanarak hücre peletini yeniden süspanse edin.
8. Adım 5'i tekrarlayın.
9. Yüzer maddeyi aspirasyonla alın ve hücre topağını şunu kullanarak yeniden süspanse edin:

- Preparatlar 24 saatten az tutulacaksa, 0,5 mL veya 1 mL PBS'nin yanı sıra %0,1 formaldehit. (%0,1 formaldehit PBS, 1 mL PBS içinde 10X konsantre IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonundan (Ref. A07800) 12,5 µL seyreltilerek elde edilebilir).
- 0,5 mL veya 1 mL PBS formaldehidsiz, preparatlar 2 saat içinde analiz edilmelidir.

Not: Tüm durumlarda, preperatlar 2 ile 8°C arasında tutulmalı ve ışıktan korunmalıdır.

BEKLENEN DEĞERLER

Laboratuvarlarımızda, yukarıda açıklanan reaktif kullanılarak sağlıklı görünen 25 donörün tam kan örnekleri işlenmiştir. Bu reaktif ile ilgi konusu pozitif olayların sayısı için elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir:

Pozitif Hedef	Sayı	Ortalama (%)	SS	VK (%)
Lenfositler	25	26,53	12,71	47,92
Monositler	25	97,02	2,77	2,86

Bu değerlerin sadece temsili olması amaçlanmaktadır. Her laboratuvar normal donörlerden oluşan yerel popülasyonunda kendi beklenen değerlerini oluşturmalıdır.

PERFORMANS

Performans verileri, antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüplerde daha önce toplanan, 24 saatten eski olmayan kan örnekleri üzerinde yukarıdaki prosedür kullanılarak elde edilmiştir. İmmün boyamayı takiben 2 saat içinde analiz gerçekleştirilir.

ÖZGÜLLÜK

Monoklonal antikor Immu357 HLA-DR olarak tanımlanan bir monomorfik 29 - 33 kDa proteinde taşınan bir epitopu tanır. HLA sistemi (İnsan Lökosit Antijeni) insanlarda majör histokompatibilite kompleksi (MHC) için verilen isimdir. D lokusundaki 5 yer (DM, DO, DP, DQ ve DR) tarafından kodlanan, HLA sınıf II moleküllerine HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ ve HLA-DR antijenleri de denir (13,14). Sınıf II antijenlerin ifadesi antijen sunan hücrelerle yani B lenfositler, monositler/makrofajlar ve ciltte dendritik ve Langerhans hücreleriyle sınırlıdır (14,15). T lenfositlerinde HLA-DR antijeni sadece aktivasyondan sonra ifade edilir (16). Kök hücreler ve hematopoietik progenitörler bunu diferansiyasyonları sırasında belirli bir evreye kadar ifade eder (14,17).

KESİNLİK

Yüzde pozitif değerler, Tam Kan kullanılarak belirlenmiştir. Her örnek, 2 lot Anti-HLA-DR-Pacific Blue Monoklonal Antikor Reaktifleri kullanılarak 2 cihazda 1 gün için günde iki kez olmak üzere 4 kez çalışılmıştır. Ölçümler (% pozitif) Navios akış sitometresi üzerinde yapılmıştır. Analiz, CLSI yöntemi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kantitatif Ölçüm Yöntemlerinin Kesinlik Performansına İlişkin Değerlendirme) temelinde yürütülmüştür.

Kabul kriterlerimiz, her popülasyon için ölçülen pozitif olay sayısına bağlıdır:

- Pozitif olay <1.500, VK <%15 ise
- Pozitif olay >1.500, VK <%10 ise

Lenfositler							
Pozitif olay sayısı (Ortalama)=1154							
	Kullanıcılar arası	Sitometreler arası	Lot içi	Lotlar arası	Çalışmalar arası	Çalışma içi	Total
VK (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
SONUÇLAR	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monositler							
Pozitif olay sayısı (Ortalama)=1197							
	Kullanıcılar arası	Sitometreler arası	Lot içi	Lotlar arası	Çalışmalar arası	Çalışma içi	Total
VK (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
SONUÇLAR	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOĞRULUK

Anti-HLA-DR-Pacific Blue doğruluğu, bir Navios akış sitometresinde çalışılan tam kan örnekleri grubunda esas alınan bir referans reaktifle sonuçlar karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Test ve referans reaktif arasındaki sapma, test sonuçları arasındaki fark temelinde belirlenmiştir. Sapma, izin verilen hata aralığı dahilindeyse veya p değeri anlamlı fark göstermediğinde (>0,05), iki reaktif için test sonuçlarının eşdeğer olduğu kabul edilir.

Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Donör sayısı=25				
Pozitif Hedef	Ortalama Δ	Δ % Hücre kriteri	p değeri	SONUÇLAR
Lenfositler	-0,26	<5	0,557	PASS
Monositler	1,04	<5	1,191	PASS

KÖR LİMİTİ VE TESPİT LİMİTİ

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klinik Laboratuvar Ölçüm Prosedürleri için Tespit Kabiliyetinin Değerlendirilmesi) ile uyumlu bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Tespit Limiti (LOD), tutarlı olarak tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonudur. Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Positive Target	Kör Limiti (hücre/µL)	Tespit Limiti (hücre/µL)
Lenfositler	2	4
Monositler	1	3

SINIRLAMALAR

1. Akış sitometrisi, sitometre mükemmel şekilde hizalanmadıysa, floresan sızıntıları doğru şekilde telafi edilmediyse ve bölgeler dikkatli bir şekilde konumlandırılmadıysa yanlış sonuçlar üretebilir.
2. Bu reaktif "yıkamasız" parçalama teknikleri için optimize edilmediğinden, yıkama adımı içeren bir RBC parçalama tekniği kullanılması tercih edilir.

3. Kullanılan prosedürler teknik bilgi broşürüne uygun olduğu ve iyi laboratuvar uygulamalarına uygun olduğu sürece doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilecektir.
4. Bu reaktifin konjugat antikoru, en iyi spesifik sinyal/spesifik olmayan sinyal oranını sunacak şekilde kalibre edilir. Bu nedenle her testte reaktif hacmi/örnek hacmi oranına bağlı kalmak önemlidir.
5. Hiperlökositoz durumunda yaklaşık 5 x 10^9 lökosit/L (18) değerini elde etmek için kanı PBS içinde seyreltin.
6. Şiddetli böbrek yetmezliği veya hemoglobinopatiler gibi bazı hastalık durumlarında, eritrosit lizisi yavaş, eksik ve hatta imkansız olabilir. Bu durumda mononükleotidli hücrelerin boyama öncesinde yoğunluk gradyanı (örneğin Ficoll) kullanılarak izole edilmesi önerilmektedir (19).
7. Anti-insan monoklonal antikor terapisi ile tedavi edilen hastalarda, terapötik antikorun kısmi veya tam engellemesi nedeniyle spesifik hedeflenen antijenlerin tespiti azalabilir veya yapılamayabilir.
8. Anti-HLA-DR-Pacific Blue sonuçları; semptomlar, klinik öykü, ilave testlerden elde edilen veriler ve diğer uygun bilgiler dahil olmak üzere hastanın genel klinik tablosu dikkate alınarak yorumlanmalıdır.

Örnekler ve referanslar için Ek'e bakın.

TİCARİ MARKALAR

Bu belgede belirtilen Beckman Coulter, stilize logo ve Beckman Coulter ürün ve hizmet markaları, Beckman Coulter, Inc. firmasının ABD'de ve diğer ülkelerdeki ticari veya tescilli ticari markalarıdır.

Pacific Blue, Molecular Probes, Inc.'in ticari markasıdır.

EK BİLGİLER

Avrupa Birliği'nde ve aynı düzenleme rejiminin olduğu ülkelerdeki (In Vitro Diagnostik Tıbbi Cihazlar hakkında 2017/746/EU sayılı Yönetmelik) hasta/kullanıcı/üçüncü taraflar için; bu cihazın kullanımı sırasında veya cihazın kullanımının bir sonucu olarak ciddi bir olay meydana gelirse lütfen olayı üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makamınıza bildirin.

Summary of Safety and Performance (Güvenlik ve Performans Özeti) EUDAMED veritabanında mevcuttur: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVİZYON GEÇMİŞİ

REVİZYON AC:	Yayınlanma tarihi: Ekim 2019

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AW	Şubat 2022
Beckman Coulter Global Etiketleme Politikasıyla uyumluluk sağlamak için ve IVD-R (AB)2017/746 gerekliliklerine göre güncellemeler yapıldı:	
Bölümler eklendi	BSI 2797 Numarası, Hedef Kullanıcı, Klinik Anlam, Konsantrasyon, Kesinlik, Doğruluk, Kör limiti ve tespit limiti, Ek Bilgiler, Revizyon Geçmişi.
Bilgi eklendi	Sınırlamalar bölümlerine bakın
İfade veya yazım güncellemeleri	Prosedür, Performans, Sınırlamalar, Uyarılar ve Önlemler, Saklama ve Stabilite bölümlerine bakın.
Bölümler kaldırıldı	Klinik uygulama örneği, Reaktifler, Laboratuvar içi yeniden üretilebilirlik, Linearite
Güncellenmiş bölümler	Kullanım Amacı, GHS Tehlike Sınıflandırması, Bozulma Göstergesi, Prosedür, Ek.

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AX	Nisan 2023
Güncellenmiş bölümler	Kazakça ekle
Güncellenmiş bölümler	Saklama ve stabilite

Düzeltilmiş Sürüm	AY
Revizyon Tarihi	Mayıs 2024
Güncellenmiş Çeviriler	**Klinik önemi:**
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Düzeltilmiş Sürüm	AZ
Revizyon Tarihi	Temmuz 2024
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Sembol Anahtarı

Semboller Sözlüğü beckman.com/techdocs adresinde bulunabilir (belge numarası B60062)

	Спецификации
Специфичность	HLA-DR
Клон	Immu-357
Гибридома	X63 x balb/c
Иммуноген	EBV-transformed cell line
Иммуноглобулин	IgG1
Вид	Мышь
Очистка	Аффинная хроматография
Флуорохром	Pacific Blue
Молярное отношение	Pacific Blue / Ig: 5,9-7,6
Возбуждение λ	405 nm
Пик эмиссии	455 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 мг/мл БСА и 0,1% NaN_3

Конъюгированное антитело IOTest Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 мл, 10 мкл / test

Для диагностики *in vitro*.

НАЗНАЧЕНИЕ

Это конъюгированное с флуорохромом антитело позволяет с использованием проточной цитометрии выполнить качественное и не автоматизированное определение клеточных популяций, экспрессирующих антиген HLA-DR, который присутствует в биологических пробах человека (см. раздел «Пробы» ниже).

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Данный тест основан на способности специфических моноклональных антител связывать антигенные детерминанты, экспрессированные лейкоцитами.

Специфическое окрашивание лейкоцитов выполняется путем инкубирования пробы с реагентом IOTest. Затем методом лизиса удаляются эритроциты, и выполняется анализ лейкоцитов, не затронутых этим процессом, методом проточной цитометрии.

Проточный цитометр измеряет светорассеяние и флуоресценцию клеток. Это дает возможность разграничения интересующей популяции в электронном окне, определенном на гистограмме, что коррелирует с ортогональным светорассеянием (боковое рассеяние, или SS) и рассеянием света под острым углом (прямое рассеяние, или FS). Другие гистограммы, сочетающие два из других параметров, доступных на цитометре, могут использоваться как вспомогательные на стадии селекции, в зависимости от приложения, выбранного пользователем.

Флуоресценцию разграниченных клеток анализируют с целью различения положительно-окрашенных и неокрашенных событий. Результаты выражаются в виде процентного отношения положительных событий ко всем событиям, полученным в ходе селекции.

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ

Изделие предназначено для использования в лаборатории персоналом с профессиональной подготовкой.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Anti-HLA-DR-Pacific Blue представляет собой антитело к Anti-HLA-DR, используемое для идентификации и определения характеристик клеток, экспрессирующих антиген HLA-DR, методом проточной цитометрии. Этот продукт отдельно от других исследований не может приводить к принятию каких-либо диагностических решений и не предназначен для этого.

При использовании в сочетании с другими маркерами этот продукт может использоваться в следующих целях.

- Для использования при дифференциальной диагностике пациентов с отклонениями гематологических результатов (при подозрении на наличие гематопоэтических новообразований), а также для мониторинга пациентов с известным гематопоэтическим новообразованием.
- Для использования при диагностике пациентов с подозрением на иммунодефицит, а также для мониторинга пациентов с известным иммунодефицитом.
- Для мониторинга пациентов с известным аутоиммунным заболеванием или нарушением.
- Для отслеживания процесса или результатов трансплантации.

См. следующие ссылки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

ПРОБЫ

При взятии образца венозной крови необходимо использовать стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта.

Пробы следует хранить при комнатной температуре (18–25°C), не встряхивая. Пробы следует гомогенизировать, осторожно перемешав, до отбора тестовой пробы.

Пробы требуется проанализировать в течение 24 ч после венипункции.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

См. специфический для партии сертификат анализа на веб-сайте www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Не используйте реагенты после истечения срока годности.
2. Не замораживать.

3. Перед использованием довести до комнатной температуры (18–25°C).
4. Минимизируют воздействие света.
5. Во избежание получения ошибочных результатов не допускайте микробной контаминации реагентов.
6. Следует с осторожностью обращаться с растворами антител, содержащими натрия азид (NaN_3). Не принимайте внутрь и избегайте любого контакта с кожей, слизистыми оболочками и глазами.

   Кроме того, в кислой среде натрия азид может образовывать потенциально опасную азотистоводородную кислоту. Если требуется утилизация, рекомендуется разводить реагент в большом объеме воды, прежде чем выливать его в канализацию, чтобы избежать накопления натрия азида в металлических трубах и исключить возможность взрыва.
7. Все пробы крови должны считаться потенциально инфицированными, при обращении с ними необходимо соблюдать осторожность (в частности, использовать защитные перчатки, одежду и очки).
8. Никогда не пипетируйте ртом и избегайте любого контакта проб с кожей, слизистыми и глазами.
9. При утилизации пробирок и одноразовых материалов следует использовать специальные предназначенные для сжигания контейнеры.
10. При утилизации реагентов и отходов необходимо следовать требованиям местного законодательства.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Не классифицируется как опасное вещество

SDS Паспорт безопасности доступен на сайте beckmancoulter.com/techdocs

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Этот реагент требуется хранить при температуре от 2 до 8°C, защищая от света, до и после вскрытия флакона.

Срок хранения закрытого флакона согласно исследованию стабильности: 1095 день.

Стабильность в открытом флаконе: реагент сохраняет стабильность в течение 180 дн.

ПРИЗНАКИ ПОРЧИ

Любые изменения внешнего вида реагентов могут говорить о порче, использовать такой реагент не следует.

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь со своим местным представителем Beckman Coulter.

СОДЕРЖАНИЕ

Консервант с содержанием азида натрия может образовывать взрывоопасные соединения в металлической водопроводной арматуре. См. бюллетень Национального института по охране труда и промышленной гигиене (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Взрывоопасные азиды) (16.8.76). Чтобы избежать накопления азидных соединений, промывайте сливные трубы водой после сброса неразбавленного реагента. Утилизацию азида натрия следует проводить в соответствии с соответствующими местными нормами.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, КОТОРЫЕ НЕ ВХОДЯТ В НАБОР:

- Необходимые для взятия проб пробирки и материалы.
- Автоматические пипетки с одноразовыми наконечниками для 10, 100 и 500 мкл.
- Пластиковые пробирки для гемолиза.
- Реагент для лизиса эритроцитов с этапом промывки после лизиса. Например: VersaLyse (ссылочный номер A09777).
- Реагент для фиксации лейкоцитов. Например: IOTest 3 Fixative Solution (фиксирующий раствор) (ссылочный номер A07800).
- Изотипический контроль -Pacific Blue: Реагент IOTest (ссылочный номер A74764).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрия фосфата; 0,145 M натрия хлорида; pH 7,2).
- Центрифугируйте.
- Автоматическая мешалка (вортексная)
- Проточный цитометр.

ПРОЦЕДУРА С РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для каждой анализируемой пробы в дополнение к тестовой пробирке можно добавить одну контрольную пробирку, в которой клетки смешаны в присутствии изотипического контроля (ссылочный номер A74764).

1. В каждую тестовую пробирку добавьте по 10 мкл специфического конъюгированного антитела IOTest, а в каждую контрольную пробирку — по 10 мкл изотипического контроля, если необходимо.
2. Добавьте 100 мкл тестовой пробы в каждую пробирку. Аккуратно перемешайте пробирки на вортексе.
3. Инкубируют при комнатной температуре (18–25°C) в течение 15-20 мин, в защищенном от света месте.
4. Затем выполняют лизис эритроцитов. См. вкладыш VersaLyse (ссылочный номер A09777) и, предпочтительно, следуйте процедуре с названием «с сопутствующей фиксацией», которая заключается в добавлении 1 мл смеси «Фиксирующей и лизирующей», приготовленной для немедленного применения. Немедленно перемешивают на вортексе в течение одной секунды и инкубируют в течение 10 минут при комнатной температуре, защищая от света.
5. Центрифугируют в течение 5 минут при 150 g при комнатной температуре.
6. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации.
7. Ресуспендируют осадок клеток, используя 3 мл PBS.
8. Повторите шаг 5.

9. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации и ресуспендируют осадок клеток, используя:

- 0,5 мл или 1 мл PBS плюс 0,1% формальдегида, если препараты следует хранить менее 24 ч. (PBS с 0,1% формальдегида можно получить путем разведения 12,5 мкл фиксирующего раствора IOTest 3 (ссылочный номер A07800) в 10-кратной концентрации в 1 мл PBS).
- 0,5 мл или 1 мл PBS без формальдегида, если препараты следует проанализировать в течение 2 ч.

Примечание. В обязательном порядке защищайте подготавливаемые материалы от солнечного света, храните их при температуре от 2 до 8°C.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В наших лабораториях пробы цельной крови от клинически здоровых доноров (количество доноров: 25) были обработаны с использованием описанного выше реагента. Результаты, полученные для количества положительных интересующих явлений с этим реагентом, приводятся в таблице ниже:

Положительная мишень	Число	Среднее (%)	SD	CV (%)
Лимфоциты	25	26,53	12,71	47,92
Моноциты	25	97,02	2,77	2,86

Эти значения используются только в качестве примера. В каждой лаборатории должны быть установлены собственные диапазоны ожидаемых значений с учетом проб нормальных доноров из числа местного населения.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Рабочие характеристики получены с использованием описанной выше процедуры на пробах, собранных не ранее чем за 24 часа до анализа в стерильные пробирки с солью ЭДТА как антикоагулянтом. Анализ проводится в течение 2 часов после иммуноокрашивания.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Моноклональное антитело Immu357 распознает эпитоп, который переносится на мономорфном белке в 29 – 33 kDa, идентифицируемый как HLA-DR. Система HLA (антиген лейкоцитов человека) – название главного комплекса гистосовместимости (MHC) у людей. Зашифрованные 5 локусами (DM, DO, DP, DQ и DR) локуса D молекулы HLA класса II также называют антигенами HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ и HLA-DR (13,14). Экспрессия антигенов класса II ограничена антиген-презентирующими клетками, то есть B-лимфоцитами, моноцитами/макрофагами, дендритными клетками и клетками Лангерганса кожи (14,15). На тимоцитах антиген HLA-DR экспрессируется только после активации (16). Стволовые клетки и кроветворные клетки-предшественники экспрессируют его до определенной стадии своей дифференциации (14,17).

ПРЕЦИЗИОННОСТЬ

Процент положительных результатов был установлен с использованием цельной крови. Каждую пробу измеряли 4 раза, два раза в день в течение 1 дня на 2 приборах, с использованием 2 партий реагентов моноклональных антител Anti-HLA-DR-Pacific Blue. Измерения (% положительных) выполняли на проточном цитометре Navios. Анализ проводился на основе метода CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оценка прецизионности количественных методик измерения).

Наши критерии принятия зависят от количества положительных событий, измеренных для каждой популяции:

- Если положительных событий <1 500, CV <15%
- Если положительных событий >1 500, CV <10%

Лимфоциты							
Количество положительных событий (среднее) = 1154							
	Между операторами	Между цитометрами	Внутри партии	Между партиями	Между анализами	Внутри анализа	Итого
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
РЕЗУЛЬТАТЫ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Моноциты							
Количество положительных событий (среднее) = 1197							
	Между операторами	Между цитометрами	Внутри партии	Между партиями	Между анализами	Внутри анализа	Итого
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
РЕЗУЛЬТАТЫ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТЬ

Точность Anti-HLA-DR-Pacific Blue оценивалась путем сравнения результатов с результатами по референсному реагенту как предикатом. Анализ выполняли на проточном цитометре Navios с использованием набора проб цельной крови. Систематическая ошибка оценки между тестовым и референсным реагентами была определена на основании различий между результатами теста. Если систематическая ошибка оценки находится в пределах допустимого диапазона ошибки или если p-значение указывает на отсутствие значительного различия (>0,05), тогда результаты теста для двух реагентов рассматриваются как эквивалентные.

Полученные результаты обобщены в таблице далее.

Количество доноров = 25				
Положительная мишень	Среднее значение Δ	Критерии Δ % клеток	p-значение	РЕЗУЛЬТАТЫ
Лимфоциты	-0,26	<5	0,557	PASS
Моноциты	1,04	<5	1,191	PASS

ПРЕДЕЛ БЛАНКА И ПРЕДЕЛ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Исследование было проведено в соответствии с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Оценка способности обнаружения для методик измерения клинической лаборатории). Предел чувствительности (LOD) — наименьшая концентрация аналита, которая может последовательно обнаруживаться. Полученные результаты обобщены в таблице ниже.

Positive Target	Предел бланка (клеток/мкл)	Предел чувствительности (клеток/мкл)
Лимфоциты	2	4
Моноциты	1	3

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. При проведении проточной цитометрии возможно получение ложных результатов, если цитометр не был идеально позиционирован, не была проведена правильная компенсация утечек флуоресцентного агента или точное позиционирование областей.
2. Предпочтительно использовать технику лизиса RBC с шагом промывки, так как этот реагент не был оптимизирован для техник лизиса «без промывки».
3. Для получения точных и повторяемых результатов необходимо выполнять процедуры в соответствии с инструкцией-вкладышем и требованиями надлежащей лабораторной практики.
4. Выполняется калибровка конъюгированного антитела этого реагента с целью получения наилучшего для данной конкретной задачи соотношения специфичного и неспецифичного сигнала. Поэтому при каждом тесте важно придерживаться правильного соотношения объема реагента и пробы.
5. При гиперлейкоцитозе, разбавляют кровь PBS до приблизительно 5 x 10^9 лейкоцитов/л (18).
6. При определенных заболеваниях, таких как острая почечная недостаточность или гемоглобинопатии, лизис эритроцитов может протекать медленно, быть неполным или даже невозможным. В таком случае рекомендуется изолировать одноядерные клетки, используя градиент плотности (например, фиколл), перед окрашиванием (19).
7. У пациентов, получавших лечение античеловеческими моноклональными антителами, обнаружение специфических целевых антител может быть снижено или может отсутствовать вследствие частичной или полной блокировки терапевтическими антителами.
8. Результаты Anti-HLA-DR-Pacific Blue должны интерпретироваться с учетом общих клинических проявлений пациента, включая симптомы, историю болезни, данные дополнительных тестирований и прочую информацию.

Примеры и ссылки см. в Приложении.

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

Beckman Coulter, стилизованный логотип и упоминаемые здесь знаки продукции и услуг Beckman Coulter являются товарными знаками или зарегистрированными товарными знаками корпорации Beckman Coulter, Inc. в Соединенных Штатах и других странах.

Pacific Blue является товарным знаком Molecular Probes, Inc.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для пациента / пользователя / третьей стороны в Европейском Союзе и в странах с идентичным регуляторным режимом (Регламент 2017/746/EC в отношении медицинских изделий для in vitro диагностики); если, во время использования этого изделия или в результате его использования произошел серьезный инцидент, сообщите о нем производителю и/или его уполномоченному представителю и своему национальному органу регулирования.

Summary of Safety and Performance (Сводные данные по безопасности и функциональным характеристикам) доступны в Европейской базе данных изделий медицинского назначения (EUDAMED): ec.europa.eu/tools/eudamed.

СВЕДЕНИЯ О ВЕРСИЯХ

ВЕРСИЯ AC:	Дата выпуска: Октябрь 2019 г.

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AW	Февраль 2022 г.
Обновления с целью приведения в соответствие политике международной маркировки Beckman Coulter и для выполнения требований IVD-R (EC)2017/746:	
Добавлены разделы	Номер BSI 2797, «Предполагаемый пользователь», «Клиническая значимость», «Концентрация», «Прецизионность», «Точность», «Предел бланка и предел чувствительности», «Дополнительная информация», «Сведения о версиях».
Добавлена информация	См. раздел «Ограничения»
Обновлены формулировки или исправлены опечатки	См. разделы «Процедура», «Эксплуатационные характеристики», «Ограничения», «Предупреждения и меры предосторожности», «Хранение и стабильность».
Удалены разделы	«Примеры клинических областей применения», «Реагенты», «Внутрилабораторная сходимость», «Линейность»
Обновленные разделы	«Назначение», «Классификация опасностей по системе СГС», «Признаки порчи», «Процедура», «Приложение».

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AX	Апрель 2023
Обновленные разделы	Добавить казахский язык
Обновленные разделы	Хранение и стабильность

Пересмотренная версия	AY
Дата пересмотра	Май 2024
Обновленные переводы	**Клиническая значимость:**
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Пересмотренная версия	AZ
Дата пересмотра	Июль 2024
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Определения символов

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (номер документа B60062)

	Spetsifikatsioonid
Spetsiifilisus	HLA-DR
Kloon	Immu-357
Hübridoom	X63 x balb/c
Immunogeen	EBV-transformed cell line
Immunoglobuliin	IgG1
Liigid	Hiir
Puhastamine	Afiinsuskromotograafia
Fluorokroom	Pacific Blue
Molaarsuhe	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
λ ergastumine	405 nm
Emission Peak	455 nm
Puhver	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/ml BSA ja 0,1% NaN_3

IOTest
konjugeeritud antikeha Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 ml, 10 µl / test

***In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks.**

KASUTUSOTSTARVE

See fluorokroomiga konjugeeritud antikeha võimaldab voolutsütomeetriaga kvalitatiivselt ja mitteautomatiseeritult tuvastada rakupopulatsioone, mis esitavad inimese bioloogilistes proovides antigeeni HLA-DR (vt allpool osa „Proovid“).

PÕHIMÕTE

Analüüs põhineb spetsiifiliste monoklonaalsete antikehade võimel seonduda leukotsüütide sünteesitavate antigeensete determinantidega.

Leukotsüütide eriomaseks värvimiseks tuleb proovi koos tootesarja IOTest reagendiga inkubeerida. Seejärel eemaldatakse erütrotsüüdid lüüsimisega ja pärast seda analüüsitakse voolutsütomeetriaga leukotsüüte, mida see protsess ei mõjuta.

Läbivoolutsütomeeter mõõdab valguse hajumist ja rakkude fluorestsentsi. See muudab võimalikuks huvialuse populatsiooni piiristamise histogrammil määratud elektroonilisel alal. Histogramm korreleerib valguse ortogonaalset hajumist (külghajumine ehk KH) ja kitsasnurga valguse hajumist (edasihajumine ehk EH). Teisi histogramme, kus ühendatakse tsütomeetrias saadaolevat kahte parameetrit, võib kasutada lüüsimisetapis olenevalt kasutaja valitud rakendusest.

Piiritletud rakkude fluorestsentsi analüüsitakse, et eristada positiivselt värvitud sündmusi värvimata sündmustest. Tulemusi kajastatakse positiivsete sündmuste protsentuaalse osakaaluna kõigi väravdamisega hõivatud sündmuste suhtes.

SIHTKASUTAJA

See toode on ette nähtud laboratoorseks kasutamiseks.

KLIINILINE TÄHTSUS

Anti-HLA-DR-Pacific Blue on Anti-HLA-DR antikeha, mida kasutatakse HLA-DR antigeeni sünteesivate rakkude voolutsütomeetriaga tuvastamiseks ja kirjeldamiseks. See toode üksi ei saa ega ole mõeldud ühegi diagnostilise otsuse tegemiseks.

Koos teiste markeritega kasutades saab seda toodet kasutada ühes või mitmes järgmistest funktsioonidest:

- Lihtsustamaks diferentsiaaldiagnoosi panemist hematoloogiliste ebanormaalsustega patsientidele, kellel kahtlustatakse vereloome neoplasmi esinemist, ja teadaoleva vereloome neoplasmiga patsientide monitoorimiseks.
- Immuunpuudulikkusega patsientide diagnoosimise hõlbustamiseks ja teadaoleva immuunpuudulikkusega patsientide jälgimiseks.
- Teadaoleva autoimmuunhaiguse või häirega patsientide jälgimiseks.
- Siirdamisprotsessi või tulemuste jälgimiseks.

Vt järgmisi viiteid.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

PROOVID

Veeniverd tuleb võtta steriilsete katsutitega, mis sisaldavad antikoagulandina etüleendiamiintetraatsetaadi (EDTA) soola.

Proove tuleb hoida toatemperatuuril (18–25 °C) ja neid ei tohi raputada. Proove tuleb ühtlustada seda enne näidisproovi võtmist ettevaatlikult loksutades.

Proove tuleb analüüsida 24 tunni jooksul alates veenipunktsioonist.

KONTSENTRATSIOON

Vt partiispetsiifilist analüüsi sertifikaati veebilehelt www.beckman.com.

HOIATUS JA ETTEVAATUSABINÕUD

1. Ärge kasutage reagenti pärast aegumiskuupäeva.
2. Ärge külmutage.
3. Enne kasutamist laske tasakaalustuda toatemperatuuriga (18–25 °C).
4. Minimeerige kokkupuudet valgusega.

5. Vältige reagentide mikroobidega saastumist, vastasel juhul võite saada valed tulemused.
6. Antikehade lahuseid, mis sisaldavad naatriumasiidi (NaN_3), tuleb käsitseda ettevaatlikult. See pole mõeldud seespidiseks kasutamiseks. Vältige kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.

   Lisaks võib naatriumasiid moodustada happelises keskkonnas potentsiaalselt ohtliku hüdrasoonhappe. Kui see tuleb kõrvaldada, on soovitatav lahjendada reagenti suure hulga veega, enne kui see äravoolusüsteemi valada, et vältida plahvatusohtu ja naatriumasiidi kogunemist metalltorudesse.
7. Kõiki vereproove tuleb pidada potentsiaalselt nakkusohtlikuks ja käsitseda ettevaatusega (kasutage kaitsekindaid, kitlit ning kaitseprille).
8. Ärge kunagi pipettige suuga ja vältige proovide kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.
9. Verekatsutid ja käitlemiseks kasutatav ühekordselt kasutatav materjal tuleb hävitada põletamiseks ettenähtud spetsiaalsetes konteinerites.
10. Reagendid ja jäätmed tuleb kõrvaldada vastavalt kohalikele nõuetele.

GHS-I OHUKLASSIFIKATSIOON

Ei ole klassifitseeritud ohtlikuks

SDS Ohutuskaart on saadaval saidil beckmancoulter.com/techdocs

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Seda reagenti tuleb enne ja pärast viaali avamist hoida temperatuuril 2–8 °C ning valguse eest kaitstult.

Suletud viaali säilivusaeg stabiilsusuuringu põhjal: 1095 päeva.

Avatud viaali stabiilsus: reagent on stabiilne 180 päeva.

RIKNEMISE TUNNUSED

Igasugune muutus reagentide füüsilises välimuses võib viidata reagendi riknemisele ja seda ei tohi kasutada.

Lisateabe hankimiseks või kahjustatud toote saamisel helistage Beckman Coulteri klienditeenindusse numbril 800-742-2345 (USA või Kanada) või võtke ühendust kohaliku Beckman Coulteri esindajaga.

SISU

Naatriumasiidist konservant võib moodustada metallist kanalisatsioonitorudes plahvatusohtlikke ühendeid. Vt asutuse NIOSH teadaannet. Explosive Azide Hazard (Plahvatusohtliku asiidi oht) (16.8.76).
Vältimaks võimalikku asiidiühendite akumuleerimist, loputage äravoolutorusid pärast lahjendamata reagendi kõrvaldamist. Naatriumasiidi kõrvaldamine peab olema kooskõlas asjakohaste kohalike eeskirjadega.

VAJALIKUD, KUID KOMPLEKTI MITTEKUULUVAD MATERJALID

- Proovide kogumiseks vajalikud proovivõtukatsutid ja vahendid.
- Automaatpipetid ühekordselt kasutatavate otsakutega, mis võimaldavad teisaldada 10, 100 ja 500 µl.
- Plastist hemolüüsi katsutid.
- Erütrotsüütide lüüsireagent koos pesemisetapiga pärast lüüsi. Analüüsinäide VersaLyse (viitenr A09777).
- Leukotsüütide fikseerimisreagent. Näide Tootesarja IOTest 3 fikseerimisreagent (viitenr A07800).
- Isotüübi kontrollPacific Blue: Tootesarja IOTest reagent (viitenr A74764).
- Puhver (PBS: 0,01 M naatriumfosfaat; 0,145 M naatriumkloriid; pH 7,2).
- Tsentrifuugige.
- Automaatsegisti (vibratsioonsegamise tüüpi).
- Voolutsütomeeter.

PROTSEDUUR REAGENDIGA VERSALYSE

Iga analüüsitud proovi kohta võib lisaks analüüsikatsutile lisada ühe kontrollkatsuti, milles rakud segatakse isotüübi kontrolliga (viitenr A74764).

1. Lisage igasse analüüsikatsutisse 10 µl spetsiifilist tootesarja IOTest konjugeeritud antikeha ja vajaduse korral igasse kontrollkatsutisse 10 µl isotüüpset kontrolli.
2. Lisage igasse katsutisse 100 µl analüüsiproovi. Vibratsioonsegage ettevaatlikult katsuteid.
3. Inkubeerige valguse eest kaitstult 15–20 minutit toatemperatuuril (18–25 °C).
4. Seejärel lüüsige erütrotsüüdid. Lugege VersaLyse'i (viitenr A09777) teabelehte ja järgige eelistatavalt protseduuri nimega „samaaegse fikseerimisega", mis põhineb ekstemporaalselt ettevalmistatud 1 ml segu „Fix-and-Lyse" lisamisel. Vibratsioonsegage kohe üks sekund ja inkubeerige 10 minutit toatemperatuuril valguse eest kaitstult.
5. Tsentrifuugige 5 minutit toatemperatuuril kasutades sätet 150 x g.
6. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus.
7. Taassuspendeerige rakusade PBS-is, mille kogus on 3 ml.
8. Korrake etappi 5.
9. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus ja taassuspendeerige rakugraanuleid vahendiga:

- 0,5 ml või 1 ml PBS-i ja 0,1% formaldehüüdi, kui preparaate tuleb hoida vähem kui 24 tundi. (0,1% formaldehüüdi sisaldava PBS-i saamiseks võite lahjendada 12,5 µl tootesarja IOTest 3 10x kontsentratsioonil fikseerimislahust (viitenr A07800) PBS-is, mille kogus on) 1 ml.
- 0,5 ml või 1 ml formaldehüüdita PBS-iga, kui valmissegusid analüüsitakse 2 tunni jooksul.

Märkus Preparaate tuleb alati hoida temperatuuril 2–8 °C ja valguse eest kaitstult.

OODATUD VÄÄRTUSED

Ettevõttesisestes laborites töödeldi ülalkirjeldatud reagendiga täisvere proove, mis koguti 25 tõenäoliselt tervelt doonoritelt. Alljärgnev tabel annab ülevaate selle reagendiga saadud positiivsete huvipakkuvate sündmuste loendustulemustest:

Positiivne siht	Arv	Keskmine (%)	SH	CV (%)
Lümfotsüüdid	25	26,53	12,71	47,92
Monotsüüdid	25	97,02	2,77	2,86

Need väärtused on mõeldud üksnes näitlikena. Iga laboratoorium peaks kindlaks määrama oma oodatavad vahemikud kohaliku tavapäraste doonorite populatsiooni alusel.

TOIMIMINE

Toimimisandmed saadakse kasutades ülalkirjeldatud protseduuri vähem kui 24 tundi vanadel antikoagulandi EDTA naatriumsoolaga steriilsetesse katsutitesse kogutud vereproovidel. Analüüs tehakse 2 tunni jooksul pärast immuunovärvimist.

SPETSIIFILISUS

Monoklonaalne antikeha Immu357 tunneb ära epitoopi HLA-DR, mida kannab monomorfne valk molekulmassiga 29–33 kDa. HLA-süsteem (Human Leucocyte Antigen; inimese leukotsüüdi antigeen) on nimi, mis on antud inimestel esinevale peamisele koesobivuskompleksile (major histocompatibility complex; MHC). D lookuse 5 lookusega (DM, DO, DP, DQ ja DR) kodeeritud HLA II klassi molekule nimetatakse ka HLA-DM-i, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ ja HLA-DR-i antigeenideks (13,14). II klassi antigeenide väljendamine on piiratud antigeeni esindavate rakkudega, st B-lümfotsüütide, monotsüütide/makrofaagide, dendriitsete ja Langerhani rakkudega nahal (14,15). T-lümfotsüütidel väljendatakse HLA-DR-i antigeeni alles pärast aktiveerumist (16). Tüvirakud ja vereloome eellased väljendavad seda nende diferentseerimise teatud tasemeni (14,17).

TÄPSUS

Positiivsete väärtuste protsent määrati täisverest. Igat proovi testiti 4 korda, kaks korda päevas, 1 päeva jooksul 2 instrumendil, kasutades 2 Anti-HLA-DR-Pacific Blue monoklonaalsete antikehade reagentide partiid. Mõõtmised (% positiivne) tehti Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsiti CLSI meetodi EP5-A2 põhjal. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivsete mõõtmismeetodite täpsuse näitajate hindamine).

Meie sobivuskriteeriumid sõltuvad iga populatsiooni kohta mõõdetud positiivsete sündmuste arvust:

- Positiivse sündmuse korral < 1500, CV < 15%
- Positiivse sündmuse korral > 1500, CV < 10%

Lümfotsüüdid							
Positiivsete sündmuste arv (keskmine) = 1154							
	Kasutajatevaheline	Tsütomeetritevaheline	Partiisisene	Partiidevaheline	Testidevaheline	Testisisene	Kokku
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
TULEMUSED	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monotsüüdid							
Positiivsete sündmuste arv (keskmine) = 1197							
	Kasutajatevaheline	Tsütomeetritevaheline	Partiisisene	Partiidevaheline	Testidevaheline	Testisisene	Kokku
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
TULEMUSED	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

MÕÕTETÄPSUS

Anti-HLA-DR-Pacific Blue mõõtetäpsust hinnati võrreldes tulemusi võrdlusreagendiga kui predikaadiga täisvereproovide komplektis, mida oli testitud Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsi- ja võrdlusreagendi erinevused määrati analüüsitulemuste erinevuse põhjal. Kui erisus jääb lubatud veavahemikku või kui p-väärtus ei näita statistiliselt olulist erinevust (> 0,05), loetakse kahe reagendi analüüsitulemused võrdväärseteks.

Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis.

Doonorite arv = 25				
Positiivne siht	Keskmine Δ	Δ% raku kriteeriumid	p-väärtus	TULEMUSED
Lümfotsüüdid	-0,26	<5	0,557	PASS
Monotsüüdid	1,04	<5	1,191	PASS

NULLPIIR JA TUVASTUSPIIR

Uuriti vastavalt CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Kliinilise labori mõõtmisprotseduuride avastamisvõime hindamise) nõuetele. Tuvastuspiir (LOD) on väikseim analüüdi kontsentratsioon, mida saab järjekindlalt määrata. Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis:

Positive Target	Nullpiir (rakku/µl)	Tuvastuspiir (rakku/µl)
Lümfotsüüdid	2	4
Monotsüüdid	1	3

PIIRANGUD

1. Voolutsütomeetria võib anda valed tulemused, kui tsütomeeter ei ole ideaalselt joondatud, kui fluorestsentsi lekkeid ei ole õigesti kompenseeritud ja kui piirkonnad ei ole hoolikalt paigutatud.
2. Eelistatav on kasutada pesemisetapiga RBC lüüsi tehnikat, kuna seda reagenti pole optimeeritud „pesemiseta“ lüüsi tehnikate jaoks.
3. Täpsed ja korratavad tulemused saadakse, kui kasutatavad protseduurid on kooskõlas tehnilise teabelehe ja heade laboritavadega.

4. Selle reagendi pööratud antikeha kalibreeritakse nii, et tagatud oleks parim spetsiifilise/mittespetsiifilise signaali suhe. Seetõttu on igas analüüsis oluline järgida reagendi- ja proovimahu suhet.
5. Hüperleukotsütoosi korral lahjendage verd PBS-is nii, et saadav väärtus oleks ligikaudu 5 x 10^9 leukotsüüti/l kohta (18).
6. Teatud haigusseisundite (näiteks raske neerupuudulikkuse või hemoglobinopaatia) korral võib erütrotsüütide lüüsimine olla aeglane, mittetäielik või isegi võimatu. Sellisel juhul on enne värvimist soovitatav mononukleaarsete rakkude isoleerimine tihedusgradiendi (näiteks Ficoll-gradiendi) abil (19).
7. Inimesevastaste monoklonaalsete antikehadega ravitud patsientidel võib spetsiifiliste antigeenide tuvastamise võime väheneda või puududa, sest need on terapeutiliste antikehade poolt osaliselt või täielikult blokeeritud.
8. Anti-HLA-DR-Pacific Blue tulemuste tõlgendamisel tuleb arvestada patsiendi terviklikku kliinilist pilti, sh sümptomeid, kliinilist anamneesi, lisaanalüüside andmeid ja muud asjakohast teavet.

Vt näiteid ja viiteid lisast.

KAUBAMÄRGID

Beckman Coulter, stiliseeritud logo ning selles juhendis nimetatud ettevõtte Beckman Coulter toote- ja teenusemärgid on ettevõtte Beckman Coulter, Inc. kaubamärgid või registreeritud kaubamärgid Ameerika Ühendriikides ja teistes riikides.

Pacific Blue on ettevõtte Molecular Probes, Inc. kaubamärk.

LISATEAVE

Patsiendile / kasutajale / muule osapoolele Euroopa Liidus ja identse regulatsioonirežiimiga riikides (määrus (EL) nr 2017/746 in vitro diagnostikameditsiiniseadmete kohta), kui selle seadme kasutamise ajal või selle kasutamise tagajärjel on toimunud tõsine vahejuhtum, teatage sellest tootjale ja/või tema volitatud esindajale ning teie riiklikult pädevale asutusele.

Summary of Safety and Performance (Ohutuse ja kliinilise toimivuse kokkuvõte) on EUDAMED-andmebaasis: ec.europa.eu/tools/eudamed.

VERSIOONI AJALUGU

REDAKTSIOON AC:	Avaldamise kuupäev: oktoober 2019

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AW	Veebruar 2022
Värskendused, mis vastavad Beckman Coulteri ülemaailmse märgistamise poliitikale ja IVD-R (EL) 2017/746 nõuetele:	
Lisatud osad	BSI 2797 number, sihtkasutaja, kliiniline tähtsus, kontsentratsioon, täpsus, mõõtetäpsus, nullpiir ja tuvastuspiir, lisateave, versiooni ajalugu.
Lisatud informatsioon	Vaata osa „Piirangud“
Fraseerimine või tüpograafiline värskendamine	Vaata osasid Protseduur, Toimimine, Piirangud, Hoiatus ja ettevaatusabinõud, Säilitamine ja stabiilsus.
Eemaldatud osad	Kasutusotstarvete, reagentide, laborisisese korratavuse, lineaarsuse näited
Uuendatud jaotised	Kasutusotstarve, GHS-i ohuklassifikatsioon, Riknemise tunnused, Protseduur, Lisa.

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AX	aprill 2023
Uuendatud jaotised	Lisada kasahhi keel
Uuendatud jaotised	Säilitamine ja stabiilsus

Muudetud versioon	AY
Muutmise kuupäev	mai 2024
Värskendatud tõlked	**Kliiniline tähtsus:**
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Muudetud versioon	AZ
Muutmise kuupäev	juuli 2024
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Sümboli tähis

Sümbolite mõisted on kättesaadavad veebilehel beckman.com/techdocs (dokument nr B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	HLA-DR
Klon	Immu-357
Hibridom	X63 x balb/c
Imunogen	EBV-transformed cell line
Imunoglobulin	IgG1
Vrsta	Miš
Pročišćavanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	Pacific Blue
Molarni omjer	Pacific Blue / Ig: 5,9-7,6
λ ekscitacija	405 nm
Vršna emisija	455 nm
Pufer	PBS pH 7,2 uz 2 mg/mL BSA i 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugirano antitijelo Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Za *in vitro* dijagnostičku uporabu.

NAMJENA

To fluorokromom konjugirano antitijelo omogućuje kvalitativno i neautomatizirano prepoznavanje populacija stanica koje eksprimiraju antigen HLA-DR prisutan u humanim biološkim uzorcima uz pomoć protočne citometrije (pogledajte odjeljak „Uzorci" u nastavku).

NAČELO

Ovaj je test utemeljen na mogućnosti vezivanja specifičnih monoklonskih antitijela na antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično se bojenje leukocita izvodi inkubacijom uzorka s reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utječe, analiziraju se protočnom citometrijom.

Citometar toka mjeri difuziju svjetlosti i fluorescenciju stanica. Omogućuje razgraničavanje promatrane populacije unutar elektroničkog prozora definiranog na histogramu, koji stvara korelaciju između ortogonalne difuzije svjetlosti (bočnog raspršenja (BR)) i difuzije uskokutne svjetlosti (prednjeg raspršenja (PR)). Drugi histogrami koji kombiniraju dva od više različitih parametara dostupnih na citometru mogu se upotrebljavati kao pomoć u fazi ograđivanja ovisno o primjeni koju je odabrao korisnik.

Analizira se fluorescencija ograničenih stanica da bi se pozitivno obojeni događaji odvojili od neobojenih. Rezultati se izražavaju kao postotak pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobivene ograđivanjem.

PREDVIĐENI KORISNIK

Proizvod je namijenjen za profesionalnu laboratorijsku uporabu.

KLINIČKA RELEVANTNOST

Anti-HLA-DR-Pacific Blue antitijelo je na Anti-HLA-DR koje se koristi za prepoznavanje i karakteriziranje stanica koje eksprimiraju antigen HLA-DR protočnom citometrijom. Ovaj proizvod samostalno ne može generirati nikakav dijagnostički zaključak niti je tome namijenjen.

Kada se upotrebljava u kombinaciji s drugim markerima, ovaj se proizvod može upotrebljavati u jednoj ili više sljedećih funkcija:

- Kao pomoć prilikom postavljanja diferencijalne dijagnoze u hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu te za praćenje pacijenata s poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć prilikom postavljanja dijagnoze u pacijenata za koje se sumnja na imunodeficijenciju te za praćenje pacijenata s poznatom imunodeficijencijom.
- Za praćenje pacijenta s poznatom autoimunom bolešću ili poremećajem.
- Za nadzor postupka ili rezultata transplantacije.

Pogledajte sljedeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

UZORCI

Venska krv mora se uzeti sterilnim epruvetama koje kao antikoagulans sadrže EDTA sol.

Uzorke držite na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C) i nemojte ih tresti. Prije uzimanja testnog uzorka potrebno je homogenizirati uzorke pažljivim mućkanjem.

Uzorci venske krvi moraju se analizirati u roku od 24 sata od njihova uzimanja.

KONCENTRACIJA

Na web-mjestu www.beckman.com pogledajte Certifikat o analizi specifičan za lot koji upotrebljavate.

UPOZORENJE I MJERE OPREZA

1. Reagens nemojte upotrebljavati nakon isteka roka trajanja.
2. Nemojte zamrzavati.
3. Prije upotrebe pustite da dosegne sobnu temperaturu (18 – 25 °C).

4. Smanjite izlaganje svjetlu.
5. Izbjegavajte mikrobnu kontaminaciju reagensa ili može doći do netočnih rezultata.
6. Otopinama antitijela koje sadrže natrijev azid (NaN_3) potrebno je rukovati oprezno. Ne gutajte i izbjegavajte dodir s kožom, sluznicom i očima.

   Štoviše, natrijev azid u kiselom mediju može formirati potencijalno opasnu hidrazoičnu kiselinu. Ako je reagens potrebno odložiti u otpad, preporučuje se da ga razrijedite u velikoj količini vode prije nego što ga izlijete u odvodni sustav da biste izbjegli nakupljanje natrijeva azida u metalnim cijevima i spriječili opasnost od eksplozije.
7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno zaraznima te je njima potrebno rukovati oprezno (odnosno nositi zaštitne rukavice, odjeću i naočale).
8. Nikada ne pipetirajte ustima te izbjegavajte doticaj uzoraka s kožom, sluznicom i očima.
9. Epruvete s krvlju i otpadni materijal za rukovanje treba odložiti u jednokratne spremnike namijenjene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad potrebno je ukloniti u skladu s lokalnim zahtjevima.

KLASIFIKACIJA OPASNOSTI PREMA GHS-U

Nije klasificiran kao opasan

SDS Sigurnosni list dostupan je na adresi beckmancoulter.com/techdocs

POHRANA I STABILNOST

Reagens se mora čuvati na temperaturi između 2 i 8 °C te zaštićen od svjetlosti, kako prije, tako i poslije otvaranja bočice.

Vijek trajanja zatvorene bočice prema ispitivanju stabilnosti: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dana.

DOKAZ PROPADANJA

Svaka promjena fizičkog izgleda reagensa može upućivati na propadanje te se reagens ne smije upotrebljavati.

Ako su vam potrebne dodatne informacije ili ste primili oštećen proizvod, nazovite korisnički servis tvrtke Beckman Coulter na 800-742-2345 (u SAD-u ili Kanadi) ili se obratite lokalnom predstavniku tvrtke Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans s natrijevim azidom može stvoriti eksplozivne spojeve u metalnim cjevovodima. Pogledajte bilten NIOSH: Explosive Azide Hazard (Opasnost od eksplozije azida) (16. 8. 76.).
Da biste spriječili moguće taloženje komponenata azida, prilikom odlaganja nerazrijeđenog reagensa u otpad odvodne cijevi isperite vodom. Odlaganje natrijeva azida u otpad mora biti u skladu s odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU DIO KOMPLETA:

- Epruvete za uzorke i materijal potreban za uzimanje uzoraka.
- Automatske pipete s jednokratnim nastavcima za 10, 100 i 500 µL.
- Plastične hemolitičke epruvete.
- Reagens za liziranje eritrocita s fazom pranja nakon liziranja. Na primjer: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primjer: Otopina za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotipska kontrola Pacific Blue: reagens IOTest (ref. A74764).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijeva fosfata, 0,145 M natrijeva klorida, pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska miješalica (tip vorteks).
- Citometar toka.

POSTUPAK S REAGENSOM VERSALYSE

Za svaki uzorak koji se analizira može se uz testnu epruvetu dodati jedna kontrolna epruveta u kojoj su stanice pomiješane u prisutnosti izotipskih kontrola (ref. A74764).

1. Dodajte 10 µL konjugiranog antitijela specifičnog za IOTest u svaku testnu epruvetu i, ako je potrebno, 10 µL izotipske kontrole u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µL testnog uzorka u svaku epruvetu. Epruvete polako promiješajte u vorteks-miješalici.
3. Inkubirajte od 15 do 20 min na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C), zaštićeno od svjetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje eritrocita. Pogledajte brošuru VersaLyse (ref. A09777) i po mogućnosti slijedite postupak „uz istovremeno fiksiranje" koji se sastoji od dodavanja 1 mL svježe pripremljene mješavine za fiksiranje i liziranje. Odmah promiješajte u vorteks-miješalici jednu sekundu i inkubirajte 10 min pri sobnoj temperaturi, zaštićeno od svjetlosti.
5. Centrifugirajte 5 min pri 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću 3 mL PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Uklonite supernatant aspiracijom i stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću:

- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a plus 0,1 % formaldehida ako se pripravke planira čuvati manje od 24 sati. (PBS s 0,1 % formaldehida možete pripremiti razrjeđivanjem 12,5 µL otopine za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800) pri njezinoj 10X koncentraciji u 1 mL PBS-a).

- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a bez formaldehida, ako pripravak treba analizirati u roku od 2 sati.

Napomena: U svakom slučaju pripravke čuvajte zaštićene od svjetlosti na temperaturi između 2 i 8 °C.

OČEKIVANE VRIJEDNOSTI

U našim su laboratorijima obrađeni uzorci pune krvi naizgled zdravih donora (njih 25) pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati prikupljeni pomoću tog reagensa u svrhu brojanja pozitivnih relevantnih događaja navedeni su u tablici u nastavku:

Pozitivna ciljna vrijednost	Broj	Srednja vrijednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti	25	26,53	12,71	47,92
Monociti	25	97,02	2,77	2,86

Te su vrijednosti samo okvirne. Svaki laboratorij mora utvrditi vlastite očekivane vrijednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o performansama dobivaju se prethodno opisanim postupkom na manje od 24 sata starim uzorcima krvi prethodno prikupljenima u sterilne epruvete uz EDTA sol kao antikoagulans. Analiza se provodi u roku od 2 sata nakon imunobojenja.

SPECIFIČNOST

Monoklonalno protutijelo Immu357 prepoznaje epitope nošene na monomornom 29 - 33 kDa proteinu identificiranom kao HLA-DR. HLA sustav (Antigen humanog leukocita) je naziv dat glavnim kompleksima histokompatibilnosti (MHC) kod ljudi. Kodirani su po 5 loci (DM, DO, DP, DQ i DR) D lokusa, HLA molekule razreda II također se nazivaju i HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ i HLA-DR antigeni (13,14). Izražaj razreda II antigena ograničen je na stanice predstavljene antigenom, npr. B limfociti, monociti/makrofazi, dendrici i Langerhansove stanice kože (14,15). Na T limfocitima, HLA-DR antigen je izražen samo nakon aktivacije (16). Matične stanice i hemopoetski progenitori izražavaju ga do određene faze u njihovim diferencijacijama (14,17).

PRECIZNOST

Postotne pozitivne vrijednosti utvrđene su pomoću pune krvi. Svaki je uzorak obrađen 4 puta, dvaput dnevno tijekom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagensa s monoklonskim antitijelima Anti-HLA-DR-Pacific Blue. Mjerenja (% pozitivnih vrijednosti) provedena su s pomoću citometra toka Navios. Analiza je provedena na temelju CLSI metode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procjena radnih značajki preciznosti metoda kvantitativnog mjerenja).

Naši kriteriji prihvatljivosti ovise o broju pozitivnih događaja izmjerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivni događaj < 1500, CV < 15 %
- Ako je pozitivni događaj > 1500, CV < 10 %

Limfociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrijednost) = 1154							
	Među operatorima	Među citometrima	Unutar lota	Među lotovima	Među obradama	Unutar obrade	Ukupno
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrijednost) = 1197							
	Među operatorima	Među citometrima	Unutar lota	Među lotovima	Među obradama	Unutar obrade	Ukupno
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost mjerenja Anti-HLA-DR-Pacific Blue procijenjena je usporedbom rezultata s referentnim reagensom kao predikatom na skupu uzoraka pune krvi obrađenima na protočnom citometru Navios. Odstupanje između testa i referentnog reagensa utvrđeno je na temelju razlike između rezultata testa. Ako je odstupanje unutar dopuštenog raspona pogreške ili ako p-vrijednost upućuje na to da nema značajne razlike (> 0,05), rezultati testa za dva reagensa smatraju se istovjetnima.

Dobiveni rezultati sažeti su u tablici u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivna ciljna vrijednost	Srednja vrijednost Δ	Kriterij stanica Δ %	p-vrijednost	REZULTATI
Limfociti	-0,26	<5	0,557	PASS
Monociti	1,04	<5	1,191	PASS

GRANICA SLIJEPE PROBE I GRANICA DETEKCIJE

Ispitivanje je izvedeno u skladu s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Procjena sposobnosti otkrivanja za postupke mjerenja u kliničkim laboratorijima). Granica detekcije (LOD) – najniža koncentracija analita koja se može dosljedno otkriti. Dobiveni rezultati sažeti su u sljedećoj tablici:

Positive Target	Granica slijepe probe (stanica/µL)	Granica detekcije (stanica/µL)
Limfociti	2	4
Monociti	1	3

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti pogrešne rezultate ako citometar nije savršeno poravnat, ako fluorescentna curenja nisu pravilno kompenzirana i ako regije nisu pažljivo pozicionirane.
2. Poželjno je upotrebljavati tehniku liziranja pomoću RBC-a uz korak pranja jer ovaj reagens nije optimiziran za tehnike liziranja „bez pranja”.
3. Točni i ponovljivi rezultati dobivat će se sve dok se postupci izvode u skladu s tehničkom brošurom i u skladu s dobrim laboratorijskim praksama.
4. Konjugirano antitijelo tog reagensa kalibrirano je tako da pruža najbolji omjer specifičnog i nespecifičnog signala. Zato je važno pridržavati se omjera volumena reagensa i volumena uzorka prilikom svakog testiranja.
5. U slučaju hiperleukocitoze razrijedite uzorak u PBS-u da biste dobili vrijednost od približno 5 x 10^9 leukocita/L (18).
6. Pri određenim bolestima, kao što je ozbiljno zatajenje bubrega ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak i nemoguće. U tom se slučaju prije bojenja preporučuje izoliranje jednojezgrenih stanica s pomoću gradijenta gustoće (na primjer, Ficoll) (19).
7. U pacijenata koji primaju terapiju monoklonskim antihumanim antitijelima detekcija određenih ciljanih antigena može biti smanjena ili nepostojeća zbog djelomičnog ili potpunog blokiranja terapijskih antitijela.
8. Rezultate Anti-HLA-DR-Pacific Blue treba tumačiti u kontekstu ukupne kliničke slike pacijenta, uključujući simptome, anamnezu, podatke iz dodatnih testova i druge odgovarajuće informacije.

Za primjere i reference pogledajte Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizirani logotip te oznake proizvoda i usluga tvrtke Beckman Coulter žigovi su ili registrirani žigovi tvrtke Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim državama.

Pacific Blue je žig tvrtke Molecular Probes, Inc.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta / korisnika / treću stranu u Europskoj uniji i u državama s identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskim proizvodima za in vitro dijagnostiku): ako tijekom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe dođe do ozbiljnog štetnog događaja, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovu ovlaštenom zastupniku te nadležnom nacionalnom tijelu.

Summary of Safety and Performance (Sažetak podataka o sigurnosti i performansama) potražite u bazi podataka EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

POVIJEST REVIZIJA

REVIZIJA AC:	Datum objave: listopad 2019.

REVIZIJA	**Datum objave**
AW	Veljača 2022.
Ažuriranja radi usklađivanja s pravilnikom o globalnom označavanju tvrtke Beckman Coulter i u skladu sa zahtjevima uredbe (EU)2017/746 o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima (IVD-R):	
Dodani odjeljci	Broj BSI 2797, Ciljni korisnik, Klinička relevantnost, Koncentracija, Preciznost, Točnost, Granica slijepe probe i granica detekcije, Dodatne informacije, Povijest revizija.
Dodane informacije	Pogledajte odjeljke Ograničenja
Preformuliranje ili tipografska ažuriranja	Pogledajte odjeljke Postupak, Performanse, Ograničenja, Upozorenje i mjere opreza, Pohrana i stabilnost.
Uklonjeni odjeljci	Primjer kliničkih primjena, Reagensi, Unutarlaboratorijska obnovljivost, Linearnost
Ažurirani odjeljci	Namjena, Klasifikacija opasnosti prema GHS-u, Dokaz pogoršanja stanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum objave**
AX	Travanj 2023
Ažurirani odjeljci	Dodati kazaški
Ažurirani odjeljci	Čuvanje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Svibanj 2024
Ažurirani prijevodi	**Klinička relevantnost:**
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Srpanj 2024
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Pojmovnik simbola

Pojmovnik simbola dostupan je na web-mjestu beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Спецификации
Специфичност	HLA-DR
Клонинг	Immu-357
Хибридома	X63 x balb/c
Имуноген	EBV-transformed cell line
Имуноглобулин	IgG1
Вид	Мишка
Пречистване	Афинитетна хроматография
Флуорохром	Pacific Blue
Моларно съотношение	Pacific Blue / Ig: 5,9-7,6
λ възбуждане	405 nm
Емисионен пик	455 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 mg/mL BSA и 0,1 % NaN_3

IOTest
Конюгирано антитяло
Anti-HLA-DR
-Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

За *in vitro* диагностика.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Това флуорохром-конюгирано антитяло позволява качествена и неавтоматизирана идентификация с помощта на поточна цитометрия на клетъчни популации, експресиращи HLA-DR антиген, присъстващ в човешки биологични проби (вижте раздел „Проби“ по-долу).

ПРИНЦИП

Този тест се базира на способността на специфични моноклонални антитела да се свързват с антигенни детерминанти, експресирани от левкоцитите.

Специфично оцветяване на левкоцитите се извършва чрез инкубиране на пробата с реактива IOTest. След това червените кръвни телца се отстраняват чрез лизиране, а левкоцитите, които не се повлияват от този процес, се анализират чрез поточна цитометрия.

Поточният цитометър измерва разсейването на светлината и флуоресценцията на клетките. Това прави възможно разграничаването на популацията, която се изследва, в електронния прозорец, дефиниран на една хистограма, която корелира с ортогоналната дифузия на светлината (странично разсейване) и дифузията на тесноъгълна светлина (предно разсейване). Други хистограми, комбиниращи два от различните параметри на разположение на цитометъра, могат да бъдат използвани като основа в етапа на определяне на област за анализ в зависимост от приложението, избрано от потребителя.

Флуоресценцията на разграничените клетки се анализира, за да се разграничат позитивно оцветените събития от неоцветените такива. Резултатите се изразяват като процент на положителни събития във връзка с всички събития, получени от определянето на областта за анализ.

ПРЕДВИДЕН ПОТРЕБИТЕЛ

Този продукт е предназначен само за лабораторна професионална употреба.

КЛИНИЧНА ЗНАЧИМОСТ

Anti-HLA-DR-Pacific Blue е антитяло Anti-HLA-DR, използвано за идентифициране и характеризиране чрез поточна цитометрия на клетки, експресиращи HLA-DR антиген. Този продукт не може и не е предназначен самостоятелно да генерира каквото и да е диагностично заключение.

Когато се използва в комбинация с други маркери, този продукт може да се използва в една или повече от следните функции:

- Като помощно средство при поставяне на диференциална диагноза на хематологично абнормни пациенти, суспектни за хематопоетично новообразуване, и за проследяване на пациенти с известно хематопоетично новообразуване.
- Като помощно средство за диагностициране на пациенти със суспектен имунодефицит и проследяване на пациенти с известен имунодефицит.
- За проследяване на пациенти с известно автоимунно заболяване или нарушение.
- За проследяване на процес или резултати от трансплантация.

Вижте следните справки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

ПРОБИ

Венозна кръв трябва да се взема в стерилни епруветки, съдържащи сол EDTA като антикоагулант.

Пробите трябва да бъдат съхранявани при стайна температура (18–25°C) и не трябва да се разклащат. Пробите трябва да бъдат хомогенизирани чрез внимателно смесване, преди да се вземе пробата за теста.

Пробите трябва да бъдат анализирани в рамките на 24 часа от венопункturата.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Вижте Сертификата за анализ за конкретната партида на www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Не използвайте реактива след изтичане на срока на годност.
2. Не замразявайте.

3. Оставете на стайна температура (18–25°C) преди употреба.
4. Минимизирайте излагането на светлина.
5. Избягвайте микробно замърсяване на реактивите, в противен случай е възможно да се получат погрешни резултати.
6. С разтворите на антитела, съдържащи натриев азид (NaN_3), трябва да се работи внимателно. Не приемайте вътрешно и избягвайте всякакъв контакт с кожата, лигавицата и очите.

   В допълнение, в киселинна среда натриевият азид може да образува потенциално опасната хидразоена киселина. Ако тя трябва да се изхвърли, препоръчва се реактивът да се разреди в голям обем вода, преди да се излее в дренажната система, за да се избегне натрупването на натриев азид в металните тръби и да се предотврати риск от експлозия.
7. Всички кръвни проби трябва да се считат за потенциално заразни и с тях трябва да се борави внимателно (по-специално: носене на защитни ръкавици, облекло и очила).
8. Никога не пипетирайте с уста и избягвайте всякакви контакти между пробите и Вашата кожа, лигавица и очи.
9. Епруветките за кръв и материалите за еднократна употреба, използвани за боравене, трябва да се изхвърлят във временни контейнери, предназначени за изгаряне.
10. Реактивите и отпадъците трябва да бъдат елиминирани в съответствие с местните изисквания.

КЛАСИФИЦИЯ НА ОПАСНОСТИТЕ ПО GHS

Не е класифициран като опасен

SDS Информационният лист за безопасност е наличен на адрес beckmancoulter.com/techdocs

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Този реактив трябва да се съхранява при температури между 2 и 8°C и да бъде защитен от светлина преди и след отваряне на флакона.

Изследване на срок на годност при затворена епруветка и стабилност: 1095 дни.

Стабилност на отворен флакон: реактивът е стабилен за 180 дни.

ДАННИ ЗА ВЛОШАВАНЕ

Всяка промяна във физическия изглед на реактивите може да е признак за влошаване и реактивът не трябва да бъде използван.

За допълнителна информация или при получаване на повреден продукт се свържете с отдела за обслужване на клиенти на Beckman Coulter на тел. 800-742-2345 (САЩ или Канада) или се свържете с местния представител на Beckman Coulter.

СЪДЪРЖАНИЕ

Консервантът натриев азид може да образува експлозивни съединения в метални отводнителни тръбопроводи. Вижте Бюлетина на NIOSH: Explosive Azide Hazard (Бюлетин на Националния институт по безопасност и хигиена на труда: Опасност от експлозия на азид) (16/8/76).
За да избегнете възможно натрупване на азидни съединения, промивайте канализационните тръби с вода след изхвърляне на неразтворен реактив. Изхвърлянето на натриев азид трябва да бъде в съответствие с местните разпоредби.

НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СА ДОСТАВЕНИ С КОМПЛЕКТА:

- Епруветки за проби и материали, необходими за вземане на проби.
- Автоматични пипети с накрайници за еднократна употреба за 10, 100 и 500 µL.
- Пластмасови хемолизни епруветки.
- Реактив за лизис на червени кръвни телца с етап на отмиване след лизис. Например: VersaLyse (Реф. A09777).
- Реактив за левкоцитна фиксация. Например: IOTest 3 фиксиращ разтвор (Реф. A07800).
- Изотипна контрола Pacific Blue: Реактив IOTest (Реф. № A74764).
- Буфер (PBS: 0,01 M натриев фосфат; 0,145 M натриев хлорид; pH 7,2).
- Центрофугирайте.
- Автоматичен агитатор (тип вортекс).
- Поточен цитометър.

ПРОЦЕДУРА С РЕАКТИВ VERSALYSE

За всяка анализирана проба освен тестовата епруветка може да се добави и една контролна епруветка, в която клетките да са смесени в присъствието на изотипната контрола (Реф. A74764).

1. Добавете 10 µL специфично IOTest конюгирано антитяло във всяка тестова епруветка и, ако е необходимо, 10 µL изотипна контрола във всяка контролна епруветка.
2. Добавете 100 µL от тестовата проба във всяка епруветка. Внимателно разбъркайте във вортекс епруветките.
3. Инкубирайте за 15 до 20 минути при стайна температура (18–25°C), като предпазвате от светлина.
4. След това се изпълнява лизиране на червените кръвни телца. Вижте брошурата на VersaLyse (Реф. A09777) и изпълнете за предпочитане процедурата, наречена „със съпътстващо фиксиране“, която се състои от добавяне на 1 mL от сместа „Фиксиране и лизиране“, приготвена за незабавно приложение. Незабавно завъртете епруветките с вортекс за една секунда и инкубирайте за 10 минути при стайна температура на защитено от светлина място.
5. Центрофугирайте 5 минути при 150 x g при стайна температура.
6. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация.
7. Разтворете отново клетъчната утайка, като използвате 3 mL PBS.

8. Повторете стъпка 5.
9. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация и ресуспендирайте клетъчната утайка с:

- 0,5 mL или 1 mL PBS плюс 0,1 % формалдехид, ако препаратите трябва да бъдат съхранявани по-малко от 24 часа. (Може да се получи 0,1 % формалдехид PBS чрез разреждане на 12,5 µL разтвор за фиксиране IOTest 3 (Реф. A07800) при 10X концентрация в 1 mL PBS).
- 0,5 mL или 1 mL PBS без формалдехид, ако препаратите ще бъдат анализирани в рамките на 2 часа.

Забележка: Във всички случаи съхранявайте препаратите при температури между 2 и 8°C и защитени от светлина.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

В нашите лаборатории бяха третирани пробите цялостна кръв на 25 видимо здрави донори с описания по-горе реактив. Получените с този реактив резултати за броя на положителните събития, които са от значение, са дадени в таблицата по-долу:

Положителна цел	Брой	Средна (%)	SD	CV (%)
Лимфоцити	25	26,53	12,71	47,92
Моноцити	25	97,02	2,77	2,86

Тези стойности са само представителни. Всяка лаборатория трябва да установи свои очаквани стойности от местната популация нормални донори.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данните за ефективността се получават с помощта на описаната по-горе процедура за кръвни проби до 24 часа, предварително събрани в стерилни епруветки със сол EDTA като антикоагулант. Анализ се извършва в рамките на 2 часа след имунооцветяване.

СПЕЦИФИЧНОСТ

Моноклоналното антитяло Immu357 разпознава епитоп, пронасян върху моноформен 29 - 33 kDa протеин идентифициран като HLA-DR. Системата HLA (човешки левкоцитен антиген) е името, дадено на основния комплекс на тъканна съвместимост (MHC) при хората. Кодирани от 5 местонахождения (DM, DO, DP, DQ и DR) на местонахождението D, молекулите на HLA клас II се наричат също така антигени HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ и HLA-DR (13,14). Проявлението на клас II антигени е ограничено до антиген-представящите клетки, т.е. на B-лимфоцитите, моноцитите/ макрофагите, дендритните и Лангерхансовите клетки на кожата (14,15). При T-лимфоцити антигенът HLA-DR се проявява само след активиране (16). Стволовите клетки и хемопоетичните прогенитори го проявяват до определен етап на своето диференциране (14,17).

ТОЧНОСТ

Процентните положителни стойности са определени посредством цялостна кръв. Всяка проба е обработена 4 пъти, два пъти на ден за 1 ден на 2 инструмента, като са използвани 2 партиди реактиви с Anti-HLA-DR-Pacific Blue моноклонално антитяло. Измерванията (% положителни) са направени на поточен цитометър Navios. Анализът е проведен на основата на CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods. (Метод EP5-A2 на CLSI: Оценка на точността на методите за количествено измерване.)

Нашите критерии за приемливост зависят от броя положителни събития, измерени за всяка популация:

- Ако положителните събития са < 1500, CV < 15 %
- Ако положителните събития са > 1500, CV < 10 %

Лимфоцити							
Брой положителни събития (средно) = 1154							
	Между оператори	Между цитометри	Вътрепартидна	Между партиди	Между цикли	В рамките на цикъл	Общо
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
РЕЗУЛТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Моноцити							
Брой положителни събития (средно) = 1197							
	Между оператори	Между цитометри	Вътрепартидна	Между партиди	Между цикли	В рамките на цикъл	Общо
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
РЕЗУЛТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТ

Точността на Anti-HLA-DR-Pacific Blue е оценена чрез сравняване на резултатите с референтен реактив като потвърждение върху група от проби от цялостна кръв, обработени на поточен цитометър Navios. Отклонението между тестовия и референтния реактив се определя въз основа на разликата между резултатите от теста. Ако отклонението е в рамките на допустимия обхват на грешка или p-стойността не показва значима разлика (> 0,05), резултатите от теста за двата реактива се считат за еквивалентни.

Получените резултати са обобщени в таблицата, дадена по-долу:

Брой донори = 25				
Положителна цел	Средна Δ	Критерии Δ % клетки	p-стойност	РЕЗУЛТАТИ
Лимфоцити	-0,26	<5	0,557	PASS
Моноцити	1,04	<5	1,191	PASS

ГРАНИЦА НА СЛЯПА ПРОБА И ГРАНИЦА НА ОТКРИВАНЕ

Проведено е проучване в съответствие с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оценка на възможността за детекция за измервателни процедури в клинични лаборатории). Границата на откриване (LOD) е най-ниската концентрация на аналита, която може да бъде стабилно открита. Получените резултати са обобщени в следващата таблица:

Positive Target	Граница на сляпата проба (клетки/µL)	Граница на откриване (клетки/µL)
Лимфоцити	2	4
Моноцити	1	3

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Поточната цитометрия може да даде неточни резултати, ако цитометърът не е бил идеално приравнен, ако течове на флуоресценция не са били правилно компенсирани или ако регионите не са били внимателно позиционирани.
2. Предпочита се използването на техника за лизиране на червени кръвни клетки със стъпка за промиване, тъй като този реактив не е оптимизиран за техники за лизиране „без промиване“.
3. Ще бъдат получени точни и възпроизводими резултати, при условие, че използваните процедури са в съответствие с техническата листовка и са съвместими с добрите лабораторни практики.
4. Конюгираното антитяло на този реактив е калибрирано, за да се осигури най-доброто съотношение между специфичен сигнал/неспецифичен сигнал. Затова е важно да се придържате към съотношението обем на реактива/обем на пробата във всеки тест.
5. В случай на хиперлевкоцитоза кръвта се разрежда в PBS, така че да се получи стойност приблизително 5 x 10^9 левкоцити/L (18).
6. При определени болестни състояния, например тежка бъбречна недостатъчност или хемоглобинопатии, лизирането на червените кръвни телца може да бъде бавно, непълно или дори невъзможно. В този случай се препоръчва да се изолират мононуклеарни клетки, като се използва градиент на плътността (Ficoll например) преди оцветяване (19).
7. При пациенти, лекувани с терапии с античовешко моноклонално антитяло, отриването на специфични целеви антигени може да бъде занижено или да липсват поради частично или цялостно блокиране от терапевтичното антитяло.
8. Резултатите от Anti-HLA-DR-Pacific Blue трябва да се интерпретират спрямо общото клинично представяне на пациента, включващо: симптоми, клинична анамнеза, данни от допълнителни тестове и друга съответстваща информация.

Вижте Приложението за примери и справки.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ

Beckman Coulter, стилизираното лого и марките на продуктите и услугите на Beckman Coulter, присъстващи в този документ, са търговски марки или регистрирани търговски марки на Beckman Coulter, Inc. в САЩ и в други държави.

Pacific Blue е търговска марка на Molecular Probes, Inc.

ДОПЪЛНИТЕЛНА ИНФОРМАЦИЯ

За пациенти/потребители/трети лица в Европейския съюз и в страни с идентичен регулаторен режим (Регламент 2017/746/ЕС относно ин витро диагностичните медицински изделия); ако по време на използването на това изделие или в резултат на използването му е настъпил сериозен инцидент, моля, съобщете за това на производителя и/или неговия упълномощен представител и на Вашия национален орган.

Summary of Safety and Performance (Обобщение на безопасността и работата) е налично в базата данни EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ХРОНОЛОГИЯ НА РЕДАКЦИИТЕ

РЕДАКЦИЯ AC:	Дата на издаване: октомври 2019 г.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AW	февруари 2022 г.
Актуализации с цел съответствие с Глобалната политика за етикетиране на Beckman Coulter и съгласно изискванията на Регламент (ЕС) 2017/746 за медицинските изделия за ин витро диагностика (IVD-R):	
Добавени раздели	Номер 2797 на BSI, Предвиден потребител, Клинична значимост, Концентрация, Прецизност, Точност, Граница на сляпата проба и граница на откриване, Допълнителна информация, Хронология на редакциите.
Добавена информация	Вижте разделите „Ограничения“
Актуализации във формулировките или типографията	Вижте раздели „Процедура“, „Работни характеристики“, „Ограничения“, „Предупреждения и предпазни мерки“, „Съхранение и стабилност“.
Премахнати раздели	Пример за клинични приложения, Реактиви, Вътрешнолабораторна възпроизводимост, Линейност
Актуализирани раздели	Предвидена употреба, Класификация на опасностите по GHS, Признаци за влошаване, Процедура, Приложение.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AX	Април 2023
Актуализирани раздели	Добавен е казахски
Актуализирани раздели	Съхранение и стабилност

Редактирана версия	AY
Редактирана дата	Май 2024
Актуализирани преводи	**Клинична значимост:**
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Редактирана версия	AZ
Редактирана дата	Юли 2024
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Легенда на символите

Речник на символите е наличен на beckman.com/techdocs (номер на документа B60062)

	規格
專一性	HLA-DR
轉殖	Immu-357
融合瘤	X63 x balb/c
免疫原	EBV-transformed cell line
免疫球蛋白	IgG1
物種	小鼠
純化	親和層析法
螢光染料	Pacific Blue
莫耳比率	Pacific Blue/Ig： 5.9-7.6
λ 激發	405 nm
發射峰	455 nm
緩衝劑	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 及 0.1% NaN_3

IOTest
結合抗體
Anti-HLA-DR
-Pacific Blue

REF B36291 50 次檢測；0.5 mL, 10 µL/檢測

***體外*診斷用。**

預期用途

使用此螢光染料結合的抗體，能夠以流式細胞分析儀器對人體生物檢體中出現的表現 HLA-DR 抗原之細胞群進行非自動化定性鑑別（請參閱下列「檢體」部分）。

原理

本測試的基礎在於特異性單株抗體結合由白血球表現之抗原決定簇的能力。

以 IOTest 試劑與檢體反應，對白血球進行特異性染色。然後以溶解作用去除紅血球，而白血球不受此程序影響，並可透過流式細胞分析儀器進行分析。

流式細胞分析儀器可測量細胞的光漫射和螢光。這樣可以界定直方圖上定義的電子窗口內的目標群體，直方圖可以關聯光的正交漫射（側向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。細胞分析儀器上可用之結合兩個不同參數的其他直方圖，可用於支持圈選階段，這取決於使用者所選的應用。

為了區分陽性染色事件和未染色事件，對劃定細胞的螢光進行了分析。結果表示為陽性事件相對於圈選所得全部事件的百分比。

預期使用者

本產品應當用於實驗室內的專業用途。

臨床相關性

Anti-HLA-DR-Pacific Blue 是一種 Anti-HLA-DR 抗體，以流式細胞技術使用此抗體庫可辨認表達 HLA-DR 抗原的細胞並鑑別其特徵。不能且不應單獨使用此產品做出任何診斷結論，其並非用於此用途。

本產品搭配其他標誌物使用時，可用於以下一或多個功能：

- 可輔助疑似罹患造血組織腫瘤之血液異常患者的鑑別診斷，並可監測已知罹患造血組織腫瘤的患者。
- 可輔助診斷疑似罹患免疫不全疾病的患者，並監測已知罹患免疫不全疾病的患者。
- 可監測已知罹患自體免疫疾病或異常的患者。
- 監測移植過程或結果。

請參閱下列參考資料：

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

檢體

靜脈血必須使用無菌試管抽取，此無菌試管中含有 EDTA 鹽作為抗凝劑。

檢體應存放在室溫 (18~25°C)，且不得搖晃。取用測試檢體前，應將檢體輕輕攪動，使之均勻化。

檢體必須在靜脈穿刺後 24 小時內進行分析。

濃度

請參閱 www.beckman.com 參閱各批次專屬的分析證書。

警告和預防措施

1. 請勿使用過期試劑。
2. 切勿冷凍。
3. 使用前，請將其恢復至室溫 (18~25°C)。
4. 儘量避免陽光直射。
5. 請避免試劑受到微生物污染，否則可能會出現錯誤結果。
6. 含有疊氮化鈉 (NaN_3) 的抗體溶液應謹慎處理。請勿內服，並避免接觸皮膚、黏膜和眼睛。

此外，在酸性介質中，疊氮化鈉可形成具有潛在危害的疊氮酸。若需要對其進行處置，建議在試劑倒入排水系統前以大量清水稀釋，避免疊氮化鈉在金屬管道中累積並預防爆炸。

7. 所有血液檢體必須視為具有潛在傳染性，且必須小心處理（務必穿戴防護手套、防護衣和護目鏡）。
8. 切勿用嘴吸液，並避免檢體接觸皮膚、黏膜和眼睛。
9. 用於處理的血液試管和一次性材料應放入焚化專用的特殊容器中處置。
10. 應根據當地要求清除試劑和廢棄物。

GHS 危害分類

未歸類為危險物質

SDS 安全性資料表載於 beckmancoulter.com/techdocs

存儲和穩定性

在打開試劑瓶前後，試劑必須避光保存於 2~8°C。

穩定性研究的封閉式藥瓶有效期限：1095 天。

開瓶後穩定性：試劑穩定性可維持 180 天。

變質的證據

試劑外觀的任何變化表示可能發生變質，因此不應使用該試劑。

如需瞭解其他資訊，或如果收到已損壞的產品，請撥打 800-742-2345（美國或加拿大）聯絡貝克曼庫爾特客戶服務部，或聯絡您當地的貝克曼庫爾特代表。

內容物

疊氮化鈉防腐劑可能會在金屬排水管道中形成爆炸性化合物。 請參閱 NIOSH Bulletin： Explosive Azide Hazard（爆炸性疊氮化物危害）(76/8/16)。為防止疊氮化合物可能累積，丟棄未稀釋的試劑後請用水沖洗污水管。必須依照相關當地法規丟棄疊氮化鈉。

試劑盒未提供但卻需要的材料：

- 採樣時需要採樣試管和材料。
- 帶有可吸取 10、100 和 500 µL 一次性吸頭的自動移液器。
- 塑膠溶血試管。
- 用於溶解後洗滌階段的紅血球溶解試劑。舉例：VersaLyse (參考 A09777)。
- 白血球固定試劑。舉例：IOTest 3 固定液 (參考 A07800)。
- 同型品管劑 Pacific Blue：IOTest 試劑 (參考 A74764)。
- 緩衝劑 (PBS：0.01 M 磷酸鈉；0.145 M 氯化鈉；pH 7.2）。
- 離心機。
- 自動攪拌器（漩渦型）。
- 流式細胞分析儀器。

使用 VERSALYSE 試劑的程序

對於已分析的每項檢體，除使用測試試管外，可再增加一個品管劑試管，以在其中混合細胞與同型品管劑 (參考 A74764)。

1. 向每個測試試管添加 10 µL 特異性 IOTest 結合抗體，如果需要，向每個質控試管添加 10 µL 同型質控品。
2. 向每個試管中添加 100 µL 測試檢體。輕輕漩渦振盪試管。
3. 在室溫 (18~25°C) 下避光反應 15~20 分鐘。
4. 然後將紅血球溶解。請參閱 VersaLyse (參考 A09777) 的手冊，最好按照名為「共伴固定」的程序操作，其包含添加臨時製備的 1 mL「固定加溶解」混合物。立即震盪 1 秒後，在室溫下避光反應 10 分鐘。
5. 在室溫下以 150 x g 離心 5 分鐘。
6. 吸除上清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新懸浮細胞團塊。
8. 重複第 5 步。
9. 吸除上清液並按照以下方式重新懸浮細胞團塊：

- 若製劑存放時間不超過 24 小時，則以 0.5 mL 或 1 mL PBS 加 0.1% 甲醛。（可在 1 mL PBS 中稀釋 10X 濃度的 12.5 µL IOTest 3 固定液 (參考 A07800)，得到含有 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 若製劑將在 2 小時內分析，使用 0.5 mL 或 1 mL PBS（無甲醛）。

註：在所有情況下，將製劑在 2~8°C 避光保存。

預期值

在我們的實驗室中，採用上述試劑處理 25 名明顯健康的捐贈者的全血檢體。使用該試劑進行陽性目標事件計數得到的結果如下表所示：

陽性目標	數量	平均值 (%)	SD	CV (%)
淋巴球	25	26.53	12.71	47.92
單核球	25	97.02	2.77	2.86

這些數值是具代表性的參考值。每個實驗室都應運用當地正常捐贈者族群的檢測結果，自行確立適用的預期值。

性能

對於之前採集在無菌試管（含有 EDTA 鹽作為抗凝劑）中短於 24 小時的血液檢體，使用上面描述的程序獲取了性能資料。在免疫染色後的 2 小時內進行分析。

專一性

單株抗體 Immu357 識別單型 29 - 33 kDa 蛋白（確定為 HLA-DR）上攜帶的表位。人類白細胞抗原 (HLA) 系統是對人體主要組織相容性復合體 (MHC) 的命名。HLA II 類分子由五種基因座（DM、DO、DP、DQ 和 DR）進行編碼，也稱作 HLA-DM、HLA-DO、HLA-DP、HLA-DQ 和 HLA-DR 抗原 (13,14)。II 類抗原表達僅限於表達抗原的細胞，例如 B 淋巴細胞、單核細胞/巨噬細胞、皮膚上的樹狀細胞和朗格漢斯細胞 (14,15)。在 T 淋巴細胞中，HLA-DR 抗原僅在激活後表達 (16)。干細胞和造血祖細胞在其進入特定分化階段後表達 (14,17)。

準確度

使用全血測定了百分比陽性值。每項檢體皆使用 2 個批次的 Anti-HLA-DR-Pacific Blue 單株抗體試劑，以 2 台儀器 1 天運行 2 次，共運行了 4 次。使用 Navios 流式細胞分析儀器檢測結果（陽性 %）。根據 CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：評估定量檢測方法的準確度性能）進行分析。

我們的接受標準視各族群所檢測的陽性事件數量而定：

- 若陽性事件數量 < 1,500，則 CV < 15%
- 若陽性事件數量 > 1,500，則 CV < 10%

淋巴球							
陽性事件數量（平均值）= 1154							
	各操作者間	各台細胞分析儀器間	批內	批間	各次執行間	各次執行內	總計
CV (%)	1.99	3.40	3.26	0.78	0.87	2.43	4.77
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

單核球							
陽性事件數量（平均值）= 1197							
	各操作者間	各台細胞分析儀器間	批內	批間	各次執行間	各次執行內	總計
CV (%)	0.15	0.49	0.42	0.12	0.11	0.38	0.65
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

準確性

評估 Anti-HLA-DR-Pacific Blue 準確性的方式，是比較它與參考試劑用於添加了陽性細胞的一組全血檢體，在 Navios 流式細胞分析儀器上進行化驗時，其結果有何差異。根據測試結果間的差異，測定了測試與參考試劑之間的偏差。如果此偏倚在允許的誤差範圍內或 P 值並未顯示顯著差異 (> 0.05)，則兩種試劑的測試結果視為相當。

所得結果總結於下表：

捐贈者數量 = 25				
陽性目標	平均值差	細胞標準 Δ %	P 值	結果
淋巴球	-0.26	<5	0.557	PASS
單核球	1.04	<5	1.191	PASS

空白檢體的偵測極限與偵測極限

按照 CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2，臨床實驗室測定程序的偵測能力評估）開展了一項試驗。偵測極限 (LOD) 是指可始終被偵測出的最低分析物濃度。所得結果總結於下表：

Positive Target	空白檢體的偵測極限（細胞數/µL）	偵測極限（細胞數/µL）
淋巴球	2	4
單核球	1	3

限制條件

1. 流式細胞分析儀器在下列情況下可能產生錯誤結果：細胞分析儀器未正確校正、螢光洩漏未正確補償、相關區域並未仔細定位。
2. 最好採用帶洗滌步驟的 RBC 溶解方法，因該試劑不能在「無洗滌」溶解方法中取得最佳效果。
3. 按照技術手冊採用相關流程並遵循優良實驗室操作規範，便可得到準確且可重複的結果。
4. 此試劑的結合抗體已經過校正，以提供最佳的特異性訊號/非特異性訊號比率。因此，在每次測試中遵守試劑體積/檢體體積比率很重要。
5. 如果白血球過多，請在 PBS 中稀釋血液，使白血球濃度約為 5 x 10^9 顆/L (18)。
6. 在嚴重腎衰竭、血色素病變等特定疾病狀態中，紅血球溶解可能會變得緩慢、不完全，甚至無法溶解。在這種情況下，建議在染色前使用密度梯度（例如聚蔗糖）分離單核球 (19)。
7. 使用抗人單株抗體療法治療患者時，由於治療抗體的部分或完全阻斷，偵測到的特定目標抗原可能會減少或完全偵測不到。
8. Anti-HLA-DR-Pacific Blue 結果的判讀應結合患者的整體臨床表徵，包括：症狀、臨床病史、其他測試的資料以及其他相關資訊。

請參閱附錄以閱讀舉例和參考文獻。

商標

Beckman Coulter、徽標以及本文述及的貝克曼庫爾特公司產品和服務標記是美國貝克曼庫爾特有限公司在美國和其他國家的商標或註冊商標。

Pacific Blue 是 Molecular Probes, Inc. 的商標。

其他資訊

對於患者/使用者/第三方（在歐盟和有相同監管制度（體外診斷醫療裝置法規，2017/746/EU）的國家）；如果在使用中或由於使用而導致嚴重事件，請將情況回報製造商和/或授權代表，以及貴國主管機關。

Summary of Safety and Performance（安全與性能）的摘要請參見 EUDAMED 資料庫：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修訂歷程記錄

修訂版 AC：	發佈日期：2019 年 10 月

修訂	**發行日期**
AW	2022 年 2 月
更新以遵守貝克曼庫爾特公司全球標籤政策以及 IVD-R (EU)2017/746 規定：	
已新增部分	BSI 2797 編號、預期使用者、臨床相關性、濃度、精密度、準確性、空白檢體的偵測極限和偵測極限、其他資訊、修訂記錄。
已新增資訊	請參閱「限制」部分
修辭或印刷更新	請參閱「程序」、「性能」、「限制」、「警告和預防措施」、「存儲和穩定性」等部分。
已移除的部分	臨床應用範例、試劑、實驗室內再現性、線性
已更新部分	預期用途、GHS 危害分類、變質的證據、程序、附錄。

修訂	**發行日期**
AX	4 月 2023
已更新部分	新增哈薩克語
已更新部分	存儲和穩定性

修訂版本	AY
修訂日期	5 月 2024
已更新的譯文	**臨床關聯性**：
已更新部分	修訂歷史

修訂版本	AZ
修訂日期	7 月 2024
已更新部分	修訂歷史

符號釋義

符號術語表請參見網站：beckman.com/techdocs（文件編號 B60062）

	Specificații
Specificitate	HLA-DR
Clonă	Immu-357
Hibridom	X63 x balb/c
Imunogen	EBV-transformed cell line
Imunoglobulină	IgG1
Specie	Șoarece
Purificare	Cromatografia afinităților
Fluorocrom	Pacific Blue
Raport molar	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
Excitare λ	405 nm
Vârful de emisie	455 nm
Soluție tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA și 0,1% NaN_3

IOTest
Anticorp conjugat Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 de teste; 0,5 ml, 10 µl/test

Pentru utilizare în diagnosticarea *in vitro*.

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

Acest anticorp conjugat cu fluorocrom permite identificarea calitativă și non-automată a populațiilor celulare care exprimă antigenul HLA-DR prezent în probele biologice umane prin citometrie în flux (consultați secțiunea „probe" de mai jos).

PRINCIPIU

Acest test se bazează pe abilitatea anticorpilor monoclonali specifici de a se lega de determinanții antigenici exprimați de leucocite.

Colorarea specifică a leucocitelor este efectuată prin incubarea probei cu reactivul IOTest. Eritrocitele sunt ulterior îndepărtate prin liză, iar leucocitele, care nu sunt afectate de acest proces, sunt analizate prin citometrie în flux.

Citometrul în flux măsoară difuzia luminii și fluorescența celulelor. Acesta face posibilă delimitarea populațiilor de interes în fereastra electronică definită pe o histogramă, care corelează difuzia ortogonală a luminii (Dispersia perpendiculară sau SS – Side Scatter) și difuzia luminii sub un unghi ascuțit (Dispersia pe direcția înainte sau FS – Forward Scatter). Alte histograme care combină doi dintre parametrii diferiți disponibili pe citometru pot fi utilizate ca suporturi în faza de stabilire a porților (gating) în funcție de aplicația aleasă de către utilizator.

Fluorescența celulelor delimitate se analizează pentru distingerea evenimentelor colorate pozitiv de cele necolorate. Rezultatele sunt exprimate ca procentaj de evenimente pozitive în raport cu toate evenimentele obținute de gating.

UTILIZATOR PRECONIZAT

Acest produs este destinat utilizării profesionale în laborator.

RELEVANȚĂ CLINICĂ

Anti-HLA-DR-Pacific Blue este un anticorp Anti-HLA-DR utilizat pentru a identifica și caracteriza celulele care exprimă antigenul HLA-DR prin citometrie în flux. Acest produs în sine nu poate și nu este conceput pentru a genera concluzii cu rol de diagnostic.

Atunci când este utilizat în combinație cu alți markeri, acest produs poate fi utilizat pentru una sau mai multe dintre următoarele funcții:

- Pentru a ajuta la obținerea unui diagnostic diferențial pentru pacienții cu anormalități hematologice suspecți de neoplasm hematopoietic și la monitorizarea pacienților cu neoplasm hematopoietic diagnosticat.
- Pentru a ajuta la diagnosticarea pacienților cu suspiciune de imunodeficiență și la monitorizarea pacienților cu imunodeficiență diagnosticată.
- Pentru a monitoriza pacienții diagnosticați cu boli sau tulburări autoimune.
- Pentru a monitoriza procesul de transplant sau rezultatele.

Consultați următoarele referințe:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

PROBE

Sângele venos trebuie recoltat utilizând eprubete sterile care conțin o sare de EDTA drept anticoagulant.

Se recomandă păstrarea probelor la temperatura camerei (18–25°C). Acestea nu se vor scutura. Se recomandă omogenizarea probelor prin agitare ușoară înainte de recoltarea probei de test.

Proba trebuie analizată în decurs de 24 de ore de la puncția venoasă.

CONCENTRAȚIE

Consultați certificatul de analiză specific lotului la adresa www.beckman.com.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Nu utilizați reactivul după data expirării.
2. Nu congelați.
3. Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei (18–25°C).
4. Reduceți la minimum expunerea la lumină.

5. Evitați contaminarea microbiană a reactivilor. În caz contrar, se pot obține rezultate false.
6. Soluțiile de anticorpi care conțin azidă de sodiu (NaN_3) trebuie manipulate cu atenție. A nu se ingera și a se evita contactul cu pielea, mucoasele și ochii.

   În plus, într-un mediu acid, azida de sodiu poate forma acid hidrazoic, un compus potențial periculos. Dacă este necesară eliminarea reactivului, se recomandă ca acesta să fie diluat într-un volum mare de apă înainte de a fi vărsat în sistemul de canalizare pentru a evita acumularea de azidă de sodiu în conductele metalice și pentru a preveni riscul de explozie.
7. Toate probele de sânge trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie manipulate cu grijă (în special: purtarea de mănuși de protecție, halate și ochelari de protecție).
8. Nu pipetați niciodată cu gura și evitați contactul probelor cu pielea, mucoasele și ochii.
9. Eprubetele pentru sânge și materialele de unică folosință utilizate pentru manipulare trebuie eliminate în recipiente ad-hoc destinate incinerării.
10. Reactivii și deșeurile trebuie eliminați în conformitate cu cerințele locale.

CLASIFICAREA RISCURILOR ÎN SISTEMUL GHS

Nu este clasificat ca periculos

SDS Fișa tehnică de securitate este disponibilă la beckmancoulter.com/techdocs

DEPOZITAREA ȘI STABILITATEA

Înainte și după desigilarea fiolei, acest reactiv trebuie păstrat la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C într-un loc ferit de lumină.

Perioada de valabilitate în fiolă închisă în conformitate cu studiul de stabilitate: 1095 zile.

Stabilitatea fiolei desigilate: reactivul este stabil timp de 180 (de) zile.

DOVADĂ DE DETERIORARE

Orice modificare a aspectului fizic al reactivilor poate indica degradarea. În acest caz, nu se recomandă utilizarea reactivului.

Pentru informații suplimentare sau dacă s-a primit un produs deteriorat, sunați la Serviciul Clienți Beckman Coulter la 800-742-2345 (SUA sau Canada) sau contactați-vă reprezentantul Beckman Coulter local.

CONȚINUT

Azida de sodiu folosită drept conservant poate forma compuși cu risc de explozie în conductele de drenaj metalice. Consultați buletinul informativ al NIOSH: Explosive Azide Hazard (Azidă cu risc de explozie) (08/16/76).
Pentru a evita posibila acumulare de compuși de azidă, spălați cu apă conductele pentru evacuarea deșeurilor după eliminarea reactivului nediluat. Eliminarea azidei de sodiu trebuie realizată în conformitate cu reglementările locale aplicabile.

MATERIALE NECESARE, DAR NEFURNIZATE CU SETUL:

- Eprubete pentru probe și materiale necesare pentru prelevarea probelor.
- Pipete automate cu vârfuri de unică folosință pentru 10, 100 și 500 µl.
- Eprubete din plastic pentru hemoliză.
- Reactiv de liză a eritrocitelor cu faza de spălare după liză. De exemplu: VersaLyse (ref. A09777).
- Reactiv de fixare a leucocitelor. De exemplu: Soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800).
- Ser de control izotipic Pacific Blue: Reactiv IOTest (ref. A74764).
- Soluție tampon (PBS: 0,01 mol de fosfat de sodiu; 0,145 mol de clorură de sodiu; pH 7,2).
- Centrifugați.
- Agitator automat (tip Vortex).
- Citometru de flux.

PROCEDURA CU REACTIVUL VERSALYSE

Pentru fiecare probă analizată, în afară de eprubeta de testare, poate fi adăugată o eprubetă de ser de control în care celulele sunt amestecate în prezența serurilor de control izotipic (ref. A74764).

1. Adăugați 10 µl de anticorp conjugat IOTest specific în fiecare eprubetă de test și, dacă este necesar, 10 µl de ser de control izotipic în fiecare eprubetă cu ser de control.
2. Adăugați 100 µl de probă de test în fiecare eprubetă. Amestecați cu grijă eprubetele în agitatorul vortex.
3. Incubați timp de 15–20 de minute la temperatura camerei (18–25°C) într-un loc ferit de lumină.
4. Apoi efectuați liza eritrocitelor. Consultați prospectul VersaLyse (ref. A09777) și urmați, de preferat, procedura denumită „cu fixare concomitentă”, care constă în adăugarea a 1 ml de amestec „Fixare și liză” preparat extemporaneu. Amestecați imediat în agitatorul vortex timp de o secundă și incubați timp de 10 minute la temperatura camerei, într-un loc ferit de lumină.
5. Centrifugați timp de 5 minute la 150 x g la temperatura camerei.
6. Îndepărtați supernatantul prin aspirare.
7. Resuspendați peleta de celule utilizând 3 ml de PBS.
8. Repetați pasul 5.
9. Îndepărtați supernatantul prin aspirare și resuspendați peleta de celule utilizând:

- 0,5 ml sau 1 ml de PBS plus 0,1% formaldehidă dacă preparatele trebuie păstrate mai puțin de 24 (de) ore. (O soluție PBS cu 0,1% formaldehidă poate fi obținută prin diluarea unei cantități de 12,5 µl de soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800) la concentrația sa de 10X în 1 ml de PBS).
- 0,5 ml sau 1 ml de PBS fără formaldehidă, dacă preparatele trebuie analizate în decurs de 2 (de) ore.

Observație: În toate cazurile, păstrați preparatele la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C, în locuri ferite de lumină.

VALORI PRECONIZATE

În laboratoarele noastre, probele de sânge integral de la 25 donatori aparent sănătoși au fost tratate utilizându-se reactivul descris mai sus. Rezultatele obținute pentru numărul de evenimente pozitive de interes cu acest reactiv sunt date în tabelul de mai jos:

Ținta pozitivă	Număr	Medie (%)	SD (deviație standard)	CV (%)
Limfocite	25	26,53	12,71	47,92
Monocite	25	97,02	2,77	2,86

Aceste valori au doar caracter exemplificativ. Fiecare laborator trebuie să stabilească propriile valori așteptate de la populația locală de donatori normali.

PERFORMANȚĂ

Datele de performanță se obțin folosindu-se procedeul descris mai sus pe probe de sânge cu o vechime mai mică de 24 de ore recoltate anterior în eprubete sterile cu sare EDTA ca anticoagulant. Analiza se efectuează în decurs de 2 ore de la imunocolorare.

SPECIFICITATE

Anticorpul monoclonal Immu357 recunoaște un epitop situat pe o proteină monomorfă cu masa moleculară de 29–33 kDa identificată ca HLA-DR. Sistemul HLA (Antigen leucocitar uman) este numele dat complexul major de histocompatibilitate (MHC) la om. Codificate de 5 loci (DM, DO, DP, DQ și DR) ai locusului D, moleculele HLA din clasa II mai sunt numite și antigene HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ și HLA-DR (13,14). Exprimarea antigenelor din clasa II este limitată la celulele prezentând antigene, adică limfocite B, monocite/macrofage, celule dendritice și celule Langerhans epidermice (14,15). Pe limfocitele T, antigenul HLA-DR este exprimat numai după activare (16). Celulele stem și progenitoarele hematopoietice îl exprimă până într-un anumit stadiu al diferențierii lor (14,17).

PRECIZIE

Valorile procentuale pozitive au fost stabilite folosind sânge integral. Fiecare probă a fost analizată de 4 ori, de două ori pe zi timp de 1 zi, pe 2 instrumente, folosind 2 loturi de reactivi cu anticorp monoclonal Anti-HLA-DR-Pacific Blue. Măsurătorile (% pozitive) au fost efectuate pe un citometru în flux Navios. Analiza a fost efectuată în conformitate cu metoda CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluarea performanței de precizie a metodelor de măsurare cantitativă).

Criteriile noastre de acceptare depind de numărul de evenimente pozitive măsurate pentru fiecare populație:

- Dacă evenimentul pozitiv < 1500, CV < 15%
- Dacă evenimentul pozitiv > 1500, CV < 10%

Limfocite							
Număr de evenimente pozitive (medie) = 1154							
	Inter-operator	Inter-citometru	Intra-lot	Inter-lot	Inter-ciclu	Intra-testare	Total
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
REZULTATE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monocite							
Număr de evenimente pozitive (medie) = 1197							
	Inter-operator	Inter-citometru	Intra-lot	Inter-lot	Inter-ciclu	Intra-testare	Total
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
REZULTATE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACURATEȚE

Acuratețea Anti-HLA-DR-Pacific Blue a fost evaluată prin compararea rezultatelor cu un reactiv de referință ca predicat pe un set de probe de sânge integral analizate cu un citometru în flux Navios. Eroarea sistematică dintre test și reactivul de referință a fost determinată în funcție de diferența dintre rezultatele testului. Dacă eroarea sistematică se încadrează în intervalul de eroare permis sau dacă valoarea p nu indică o diferență semnificativă (> 0,05), rezultatele testului pentru cei doi reactivi sunt considerate ca fiind echivalente.

Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul de mai jos:

Număr de donatori = 25				
Ținta pozitivă	Medie Δ	Criterii celulă Δ%	Valoarea p	REZULTATE
Limfocite	-0,26	<5	0,557	PASS
Monocite	1,04	<5	1,191	PASS

LIMITA DE BLANC ȘI LIMITA DE DETECȚIE

A fost realizat un studiu în conformitate cu documentul CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluarea capacității de detecție în cazul procedurilor de măsurare din laborator). Limita de detecție (LOD) este cea mai redusă concentrație de analit care poate fi detectată în mod constant. Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul următor:

Positive Target	Limită de blanc (celulă/µl)	Limită de detecție (celulă/µl)
Limfocite	2	4
Monocite	1	3

LIMITĂRI

1. Citometria în flux poate furniza rezultate false dacă citometrul nu a fost aliniat perfect, dacă scurgerile de fluorescență nu au fost compensate corect și dacă regiunile nu au fost poziționate corect.
2. Este de preferat să se utilizeze o tehnică de liză a eritrocitelor (RBC) cu o etapă de spălare, deoarece acest reactiv nu a fost optimizat pentru tehnici de liză „fără spălare”.
3. Se vor obține rezultate corecte și reproductibile dacă procedurile utilizate respectă prospectul tehnic și bunele practici de laborator.

4. Anticorpul conjugat din acest reactiv este calibrat astfel încât să ofere cel mai bun raport semnal specific/semnal nespecific. Prin urmare, este important ca la fiecare test să se respecte raportul volum de reactiv/volum de probă.
5. În cazul unei hiperleucocitoze, diluați sângele în PBS astfel încât să obțineți o valoare de aproximativ 5 x 10^9 leucocite/l (18).
6. În anumite stări patologice, cum ar fi insuficiența renală severă sau hemoglobinopatiile, liza eritrocitelor poate fi lentă, incompletă sau chiar imposibilă. În acest caz, se recomandă izolarea celulelor mononucleare cu ajutorul unui gradient de densitate (de exemplu, Ficoll), înainte de colorare (19).
7. În cazul pacienților tratați cu terapii cu anticorp monoclonal anti-uman, detecția antigenilor specifici țintiți poate fi diminuată sau absentă din cauza blocării parțiale sau complete asigurată de anticorpul terapeutic.
8. Rezultatele Anti-HLA-DR-Pacific Blue trebuie interpretate în lumina prezentării clinice integrale a pacientului, inclusiv: simptome, istoric clinic, date din teste suplimentare și alte informații corespunzătoare.

Consultați Anexa pentru exemple și referințe.

MĂRCI COMERCIALE

Beckman Coulter, logoul stilizat și mărcile de produse și servicii Beckman Coulter menționate aici sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Beckman Coulter, Inc. în Statele Unite și în alte țări.

Pacific Blue este o marcă comercială a Molecular Probes, Inc.

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

În cazul unui pacient/utilizator/terț aflat în Uniunea Europeană sau în țări cu un regim de reglementare identic (Regulamentul 2017/746/UE privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro); dacă, în timpul utilizării acestui dispozitiv sau în urma utilizării acestuia, are loc un incident grav, raportați acest incident către producător și/sau reprezentantul său autorizat și către autoritatea națională din țara dvs.

Rezumatul secțiunilor Siguranță și Performanță este disponibil din baza de date EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORICUL REVIZUIRILOR

REVIZIA AC:	Data publicării: Octombrie 2019

REVIZIE	**Data publicării**
AW	Februarie 2022
Se actualizează pentru a respecta politica globală de etichetare Beckman Coulter și cerințele regulamentului IVD-R (UE) 2017/746:	
Secțiuni adăugate	Număr BSI 2797, Utilizator propus, Relevanță clinică, Concentrație, Precizie, Acuratețe, Limita de blanc și limita de detecție, Informații suplimentare, Istoric revizuiri.
Informații adăugate	Consultați secțiunile Limitări
Actualizări referitoare la frazare și tipografice	Consultați secțiunile Procedură, Performanță, Limitări, Avertizări și măsuri de precauție, Depozitare și stabilitate.
Secțiuni eliminate	Exemplu de utilizări clinice, Reactivi, Reproductibilitate intralaborator, Liniaritate
Secțiuni actualizate	Utilizare propusă, Clasificarea riscurilor în sistemul GHS, Dovadă de deteriorare, Procedură, Anexă.

REVIZIE	**Data publicării**
AX	Aprilie 2023
Secțiuni actualizate	A fost adăugată limba kazahă
Secțiuni actualizate	Depozitare și stabilitate

Versiunea revizuită	AY
Data revizuirii	Mai 2024
Au fost actualizate traducerile	**Relevanță clinică:**
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Versiunea revizuită	AZ
Data revizuirii	Iulie 2024
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Cheie simboluri

Glosarul de simboluri este disponibil la beckman.com/techdocs (număr document B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	HLA-DR
Klon	Immu-357
Hibridom	X63 x balb/c
Imunogen	EBV-transformed cell line
Imunoglobulin	IgG1
Vrsta	Miš
Prečiščevanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	Pacific Blue
Molarno razmerje	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
λ ekscitacija	405 nm
Vršna vrednost emisij	455 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA in 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugirano protitelo Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 testov; 0,5 ml, 10 µl/test

Za diagnostično uporabo *in vitro*.

NAMEN UPORABE

To protitelo, konjugirano s fluorokromi, omogoča kvalitativno in neavtomatizirano identifikacijo celičnih populacij, ki izražajo antigen HLA-DR, prisoten v človeških bioloških vzorcih, z uporabo pretočne citometrije (oglejte si poglavje »Vzorci« spodaj).

NAČELO

Ta test temelji na sposobnosti specifičnih monoklonskih protiteles, da se vežejo na antigenske determinante, ki jih izražajo levkociti.

Specifično barvanje levkocitov izvedemo z inkubacijo vzorca z reagentom IOTest. Rdeče krvničke nato odstranimo z lizo, levkocite, na katere ta proces ne vpliva, pa analiziramo s pretočno citometrijo.

Pretočni citometer meri difuzijo svetlobe in fluorescenco celic. Omogoča razmejitev opazovane populacije v elektronskem oknu, opredeljenem v histogramu, ki je povezan z ortogonalno difuzijo svetlobe (stransko sipanje ali SS) in difuzijo svetlobe pri majhnemu kotu (sipanje naprej ali FS). Glede na uporabo, ki jo izbere uporabnik, lahko druge histograme, ki uporabljajo kombinacijo dveh različnih parametrov, ki so na voljo na citometru, uporabimo kot nosilce v fazi uokvirjanja.

Fluorescenco razmejenih celic analiziramo z namenom razlikovanja med pozitivno obarvanimi dogodki in tistimi, ki niso obarvani. Rezultati so izraženi kot odstotek pozitivnih dogodkov glede na vse dogodke, pridobljene z uokviranjem.

PREDVIDENI UPORABNIK

Izdelek je namenjen profesionalni laboratorijski uporabi.

KLINIČNI POMEN

Anti-HLA-DR-Pacific Blue je protitelo Anti-HLA-DR, ki se uporablja za identifikacijo in karakterizacijo celic, ki izražajo antigen HLA-DR, s pomočjo pretočne citometrije. S samostojnim izdelkom ni mogoče postaviti diagnostičnih zaključkov in ni namenjen taki uporabi.

Če se izdelek uporablja v kombinaciji z drugimi označevalci, se lahko uporablja pri eni ali več naslednjih funkcij:

- Uporablja se kot pripomoček pri diferencialnem diagnosticiranju hematološko neobičajnih bolnikov, pri katerih obstaja sum, da imajo hematopoetsko neoplazmo, in za spremljanje bolnikov z znano hematopoetsko neoplazmo.
- Za pomoč pri diagnozi bolnikov s sumom na imunsko pomanjkljivost in spremljanje bolnikov z znano imunsko pomanjkljivostjo.
- Za spremljanje bolnikov z znano avtoimunsko boleznijo ali motnjo.
- Za spremljanje procesa ali rezultatov presaditve.

Oglejte si naslednje reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

VZORCI

Pri jemanju venske krvi je treba uporabiti sterilne epruvete, ki vsebujejo sol EDTA kot antikoagulant.

Vzorce je treba hraniti pri sobni temperaturi (18–25 °C) in jih ni dovoljeno pretresati. Vzorce je treba homogenizirati z rahlim stresanjem pred odvzemom testnega vzorca.

Vzorce je treba analizirati v 24 urah po venepunkciji.

KONCENTRACIJA

Oglejte si ustrezen certifikat o analizi za izbrano serijo na spletni strani www.beckman.com.

OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI

1. Ne uporabljajte reagenta po izteku roka uporabnosti.
2. Ne zamrzujte.
3. Pred uporabo počakajte, da se ogrejejo na sobno temperaturo (18–25 °C).

4. Čim manj izpostavljajte svetlobi.
5. Preprečite mikrobno kontaminacijo reagentov, sicer lahko pride do napačnih rezultatov.
6. Z raztopinami protiteles, ki vsebujejo natrijev azid (NaN_3), je treba ravnati previdno. Ne zaužijte in se izogibajte vsakršnemu stiku s kožo, sluznico in očmi.

   Poleg tega lahko natrijev azid v kislem mediju tvori potencialno nevaren vodikov azid. Če ga je treba odstraniti, je reagent priporočljivo razredčiti z veliko količino vode pred izlivanjem v kanalizacijo, da bi se izognili kopičenju natrijevega azida v kovinskih ceveh in preprečili nevarnost eksplozije.
7. Vse vzorce krvi je treba obravnavati kot potencialno kužne in je treba z njimi ravnati previdno (predvsem je treba nositi zaščitne rokavice, halje in očala).
8. Nikoli ne pipetirajte z usti in se izogibajte vsakršnemu stiku vzorcev s kožo, sluznico in očmi.
9. Epruvete za kri in material za enkratno uporabo je treba odstraniti v zabojnike na licu mesta, namenjene sežigu.
10. Reagente in odpadke je treba odstraniti skladno z lokalnimi predpisi.

KLASIFIKACIJA NEVARNOSTI PO GHS

Ni razvrščeno kot nevarno

SDS Varnostni list je na voljo na povezavi beckmancoulter.com/techdocs

SHRANJEVANJE IN OBSTOJNOST

Ta reagent je treba shranjevati pri temperaturi od 2 do 8 °C in zaščiteno pred svetlobo pred odprtjem vial in po njem.

Rok uporabnosti zaprte viale po študiji stabilnosti: 1095 dni.

Stabilnost odprte stekleničke: reagent je stabilen 180 dni.

DOKAZ O POSLABŠANJU STANJA

Vsaka sprememba fizičnega videza reagentov lahko kaže na poslabšanje stanja in reagenta ni dovoljeno uporabljati.

Za dodatne informacije ali ob prejemu poškodovanega izdelka pokličite službo za pomoč strankam družbe Beckman Coulter na številko 800-742-2345 (ZDA ali Kanada) ali se obrnite na lokalnega predstavnika podjetja Beckman Coulter.

VSEBINA

Konzervans iz natrijevega azida lahko tvori eksplozivne spojine v kovinskih odvodnih ceveh. Oglejte si NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16. 8. 76) (Nevarnost eksplozivnih azidov).
Da bi se izognili morebitnemu kopičenju azidnih spojin, po odstranjevanju nerazredčenega reagenta sperite odtočne cevi z vodo. Odstranjevanje natrijevega azida mora biti skladno z ustreznimi lokalnimi predpisi.

POTREBEN MATERIAL, KI NI PRILOŽEN V KOMPLETU:

- Epruvete za vzorčenje in material, potreben za vzorčenje.
- Samodejne pipete s konicami za enkratno uporabo za 10, 100 in 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizo.
- Reagent za lizo rdečih krvničk z izpiranjem po lizi. Na primer: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagent za fiksacijo levkocitov. Na primer: fiksirna raztopina IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotipska kontrola Pacific Blue: Reagent IOTest (Ref. A74764).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijev fosfat; 0,145 M natrijev klorid; pH 7,2).
- Centrifugirajte.
- Samodejni stresalnik (za stresanje).
- Pretočni citometer.

POSTOPEK Z REAGENTOM VERSALYSE

Za vsak analizirani vzorec lahko poleg testne epruvete dodamo še kontrolno epruveto, v kateri so celice pomešane v prisotnosti izotipskih kontrol (Ref. A74764).

1. V vsako testno epruveto dodajte 10 µl konjugiranih protiteles IOTest, po potrebi pa 10 µl izotipske kontrole v vsako kontrolno epruveto.
2. V vsako epruveto dodajte 100 µl testnega vzorca. Epruvete nežno stresajte.
3. Inkubirajte ga 15 do 20 minut pri sobni temperaturi (18–25 °C), zaščitenega pred svetlobo.
4. Nato izvedite lizo rdečih celic. Oglejte si brošuro VersaLyse (Ref. A09777) in po možnosti upoštevajte postopek, imenovan »s hkratno fiksacijo«, po katerem je treba dodati 1 ml mešanice »Fix-and-Lyse«, pripravljene sprotno. Takoj stresajte eno sekundo in inkubirajte 10 minut pri sobni temperaturi, zaščiteno pred svetlobo.
5. Centrifugirajte 5 minut pri 150 x g na sobni temperaturi.
6. Supernatant odstranite z aspiracijo.
7. Celično usedlino znova suspendirajte z uporabo 3 ml PBS.
8. Ponovite 5. korak.
9. Supernatant odstranite z aspiracijo in znova suspendirajte celično usedlino z uporabo:

- 0,5 ml ali 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehida, če je pripravke treba hraniti manj kot 24 ur. (0,1-% formaldehid PBS lahko dobimo z redčenjem 12,5 µl fiksirne raztopine IOTest 3 (Ref. A07800) pri njeni 10X koncentraciji v 1 ml PBS).

- 0,5 ml ali 1 ml PBS brez formaldehida, če je pripravke treba analizirati v 2 urah.

Opomba: v vseh primerih pripravke hranite na temperaturi od 2 do 8 °C in zaščitite pred svetlobo.

PRIČAKOVANE VREDNOSTI

V naših laboratorijih smo z zgoraj opisanim reagentom obdelali vzorce polne krvi 25 na videz zdravih darovalcev. Rezultati, pridobljeni s štetjem pozitivnih dogodkov, ki nas zanimajo v zvezi s tem reagentom, so navedeni v spodnjih preglednicah:

Pozitivna tarča	Številka	Povprečje (%)	SD (SO)	CV (%)
Limfociti	25	26,53	12,71	47,92
Monociti	25	97,02	2,77	2,86

Te vrednosti so zgolj reprezentativne. Vsak laboratorij mora določiti lastne pričakovane vrednosti za lokalno populacijo običajnih darovalcev.

USPEŠNOST

Podatke o zmogljivosti pridobimo z zgoraj opisanim postopkom na vzorcih krvi, starih manj kot 24 ur, ki so bili predhodno zbrani v sterilnih epruvetah s soljo EDTA kot antikoagulantom. Analizo se izvede v 2 urah po imunohistokemičnem barvanju.

SPECIFIČNOST

Monoklonsko protitelo Immu357 prepozna epitop, ki se prenaša na monomorfni beljakovini z molekulsko maso 29–33 kDa, opredeljeno kot HLA-DR. Pomemben histokompatibilnostni kompleks (MHC) pri ljudeh je imenovan sistem HLA (humanega levkocitnega antigena). Molekule HLA II. razreda kodira 5 lokusov (DM, DO, DP, DQ in DR) lokusa D, imenovane pa so tudi antigeni HLA-DM, HLA-DO, HLA-DO, HLA-DQ in HLA-DR (13, 14). Izraženost antigenov II. razreda je omejena na celice, ki predstavljajo antigene, tj. limfocite B, monocite/makrofage, dendritične celice in Langerhansove celice na koži (14, 15). Na limfocitih T je antigen HLA-DR izražen le po aktivaciji (16). Matične celice in hemopoetski progenitorji ga izražajo do določenega stanja v svoji diferenciaciji (14, 17).

NATANČNOST

Odstotke pozitivnih vrednosti smo določili z uporabo polne krvi. Vsak vzorec je bil obravnavan 4-krat, dvakrat dnevno 1 dan na 2 napravah z uporabo 2 serij reagentov z monoklonskimi protitelesi Anti-HLA-DR-Pacific Blue. Meritve (% pozitivnih) so bile opravljene na pretočnem citometru Navios. Analiza je bila izvedena na podlagi metode CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vrednotenje natančnosti kvantitativnih merilnih metod).

Naša merila sprejemljivosti so odvisna od števila pozitivnih dogodkov, izmerjenih za vsako populacijo:

- Če je pozitiven dogodek < 1.500, je CV < 15 %
- Če je pozitiven dogodek > 1.500, je CV < 10 %

Limfociti							
Število pozitivnih dogodkov (povprečje) = 1154							
	Med upravljavci	Med citometri	Znotraj serije	Med serijami	Med postopki	Znotraj postopka	Skupaj
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monociti							
Število pozitivnih dogodkov (povprečje) = 1197							
	Med upravljavci	Med citometri	Znotraj serije	Med serijami	Med postopki	Znotraj postopka	Skupaj
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost Anti-HLA-DR-Pacific Blue smo ocenili s primerjavo rezultatov z referenčnim reagentom kot reagentom s potrjeno skladnostjo na nizu vzorcev polne krvi, obdelane na pretočnem citometru Navios. Odstopanje med testnim in referenčnim reagentom je bilo določeno na podlagi razlike med rezultati testa. Če je odstopanje znotraj dovoljenega območja napake ali vrednost p ne kaže pomembne razlike (> 0,05), se rezultati testov za oba reagenta štejejo za enakovredne.

Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Število darovalcev = 25				
Pozitivna tarča	Povprečje Δ	Δ % celičnega kriterija	vrednost p	REZULTATI
Limfociti	-0,26	<5	0,557	PASS
Monociti	1,04	<5	1,191	PASS

MEJA SLEPEGA VZORCA IN MEJA ZAZNAVANJA

Študija je bila izvedena skladno z metodo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zmogljivosti zaznavanja za merilne postopke v kliničnih laboratorijih). Meja zaznavanja (LOD) je najnižja koncentracija analita, ki jo je mogoče dosledno zaznati. Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Positive Target	Meja slepega vzorca (celic/µl)	Meja zaznavanja (celic/µl)
Limfociti	2	4
Monociti	1	3

OMEJITVE

1. S pretočno citometrijo lahko pride do napačnih rezultatov, če citometer ni bil točno nameščen, če puščanje fluorescence ni bilo ustrezno izravnano in če območja niso bila natančno pozicionirana.
2. Priporočljivo je uporabiti tehniko liziranja RBC s korakom pranja, saj ta reagent ni optimiziran za tehnike liziranja »brez pranja«.
3. Točne in ponovljive rezultate se bo doseglo, če se bo uporabilo postopke, ki so skladni s priloženim tehničnim listom in z načeli dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugirano protitelo tega reagenta je umerjeno, tako da zagotavlja najboljše razmerje med specifičnim/nespecifičnim signalnim razmerjem. Zato je pomembno, da pri vsakem testu upoštevamo razmerje med količino reagenta/količino vzorca.
5. V primeru hiperlevkocitoze razredčite kri v PBS, da se tako dobi vrednost približno 5 x 10^9 levkocitov/l (18).
6. Pri nekaterih bolezenskih stanjih, kot je huda ledvična odpoved ali hemoglobinopatije, je lahko liza rdečih krvničk počasna, nepopolna ali celo nemogoča. V tem primeru je priporočljivo izolirati mononuklearne celice z uporabo gradienta gostote (na primer Ficoll) pred barvanjem (19).
7. Pri bolnikih, ki se zdravijo s terapijo z antihumanimi monoklonskimi protitelesi, je lahko odkrivanje specifičnih ciljnih antigenov zmanjšano ali pa ga sploh ni zaradi delnega ali popolnega blokiranja s strani terapevtskega protitelesa.
8. Rezultate Anti-HLA-DR-Pacific Blue je treba razlagati v luči celotne klinične slike bolnika, vključno s: simptomi, anamnezo, podatki dodatnih testov in drugimi ustreznimi podatki.

Primere in reference si oglejte v prilogi.

BLAGOVNE ZNAMKE

Beckman Coulter, stiliziran logotip ter znamke izdelkov in storitev podjetja Beckman Coulter, omenjene v tem dokumentu, so blagovne znamke ali registrirane blagovne znamke podjetja Beckman Coulter, Inc. v Združenih državah Amerike in drugih državah.

Pacific Blue je blagovna znamka družbe Molecular Probes, Inc.

DRUGI PODATKI

Za bolnike/uporabnike/tretje osebe v Evropski uniji in v državah z enakim regulativnim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskih pripomočkih za in vitro diagnostiko): če med uporabo tega pripomočka ali kot rezultat njegove uporabe pride do resnega incidenta, o tem poročajte proizvajalcu in/ali njegovemu pooblaščenemu predstavniku in svojemu nacionalnemu organu.

Summary of Safety and Performance (Povzetek o varnosti in zmogljivosti) je na voljo v bazi podatkov EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ZGODOVINA REVIZIJ

REVIDIRANA IZDAJA AC:	Datum izdaje: Oktober 2019

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AW	Februar 2022
Posodobitve za skladnost z globalno politiko označevanja Beckman Coulter in v skladu z zahtevami IVD-R (EU) 2017/746:	
Dodana poglavja	Številka BSI 2797, predvideni uporabnik, klinični pomen, koncentracija, točnost, natančnost, meja slepega vzorca in meja zaznavanja, dodatne informacije, zgodovina revizij.
Dodatne informacije	Oglejte si poglavja Omejitve
Izrazne ali tipografske posodobitve	Oglejte si poglavja Postopek, Zmogljivost, Omejitve, Opozorila in previdnostni ukrepi, Shranjevanje in stabilnost.
Odstranjena poglavja	Primer klinične uporabe, reagenti, ponovljivost znotraj laboratorija, linearnost
Posodobljena poglavja	Predvidena uporaba, Klasifikacija nevarnosti po GHS, Dokaz o poslabšanju stanja, Postopek, Priloga.

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AX	April 2023
Posodobljena poglavja	Dodaj kazaščino
Posodobljena poglavja	Shranjevanje in stabilnost

Revidirana različica	AY
Revidiran datum	Maj 2024
Posodobljeni prevodi	**Klinični pomen:**
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Revidirana različica	AZ
Revidiran datum	Julij 2024
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Seznam simbolov

Glosar simbolov je na voljo na beckman.com/techdocs (številka dokumenta B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	HLA-DR
Klon	Immu-357
Hibridom	X63 x balb/c
Imunogen	EBV-transformed cell line
Imunoglobulin	IgG1
Vrste	Miš
Prečišćavanje	Afinitetna hromatografija
Fluorohrom	Pacific Blue
Molarni odnos	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
λ ekscitacija	405 nm
Vršna vrednost emisije	455 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA i 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugovano antitelo Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 ml, 10 µl / test

***Za in vitro* dijagnostičku upotrebu.**

NAMENA

Ovo fluorohromno-konjugovano antitelo omogućava kvalitativnu i neautomatizovanu identifikaciju ćelijskih populacija koje eksprimiraju HLA-DR antigen prisutnih u humanim biološkim uzorcima pomoću protočne citometrije (pogledati odeljak „Uzorci“ u nastavku).

PRINCIP

Ovaj test se zasniva na sposobnosti određenih monoklonskih antitela da se vežu za antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično bojenje leukocita se obavlja inkubiranjem uzorka sa reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utiče, analiziraju se protočnom citometrijom.

Protočni citometar meri difuziju svetlosti i fluorescenciju ćelija. On omogućava razgraničenje populacije od interesa u okviru elektronskog prozora definisanog na histogramu, što je u korelaciji sa ortogonalnom difuzijom svetlosti (bočno rasejanje ili SS) i difuzijom uskougaone svetlosti (prednje rasejanje ili FS). Drugi histogrami koji kombinuju dva različita parametra koja postoje na citometru mogu se koristiti kao podrška u fazi regulacije, u zavisnosti od primene koju je korisnik odabrao.

Fluorescencija ograničenih ćelija se analizira kako bi se razlikovali pozitivno obojeni događaji od neobojenih događaja. Rezultati su prikazani kao procenat pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobijene regulacijom.

PREDVIĐENI KORISNIK

Ovaj proizvod je namenjen za upotrebu od strane laboratorijskih stručnjaka.

KLINIČKI ZNAČAJ

Anti-HLA-DR-Pacific Blue je Anti-HLA-DR antitelo koje se koristi za identifikaciju i karakterizaciju ćelija koje eksprimiraju HLA-DR antigen pomoću protočne citometrije. Ovaj proizvod sam po sebi ne može da se koristi za donošenje bilo kog dijagnostičkog zaključka niti je za to namenjen.

Kada se koristi u kombinaciji sa drugim markerima, ovaj proizvod može da se koristi kod jedne ili više od sledećih funkcija:

- Kao pomoć u diferencijalnoj dijagnozi kod hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu i za nadgledanje pacijenata sa poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć u dijagnostikovanju kod pacijenata sa suspektnom imunodeficijencijom i nadgledanju pacijenata sa poznatom imunodeficijencijom.
- Za nadgledanje pacijenata sa poznatom autoimunom bolesti ili poremećajem.
- Za nadgledanje procesa ili rezultata transplantacije.

Pogledajte sledeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

UZORCI

Uzorci iz venske krvi moraju se uzimati sterilnim epruvetama koje sadrže EDTA so kao antikoagulans.

Uzorke treba čuvati na sobnoj temperaturi (18–25°C) i ne tresti. Uzorke treba pre uzimanja uzorka za testiranje homogenizovati blagim mešanjem.

Uzorci se moraju analizirati u roku od 24 sati od venepunkcije.

KONCENTRACIJA

Pogledajte dokument „Certificate of Analysis“ (Sertifikat analize) za određeni lot na veb-sajtu www.beckman.com.

UPOZORENJE I MERE OPREZA

1. Ne koristite reagense nakon isteka roka trajanja.
2. Ne zamrzavajte.
3. Pre upotrebe sačekajte da se približi sobnoj temperaturi (18–25°C).
4. Izbegavati izloženost svetlosti.

5. Sprečite mikrobsku kontaminaciju reagenasa ili se mogu javiti netačni rezultati.
6. Rastvorima antitela koji sadrže natrijum azid (NaN_3) treba pažljivo rukovati. Ne uzimajte interno i izbegavajte svaki dodir sa kožom, sluzokožom i očima.

   Pored toga, u kiseloj sredini, natrijum azid može formirati potencijalno opasnu hidrazoinsku kiselinu. Ako je potrebno da se odloži u otpad, preporučuje se da se reagens razblaži u velikoj zapremini vode pre sipanja u sistem kanalizacije kako bi se izbeglo taloženje natrijum azida u metalnim cevima i sprečila opasnost od eksplozije.
7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno infektivnim i njima se mora pažljivo rukovati (posebno: nošenje zaštitnih rukavica, odeće i zaštitnih naočara).
8. Nikada ne pipetirajte ustima i izbegavajte svaki kontakt uzoraka sa kožom, sluzokožom i očima.
9. Epruvete za uzorak krvi i potrošni materijal koji je korišćen za rukovanje treba odložiti u ad hoc kontejnere predviđene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad treba ukloniti prema lokalnim zahtevima.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno

SDS Dokument „Bezbednosni list“ dostupan je na internet stranici beckmancoulter.com/techdocs

SKLADIŠTENJE I STABILNOST

Ovaj reagens se mora čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C i zaštićen od svetlosti, pre i posle otvaranja bočice.

Ispitivanje roka trajanja zatvorene bočice u odnosu na stabilnost: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dan(a).

DOKAZI POGORŠANJA

Bilo koja promena u fizičkom izgledu reagensa može ukazivati na pogoršanje i reagens ne treba koristiti.

Za dodatne informacije ili ako dobijete oštećen proizvod, pozovite korisnički servis kompanije Beckman Coulter na broj 800-742-2345 (SAD ili Kanada) ili pozovite svog lokalnog predstavnika kompanije Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans sa natrijum azidom može formirati eksplozivna jedinjenja u metalnim odvodnim vodovima. Pogledajte „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (16.8.76.) (Bilten Nacionalnog instituta za bezbednost i zdravlje na radu: Opasnost od eksplozivnih azida).
Da biste sprečili moguće taloženje jedinjenja azida, isperite cevi za otpad vodom nakon odlaganja u otpad nerazblaženog reagensa. Odlaganje u otpad natrijum azida mora biti u skladu sa odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI SE NE ISPORUČUJU UZ KOMPLET:

- Epruvete za uzorkovanje i materijal potreban za uzorkovanje.
- Automatske pipete sa nastavcima za jednokratnu upotrebu za 10 100 µl i 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizu.
- Reagens za liziranje eritrocita sa fazom ispiranja nakon liziranja. Na primer: VersaLyse (referentni broj A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primer: IOTest 3 fiksativni rastvor (referentni broj A07800).
- Izotipska kontrola Pacific Blue: IOTest reagens (referentni broj A74764).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijum-fosfat; 0,145 M natrijum-hlorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska mešalica (vrtložnog tipa).
- Protočni citometar.

POSTUPAK SA VERSALYSE REAGENSOM

Za svaki analiziran uzorak je pored epruvete za uzorak moguće dodati i jednu kontrolnu epruvetu u kojoj se ćelije mešaju u prisustvu izotipske kontrole (referentni broj A74764).

1. Dodajte 10 µl specifičnog IOTest konjugovanog antitela u svaku epruvetu za uzorak i, ako je to potrebno, 10 µl kontrole izotipa u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µl uzorka za testiranje u svaku epruvetu za uzorak. Pažljivo izmešajte epruvete u vrtložnoj mešalici.
3. Inkubirajte 15 do 20 minuta na sobnoj temperaturi (18–25°C), zaštićeno od svetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje crvenih ćelija. Pogledajte VersaLyse (referentni broj A09777) letak i poželjno pratite postupak pod nazivom „sa istovremenom fiksacijom“, koji se sastoji od dodavanja 1 ml nezavisno pripremljene smeše za fiksiranje i liziranje („Fix-and-Lyse“). Odmah izmešajte u vrtložnoj mešalici jednu sekundu i inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi, zaštićeno od svetlosti.
5. Centrifugirajte 5 minuta na 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Ponovo suspendujte talog ćelija u 3 ml PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Aspiracijom uklonite supernatant i ponovo suspendujte talog ćelija u:

- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a plus 0,1% formaldehida ako će se preparati čuvati kraće od ovog broja sati: 24. (PBS sa 0,1% formaldehida može se dobiti razblaživanjem 12,5 µl IOTest 3 rastvora za fiksiranje (referentni broj A07800) u 10X koncentraciji u 1 ml PBS-a).
- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a bez formaldehida ako će se preparati analizirati u roku od ovog broja sati – 2.

Napomena: U svim slučajevima preparate čuvajte na temperaturi između 2°C i 8°C i zaštićene od svetlosti.

OČEKIVANE VREDNOSTI

U našim laboratorijama, uzorci pune krvi 25 očigledno zdravih donora tretirani su pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati dobijeni za broj pozitivnih događaja od interesa sa ovim reagensom navedeni su u tabeli u nastavku:

Pozitivan cilj	Broj	Srednja vrednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti	25	26,53	12,71	47,92
Monociti	25	97,02	2,77	2,86

Ove vrednosti treba da služe samo kao reprezentativne vrednosti. Svaka laboratorija treba da uspostavi sopstvene očekivane vrednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o delovanju dobijeni su pomoću prethodno opisanog postupka na manje od 24 sata starim uzorcima krvi koji su prethodno prikupljeni sterilnim epruvetama za uzorke sa EDTA solju kao antikoagulansom. Analiza se vrši u roku od 2 sata od imunobojenja.

SPECIFIČNOST

Monocionalno antitelo Immu357 prepoznaje epitope koji se nalaze na monomorfnim 29 - 33 kDa proteinima identifikovanim kao HLA-DR. HLA sistem (Ljudski leukocitni antigen) je ime koje je dato za klavni histokompatibilni kompleks (MHC) kod ljudi. Kodiran prema 5 loci (DM, DO, DP, DQ i DR) od D lokusa, HLA molekuli klase II takođe se nazivaju HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ i HLA-DR antigeni (13,14). Izraz antigena klase II ograničen je na antigene koji predstavljaju ćelije, npr. B limfociti, monociti/makrofage, dendrične i Langerhans ćelije kože (14,15). Na T limfocitima, HLA-DR antigen izražen je samo nakon aktivacije (16). Matične ćelije i hematopoezni progenitori izražavaju ga do određene faze u svojim diferencijacijama (14,17).

PRECIZNOST

Procenat pozitivnih vrednosti utvrđen je pomoću pune krvi. Svaki uzorak je analiziran 4 puta, dva puta dnevno tokom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagenasa monoklonskog antitela Anti-HLA-DR-Pacific Blue. Merenja (% pozitivnog) su izvršena na Navios protočnom citometru. Analiza je obavljena na osnovu CLSI metoda EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procena preciznosti učinka kvantitativnih metoda merenja).

Naši kriterijumi prihvatljivosti zavise od broja pozitivnih događaja izmerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivan događaj <1.500, CV <15%
- Ako je pozitivan događaj >1.500, CV <10%

Limfociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrednost) = 1154							
	Između više operatera	Između više citometara	Unutar jednog lota	Između više lotova	Između više analiziranja	Unutar jednog analiziranja	Ukupno
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrednost) = 1197							
	Između više operatera	Između više citometara	Unutar jednog lota	Između više lotova	Između više analiziranja	Unutar jednog analiziranja	Ukupno
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TAČNOST

Tačnost testa Anti-HLA-DR-Pacific Blue procenjena je poređenjem rezultata sa referentnim reagensom kao osnovom na kompletu uzoraka pune krvi analiziranim na Navios protočnom citometru. Odstupanje između testa i referentnog reagensa određeno je na osnovu razlike između rezultata testova. Ako je odstupanje u okviru dozvoljenog opsega greške ili p-vrednost ne ukazuje na značajnu razliku (>0,05), rezultati testova za ova dva reagensa se smatraju ekvivalentnim.

Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivan cilj	Srednja vrednost Δ	Δ % ćelijskih kriterijuma	p-vrednost	REZULTATI
Limfociti	-0,26	<5	0,557	PASS
Monociti	1,04	<5	1,191	PASS

LIMIT SLEPE PROBE I LIMIT DETEKCIJE

Izvršeno je ispitivanje u skladu s protokolom CLSI EP17-A2, „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Procena sposobnosti detekcije za postupke merenja u kliničkoj laboratoriji). Limit detekcije (LoD) je najniža koncentracija analita koja se može dosledno detektovati. Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli:

Positive Target	Limit slepe probe (ćelija/µl)	Limit detekcije (ćelija/µl)
Limfociti	2	4
Monociti	1	3

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti netačne rezultate ako citometar nije pravilno postavljen, ako fluorescentna curenja nisu ispravno kompenzirana ili ako regioni nisu pažljivo postavljeni.
2. Poželjno je koristiti tehniku liziranja RBC sa korakom ispiranja jer ovaj reagens nije optimizovan za tehnike liziranja „bez pranja“.
3. Tačni i ponovljivi rezultati će se dobijati sve dok su korišćeni postupci u skladu sa listom sa tehničkim podacima i postupci kompatibilni sa smernicama dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugovano antitelo ovog reagensa je kalibrisano tako da ponudi najbolji odnos specifičnog i nespecifičnog signala. Prema tome, važno je u svakom testu koristiti utvrđeni odnos zapremine reagensa i zapremine uzorka.
5. U slučaju hiperleukocitoze, razredite krv u PBS-u kako biste dobili vrednost od približno 5 x 10^9 leukocita/l (18).
6. U određenim stanjima bolesti, kao što su teška bubrežna insuficijencija ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak nemoguće. U tom slučaju se pre bojenja preporučuje izoliranje mononuklearnih ćelija upotrebom gradijenta gustine (na primer, fikol) (19).
7. Kod pacijenata lečenih terapijama antihumanim monoklonskim antitelima, detekcija specifičnih ciljanih antigena može biti umanjena ili odsutna usled delimične ili potpune blokade od strane terapijskog antitela.
8. Rezultate Anti-HLA-DR-Pacific Blue testa treba tumačiti u svetlu celokupne kliničke slike pacijenta, uključujući: simptome, kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i druge prikladne informacije.

Za primere i referentne materijale pogledati Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizovani logotip i Beckman Coulter robni i servisni žigovi koji se navode u ovom dokumentu jesu žigovi ili registrovani žigovi kompanije Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim zemljama.

Pacific Blue je registrovani žig kompanije Molecular Probes, Inc.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta/korisnika/treću stranu u Evropskoj uniji i zemljama sa identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o in vitro dijagnostičkim medicinskim sredstvima); ako je tokom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe došlo do ozbiljnog incidenta, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlašćenom predstavniku i svom nacionalnom organu.

Dokument Summary of Safety and Performance (Sažetak informacija o bezbednosti i učinku) dostupan je u EUDAMED bazi podataka: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORIJA REVIZIJA

REVIZIJA AC:	Datum izdavanja: Oktobar, 2019.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AW	Februar 2022.
Ažurirano radi usklađenosti sa smernicama za globalno obeležavanje kompanije Beckman Coulter u skladu sa zahtevima IVD-R (EU)2017/746:	
Dodati odeljci	BSI 2797 broj, Predviđeni korisnik, Klinički značaj, Koncentracija, Preciznost, Tačnost, Limit slepe probe i limit detekcije, Dodatne informacije, Istorija revizija.
Dodate informacije	Pogledati odeljke Ograničenja
Ažuriranje formulacija ili tipografije	Pogledati odeljke Postupak, Učinak, Ograničenja, Upozorenja i mere opreza, Čuvanje i stabilnost.
Uklonjeni odeljci	Primeri kliničkih primena, Reagensi, Intralaboratorijska reproducibilnost, Linearnost
Dopunjeni odeljci	Namena, GHS klasifikacija opasnosti, Dokaz propadanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AX	April 2023
Dopunjeni odeljci	Dodajte kazaški
Dopunjeni odeljci	Skladištenje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Maj 2024
Ažurirani prevodi	**Klinički značaj:**
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Jul 2024
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Ključ za simbole

Rečnik simbola je dostupan na adresi beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Specifikācijas
Specifika	HLA-DR
Klons	Immu-357
Hibridoma	X63 x balb/c
Imunogēns	EBV-transformed cell line
Imūnglobulīns	IgG1
Suga	Pele
Attīrīšana	Radniecības noteikšanas hromatogrāfija
Fluorohroms	Pacific Blue
Molārā attiecība	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
λ ierosme	405 nm
Izstarojuma lielākā vērtība	455 nm
Buferšķīdums	PBS pH 7,2 ar 2 mg/ml BSA un 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugētā antiviela
Anti-HLA-DR
-Pacific Blue

REF B36291 50 testi; 0,5 ml, 10 µl/testā

***In vitro* diagnostikas lietošanai.**

PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

Ar fluorohromu konjugētā antiviela nodrošina tādu šūnu populāciju kvalitatīvo un neautomatizēto noteikšanu, kam ir HLA-DR antigēna ekspresija un kas ir cilvēka bioloģiskajos paraugos, izmantojot plūsmas citometriju (skatīt tālāk sadaļu „Paraugi").

PRINCIPS

Šī testa pamatā ir specifisku monoklonālu antivielu spēja saistīties ar leikocītu izdalītām antigēnu determinantēm.

Leikocītu specifiskā iekrāsošana tiek veikta, inkubējot paraugu ar IOTest reaģentu. Pēc tam eritrocīti tiek atdalīti lizēšanas procesā, un leikocīti, ko šis process neietekmē, tiek analizēti, izmantojot plūsmas citometriju.

Plūsmas citometrs mēra gaismas difūziju un šūnu fluorescenci. Tādēļ ir iespējama interesējošās populācijas ierobežošana elektroniskajā logā, kas definēts histogrammā, kas korelē ar gaismas ortogonālo difūziju (sānu izkliede jeb SS) un šaurleņķa gaismas difūziju (priekšējā izkliede jeb FS). Kā papildu metodes sinhronizācijas procesā iespējams izmantot citas histogrammas, kurās iespējams kombinēt divus dažādus citometrā pieejamos parametrus atkarībā no lietotāja izvēlētā izmantojuma.

Tiek analizēta atdalīto šūnu fluorescence, lai atšķirtu pozitīvi iekrāsotos notikumus no neiekrāsotajiem. Rezultāti tiek izteikti kā procentuālais lielums no pozitīviem notikumiem attiecībā pret visiem notikumiem, kas iegūti selekcijā.

PAREDZĒTAIS LIETOTĀJS

Šis produkts ir paredzēts profesionālai lietošanai laboratorijā.

KLĪNISKAIS NOZĪMĪGUMS

Anti-HLA-DR-Pacific Blue ir Anti-HLA-DR antiviela, ko izmanto, lai ar plūsmas citometriju noteiktu un raksturotu šūnas, kas ekspresē HLA-DR antigēnu. Ar vienu pašu šo izstrādājumu nevar iegūt nekādu diagnostisku secinājumu, un tas nav tam paredzēts.

Izmantojot kopā ar citiem marķieriem, šo izstrādājumu var lietot vienai vai vairākām tālāk norādītajām funkcijām.

- Lai palīdzētu veikt diferenciāldiagnostiku pacientiem ar hematoloģiskām patoloģijām, kuriem, iespējams, ir asinsrades neoplazma, un lai kontrolētu pacientus ar zināmu asinsrades neoplazmu.
- Lai palīdzētu noteikt diagnozi pacientiem, kuriem, iespējams, ir imūndeficīts, un lai uzraudzītu pacientus ar zināmu imūndeficītu.
- Lai kontrolētu pacientus ar zināmu autoimūnu slimību vai traucējumiem.
- Lai uzraudzītu transplantācijas gaitu vai rezultātus.

Skatiet tālāk sniegtās atsauces.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

PARAUGI

Venozās asinis jāņem, izmantojot sterilas mēģenes, kurās kā antikoagulants ir izmantots EDTA sāls.

Paraugi ir jāuzglabā istabas temperatūrā (18–25 °C), un tos nedrīkst sakratīt. Pirms testa parauga ņemšanas ir jāveic paraugu homogenizācija, viegli saskalojot paraugus.

Paraugu analīze ir jāveic 24 stundu laikā pēc vēnas punkcijas.

KONCENTRĀCIJA

Konkrētai partijai atbilstošo analīzes sertifikātu skatiet vietnē www.beckman.com.

BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

1. Neizmantojiet reaģentu pēc derīguma termiņa beigām.
2. Nedrīkst sasaldēt.
3. Pirms izmantošanas ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai (18–25 °C).
4. Minimizējiet ekspozīciju gaismas iedarbībai.
5. Izvairieties no reaģentu bakteriālas kontaminācijas, jo iespējami viltus rezultāti.

6. Strādājot ar antivielu šķīdumiem, kuru sastāvā ir nātrija azīds (NaN_3), jāievēro piesardzība. Neizmantojiet iekšķīgi un nepieļaujiet saskari ar ādu, gļotādu un acīm.

   Turklāt skābā vidē nātrija azīds var radīt potenciāli bīstamo hidrazoīdskābi. Ja to nepieciešams izmest, reaģentu ieteicams šķīdināt lielā daudzumā ūdens un izliet to kanalizācijas sistēmā, lai novērstu nātrija azīda uzkrāšanos metāla caurulēs un novērstu sprādziena risku.

7. Visi asins paraugi ir jāuzskata par potenciāli infekcioziem, un ar tiem jārīkojas, ievērojot piesardzību (respektīvi, jāvalkā aizsargcimdi, aizsargtērpi un brilles).
8. Nekādā gadījumā neizmantojiet muti, lai darbotos ar pipeti. Paraugi nekādā gadījumā nedrīkst saskarties ar ādu, gļotādu un acīm.
9. Darbā izmantotās asiņu mēģenes un vienreizlietojamie materiāli ir jāizmet ad hoc konteineros, kas paredzēti sadedzināšanai.
10. Ir jāveic reaģentu un atkritumu utilizācija atbilstoši vietējām prasībām.

ĶĪMISKO VIELU KLASIFICĒŠANAS UN MARĶĒŠANAS VISPĀRĒJI SASKAŅOTĀS SISTĒMAS BĪSTAMĪBAS KLASIFIKĀCIJA

Nav klasificēts kā bīstams

SDS Drošības datu lapa ir pieejama vietnē beckmancoulter.com/techdocs

GLABĀŠANA UN STABILITĀTE

Reaģents ir jāuzglabā 2–8 °C temperatūrā un jāsargā no gaismas pirms un pēc flakona atvēršanas.

Aizvērta flakona glabāšanas laiks saskaņā ar stabilitātes pētījumu: 1095 dienas.

Atvērta flakona stabilitāte: reaģents ir stabils 180 dienas.

SADALĪŠANĀS PAZĪMES

Jebkuras reaģentu pazīmju izmaiņas var norādīt, ka reaģents sadalās un to nedrīkst izmantot.

Lai iegūtu papildu informāciju vai arī ja saņemtais izstrādājums ir bojāts, zvaniet Beckman Coulter klientu servisam pa tālruni 800-742-2345 (ASV vai Kanāda) vai sazinieties ar vietējo Beckman Coulter pārstāvi.

SATURS

Nātrija azīda konservants var izveidot sprādzienbīstamus savienojumus metāla notekcaurulēs. Skatīt NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (NIOSH biļetens: Azīdu sprādzienbīstamība) (16.8.76.).
Lai nepieļautu iespējamo azīda savienojumu uzkrāšanos, pēc neatšķaidītā reaģenta izmešanas izskalojiet kanalizācijas caurules ar ūdeni. Nātrija azīda izmešana ir jāveic saskaņā ar atbilstošajiem vietējiem noteikumiem.

NEPIECIEŠAMIE MATERIĀLI, KAS NEIETILPST KOMPLEKTĀ

- Paraugu ņemšanai nepieciešamās mēģenes un materiāli.
- Automātiskās pipetes ar vienreizlietojamiem uzgaļiem, kas paredzētas 10, 100 un 500 µl.
- Plastmasas hemolīzes mēģenes.
- Eritrocītu lizēšanas reaģents ar mazgāšanas fāzi pēc lizēšanas. Piemērs: VersaLyse (ats. A09777).
- Leikocītu fiksācijas reaģents. Piemērs: IOTest 3 fiksatīvais šķīdums (ats. A07800).
- Izotipa kontrole Pacific Blue: IOTest reaģents (ats. A74764).
- Buferšķīdums (PBS: 0,01 M nātrija fosfāta; 0,145 M nātrija hlorīda; pH 7,2).
- Centrifugējiet.
- Automātisks maisītājs (samaisīšanas tipa).
- Plūsmas citometrs.

PROCEDŪRA AR REAĢENTU VERSALYSE

Katram analizētajam paraugam papildus testa mēģenei var izmantot vienu kontroles mēģeni, kurā šūnas tiek sajauktas izotipu kontroles klātbūtnē (ats. A74764).

1. Katrai testa mēģenei pievienojiet 10 µl specifiskas IOTest konjugētas antivielas un, ja nepieciešams, katrai kontroles mēģenei pievienojiet 10 µl izotipa kontroles.
2. Pievienojiet 100 µl testa parauga katrai mēģenei. Saudzīgi samaisiet mēģenes.
3. Inkubējiet 15–20 minūtes istabas temperatūrā (18–25 °C), sargājot no gaismas.
4. Pēc tam veiciet eritrocītu lizēšanu. Skatiet VersaLyse (ats. A09777) lietošanas instrukciju, un ir vēlams izmantot procedūru ar nosaukumu „ar vienlaicīgu fiksāciju", kas tiek veikta, pievienojot 1 ml ekstemporāli izgatavota „Fix-and-Lyse" maisījuma. Nekavējoties samaisiet uz vienu sekundi un inkubējiet mēģeni 10 minūtes istabas temperatūrā, sargājot to no gaismas iedarbības.
5. Centrifugējiet 5 minūtes istabas temperatūrā, izmantojot 150 x g.
6. Aspirējot noņemiet virsējo slāni.
7. Atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu ar 3 ml PBS.
8. Atkārtojiet 5. darbību.
9. Aspirējot noņemiet virsējo slāni un atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu, izmantojot:

- 0,5 ml vai 1 ml PBS ar 0,1 % formaldehīda, ja preparātus ir paredzēts uzglabāt mazāk nekā 24 stundas. (0,1 % formaldehīda PBS var iegūt, atšķaidot 12,5 µl IOTest 3 fiksācijas šķīduma (ats. A07800) 10X koncentrācijā ar 1 ml PBS).
- 0,5 ml vai 1 ml PBS bez formaldehīda, ja ir paredzēts analizēt sagataves 2 stundu laikā.

Piezīme. Sagatavotos maisījums vienmēr uzglabājiet 2–8 °C temperatūrā un sargājiet no gaismas.

PAREDZAMĀS VĒRTĪBAS

Mūsu laboratorijās tika apstrādāti 25 acīmredzami veselu donoru pilnasins paraugi, izmantojot iepriekš aprakstīto reaģentu. Ar šo reaģentu iegūtie interesējošo pozitīvo notikumu rezultāti skaitliskā veidā ir sniegti tālāk tabulā.

Pozitīvais mērķis	Numurs	Aritmētiskais vidējais (%)	SN	Variācijas koeficients (%)
Limfocīti	25	26,53	12,71	47,92
Monocīti	25	97,02	2,77	2,86

Šīm vērtībām ir tikai raksturojošs nolūks. Katrai laboratorijai jānosaka savas paredzamās vērtības, kas iegūtas no veseliem vietējās populācijas donoriem.

VEIKTSPĒJA

Veiktspējas dati tiek iegūti, izmantojot iepriekš aprakstīto procedūru mazāk nekā 24 stundu veciem asins paraugiem, kas iepriekš paņemti sterilās mēģenēs ar EDTA sāli kā antikoagulantu. Analīze tiek veikta 2 stundu laikā pēc imūnkrāsošanas metodes izmantošanas.

SPECIFIKA

Monoklonālā antiviela Immu357 atpazīst epitopu, ko pārnēsā monomorfisks 29–33 kDa proteīns jeb HLA-DR. Nosaukums HLA sistēma (Human Leucocyte Antigen — cilvēku leikocītu antigēns) tiek piešķirts cilvēku galvenajam audu saderības kompleksam (MHC). HLA II klases molekulas ar D lokusa 5 lokusu kodiem (DM, DO, DP, DQ un DR) dēvē arī par HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ un HLA-DR antigēniem (13,14). II klases antigēnu ekspresija notiek tikai antigēnu prezentējošās šūnās, tas ir, B limfocītos, monocītos/makrofāgos, ādas dendrītiskajās un Langerhansa šūnās (14,15). T limfocītu gadījumā HLA-DR antigēna ekspresija notiek tikai pēc aktivizēšanas (16). Cilmes šūnas un hematopoētiskās progenitora šūnas veic šī antigēna ekspresiju līdz konkrētai savas diferencēšanas stadijai (14,17).

PRECIZITĀTE

Procentuāli pozitīvās vērtības tika noteiktas, izmantojot pilnasinis. Katru paraugu analizēja 4 reizes: divreiz dienā 1 dienu 2 instrumentos, izmantojot 2 partijas Anti-HLA-DR-Pacific Blue monoklonālu antivielu reaģentu. Mērījumus (% pozitīvs) veica Navios plūsmas citometrā. Analīzi veica, pamatojoties uz CLSI metodi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatīvo mērīšanas metožu precizitātes veiktspējas novērtēšana).

Mūsu pieņemšanas kritēriji ir atkarīgi no katrai populācijai noteikto pozitīvo notikumu skaita.

- Ja pozitīvs notikums < 1500, variācijas koeficients < 15 %
- Ja pozitīvs notikums > 1500, variācijas koeficients < 10 %

Limfocīti							
Pozitīvo notikumu skaits (aritmētiskais vidējais) = 1154							
	Starp operatoriem	Starp citometriem	Partijā	Starp partijām	Starp analīzēm	Analīzē	Kopā
Variācijas koeficients (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
REZULTĀTI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monocīti							
Pozitīvo notikumu skaits (aritmētiskais vidējais) = 1197							
	Starp operatoriem	Starp citometriem	Partijā	Starp partijām	Starp analīzēm	Analīzē	Kopā
Variācijas koeficients (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
REZULTĀTI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRECIZITĀTE

Anti-HLA-DR-Pacific Blue precizitāti novērtēja, pilnasins paraugu kopas, kas analizēti Navios plūsmas citometrā, rezultātus salīdzinot ar atsauces reaģentu kā predikātu. Novirzi starp testa un atsauces reaģentu noteica, pamatojoties uz testu rezultātu atšķirību. Ja novirze atbilst pieļaujamajam kļūdas diapazonam vai p vērtība neliecina par nozīmīgu atšķirību (> 0,05), tad abu reaģentu testu rezultāti uzskatāmi par līdzvērtīgiem.

Iegūtie rezultāti ir apkopoti nākamajā tabulā.

Donoru skaits = 25				
Pozitīvais mērķis	Aritmētiskais vidējais Δ	Δ % šūnu kritēriji	p vērtība	REZULTĀTI
Limfocīti	-0,26	<5	0,557	PASS
Monocīti	1,04	<5	1,191	PASS

TUKŠO PARAUGU ROBEŽVĒRTĪBA UN NOTEIKŠANAS ROBEŽVERTĪBA

Pētījums tika veikts saskaņā ar CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klīniskās laboratorijas mērījumu procedūru noteikšanas spēju izvērtējums). Noteikšanas robežvērtība (NR) ir zemākā analīta koncentrācija, ko iespējams konsekventi noteikt. Iegūtie rezultāti ir apkopoti tālāk tabulā.

Positive Target	Tukšo paraugu robežvērtība (šūnas/µl)	Noteikšanas robežvērtība (šūnas/µl)
Limfocīti	2	4
Monocīti	1	3

IEROBEŽOJUMI

1. Ja citometrs nav novietots precīzi līdzeni, ja nav pareizi kompensētas fluorescences noplūdes un ja reģioni nav uzmanīgi novietoti, plūsmas citometrija var radīt viltus rezultātus.
2. Ir ieteicams izmantot RBC lizēšanas paņēmienu ar mazgāšanas darbību, jo šis reaģents nav optimizēts izmantošanai lizēšanas paņēmienā „bez mazgāšanas".
3. Iegūtie rezultāti ir precīzi un reproducējami, ja visas izmantotās procedūras tiek izpildītas atbilstoši tehniskajai lietošanas instrukcijai un ir saskaņā ar labu laboratorijas praksi.

4. Šī reaģenta konjugētā antiviela ir kalibrēta tā, lai nodrošinātu labāko specifiska signāla/nespecifiska signāla attiecību. Tāpēc ir ļoti svarīgi ievērot reaģenta tilpuma/parauga tilpuma attiecību katrā testā.
5. Hiperleikocitozes gadījumā atšķaidiet asinis ar PBS, lai iegūtā vērtība būtu apmēram 5 x 10^9 leikocīti/l (18).
6. Dažos slimību stāvokļos, piemēram, izteiktas nieru mazspējas vai hemoglobinopātijas gadījumā, eritrocītu lizēšana var būt lēna, nepilnīga vai pat neiespējama. Šajā gadījumā pirms iekrāsošanas ir ieteicams izolēt mononukleārās šūnas, izmantojot blīvuma gradientu (piemēram, Ficoll) (19).
7. Pacientiem, ko ārstē ar anti-cilvēka monoklonālas antivielas līdzekļiem, specifisku mērķa antigēnu noteikšana var būt pasliktināta vai tās var nebūt, jo to daļēji vai pilnībā bloķē terapeitiskā antiviela.
8. Anti-HLA-DR-Pacific Blue rezultāti jāinterpretē, ņemot vērā pacienta kopējo klīnisko stāvokli, tajā skaitā simptomus, klīnisko vēsturi, papildu testu rādītājus un citu atbilstošu informāciju.

Pielikumā skatiet piemērus un atsauces.

PREČU ZĪMES

Beckman Coulter, stilizētais logotips un Beckman Coulter preču un pakalpojumu zīmes, kas minētas šeit, ir Beckman Coulter, Inc. preču zīmes vai reģistrētas preču zīmes Amerikas Savienotajās Valstīs un citās valstīs.

Pacific Blue ir Molecular Probes, Inc. preču zīme.

PAPILDINFORMĀCIJA

Attiecībā uz pacientiem/lietotājiem/trešajām personām Eiropas Savienībā vai valstīs ar identisku regulatīvo režīmu (Regula (ES) 2017/746 par in vitro diagnostikas medicīniskām ierīcēm); ja ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā rodas nopietns negadījums, informējiet par to ražotāju un/vai tā pilnvaroto pārstāvi, kā arī valsts iestādi.

Summary of Safety and Performance (Drošuma un veiktspējas kopsavilkums) ir pieejams EUDAMED datubāzē: ec.europa.eu/tools/eudamed.

PĀRSKATĪŠANAS VĒSTURE

AC VERSIJA:	Laidiena datums: 2019. gada oktobris

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AW	2022. gada februāris
Atjauninājumi atbilst Beckman Coulter vispārējai marķēšanas politikai un IVD-R (ES)2017/746 prasībām:	
Pievienotas iedaļas	BSI 2797 numurs, Paredzētais lietotājs, Klīniskais nozīmīgums, Koncentrācija, Precizitāte, Precizitāte, Tukšo paraugu robežvērtība un noteikšanas robežvērtība, Papildinformācija, Pārskatīšanas vēsture.
Pievienota informācija	Skatīt iedaļas Ierobežojumi.
Formulējuma vai tipogrāfiski atjauninājumi	Skatīt iedaļas Procedūra, Veiktspēja, Ierobežojumi, Brīdinājumi un piesardzības pasākumi, Glabāšana un Stabilitāte.
Izņemtās iedaļas	Klīniskā lietojuma piemērs, reaģenti, reproducējamība laboratorijā, linearitāte.
Atjauninātās sadaļas	Paredzētā lietošana, Ķīmisko vielu klasificēšanas un marķēšanas vispārēji saskaņotās sistēmas bīstamības klasifikācija, Sadalīšanās pazīmes, Procedūra, Pielikums.

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AX	Aprīlis 2023
Atjauninātās sadaļas	Pievienot kazahu valodu
Atjauninātās sadaļas	Glabāšana un stabilitāte

Pārskatītā versija	AY
Pārskatītā izdevuma datums	Maijs 2024
Atjauninātie tulkojumi	**Klīniskais nozīmīgums:**
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Pārskatītā versija	AZ
Pārskatītā izdevuma datums	Jūlijs 2024
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Simbolu skaidrojumi

Simbolu glosārijs ir pieejams vietnē beckman.com/techdocs (dokumenta numurs B60062)

	Специфікації
Специфічність	HLA-DR
Клон	Immu-357
Гібридома	X63 x balb/c
Імуноген	EBV-transformed cell line
Імуноглобулін	IgG1
Вид	Миша
Очищення	Афінна хроматографія
Флуорохром	Pacific Blue
Молярне співвідношення	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
λ-збудження	405 нм
Пік випромінювання	455 нм
Буфер	Розчин ФСБ pH 7,2 плюс бичачий сироватковий альбумін (БСА) 2 мг/мл та 0,1% NaN_3

Кон'юговане антитіло IOTest Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 тестів; 0,5 мл, 10 мкл/тест

Для діагностики *in vitro*.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Ці антитіла, кон'юговані з флуорохромом, забезпечують якісну та неавтоматизовану ідентифікацію популяцій клітин, що експресують антиген HLA-DR, присутніх у біологічних пробах людини, за допомогою проточної цитометрії (див. розділ «Проби» нижче).

ПРИНЦИП

Цей тест базується на здатності специфічних моноклональних антитіл зв'язуватися з антигенними детермінантами, які експресуються лейкоцитами.

Специфічне забарвлення лейкоцитів здійснюється через інкубацію проби з реагентом IOTest. Еритроцити далі видаляють за допомогою лізису, а лейкоцити, на які не впливає цей процес, досліджують методом проточної цитометрії.

Проточний цитометр вимірює розсіювання світла та флуоресценцію клітин. Це робить можливим розмежування досліджуваної популяції всередині електронного вікна, що визначається на гістограмі, яка співвідносить ортогональне розсіювання світла (бічне розсіювання або Side Scatter — SS) і вузькокутове розсіювання світла (пряме розсіювання або Forward Scatter — FS). Інші гістограми, що поєднують два різні параметри, доступні на цитометрі, можна використовувати для допомоги на етапі гейтингу залежно від програми, вибраної користувачем.

Флуоресценція обмеженої популяції клітин аналізується, щоб розрізнити події з позитивно забарвленими клітинами й незабарвленими. Результати виражаються як відсоток позитивних подій відносно всіх подій, зареєстрованих за допомогою гейтингу.

ПЕРЕДБАЧУВАНИЙ КОРИСТУВАЧ

Цей продукт призначений для професійного використання в лабораторії.

КЛІНІЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ

Anti-HLA-DR-Pacific Blue — це антитіло Anti-HLA-DR, яке використовується для ідентифікації та характеристики клітин, що експресують антиген HLA-DR, методом проточної цитометрії. Цей виріб за ізольованого використання не може застосовуватись для генерації жодних діагностичних висновків, він не призначений для цього.

Під час використання разом з іншими маркерами цей продукт можна використовувати в одному або декількох з нижченаведених застосувань.

- Як допоміжний засіб під час проведення диференціальної діагностики в пацієнтів з відхиленнями в результатах гематологічних досліджень із підозрою на наявність гематопоетичного новоутворення, а також для моніторингу пацієнтів з відомим гематопоетичним новоутворенням.
- Як допоміжний засіб діагностики пацієнтів з підозрою на імунодефіцит і моніторингу пацієнтів з відомим імунодефіцитом.
- Для моніторингу пацієнтів з відомим аутоімунним захворюванням або порушенням.
- Для моніторингу процесу або результатів трансплантації.

Див. такі посилання:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

ПРОБИ

Венозну кров потрібно брати в стерильні пробірки, що містять ангикоагулянт — сіль ЕДТА.

Проби слід зберігати за кімнатної температури (18–25°C), і їх не слід струшувати. Перш ніж узяти пробу для тестування, проби потрібно гомогенізувати за допомогою обережного перемішування.

Проби потрібно проаналізувати не пізніше ніж через 24 години після венепункції.

КОНЦЕНТРАЦІЯ

Див. сертифікат аналізу для серії на вебсайті www.beckman.com.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.
2. Не заморожуйте.
3. Доведіть до кімнатної температури (18–25°C) перед використанням.
4. Зведіть до мінімуму вплив світла.

5. Уникайте мікробної контамінації реагентів, інакше можуть бути отримані помилкові результати.
6. Розчини антитіл, які містять азид натрію (NaN_3), треба обробляти обережно. Не приймайте внутрішньо й уникайте будь-якого контакту зі шкірою, слизовими оболонками та очима.

   Крім того, у кислому середовищі азид натрію може утворити потенційно небезпечну азотистоводневу кислоту. Якщо його потрібно утилізувати, рекомендується розвести реагент у великій кількості води перед зливанням у водостічну систему, щоб уникнути накопичення азиду натрію на поверхні металевих труб і запобігти небезпеці вибуху.
7. Усі проби крові слід розглядати як потенційно інфекційні та поводитися з ними обережно (зокрема, використовуючи захисні рукавички, халати й окуляри).
8. У жодному разі не піпетуйте ротом та уникайте потрапляння проб на шкіру, слизові оболонки та в очі.
9. Пробірки для крові та одноразові матеріали, які використовуються для оброблення, слід викидати в спеціальні контейнери, вміст яких призначений для спалювання.
10. Реагенти та відходи потрібно утилізувати відповідно до місцевих вимог.

КЛАСИФІКАЦІЯ НЕБЕЗПЕКИ ЗА СИСТЕМОЮ GHS

Не класифікуються як небезпечні

SDS Паспорт безпеки доступний на сторінці beckmancoulter.com/techdocs

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Цей реагент потрібно зберігати за температури від 2 до 8°C у захищеному від світла місці, як до, так і після відкриття флакона.

Термін придатності вмісту закритого флакону відповідно до дослідження стабільності: 1095 день.

Стабільність після відкриття флакона: реагент стабільний 180 діб.

ОЗНАКИ ПСУВАННЯ

Будь-яка зміна зовнішнього вигляду реагентів може вказувати на псування, і реагент не слід використовувати.

Щоб отримати додаткову інформацію або повідомити про отримання пошкодженого продукту, зателефонуйте до Служби обслуговування клієнтів Beckman Coulter за номером 800-742-2345 (США або Канада) чи зверніться до місцевого представника компанії Beckman Coulter.

ЗМІСТ

Консервант азид натрію може утворювати вибухонебезпечні сполуки в металевих зливних трубопроводах. Див. Бюлетень Національного інституту з охорони праці та промислової гігієни (NIOSH) Explosive Azide Hazard (Вибухонебезпечні азиди) (16.8.76).
Щоб уникнути можливого утворення сполук азиду, промийте зливні труби водою відразу після утилізації нерозведеного реагенту. Реагенти, що містять азид натрію, треба утилізувати з дотриманням відповідних місцевих норм.

ПОТРІБНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ У КОМПЛЕКТ

- Пробірки для проб і матеріали, потрібні для забору проб.
- Автоматичні піпетки з одноразовими наконечниками на 10, 100 і 500 мкл.
- Пластикові пробірки для гемолізу.
- Реагент для лізису еритроцитів з етапом промивання після лізису. Наприклад: VersaLyse (Ref. A09777).
- Реагент для фіксації лейкоцитів. Наприклад: розчин для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ізотипічний контроль Pacific Blue: реагент IOTest (Ref. A74764).
- Буфер (ФСБ: 0,01 моль фосфату натрію; 0,145 моль хлориду натрію; pH 7,2).
- Центрифугування.
- Автоматичний змішувач (типу вортекс).
- Проточний цитометр.

ПРОЦЕДУРА З РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для кожної аналізованої проби на додачу до тест-пробірки може бути використана одна контрольна пробірка, у якій клітини змішано в присутності ізотипічного контролю (Ref. A74764).

1. Додайте до кожної тестової пробірки 10 мкл специфічних кон'югованих антитіл IOTest, і, якщо потрібно, 10 мкл ізотипічного контролю до кожної контрольної пробірки.
2. Додайте 100 мкл проби для тестування в кожну пробірку. Обережно змішайте вміст пробірок вихровим способом.
3. Витримайте протягом 15–20 хвилин за кімнатної температури (18–25°C) у захищеному від світла місці.
4. Потім виконують лізис еритроцитів. Перегляньте вкладний листок VersaLyse (Ref. A09777) і за можливості дотримуйтеся процедури з одночасною фіксацією, яка полягає в додаванні 1 мл суміші Fix-and-Lyse, приготованої безпосередньо перед використанням. Відразу змішайте вихровим способом упродовж однієї секунди й витримайте протягом 10 хвилин за кімнатної температури в захищеному від світла місці.
5. Центрифугуйте за кімнатної температури протягом 5 хвилин зі швидкістю 150 g.
6. Видаліть надосадову рідину аспіратором.
7. Ресуспендуйте осад клітин у 3 мл ФСБ.
8. Повторіть крок 5.
9. Видаліть надосадову рідину аспіратором і ресуспендуйте осад клітин, використовуючи наведене далі.

- 0,5 мл або 1 мл ФСБ плюс 0,1% формальдегіду, якщо препарати передбачається зберігати менше ніж 24 годин. (Розчин ФСБ, що містить 0,1% формальдегіду, можна отримати за допомогою розведення 12,5 мкл розчину для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800) за його 10-кратної концентрації в 1 мл ФСБ).
- 0,5 мл або 1 мл ФСБ без формальдегіду, якщо препарати будуть аналізувати впродовж наступних 2 годин.

Примітка. У всіх випадках препарати слід зберігати в захищеному від світла місці за температури 2–8°C.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

У наших лабораторіях проби цільної крові 25 практично здорових донорів обробляли з використанням реагенту, описаного вище. Отримані результати підрахунку позитивних подій, які досліджуються, з використанням цього реагенту наведено в таблиці нижче:

Цільова позитивна популяція	Число	Середнє значення (%)	СВ	КВ (%)
Лімфоцити	25	26,53	12,71	47,92
Моноцити	25	97,02	2,77	2,86

Ці значення призначені лише для репрезентативних цілей. Кожна лабораторія має встановити власний діапазон очікуваних значень серед місцевої популяції здорових донорів.

ЕФЕКТИВНІСТЬ

Робочі показники ефективності отримуються з використанням процедури, описаної вище, на пробах крові, які були відібрані в стерильні пробірки із сіллю ЕДТА як антикоагулянтом, а також зберігалися менше ніж 24 години. Аналіз проводиться впродовж 2 годин після імунного фарбування.

СПЕЦИФІЧНІСТЬ

Моноклональне антитіло Immu357 розпізнає епітоп, нанесений на мономорфний 29–33 кДа білок, ідентифікований як HLA-DR. Головний комплекс гістосумісності (ГКГС) в організмі людини був названий «HLA system» (система антигену до лейкоцитів людини). Кодовані 5 локусами (DM, DO, DP, DQ і DR) локусу D, молекули HLA класу II також називають антигенами HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ і HLA-DR (13,14). Експресія антигенів класу II обмежена антиген-презентуючими клітинами, тобто В-лімфоцитами, моноцитами/макрофагами, дендритними клітинами шкіри і клітинами Лангерганса шкіри (14,15). На Т-лімфоцитах антиген HLA-DR експресується тільки після активації (16). Стовбурові клітини і клітини-попередники кровотворних експресують його тільки до певної стадії диференціації (14,17).

ПРЕЦИЗІЙНІСТЬ

Процент позитивних значень визначали за допомогою цільної крові. Кожну пробу обробляли 4 рази, двічі на добу впродовж 1 доби на 2 приладах, використовуючи 2 серії реагентів моноклональних антитіл Anti-HLA-DR-Pacific Blue. Вимірювання (% позитивних значень) виконували на проточному цитометрі Navios. Аналіз проводили на основі методу CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оцінювання прецизійності кількісних методів вимірювання).

Наші критерії прийнятності залежать від кількості позитивних подій, виміряних для кожної популяції.

- Якщо кількість позитивних подій < 1500, КВ < 15%
- Якщо кількість позитивних подій > 1500, КВ < 10%

Лімфоцити							
Кількість позитивних подій (середнє значення) = 1154							
	Між операторами	Між цитометрами	У межах однієї серії	Між серіями	Між серіями вимірювань	У межах однієї серії вимірювань	Усього
КВ (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
РЕЗУЛЬТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Моноцити							
Кількість позитивних подій (середнє значення) = 1197							
	Між операторами	Між цитометрами	У межах однієї серії	Між серіями	Між серіями вимірювань	У межах однієї серії вимірювань	Усього
КВ (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
РЕЗУЛЬТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНІСТЬ

Точність Anti-HLA-DR-Pacific Blue оцінювали через порівняння результатів з еталонним реагентом як контролем якості для набору проб цільної крові на проточному цитометрі Navios. Систематичну помилку між тестовим та еталонним реагентами визначали на основі різниці між результатами тесту. Якщо систематична помилка знаходиться в межах діапазону допустимої похибки або p-значення вказує на відсутність значущої різниці (> 0,05), тоді результати тесту для двох реагентів вважаються еквівалентними.

Отримані результати підсумовано в таблиці, наведеній нижче.

Кількість донорів = 25				
Цільова позитивна популяція	Середня Δ	Критерії Δ % клітин	p-значення	РЕЗУЛЬТАТИ
Лімфоцити	-0,26	<5	0,557	PASS
Моноцити	1,04	<5	1,191	PASS

МЕЖА ХОЛОСТОЇ ПРОБИ Й МЕЖА ВИЯВЛЕННЯ

Дослідження проводилося відповідно до рекомендацій CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оцінювання можливості виявлення для методик клінічних лабораторних вимірювань). Межа виявлення (LOD) — це найнижча концентрація аналіту, яку стабільно можна виявити. Отримані результати підсумовано в наведеній нижче таблиці.

Positive Target	Межа холостої проби (клітин/мкл)	Межа виявлення (клітин/мкл)
Лімфоцити	2	4
Моноцити	1	3

ОБМЕЖЕННЯ

1. Результати проточної цитометрії можуть бути помилковими, якщо вказане нижче не було виконано належним чином: вирівняно цитометр, скомпенсовано витік флуоресценції, здійснено позиціонування ділянок.
2. Бажано використовувати метод лізису еритроцитів з етапом промивання, оскільки цей реагент не оптимізовано для методів лізису «без промивання».
3. Буде отримано точні й відтворювані результати, якщо процедури застосовуються відповідно до технічної інструкції, що додається, і стандартів належної лабораторної практики.
4. Кон'юговані антитіла цього реагенту відкалібровано таким чином, щоб забезпечити краще співвідношення специфічного сигналу та неспецифічного сигналу. Тому важливо дотримуватися співвідношення об'єму реагенту та об'єму проби в кожному тесті.
5. У разі гіперлейкоцитозу кров слід розводити у ФСБ так, щоб отримати концентрацію приблизно 5×10^9 лейкоцитів/л (18).
6. У разі деяких захворювань або станів, як-от тяжка ниркова недостатність або гемоглобінопатії, лізис еритроцитів може бути повільним, неповним або навіть неможливим. У цьому разі рекомендується виділяти мононуклеарні клітини за градієнтом щільності (наприклад, з використанням фіколу) перед фарбуванням (19).
7. У пацієнтів, які отримують лікування антилюдськими моноклональними антитілами, виявлення специфічних цільових антигенів може бути зниженим або відсутнім через часткове або повне блокування терапевтичним антитілом.
8. Результати Anti-HLA-DR-Pacific Blue слід інтерпретувати у світлі загальної клінічної картини пацієнта, включно із симптомами, клінічним анамнезом, даними додаткових тестів та іншою відповідною інформацією.

Див. приклади й посилання в додатку.

ТОРГОВЕЛЬНІ МАРКИ

Beckman Coulter, стилізований логотип, товарні знаки й сервісні марки Beckman Coulter, вказані тут, є торговельними марками або зареєстрованими торговельними марками компанії Beckman Coulter, Inc. у Сполучених Штатах Америки й інших країнах.

Pacific Blue є торговельною маркою компанії Molecular Probes, Inc.

ДОДАТКОВА ІНФОРМАЦІЯ

Для пацієнта / користувача / третьої сторони в Європейському Союзі та в країнах з ідентичною системою нормативного регулювання (Регламент 2017/746/ЄС про медичні вироби для діагностики in vitro); якщо під час використання цього пристрою або в результаті його використання стався серйозний інцидент, повідомте про це виробнику й (або) його уповноваженому представнику та місцевому національному органу.

The Summary of Safety and Performance (Огляд безпеки та основних характеристик) доступний у базі даних EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ІСТОРІЯ ЗМІН

РЕДАКЦІЯ AC:	Дата випуску: Жовтень 2019 р.

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AW	Лютий 2022 р.
Оновлення мають відповідати Глобальній політиці щодо маркування компанії Beckman Coulter і вимогам IVD-R (ЄС)2017/746:	
Додані розділи	«Номер BSI 2797», «Цільовий користувач», «Клінічна значущість», «Концентрація», «Прецизійність», «Точність», «Межа холостої проби й межа виявлення», «Додаткова інформація», «Історія змін».
Додана інформація	Див. розділ «Обмеження»
Оновлення формулювання або типографічні оновлення	Див. розділи «Процедура», «Робочі показники», «Обмеження», «Попередження та застереження», «Зберігання та стабільність».
Видалені розділи	«Приклад клінічного застосування», «Реагенти», «Міжлабораторна відтворюваність», «Лінійність»
Оновлені розділи	«Призначення», «Класифікація небезпек GHS», «Ознаки погіршення характеристик», «Процедура», «Додаток».

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AX	Квітень 2023
Оновлені розділи	Додано казахську мову
Оновлені розділи	Зберігання й стабільність

Переглянута версія	AY
Дата перегляду	Травень 2024
Оновлені переклади	**Клінічна значущість:**
Оновлені розділи	Історія змін

Переглянута версія	AZ
Дата перегляду	Липень 2024
Оновлені розділи	Історія змін

Список символів

Глосарій символів доступний на сайті beckman.com/techdocs (документ № B60062)

	Especificações
Especificidade	HLA-DR
Clone	Immu-357
Hibridoma	X63 x balb/c
Imunógeno	EBV-transformed cell line
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Camundongo
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	Pacific Blue
Razão molar	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
λ de excitação	405 nm
Pico de emissão	455 nm
Tampão	PBS com pH de 7,2 mais 2 mg/mL de BSA e 0,1% de NaN_3

IOTest
Anticorpo conjugado Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 testes; 0.5 mL, 10 µL/teste

Para uso em diagnóstico *in vitro.*

USO PREVISTO

Esse anticorpo conjugado com fluorocromo permite a identificação qualitativa e não automatizada das populações de células que expressam o antígeno HLA-DR presente em amostras biológicas humanas utilizando a citometria de fluxo (consulte a seção “Amostras” a seguir).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade que os anticorpos monoclonais específicos têm de se ligarem aos determinantes antigênicos expressos por leucócitos.

A coloração específica de leucócitos é realizada incubando-se a amostra com o reagente IOTest. As hemácias são então removidas por lise e os leucócitos, que não são afetados por esse processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citômetro de fluxo mede a difusão da luz e a fluorescência das células. Ele possibilita a delimitação da população de interesse na janela eletrônica definida por um histograma, que correlaciona a difusão ortogonal da luz (dispersão lateral ou SS) e a difusão da luz em ângulo estreito (dispersão frontal ou FS). Outros histogramas que combinam dois dos diferentes parâmetros disponíveis no citômetro podem ser utilizados como auxílio no estágio de delimitação, dependendo da aplicação escolhida pelo usuário.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são expressos como uma porcentagem dos eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos pela delimitação.

USUÁRIO PREVISTO

Este produto destina-se ao uso laboratorial profissional.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O Anti-HLA-DR-Pacific Blue é um anticorpo para Anti-HLA-DR usado para identificar e caracterizar, por citometria de fluxo, as células que expressam o antígeno HLA-DR. Este produto por si só não pode e não se destina a originar qualquer conclusão diagnóstica.

Quando usado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser usado com uma ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com anormalidades hematológicas com suspeita de terem neoplasia hematopoiética e para monitorar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.
- Para auxiliar no diagnóstico de pacientes com suspeita de imunodeficiência e monitorar pacientes com imunodeficiência conhecida.
- Para monitorar pacientes com doença ou distúrbio autoimune conhecidos.
- Para monitorar o processo ou os resultados do transplante.

Consulte as referências a seguir:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

AMOSTRAS

Sangue venoso deve ser coletado usando tubos estéreis contendo um sal de EDTA como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas em temperatura ambiente (18-25°C) e não devem ser agitadas. A amostra deve ser homogeneizada por agitação suave antes que a amostra para teste seja retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a coleta.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não use o reagente após o prazo de validade.
2. Não congele.
3. Deixe atingir a temperatura ambiente antes de usar (18-25°C).

4. Minimize a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, pois isso pode gerar falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos contendo azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não utilize internamente e evite o contato com a pele, mucosas e olhos.

   Além disso, em um meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazoico potencialmente perigoso. Se precisar descartar essa substância, recomenda-se que o reagente seja diluído em um grande volume de água antes de despejá-lo no sistema de drenagem para evitar o acúmulo de azida sódica nos canos de metal e o risco de explosão.
7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas como potencialmente infecciosas e devem ser manipuladas com cuidado (em particular: uso de luvas, jalecos e óculos de proteção).
8. Nunca coloque a pipeta na boca e evite qualquer contato das amostras com a pele, mucosas e olhos.
9. Os tubos de sangue e o material descartável utilizado para manuseio deve ser descartado em recipientes ad hoc destinados à incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO DO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Folha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido entre 2 e 8°C e protegido da luz, antes e depois do frasco ter sido aberto.

Validade do frasco fechado de acordo com o estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente é estável por 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DETERIORAÇÃO

Qualquer alteração no aspecto físico dos reagentes poderá indicar deterioração e o reagente não deverá ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, entre em contato com o serviço de atendimento ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou entre em contato com o representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em canos de escoamento metálicos. Consulte o Boletim do NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health [Instituto de segurança e saúde ocupacional dos EUA]): Explosive Azide Hazard (Perigos de explosão de azida) (16/8/76).
Para evitar o possível acúmulo de compostos de azida, enxágue os canos de escoamento com água após o descarte do reagente não diluído. O descarte da azida sódica deve ser efetuado de acordo com as normas locais apropriadas.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostra e material necessário para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 10, 100 e 500 µL.
- Tubos plásticos de hemólise.
- Reagente de lise de hemácias com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: Reagente VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: Solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controle do isótipo Pacific Blue: reagente IOTest (Ref. A74764).
- Tampão (PBS: fosfato de sódio a 0,01 M; cloreto de sódio a 0,145 M; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citômetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM O REAGENTE VERSALYSE

Para cada amostra analisada, além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controle no qual as células são misturadas na presença do controle de isótipo (Ref. A74764).

1. Adicione 10 µL de anticorpo conjugado IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 10 µL do controle do isótipo a cada tubo de controle.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos em temperatura ambiente (18-25°C), protegido da luz.
4. Em seguida, faça a lise das hemácias. Consulte o folheto da VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento chamado “with concomitant fixation (com fixação concomitante)”, que consiste em adicionar 1 mL da mistura de fixação e lise preparada extemporaneamente. Agite em vórtex imediatamente durante um segundo e incube durante 10 minutos em temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue por 5 minutos a 150 x g em temperatura ambiente.
6. Retire o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita a etapa 5.
9. Retire o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular usando:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído, se as preparações forem mantidas por um prazo inferior a 24 horas. (É possível obter uma solução PBS com 0,1% de formaldeído diluindo-se 12,5 µL de Solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na concentração de 10X em 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído, se as preparações forem analisadas dentro de 2 horas.

Nota: Em qualquer dos casos, mantenha as preparações entre 2 e 8°C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Em nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 doadores aparentemente saudáveis foram tratadas usando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos positivos de interesse com esse reagente são fornecidos na tabela a seguir:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP (Desvio padrão)	CV (%)
Linfócitos	25	26,53	12,71	47,92
Monócitos	25	97,02	2,77	2,86

Esses valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores esperados da população local de doadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos usando o procedimento descrito anteriormente em amostras de sangue com menos de 24 horas, coletadas previamente em tubos estéreis com sal de EDTA como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

O anticorpo monoclonal Immu357 reconhece um epítopo localizado em uma proteína monomórfica de 29–33 kDa, identificada como HLA-DR. O sistema HLA (antígeno leucocitário humano) é o nome dado ao complexo principal de histocompatibilidade (MHC) nos seres humanos. Codificadas por 5 loci (DM, DO, DP, DQ e DR) do lócus D, as moléculas de HLA classe II também são denominadas antígenos HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ e HLA-DR (13,14). A expressão dos antígenos de classe II é limitada às células que apresentam antígenos, ou seja, os linfócitos B, os monócitos/macrófagos e as células dendríticas e de Langerhans da pele (14,15). Nos linfócitos T, o antígeno HLA-DR só é expresso após a ativação (16). As células estaminais e os progenitores hematopoiéticos expressam esse antígeno até uma determinada fase da sua diferenciação (14,17).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados usando-se sangue total. Cada amostra foi processada 4 vezes, duas vezes por dia durante 1 dia em 2 instrumentos, usando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de Anti-HLA-DR-Pacific Blue. As medições (% de positivos) foram realizadas no citômetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação de desempenho de precisão de métodos de medição quantitativos).

Nossos critérios de aceitação dependem do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Se eventos positivos <1.500, CV <15%
- Se eventos positivos >1.500, CV <10%

Linfócitos							
Número de eventos positivos (média) = 1154							
	Entre operadores	Entre citômetros	Dentro do lote	Entre lotes	Entre processamentos	Dentro do processamento	Total
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monócitos							
Número de eventos positivos (média) = 1197							
	Entre operadores	Entre citômetros	Dentro do lote	Entre lotes	Entre processamentos	Dentro do processamento	Total
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do Anti-HLA-DR-Pacific Blue foi avaliada comparando-se os resultados com um reagente de referência como o predicado em um conjunto de amostras de sangue total processadas em um citômetro de fluxo Navios. A tendência entre o reagente de teste e o de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados dos testes. Se a tendência estiver dentro da faixa de erro aceitável ou o valor p não indicar diferenças significativas (>0,05), então os resultados dos testes para os dois reagentes são considerados como equivalentes.

Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Número de doadores = 25				
Alvo positivo	Δ média	Critérios de Δ % de células	valor p	RESULTADOS
Linfócitos	-0,26	<5	0,557	PASS
Monócitos	1,04	<5	1,191	PASS

LIMITE DE BRANCO E LIMITE DE DETECÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com a diretriz EP17-A2 do CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de detecção para procedimentos de medição de laboratório clínico). O Limite de detecção (LOD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detectada consistentemente. Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite de branco (células/µL)	Limite de detecção (células/µL)
Linfócitos	2	4
Monócitos	1	3

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo pode produzir resultados falsos se o citômetro não for alinhado perfeitamente, se os vazamentos de fluorescência não forem corretamente compensados e se as regiões não forem cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível usar uma técnica de lise de RBC com uma etapa de lavagem, já que esse reagente não foi otimizado para técnicas de lise “sem lavagem”.
3. Serão obtidos resultados exatos e reproduzíveis desde que os procedimentos utilizados estejam em conformidade com o folheto técnico e sejam compatíveis com as boas práticas de laboratório.
4. O anticorpo conjugado desse reagente é calibrado para oferecer a melhor razão entre sinal específico e sinal não específico. Por isso, é importante manter a razão entre volume do reagente e volume da amostra em cada teste.
5. No caso de hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (18).
6. Em certos estados da doença, como insuficiência renal grave e hemoglobinopatias, a lise das hemácias pode ser lenta, incompleta ou até mesmo impossível. Nesse caso, recomenda-se isolar as células mononucleadas usando um gradiente de densidade (Ficoll, por exemplo) antes da coloração (19).
7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a detecção dos antígenos-alvo específicos pode ser diminuída ou não ocorrer devido ao bloqueio parcial ou total pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de Anti-HLA-DR-Pacific Blue devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, histórico clínico, dados de testes adicionais e outras informações apropriadas.

Consulte o anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logotipo estilizado e as marcas dos produtos e serviços da Beckman Coulter mencionados neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registradas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e em outros países.

Pacific Blue é uma marca registrada da Molecular Probes, Inc.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/usuário/terceiro na União Europeia e em países com regime regulatório idêntico (Regulamentação 2017/746/UE sobre In vitro Diagnostic Medical Devices [Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro]), se, durante o uso deste dispositivo ou como resultado de seu uso, ocorrer um incidente grave, relate-o ao fabricante e/ou ao seu representante autorizado e à sua autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível no banco de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO AC:	Data de publicação: outubro de 2019

REVISÃO	**Data de publicação**
AW	Fevereiro de 2022
Atualizações para o cumprimento da Global labelling Policy (Política de rotulagem global) da Beckman Coulter e de acordo com os requisitos da IVD-R (UE)2017/746:	
Seções adicionadas	Número BSI 2797, Usuário previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite de branco e limite de detecção, Informações adicionais, Histórico de revisão.
Informações adicionadas	Consulte as seções: Limitações
Atualizações tipográficas ou de fraseado	Consulte as seções Procedimento, Desempenho, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Seções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Seções atualizadas	Uso previsto, Classificação de perigo do GHS, Evidência de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de publicação**
AX	Abril 2023
Seções atualizadas	Adicionar cazaque
Seções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revisada	AY
Data da revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Versão revisada	AZ
Data da revisão	Julho 2024
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (documento número B60062)

	Specificaties
Specificiteit	HLA-DR
Kloon	Immu-357
Hybridoom	X63 x balb/c
Immunogeen	EBV-transformed cell line
Immunoglobuline	IgG1
Soort	Muis
Purificatie	Affiniteitschromatografie
Fluorochroom	Pacific Blue
Molaire verhouding	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
λ excitatie	405 nm
Emissiepiek	455 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA en 0,1% NaN_3

IOTest

Geconjugeerd antilichaam Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

BEOOGD GEBRUIK

Met dit fluorochroom-geconjugeerde antilichaam kunnen celpopulaties die het HLA-DR-antigeen tot expressie brengen, kwalitatief en niet-geautomatiseerd worden geïdentificeerd in menselijke biologische monsters met behulp van flowcytometrie (zie het gedeelte 'Monsters' hieronder).

PRINCIPE

Deze test is gebaseerd op het vermogen van specifieke monoklonale antilichamen om zich te binden aan de antigene determinanten die tot expressie worden gebracht door leukocyten.

Specifieke kleuring van de leukocyten wordt uitgevoerd door het monster te incuberen met het IOTest -reagens. De rode cellen worden vervolgens via lysering verwijderd en de leukocyten (die ongevoelig zijn voor dit proces) worden geanalyseerd voor middel van flowcytometrie.

De flowcytometer meet de lichtdiffusie en de fluorescentie van cellen. Het maakt de afbakening van de betrokken populatie mogelijk binnen het elektronische venster gedefinieerd op een histogram, wat de orthogonale verspreiding van licht (zijwaartse verstrooiing of ZV) in verband brengt met de verspreiding van smalhoekig licht (voorwaartse verstrooiing of VV). Andere histogrammen die twee van de verschillende beschikbare parameters op de cytometer combineren, kunnen worden gebruikt als ondersteuning bij de gating-fase, afhankelijk van de door de gebruiker gekozen toepassing.

De fluorescentie van de afgeperkte cellen wordt geanalyseerd om de positief-gekleurde gebeurtenissen te onderscheiden van de niet-gekleurde. De resultaten worden uitgedrukt als een percentage van positieve gebeurtenissen ten opzichte van alle gebeurtenissen verzameld door de gating.

BEOOGDE GEBRUIKER

Dit product is bedoeld voor professioneel gebruik in het laboratorium.

KLINISCHE RELEVANTIE

Het Anti-HLA-DR-Pacific Blue is een Anti-HLA-DR-antilichaam dat wordt gebruikt om cellen die het HLA-DR-antigeen tot expressie brengen te identificeren en te karakteriseren met behulp van flowcytometrie. Op basis van dit product alleen kan geen enkele diagnostische conclusie worden getrokken en het is hier ook niet voor bedoeld.

Bij gebruik in combinatie met andere markers kan dit product worden gebruikt voor een of meer van de volgende functies:

- Ter ondersteuning van de differentiaaldiagnostiek bij patiënten met een hematologische afwijking met verdenking op het hebben van een hematopoiëtisch neoplasma en ter controle van patiënten met een bekend hematopoiëtisch neoplasma.
- Ter ondersteuning van de diagnose van patiënten met vermoedelijke immunodeficiëntie en het bewaken van patiënten met bekende immunodeficiëntie.
- Ter bewaking van patiënten met bekende auto-immuunaandoeningen of -afwijkingen.
- Ter bewaking van transplantatieproces of -resultaten.

Zie de volgende referenties:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

MONSTERS

Veneus bloed moet worden afgenomen met steriele buisjes die EDTA-zout bevatten als anticoagulans.

De monsters moeten op kamertemperatuur (18-25 °C) worden gehouden en mogen niet worden geschud. De monsters moeten gehomogeniseerd worden door licht te schudden voordat het testmonster wordt afgenomen.

De monsters moeten worden geanalyseerd binnen 24 uur van venapunctie.

CONCENTRATIE

Zie batch-specifiek analysecertificaat op www.beckman.com.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Gebruik het reagens niet na de uiterste houdbaarheidsdatum.
2. Niet invriezen.

3. Laat het op kamertemperatuur (18-25 °C) komen voor gebruik.
4. Beperk de blootstelling aan licht.
5. Vermijd microbiële verontreiniging van de reagentia, anders kunnen verkeerde resultaten optreden.
6. Antilichaamoplossingen die natriumazide (NaN_3) bevatten moeten voorzichtig gehanteerd worden. Niet innemen en elk contact met huid, slijmvliezen en ogen vermijden.

   In een zuur medium kan natriumazide bovendien de potentieel gevaarlijke waterstofazide vormen. Indien verwijdering nodig is, wordt het aanbevolen om het reagens te verdunnen in een groot volume water voordat het in het afvoersysteem wordt gegoten, om de accumulatie van natriumazide in metalen buizen en explosiegevaar te vermijden.
7. Alle bloedmonsters moeten worden beschouwd als mogelijk besmettelijk en moeten voorzichtig worden gehanteerd (met name: veiligheidshandschoenen, -jas en -bril dragen).
8. Pipetteer nooit met de mond en vermijd elk contact van de monster met huid, slijmvliezen en ogen.
9. Bloedbuisjes en wegwerpmateriaal die gebruikt zijn, moeten verwijderd worden in afvalcontainers bestemd voor verbranding.
10. Reagentia en afval moeten verwijderd worden volgens de plaatselijke voorschriften.

GHS GEVARENCLASSIFICATIE

Niet geclassificeerd als gevaarlijk

SDS Het veiligheidsinformatieblad is beschikbaar op beckmancoulter.com/techdocs

OPSLAG EN STABILITEIT

Dit reagens moet tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht worden bewaard, voor- en nadat het buisje wordt geopend.

Houdbaarheidsdatum van ongeopend buisje volgens stabiliteitsstudie: 1095 dagen.

Stabiliteit van geopend buisje: het reagens is stabiel gedurende 180 dagen.

BEWIJS VAN BEDERF

Elke wijziging in de fysieke verschijning van de reagentia kan wijzen op aantasting; het reagens mag dan niet langer gebruikt worden.

Bel voor meer informatie, of als het product beschadigd is, met de klantenservice van Beckman Coulter op 800-742-2345 (VS of Canada) of neem contact op met uw plaatselijke vertegenwoordiger van Beckman Coulter.

INHOUD

Een conserveringsmiddel van natriumazide kan explosieve verbindingen vormen in metalen afvoerleidingen. Zie NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (Explosiegevaar van azide, 16-08-1976).
Om de ophoping van azideverbindingen te vermijden, spoelt u de afvoerbuizen met water na verwijdering van onverdund reagens. Natriumazide moet worden verwijderd volgens de toepasselijke plaatselijke voorschriften.

BENODIGD MATERIAAL DAT NIET IS MEEGELEVERD IN DE KIT:

- Monsterbuisjes en materiaal vereist voor monsterneming.
- Automatische pipetten met wegwerppunten voor 10, 100 en 500 µL.
- Plastic hemolysebuisjes.
- Ontbindingsreagens voor rode cellen met spoelfase na de lysis. Bijvoorbeeld: VersaLyse (ref. A09777).
- Fixatiereagens voor leukocyten. Bijvoorbeeld: IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800).
- Isotypecontrole Pacific Blue: IOTest-reagens (ref. A74764).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfaat; 0,145 M natriumchloride; pH 7,2).
- Centrifugeer.
- Automatische schudder (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MET VERSALYSE-REAGENS

Voor elk geanalyseerd monster kan, naast het testbuisje, één controlebuisje worden toegevoegd waarin de cellen worden gemengd in aanwezigheid van de isotypecontrole (ref. A74764).

1. Voeg 10 µL specifiek IOTest-geconjugeerd antilichaam toe aan elk testbuisje en, indien nodig, 10 µL isotypecontrole aan elk controlebuisje.
2. Voeg 100 µL van het testmonster toe aan elk buisje. Wervel de buisjes voorzichtig.
3. Incubeer 15 tot 20 minuten op kamertemperatuur (18-25 °C), beschermd tegen licht.
4. Lyseer vervolgens de rode cellen. Raadpleeg de VersaLyse-bijsluiter (ref. A09777) en volg bij voorkeur de procedure genaamd 'met gelijktijdige fixatie', die bestaat uit het toevoegen van 1 mL 'fixeer-en-lyseer'-oplossing die ex tempore wordt bereid. Wervel onmiddellijk gedurende één seconde en incubeer 10 minuten op kamertemperatuur, beschermd tegen licht.
5. Centrifugeer gedurende 5 minuten bij 150 x g op kamertemperatuur.
6. Verwijder het supernatant door opzuiging.
7. Suspendeer de celpellet opnieuw met 3 mL van PBS.
8. Herhaal stap 5.
9. Verwijder het supernatant door opzuiging en suspendeer de celpellet opnieuw met:

- 0,5 mL of 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyde, indien de bereidingen minder dan 24 uur worden bewaard. (Een PBS met 0,1% formaldehyde kan worden verkregen door 12,5 µL IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800) bij de 10X-concentratie te verdunnen in 1 mL PBS).
- 0,5 mL of 1 mL PBS zonder formaldehyde, indien de bereidingen moeten worden geanalyseerd binnen 2 uur.

Opmerking: houd de bereidingen in alle gevallen tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht.

VERWACHTE WAARDEN

In onze laboratoria werden de volbloedmonsters van 25 ogenschijnlijk gezonde donoren behandeld met het hierboven beschreven reagens. De verkregen resultaten voor de telling van de relevante positieve gebeurtenissen voor dit reagens worden in de onderstaande tabel weergegeven:

Positieve target	Nummer	Gemiddeld (%)	SD	VC (%)
Lymfocyten	25	26,53	12,71	47,92
Monocyten	25	97,02	2,77	2,86

Deze waarden zijn uitsluitend bedoeld als referentie. Elk laboratorium moet zijn eigen verwachte waarden bepalen op basis van de lokale populatie van normale donoren.

PRESTATIES

Prestatiegegevens worden verkregen met de hierboven beschreven procedure op minder dan 24 uur oude bloedmonsters die eerder zijn verzameld in steriele buisjes met EDTA-zout als anticoagulans. De analyse wordt uitgevoerd binnen 2 uur na immunokleuring.

SPECIFICITEIT

Het monoklonale antilichaam Immu357 herkent een epitoop dat wordt gedragen op een monomorf eiwit van 29-33 kDa dat is geïdentificeerd als HLA-DR. Het HLA-systeem (Human Leucocyte Antigen) is de naam die aan het belangrijkste histocompatibiliteitscomplex (MHC) bij de mens wordt gegeven. De HLA klasse II-moleculen, gecodeerd door 5 loci (DM, DO, DP, DQ en DR) van de D-locus, worden ook wel HLA-DM-, HLA-DO-, HLA-DP-, HLA-DQ- en HLA-DR-antigenen genoemd (13,14). De expressie van klasse II-antigenen is beperkt tot antigeen-presenterende cellen, d.w.z. B-lymfocyten, monocyten/macrofagen, dendritische en Langerhanscellen (14,15). Bij T-lymfocyten wordt het HLA-DR-antigeen pas na activering tot expressie gebracht (16). Stamcellen en hematopoëtische progenitoren brengen het tot expressie tot een bepaald stadium in hun differentiatie (14,17).

PRECISIE

Het percentage positieve waarden werd bepaald met volbloed. Elk monster werd 4 maal getest, tweemaal per dag gedurende 1 dag op 2 instrumenten, waarbij gebruik werd gemaakt van 2 batches Anti-HLA-DR-Pacific Blue monoklonale antilichaamreagentia. De metingen (% positief) werden verricht met de Navios-flowcytometer. De analyse werd uitgevoerd op basis van de CLSI-methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluatie van de nauwkeurigheidsprestaties van kwantitatieve meetmethoden).

Onze acceptatiecriteria zijn afhankelijk van het aantal positieve gebeurtenissen dat voor elke populatie wordt gemeten:

- In het geval van een positieve gebeurtenis <1500, VC <15%
- In het geval van een positieve gebeurtenis >1500, VC <10%

Lymfocyten							
Aantal positieve gebeurtenissen (gemiddelde) = 1154							
	Tussen gebruikers	Tussen cytometers	Van dezelfde batch	Tussen batches	Tussen runs	Tijdens run	Totaal
VC (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
RESULTATEN	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Monocyten							
Aantal positieve gebeurtenissen (gemiddelde) = 1197							
	Tussen gebruikers	Tussen cytometers	Van dezelfde batch	Tussen batches	Tussen runs	Tijdens run	Totaal
VC (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
RESULTATEN	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NAUWKEURIGHEID

De nauwkeurigheid van Anti-HLA-DR-Pacific Blue werd beoordeeld door de resultaten te vergelijken met een referentiereagens als predicaat op een reeks volbloedmonsters die met een flowcytometer van Navios werden getest. De bias tussen het test- en het referentiereagens werd bepaald op basis van het verschil tussen de testresultaten. Als de bias binnen het toegestane foutbereik ligt of de p-waarde geen significant verschil aantoont (>0,05), worden de testresultaten voor de twee reagentia als gelijkwaardig beschouwd.

De resultaten worden samengevat in de onderstaande tabel:

Aantal donoren = 25				
Positieve target	Gemiddelde Δ	Δ % Celcriteria	p-waarde	RESULTATEN
Lymfocyten	-0,26	<5	0,557	PASS
Monocyten	1,04	<5	1,191	PASS

BLANCOLIMIET EN DETECTIELIMIET

Een studie is uitgevoerd in overeenstemming met CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluatie van detectiecapaciteit voor meetprocedures in klinische laboratoria). Het detectielimiet (LOD) is de laagste concentratie analiet die consistent kan worden gedetecteerd. De verkregen resultaten worden samengevat in de volgende tabel:

Positive Target	Blancolimiet (cel/µL)	Detectielimiet (cel/µL)
Lymfocyten	2	4
Monocyten	1	3

BEPERKINGEN

1. Flowcytometrie kan leiden tot verkeerde resultaten indien de cytometer niet perfect is uitgelijnd, indien fluorescentielekken niet juist zijn gecompenseerd en indien de gebieden niet zorgvuldig zijn gepositioneerd.
2. Gebruik bij voorkeur een RBC-lyseertechniek met een wasstap, aangezien dit reagens niet is geoptimaliseerd voor lyseertechnieken zonder wassen.
3. Nauwkeurige en reproduceerbare resultaten worden verkregen zolang de gebruikte procedures in overeenstemming zijn met de technische brochure en compatibel met goede laboratoriumpraktijken.
4. Het geconjugeerde antilichaam van dit reagens wordt gekalibreerd om de beste verhouding van specifiek signaal/niet-specifiek signaal te bieden. Daarom is het belangrijk dat de verhouding van reagensvolume/monstervolume in acht wordt genomen bij elke test.
5. In het geval van een hyperleukocytose verdunt u het bloed in PBS om een waarde van ongeveer 5 x 10^9 leukocyten/L te verkrijgen (18).
6. In sommige stadia van een aandoening, zoals ernstig nierfalen of hemoglobinopathieën, kan de ontbinding van rode cellen traag verlopen, onvolledig of zelfs onmogelijk zijn. In dit geval wordt het aanbevolen om cellen met één kern te isoleren met een dichtheidsgradiënt (bijvoorbeeld Ficoll) voorafgaand aan de kleuring (19).
7. Bij patiënten die worden behandeld met anti-humane monoklonale antilichaamtherapieën kan de detectie van de specifieke doelantigenen verminderd of afwezig zijn als gevolg van een gedeeltelijke of volledige blokkering door het therapeutische antilichaam.
8. De Anti-HLA-DR-Pacific Blue-resultaten moeten worden geïnterpreteerd in het licht van het totale klinische beeld van de patiënt, met onder meer: symptomen, klinische anamnese, gegevens van aanvullende tests en andere relevante informatie.

Zie de bijlage voor voorbeelden en referenties.

Handelsmerken

Beckman Coulter, het gestileerde logo en de merken van Beckman Coulter-producten en -services in dit document zijn handelsmerken of gedeponeerde handelsmerken van Beckman Coulter, Inc. in de Verenigde Staten en andere landen.

Pacific Blue is een handelsmerk van Molecular Probes, Inc.

AANVULLENDE INFORMATIE

Voor patiënten/gebruikers/derden in de EU en in landen met soortgelijke regelgeving (Verordening 2017/746/EU inzake in-vitro diagnostische medische apparaten); als er zich tijdens of als gevolg van het gebruik van dit apparaat een ernstig incident voordoet, dient u dit te melden bij de fabrikant en/of diens bevoegde vertegenwoordiger en bij uw nationale autoriteiten.

Het overzicht van de veiligheid en prestaties is beschikbaar in de database EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed

REVISIEGESCHIEDENIS

REVISIE AC:	Uitgiftedatum: Oktober 2019

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AW	Februari 2022
Bijgewerkt om te voldoen aan het wereldwijde etiketteringsbeleid van Beckman Coulter en volgens de vereisten van IVD-R (EU)2017/746:	
Toegevoegde paragrafen	BSI 2797-nummer, Beoogde gebruiker, Klinische relevantie, Concentratie, Precisie, Nauwkeurigheid, Blancolimiet en detectiegrens, Aanvullende informatie, Revisiegeschiedenis.
Toegevoegde informatie	Zie paragraaf Beperkingen
Bijgewerkte formulering of typografie	Zie paragrafen Procedure, Prestaties, Beperkingen, Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen, Opslag en Stabiliteit.
Verwijderde paragrafen	Voorbeeld van klinische toepassingen, Reagentia, Reproduceerbaarheid intra-laboratoria, Lineariteit
Bijgewerkte paragrafen	Beoogd gebruik, GHS-gevarenclassificatie, Bewijs van bederf, Procedure, Bijlage.

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AX	April 2023
Bijgewerkte paragrafen	Toevoegen Kazachs
Bijgewerkte paragrafen	Opslag en stabiliteit

Bijgewerkte versie	AY
Herzieningsdatum	Mei 2024
Bijgewerkte vertalingen	**Klinische relevantie:**
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Bijgewerkte versie	AZ
Herzieningsdatum	Juli 2024
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Verklaring van symbolen

Overzicht met verklaring van symbolen is beschikbaar op beckman.com/techdocs (documentnummer B60062)

	Thông số kỹ thuật
Độ đặc hiệu	HLA-DR
Dòng vô tính	Immu-357
Tế bào lai	X63 x balb/c
Chất sinh miễn dịch	EBV-transformed cell line
Globulin miễn dịch	IgG1
Các loài	Chuột
Tinh chế	Sắc ký ái lực
Chất nhuộm huỳnh quang	Pacific Blue
Tỷ lệ mol	Pacific Blue/Ig: 5,9-7,6
Kích thích λ	405 nM
Đỉnh phát xạ	455 nM
Dung dịch đệm	PBS pH 7,2 cộng với 2 mg/mL BSA và 0,1% NaN_3

Kháng thể cộng hợp IOTest Anti-HLA-DR -Pacific Blue

REF B36291 50 xét nghiệm; 0,5 mL, 10 µL/xét nghiệm

Dùng cho chẩn đoán *in vitro*.

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Kháng thể cộng hợp chất nhuộm huỳnh quang này cho phép xác định theo phương thức định tính và không tự động các quần thể tế bào biểu hiện kháng nguyên HLA-DR có trong mẫu sinh học của người bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy (xem phần “Mẫu” bên dưới).

NGUYÊN TẮC

Xét nghiệm này dựa trên khả năng liên kết của kháng thể đơn dòng đặc hiệu với yếu tố quyết định kháng nguyên biểu hiện bởi bạch cầu.

Nhuộm đặc hiệu bạch cầu bằng cách ủ mẫu với thuốc thử IOTest. Sau đó, loại bỏ tế bào hồng cầu bằng cách ly giải và tế bào bạch cầu không bị ảnh hưởng bởi quá trình này sẽ được phân tích bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy.

Máy đếm tế bào dòng chảy đo mức khuếch tán ánh sáng và phát huỳnh quang của các tế bào. Điều này giúp phân định được quần thể quan tâm trong cửa sổ điện tử được xác định trên biểu đồ, tương quan với sự khuếch tán trực giao ánh sáng (Tán xạ góc bên hay SS) và khuếch tán ánh sáng góc hẹp (Tán xạ góc thẳng hay FS). Có thể dùng các biểu đồ khác (kết hợp hai trong các thông số có sẵn trên máy đếm tế bào) để hỗ trợ trong giai đoạn khoanh vùng tùy thuộc vào ứng dụng mà người dùng chọn.

Huỳnh quang của các tế bào đã phân định được phân tích để phân biệt các sự kiện nhuộm dương tính với các sự kiện không nhuộm. Kết quả được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm số sự kiện dương tính so với tất cả sự kiện thu được từ việc khoanh vùng.

ĐỐI TƯỢNG SỬ DỤNG

Sản phẩm này chỉ dùng cho mục đích chuyên môn trong phòng xét nghiệm.

TÍNH THÍCH HỢP VỀ LÂM SÀNG

Anti-HLA-DR-Pacific Blue là một kháng thể Anti-HLA-DR dùng để xác định và xác định đặc điểm của các tế bào biểu hiện kháng nguyên HLA-DR bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy. Chỉ riêng sản phẩm này không thể và không nhằm tạo ra bất kỳ kết luận chẩn đoán nào.

Khi kết hợp với các chỉ dấu khác, có thể dùng sản phẩm này trong một hoặc nhiều chức năng sau:

- Để hỗ trợ chẩn đoán phân biệt những bệnh nhân bị bất thường về huyết học nghi ngờ mắc ung thư máu và để theo dõi những bệnh nhân đã được xác định là mắc ung thư máu.
- Để hỗ trợ chẩn đoán bệnh nhân bị nghi ngờ suy giảm miễn dịch và theo dõi bệnh nhân đã xác định là bị suy giảm miễn dịch.
- Để theo dõi những bệnh nhân mắc bệnh tự miễn hoặc chứng rối loạn đã biết.
- Để theo dõi quá trình cấy ghép hoặc kết quả.

Xem tài liệu tham khảo sau đây:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

MẪU

Phải lấy mẫu máu tĩnh mạch vào ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA.

Phải bảo quản mẫu ở nhiệt độ phòng (18–25°C) và không lắc mẫu. Phải khuấy nhẹ mẫu trước khi lấy mẫu xét nghiệm để mẫu có trạng thái đồng nhất.

Phải phân tích các mẫu trong vòng 24 giờ sau khi lấy từ tĩnh mạch.

NỒNG ĐỘ

Xem Giấy chứng nhận phân tích theo lô cụ thể tại www.beckman.com.

CẢNH BÁO VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG NGỪA

1. Không dùng thuốc thử đã hết hạn sử dụng.
2. Không làm đông lạnh.
3. Để dung dịch trở về nhiệt độ phòng (18–25°C) trước khi sử dụng.

4. Giảm thiểu tiếp xúc với ánh sáng.
5. Tránh làm thuốc thử bị nhiễm khuẩn, nếu không, có thể dẫn đến kết quả sai.
6. Phải xử lý cẩn thận dung dịch kháng thể chứa natri azit (NaN_3). Không được uống và tránh mọi tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.

   Ngoài ra, trong môi trường axit, natri azit có thể tạo thành axit hydrazoic nguy hiểm. Nếu cần phải thải bỏ, bạn nên pha loãng thuốc thử trong nhiều nước trước khi thải vào hệ thống thoát nước để tránh tích tụ natri azide trong ống kim loại và để tránh nguy cơ nổ.
7. Phải coi tất cả mẫu máu là có nguy cơ lây nhiễm và xử lý cẩn thận (cụ thể: đeo găng tay, mặc áo choàng và đeo kính bảo vệ).
8. Tuyệt đối không dùng pipet bằng miệng và tránh để mẫu tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.
9. Phải bỏ ống máu và vật liệu dùng một lần đã dùng để xử lý trong thùng chứa đặc biệt cho mục đích thiêu hủy.
10. Phải thải bỏ thuốc thử và chất thải theo yêu cầu của địa phương.

PHÂN LOẠI MỐI NGUY HIỂM THEO GHS

Không được phân loại là chất nguy hiểm

SDS Phiếu dữ liệu an toàn có sẵn tại beckmancoulter.com/techdocs

BẢO QUẢN VÀ ĐỘ ỔN ĐỊNH

Phải bảo quản thuốc thử này ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng, trước và sau khi mở ống.

Hạn sử dụng của ống khi chưa mở nắp theo nghiên cứu về độ ổn định: 1095 ngày.

Độ ổn định của ống đã mở: thuốc thử ổn định trong 180 ngày.

BẰNG CHỨNG BIẾN CHẤT

Mọi sự biến đổi về vẻ ngoài của thuốc thử có thể là dấu hiệu suy giảm chất lượng và bạn không nên dùng thuốc thử đó.

Để biết thêm thông tin hoặc nếu bạn nhận được sản phẩm bị hỏng, hãy gọi điện cho Dịch vụ khách hàng của Beckman Coulter theo số 8007422345 (Hoa Kỳ hoặc Canada) hoặc liên hệ với Đại diện của Beckman Coulter tại địa phương bạn.

HÀM LƯỢNG

Chất bảo quản natri azit có thể hình thành hợp chất nổ trong ống dẫn bằng kim loại. Xem Thông Báo của Viện quốc gia về an toàn và sức khỏe nghề nghiệp (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Nguy cơ nổ azit) (16/8/76).
Để tránh khả năng tích tụ hợp chất azit, hãy xả sạch các ống thải bằng nước sau khi xử lý vứt bỏ thuốc thử chưa pha loãng. Phải xử lý vứt bỏ natri azit theo đúng quy định sở tại.

VẬT LIỆU CẦN DÙNG (KHÔNG KÈM THEO BỘ THUỐC THỬ):

- Ống lấy mẫu và vật liệu cần dùng để lấy mẫu.
- Pipet tự động có đầu hút dùng một lần để lấy mẫu có thể tích 10, 100 và 500 µL.
- Ống chứa mẫu tan huyết bằng nhựa.
- Thuốc thử ly giải hồng cầu với bước rửa sau khi ly giải. Ví dụ: VersaLyse (Số tham chiếu A09777).
- Thuốc thử cố định Leucocyte. Ví dụ: Dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800).
- Mẫu chứng âm Pacific Blue: Thuốc thử IOTest (Số tham chiếu: A74764).
- Dung dịch đệm (PBS: 0,01 Mol natri photphat; 0,145 Mol natri clorua; pH 7,2).
- Máy ly tâm.
- Máy trộn tự động (loại khuấy).
- Máy đếm tế bào dòng chảy.

QUY TRÌNH VỚI THUỐC THỬ VERSALYSE

Đối với mỗi mẫu phân tích, ngoài ống xét nghiệm, có thể thêm một ống kiểm chuẩn, trong đó tế bào được trộn với mẫu chứng âm (Số tham chiếu A74764).

1. Thêm 10 µL kháng thể cộng hợp IOTest đặc hiệu vào mỗi ống xét nghiệm và nếu cần, 10 µL mẫu chứng âm vào từng ống kiểm chuẩn.
2. Thêm 100 µL mẫu xét nghiệm vào từng ống. Lắc nhẹ các ống.
3. Ủ trong 15 đến 20 phút ở nhiệt độ phòng (18–25°C), tránh ánh sáng.
4. Sau đó, ly giải hồng cầu. Tham khảo tờ hướng dẫn về VersaLyse (Số tham chiếu A09777) và tốt nhất là làm theo quy trình tên là “có cố định đồng thời”, bao gồm thêm 1 mL hỗn hợp “Cố định và ly giải” được chuẩn bị tùy ứng. Lắc ngay trong một giây và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.
5. Quay ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 150 x g tại nhiệt độ phòng.
6. Hút bỏ dịch nổi.
7. Tái huyền phù viên tế bào bằng 3 mL PBS.
8. Lặp lại bước 5.
9. Hút bỏ dịch nổi và tái huyền phù viên tế bào bằng:

- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS cộng với 0,1% formaldehyde nếu sử dụng chế phẩm trong vòng chưa đến 24 giờ. (Có thể thu được PBS chứa 0,1% formaldehyde bằng cách pha loãng 12,5 µL dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800) ở nồng độ 10X trong 1 mL PBS).
- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS không có formaldehyde, nếu phân tích các chế phẩm trong vòng 2 giờ.

Ghi chú: Trong mọi trường hợp, phải bảo quản chế phẩm ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng.

GIÁ TRỊ DỰ KIẾN

Trong phòng xét nghiệm của chúng tôi, mẫu máu toàn phần của 25 người hiến khỏe mạnh được điều trị bằng thuốc thử mô tả ở trên. Bảng dưới đây trình bày kết quả đếm số lượng sự kiện dương tính quan tâm với thuốc thử này:

Mục tiêu dương tính	Số	Giá trị trung bình (%)	SD	CV (%)
Tế bào lympho	25	26,53	12,71	47,92
Bạch cầu đơn nhân	25	97,02	2,77	2,86

Các giá trị sau chỉ có tính chất đại diện. Mỗi phòng xét nghiệm phải thiết lập giá trị dự kiến riêng từ quần thể người hiến bình thường của mình.

HIỆU SUẤT

Dữ liệu hiệu suất thu được bằng cách sử dụng quy trình mô tả ở trên với các mẫu máu được thu thập dưới 24 giờ trong các ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA. Phân tích trong vòng 2 giờ sau khi nhuộm hóa mô miễn dịch.

ĐỘ ĐẶC HIỆU

Kháng thể đơn dòng Immu357 nhận ra một yếu tố quyết định kháng nguyên mang trên một protein đơn hình có trọng lượng phân tử 29–33 kDa được xác định là HLA-DR. Hệ thống HLA (Kháng nguyên bạch cầu ở người) là tên được đặt cho phức hợp phù hợp tổ chức chính (MHC) ở người. Được mã hóa bởi 5 locus (DM, DO, DP, DQ và DR) của locus D, các phân tử HLA lớp II còn được gọi là kháng nguyên HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ và HLA-DR (13,14). Biểu hiện của kháng nguyên lớp II chỉ giới hạn ở các tế bào trình diện kháng nguyên, tức là tế bào lympho B, bạch cầu đơn nhân/đại thực bào, tế bào đuôi gai và tế bào Langerhans của da (14,15). Ở tế bào lympho T, kháng nguyên HLA-DR chỉ được biểu hiện sau khi hoạt hóa (16). Tế bào gốc và tế bào gốc tạo máu biểu hiện HLA-DR đến một giai đoạn nhất định trong quá trình biệt hóa (14,17).

ĐỘ CHỤM

Tỷ lệ phần trăm của các giá trị dương tính được xác định bằng cách sử dụng máu toàn phần. Mỗi mẫu được chạy 4 lần, hai lần một ngày trong 1 ngày trên 2 thiết bị sử dụng 2 lô thuốc thử kháng thể đơn dòng Anti-HLA-DR-Pacific Blue. Các phép đo (% dương tính) được thực hiện trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Phân tích được tiến hành theo phương pháp EP5-A2 của CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Đánh giá hiệu suất độ chụm của phương pháp đo định lượng).

Tiêu chí chấp nhận của chúng tôi phụ thuộc vào số lượng sự kiện dương tính đo được cho mỗi quần thể:

- Nếu sự kiện dương tính <1.500, CV <15%
- Nếu sự kiện dương tính >1.500, CV <10%

Tế bào lympho							
Số sự kiện dương tính (Giá trị trung bình) = 1154							
	Giữa những người thao tác	Giữa các máy đếm tế bào	Trong lô	Giữa các lô	Giữa các lần chạy	Trong lần chạy	Toàn phần
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
KẾT QUẢ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Bạch cầu đơn nhân							
Số sự kiện dương tính (Giá trị trung bình) = 1197							
	Giữa những người thao tác	Giữa các máy đếm tế bào	Trong lô	Giữa các lô	Giữa các lần chạy	Trong lần chạy	Toàn phần
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
KẾT QUẢ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ĐỘ CHÍNH XÁC

Độ chính xác của Anti-HLA-DR-Pacific Blue được đánh giá bằng cách so sánh kết quả với thuốc thử tham chiếu để khẳng định trên một tập hợp các mẫu máu toàn phần chạy trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Độ lệch giữa xét nghiệm và thuốc thử tham chiếu được xác định dựa trên sự chênh lệch giữa các kết quả xét nghiệm. Nếu độ lệch nằm trong phạm vi sai số cho phép hoặc giá trị p cho thấy không có sự khác biệt đáng kể (> 0,05), thì kết quả xét nghiệm cho hai thuốc thử được coi là tương đương.

Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Số người hiến = 25				
Mục tiêu dương tính	Giá trị trung bình Δ	Tiêu chí tế bào Δ %	giá trị p	KẾT QUẢ
Tế bào lympho	-0,26	<5	0,557	PASS
Bạch cầu đơn nhân	1,04	<5	1,191	PASS

GIỚI HẠN TRỐNG VÀ GIỚI HẠN PHÁT HIỆN

Một nghiên cứu đã được thực hiện theo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Đánh giá khả năng phát hiện cho các quy trình đo lường trong phòng xét nghiệm lâm sàng). Giới hạn phát hiện (LOD) là nồng độ thấp nhất của chất phân tích có thể phát hiện một cách nhất quán. Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Positive Target	Giới hạn trống (tế bào/µL)	Giới hạn phát hiện (tế bào/µL)
Tế bào lympho	2	4
Bạch cầu đơn nhân	1	3

GIỚI HẠN

1. Phương pháp đếm tế bào dòng chảy có thể cho kết quả sai nếu điều chỉnh máy đếm tế bào không phù hợp, nếu mức bù huỳnh quang rò rỉ không phù hợp và nếu định vị các vùng không cẩn thận.
2. Tốt nhất là sử dụng kỹ thuật ly giải RBC có bước rửa vì thuốc thử này chưa được tối ưu hóa cho các kỹ thuật ly giải "không rửa".
3. Sẽ thu được kết quả chính xác và có thể tái lặp nếu sử dụng quy trình theo tờ hướng dẫn kỹ thuật và phù hợp với biện pháp xét nghiệm hợp lý.
4. Kháng thể cộng hợp của thuốc thử này được hiệu chuẩn để đưa ra tỷ lệ tín hiệu đặc hiệu/tín hiệu không đặc hiệu tốt nhất. Do đó, điều quan trọng là phải tuân thủ tỷ lệ thể tích thuốc thử/thể tích mẫu trong mỗi xét nghiệm.
5. Trong trường hợp tăng bạch cầu, hãy pha loãng máu trong PBS để thu được giá trị xấp xỉ 5 x 10^9 bạch cầu/L (18).
6. Trong một số tình trạng bệnh, chẳng hạn như suy thận nặng hoặc bệnh rối loạn máu, hồng cầu có thể ly giải chậm, ly giải không hoàn toàn, hoặc thậm chí là không thể ly giải. Trong trường hợp này, bạn nên phân lập tế bào đơn nhân bằng phương pháp ly tâm phân lớp theo tỷ trọng (ví dụ: Ficoll) trước khi nhuộm (19).
7. Ở những bệnh nhân được điều trị bằng các liệu pháp kháng thể đơn dòng kháng người, khả năng phát hiện các kháng nguyên mục tiêu đặc hiệu có thể giảm đi hoặc không xảy ra do bị kháng thể điều trị chặn một phần hoặc toàn bộ.
8. Phải diễn giải kết quả Anti-HLA-DR-Pacific Blue dựa trên toàn bộ các dấu hiệu lâm sàng của bệnh nhân, bao gồm: triệu chứng, tiền sử lâm sàng, dữ liệu từ các xét nghiệm khác và thông tin thích hợp khác.

Xem Phụ lục để biết ví dụ và tài liệu tham khảo.

NHÃN HIỆU

Beckman Coulter, logo cách điệu và các nhãn hiệu sản phẩm cũng như dịch vụ của Beckman Coulter nêu trong tài liệu này là nhãn hiệu hoặc nhãn hiệu đã đăng ký của Beckman Coulter, Inc. ở Hoa Kỳ và các quốc gia khác.

Pacific Blue là nhãn hiệu của Molecular Probes, Inc.

THÔNG TIN BỔ SUNG

Đối với bệnh nhân/người dùng/bên thứ ba tại Liên minh Châu Âu và ở các quốc gia có chế độ quản lý giống nhau (Quy định 2017/746/EU về Thiết bị y tế chẩn đoán In vitro); nếu xảy ra sự cố nghiêm trọng trong quá trình sử dụng thiết bị này hoặc do sử dụng thiết bị này, vui lòng báo cáo cho nhà sản xuất và/hoặc đại diện ủy quyền của nhà sản xuất cũng như cơ quan có thẩm quyền tại quốc gia của bạn.

Summary of Safety and Performance (Tóm tắt về an toàn và hiệu suất) có trong cơ sở dữ liệu EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

LỊCH SỬ SỬA ĐỔI

PHIÊN BẢN AC:	Ngày phát hành: Tháng 10 năm 2019

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AW	Tháng 02 năm 2022
Cập nhật để tuân thủ Chính sách ghi nhãn toàn cầu của Beckman Coulter và theo các yêu cầu IVD-R (EU) 2017/746:	
Bổ sung các phần	Số BSI 2797, Đối tượng sử dụng, Tính thích hợp về lâm sàng, Nồng độ, Độ chụm, Độ chính xác, Giới hạn trống và giới hạn phát hiện, Thông tin bổ sung, Lịch sử sửa đổi.
Bổ sung thông tin	Xem các phần Giới hạn
Cập nhật cách diễn đạt hoặc câu chữ	Xem các phần Quy trình, Hiệu suất, Giới hạn, Cảnh báo và Biện pháp phòng ngừa, Bảo quản và Độ ổn định.
Các phần bị xóa	Ví dụ về các ứng dụng lâm sàng, Thuốc thử, Khả năng tái lập trong phòng xét nghiệm, Độ tuyến tính
Các phần cập nhật	Mục đích sử dụng, Phân loại mối nguy hiểm theo GHS, Bằng chứng biến chất, Quy trình, Phụ lục.

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AX	Tháng 4 2023
Các phần cập nhật	Thêm tiếng Kazakh
Các phần cập nhật	Bảo quản và độ ổn định

Phiên bản sửa đổi	AY
Ngày sửa đổi	Tháng 5 2024
Đã cập nhật bản dịch	**Tính thích hợp về lâm sàng:**
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Phiên bản sửa đổi	AZ
Ngày sửa đổi	Tháng 7 2024
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Bảng chú giải các ký hiệu

Danh mục thuật ngữ ký hiệu có sẵn tại beckman.com/techdocs (số tài liệu B60062)

	Сипаттамалары
Ерекшелік	HLA-DR
Клон	Immu-357
Гибридома	X63 x balb/c
Иммуноген	EBV-transformed cell line
Иммунды глобулин	IgG1
Түрлері	Тышқан
Тазарту	Үйірлік хроматография
Флуорохром	Pacific Blue
Молярлық қатынасы	Pacific Blue / Ig: 5,9-7,6
λ қозу	405 нм
Эмиссияның жоғарғы шегі	455 нм
Буфер	PBS pH 7,2 + 2 мг / мл BSA және 0,1% NaN_3

Конъюгацияланған
IOTest антиденесі
Anti-HLA-DR
-Pacific Blue

REF B36291 50 сынақ; 0,5 мл, 10 мкл / сынақ

***In vitro* диагностикасында пайдалануға арналған.**

ПАЙДАЛАНУ МАҚСАТЫ

Бұл флуорохроммен конъюгацияланған антидене адамның биологиялық үлгілерінде HLA-DR антигеннің болуын көрсететін жасуша популяциясын ағын цитометриясы көмегімен сапалы және автоматтандырылмаған анықтауға мүмкіндік береді (төмендегі «Үлгілер» бөлімін қараңыз).

ҚАҒИДА

Бұл сынақ нақты моноклоналды антиденелердің лейкоциттер айқындайтын антигендік детерминанттармен байланысу қабілетіне негізделген.

Лейкоциттердің арнайы бояуы үлгіні IOTest реагентімен инкубациялау арқылы жүзеге асады. Сол кезде эритроциттер лизис арқылы шығарылады, ал осы процесс әсер етпейтін лейкоциттерге ағын цитометриясы арқылы талдау жасалады.

Ағын цитометрі жарық диффузиясы мен жасушалардың флуоресценттенуін өлшейді. Бұл гистограммада анықталған электронды терезеде қызығушылық популяциясын ажыратуға мүмкіндік береді, ол жарықтың ортогональды диффузиясын (бүйірлік шашырау немесе SS) және тар бұрышты жарықтың диффузиясын (тікелей шашырау немесе FS) байланыстырады. Цитометрде қолжетімді екі түрлі параметрді біріктіретін басқа гистограммаларды пайдаланушы таңдаған қолданбаға байланысты гейтинг кезеңінде тірек ретінде пайдалануға болады.

Оң боялған оқиғаларды боялмаған оқиғалардан ажырату үшін шектеулі жасушалардың флуоресценттенуіне талдау жүргізілді. Оның нәтижесі оң оқиғалардың гейтинг арқылы алынған барлық оқиғаларға қатынасының пайыздық көрсеткіші ретінде көрсетіледі.

МАҚСАТТЫ ПАЙДАЛАНУШЫ

Бұл өнім зертханалық жағдайда кәсіби пайдалануға арналған.

КЛИНИКАЛЫҚ МАҢЫЗЫ

Anti-HLA-DR-Pacific Blue – ағын цитометриясы арқылы HLA-DR антигенін экспрессиялайтын жасушаларды сәйкестендіру және сипаттау үшін пайдаланылатын Anti-HLA-DR антиденесі. Бұл өнімді жалғыз өзін пайдаланып қандай да бір диагностикалық қорытынды жасау мүмкін емес және жасауға арналмаған.

Басқа маркерлермен бірлесіп пайдаланылғанда, бұл өнімді келесі функциялардың біреуінде немесе бірнешеуінде пайдалануға болады:

- Гемопоэтикалық неоплазмаға күдікті гематологиялық аномальды пациенттерді дифференциалды диагностикалауға көмектесу және белгілі гемопоэтикалық неоплазмасы бар пациенттерді бақылау үшін.
- Иммундық тапшылыққа күдікті емделушілерді диагностикалауға көмектесу және белгілі иммун тапшылығы бар емделушілерді бақылау.
- Белгілі аутоиммунды ауруы немесе бұзылысы бар емделушілерді бақылау үшін.
- Трансплантация процесін немесе нәтижелерін бақылау.

Келесі анықтамаларды қараңыз:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

ҮЛГІЛЕР

Көктамыр қанын антикоагулянт ретінде EDTA тұзы бар стерильді түтіктердің көмегімен алу керек.

Үлгілерді бөлме температурасында (18–25°C) сақтау керек және оларды шайқауға болмайды. Үлгілерді сынақ үлгісін алмастан бұрын жеңіл араластыру жолымен гомогендеу керек.

Үлгілерді көк тамырды тескен соң 24 сағат ішінде талдау қажет.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Нақты топтама бойынша талдау сертификатын мына сайттан қараңыз www.beckman.com.

ЕСКЕРТУ ЖӘНЕ САҚТЫҚ ШАРАЛАРЫ

1. Жарамдылық мерзімі өткеннен кейін реагентті қолдануға болмайды.
2. Қатыруға болмайды.

3. Оны пайдаланбас бұрын, температурасының бөлме температурасына (18–25°C) жетуін күтіңіз.
4. Жарық әсерін азайтыңыз.
5. Реагенттердің микробтармен ластануына жол бермеңіз немесе жалған нәтижелер орын алуы мүмкін.
6. Құрамында натрий азиды бар антидене ерітінділермен (NaN_3) жұмыс істегенде абай болу керек. Ішке қабылдамаңыз. Теріге, шырышты қабыққа және көзге тиігізбеңіз.

   Оған қоса, қышқылды ортада натрий азиды ықтимал қауіпті азотты сутек қышқылын түзуі мүмкін. Оны жою қажет болған жағдайда реагентті алдымен судың көп мөлшерінде сұйылтып, артынан кәріз жүйесіне төгуге кеңес беріледі. Осылайша, натрий азидының металл құбырларда жиналуын болдырмай, жарылыс қаупінің алдын алуға болады.
7. Қанның барлық үлгілері ықтимал жұқпалы деп есептелуі және сақтықпен өңделуі (атап айтқанда: қорғаныс қолғабын, халат және көзілдірік кию) керек.
8. Ешқашан оны аузыңызға құймаңыз және үлгілерді теріге, шырышты қабыққа және көзге тигізбеңіз.
9. Өңдеу үшін пайдаланылатын қан түтіктері мен бір реттік материалдарды өртеуге арналған арнайы контейнерлерге тастау керек.
10. Реагенттер мен қалдықтар жергілікті талаптарға сәйкес жойылуы тиіс.

GHS ҚАУІПТЕР КЛАССИФИКАЦИЯСЫ

Қауіпті деп жіктелмейді

SDS Қауіпсіздік парағы beckmancoulter.com/techdocs мекенжайы бойынша қолжетімді

САҚТАУ ЖӘНЕ ТҰРАҚТЫЛЫҚ

Құтыны ашпай тұрып және оны ашқаннан кейін, бұл реагентті 2–8°C температурада жарықтан қорғалған жерде сақтау керек.

Тұрақтылық зерттеуіне сәйкес жабық күйіндегі сауыт сөресінің жарамдылық мерзімі: 1095 күндер.

Ашық құтының тұрақтылығы: реагент 180 күн бойы тұрақты болады.

ЗАҚЫМДАЛУ БЕЛГІЛЕРІ

Реагенттердің сыртқы түрінің кез келген өзгерісі олардың зақымдалғандығын көрсетуі мүмкін және реагентті пайдаланбаған жөн.

Қосымша ақпарат алу үшін немесе зақымдалған өнімді алған жағдайда 800-742-2345 (АҚШ немесе Канада) арқылы Beckman Coulter тұтынушыларға қызмет көрсету орталығына қоңырау шалыңыз немесе жергілікті Beckman Coulter компаниясының өкіліне хабарласыңыз.

МАЗМҰНЫ

Натрий азиді консерванты металдан жасалған құбыр желілерінде жарылғыш қосылыстар түзуі мүмкін. NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76) (NIOSH бюллетенін қараңыз: азидтердің жарылу қаупі (16.08.1976)).
Азид қосылыстарының ықтимал түзілуін болдырмау үшін сұйылтылмаған реагентті жойғаннан кейін су құбырларын шайыңыз. Натрий азидін жою тиісті жергілікті ережелерге сәйкес жүзеге асырылуы тиіс.

ҚАЖЕТТІ, БІРАҚ ЖИНАҚПЕН БІРГЕ ЖЕТКІЗІЛМЕГЕН МАТЕРИАЛДАР

- Үлгі алу түтіктері және үлгі алу үшін қажетті материал.
- 10, 100 және 500 мкл ерітінділерге арналған бір реттік ұшы бар автоматты тамызғыштар.
- Эритроциттер гемолизіне арналған пластикалық түтіктер.
- Лизистен кейін жуу әдісі пайдаланылатын эритроцит лизисінің реагенті. Мысалы: VersaLyse (Сілт A09777).
- Лейкоцит фиксация реагенті. Мысалы: IOTest 3 бекіту ерітіндісі (A07800 қараңыз).
- Изотиптік бақылау Pacific Blue: IOTest реагенті (анық. A74764).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрий фосфаты; 0,145 M натрий хлориді; pH 7,2).
- Центрифугалау
- Автоматты араластырғыш (араластырғыш түрі).
- Ағын цитометрі.

VERSALYSE РЕАГЕНТІ КӨМЕГІМЕН ОРЫНДАЛАТЫН ПРОЦЕДУРА

Әрбір талданатын үлгі үшін сынақ түтігіне қосымша, жасушалар изотиптік бақылаудың қатысуымен араласатын бір бақылау түтігін пайдалану ұсынылады (анық. A74764).

1. Әрбір түтікке 10 мкл арнайы конъюгацияланған IOTest антиденесін және, қажет болса, әрбір сынақ түтігіне 10 мкл изотиптік бақылауды қосыңыз.
2. Әр түтікке сынақ үлгісінің 100 мкл қосыңыз. Түтіктерді абайлап араластырыңыз.
3. Жарықтан қорғалған бөлме температурасында (18–25°C) 15–20 минут инкубациялаңыз.
4. Содан соң қызыл жасушалардың лизисін орындаңыз. VersaLyse (анық. A09777) парақшасын қарап, жоспардан тыс дайындалған 1 мл «Бекіту және еріту» қоспасын қосудан тұратын «ілеспе бекітумен» деп аталатын процедураны орындаңыз. Бір секунд дереу араластырыңыз және жарықтан қорғалған бөлме температурасында 10 минут бойы инкубациялаңыз.
5. 150 x г шамасында 5 минут бойы бөлме температурасында центрифугалаңыз.
6. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастаңыз.
7. 3 мл PBS ерітіндісін пайдаланып, жасуша массасын қайта ерітіңіз.
8. 5-қадамды қайталаңыз.
9. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастап, жасуша массасын төмендегіні қолдану арқылы қайта ерітіңіз:

- Егер препараттар 24 сағаттан аз сақталатын болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне 0,1% формальдегид қосылады. (0,1% формальдегидті PBS ерітіндісі 12,5 мкл IOTest 3 бекіту ерітіндісін (анық. A07800) 10 еселік концентрациясында 1 мл PBS ерітіндісін сұйылту арқылы алуға болады).
- Егер 2 сағат ішінде талдануы керек болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне формальдегид қосылмайды.

Ескертпе: барлық жағдайда препараттарды 2–8°C температурада, күн көзінен алыс жерде сақтау керек.

КҮТІЛЕТІН МӘНДЕР

Біздің зертханаларда 25 тиісті дені сау донорлардан жаңа алынған қан үлгілері жоғарыда сипатталған реагентпен өңделді. Осы реагентпен қызығушылық тудыратын оң оқиғаларды санау үшін алынған нәтижелер төмендегі кестеде келтірілген:

Оңтайлы нысана	Сан	Орташа мән (%)	SD	CV (%)
Лимфоциттер	25	26,53	12,71	47,92
Моноциттер	25	97,02	2,77	2,86

Бұл мәндер тек ұсыну үшін арналған. Әр зертхана қалыпты донорлардың жергілікті популяциясынан күтілетін өзіндік мәндерді белгілеуі керек.

ӨНІМДІЛІК

Өнімділік жөніндегі деректер 24 сағаттық үлгілерді пайдаланып, жоғарыда сипатталған процедура арқылы алынады. Бұл үлгілер алдын ала антикоагулянт ретінде EDTA тұзы арқылы стерильді түтіктерге жиналады. Талдау иммундық бояудан соң 2 сағат ішінде жасалады.

ЕРЕКШЕЛІГІ

Моноклоналды антидене Immu357 HLA-DR ретінде анықталған 29–33 кДа мономорфты протеинде тасымалданатын эпитопты таниды. HLA жүйесі (адам лейкоциттерінің антигені) — бұл адамдардағы гистосәйкестіктің басты кешеніне (MHC) берілген атау. D локусының 5 локусымен (DM, DO, DP, DQ және DR) кодталған, II-класты HLA молекулалары HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ және HLA-DR (13,14) антигендері деп те аталады. II класты антигендердің айқындалуы антигенді ұсынатын жасушалармен, яғни B лимфоциттермен, моноциттермен / макрофагтармен, дендриттік жасушалармен және терінің Лангерганс жасушаларымен шектелген (14,15). T лимфоциттеріндегі HLA-DR антигені белсендірілгеннен кейін ғана көрсетіледі (16). Бағаналы жасушалар мен гемопоэтикалық ізашарлар оны дифференциациялаудың белгілі бір кезеңіне дейін көрсетеді (14,17).

ДӘЛДІК

Оң мәндердің пайызы жаңа алынған қанды қолдану арқылы анықталды. Әрбір үлгі Anti-HLA-DR-Pacific Blue моноклоналды антидене реагентінің 2 топтамасын пайдаланып 2 аспапта 1 күн бойы күніне екі рет 4 рет талданды. Өлшемдер (% оң) Navios ағын цитометрінде жүргізілді. Талдау CLSI EP5-A2 әдісі негізінде жүргізілді: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Сандық өлшеу әдістерінің дәлдік өнімділігін бағалау).

Біздің қабылдау критерийлері әрбір популяция үшін өлшенген оң оқиғалардың санына байланысты:

- Оң оқиға болса <1500, CV <15%
- Оң оқиға болса >1500, CV <10%

Лимфоциттер							
Оң оқиғалар саны (Орташа мән) = 1154							
	Аралық оператор	Цитометраралық	Топтама ішілік	Топтама аралық	Жүгіру арасында	Жүгіру ішінде	Жалпы
CV (%)	1,99	3,40	3,26	0,78	0,87	2,43	4,77
НӘТИЖЕЛЕР	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Моноциттер							
Оң оқиғалар саны (Орташа мән) = 1197							
	Аралық оператор	Цитометраралық	Топтама ішілік	Топтама аралық	Жүгіру арасында	Жүгіру ішінде	Жалпы
CV (%)	0,15	0,49	0,42	0,12	0,11	0,38	0,65
НӘТИЖЕЛЕР	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ДҰРЫСТЫҚ

Anti-HLA-DR-Pacific Blue дұрыстығы Navios ағын цитометрінде өңделген жаңа алынған қан үлгілерінің жинағындағы, предикат ретінде анықтамалық реагентпен нәтижелерді салыстыру арқылы бағаланған. Сынақ пен анықтамалық реагент арасындағы ауытқу, сынақ нәтижелері арасындағы айырмашылық негізінде анықталған. Егер қателік рұқсат етілген қателер ауқымында болса немесе p-мәні айтарлықтай айырмашылықты көрсетпесе (>0,05), онда екі реагенттің сынау нәтижелері баламалы болып саналады.

Алынған нәтижелер келесі кестеде толық көрсетілген:

Донорлар саны = 25				
Оңтайлы нысана	Орташа мән Δ	Δ % Жасуша критерийлері	p-мәні	НӘТИЖЕЛЕР
Лимфоциттер	-0,26	<5	0,557	PASS
Моноциттер	1,04	<5	1,191	PASS

БОС СЫНАМА ШЕГІ ЖӘНЕ АНЫҚТАУ ШЕГІ

Зерттеу CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, клиникалық зертханалық өлшеу процедураларын анықтау мүмкіндігін бағалау) нұсқауына сәйкес жүргізілді. Анықтау шегі (LOD) – бұл рет-ретімен анықтауға болатын аналиттің ең төмен концентрациясы. Алынған нәтижелер келесі кестеде жинақталған:

Positive Target	Бос сынама шегі (жасуша/мкл)	Анықтау шегі (жасуша/мкл)
Лимфоциттер	2	4
Моноциттер	1	3

ШЕКТЕУЛЕР

1. Цитометр дұрыс бапталмаған, флуоресценттенудің ағып кетуі дұрыс өтелмеген және аймақтар мұқият орналастырмаған жағдайда, ағын цитометриясы қате нәтижелер беруі мүмкін.
2. RBC лизис әдісін жуу қадамымен пайдаланған жөн, себебі бұл реагент «жуусыз» лизис әдістері үшін оңтайландырылмаған.
3. Жүргізілген процедуралар техникалық нұсқау брошюрасына сәйкес және тиісті зертханалық тәжірибемен үйлесімді болған жағдайда ғана дұрыс, әрі жаңғыртылуы мүмкін нәтижелерді алуға болады.
4. Осы реагенттің конъюгацияланған антиденесі арнайы сигнал мен арнайы емес сигналдың ең жақсы қатынасын қамтамасыз ететіндей калибрленген. Сондықтан әрбір сынақты жүргізгенде реагент көлемінің үлгі көлеміне қатынасын сақтау маңызды.
5. гиперлейкоцитоз жағдайында шамамен 5 x 10^9 лейкоцит/л (18) мәнін алу үшін PBS ерітіндісінде қанды сұйылтыңыз.
6. Кейбір жіті бүйрек жеткіліксіздігі немесе гемоглобинопатия сияқты аурулар жағдайында, эритроциттер лизисі баяу, толық емес немесе тіпті мүмкін емес болуы мүмкін. Бұл жағдайда бояудан бұрын тығыздық градиентін (мысалы, Ficoll) пайдаланып мононуклеарлы жасушаларды оқшаулап алу ұсынылады (19).
7. Адамға қарсы моноклоналды антиденелер терапиясымен емделген пациенттерде арнайы мақсатты антигендерді анықтау емдік антиденеңің ішінара немесе толық бұғатталуына байланысты төмендеуі немесе болмауы мүмкін.
8. Нәтижелер Anti-HLA-DR-Pacific Blue пациенттің жалпы клиникалық деректері тұрғысынан түсіндірілуге тиіс, соның ішінде: симптомдар, клиникалық анамнез, қосымша сынақтардың деректері және басқа тиісті ақпарат.

Мысалдар мен анықтамалар алу үшін қосымшаны қараңыз.

САУДА БЕЛГІЛЕРІ

Beckman Coulter, стильденген логотип, сонымен қатар Beckman Coulter өнім мен қызмет көрсету белгілері — бұл АҚШ және басқа елдердегі Beckman Coulter, Inc. сауда белгілері немесе тіркелген сауда белгілері.

Pacific Blue — бұл Molecular Probes, Inc. компаниясының сауда белгісі.

ҚОСЫМША АҚПАРАТ

Еуропалық Одақтағы және бірдей реттеу режимі (зертханалық жағдайдағы медициналық диагностикалық құрылғылар туралы 2017/746/ЕО қаулысы) бар елдердегі пациент/пайдаланушы/үшінші тарап үшін; егер осы құрылғыны пайдалану кезінде немесе оны пайдалану нәтижесінде елеулі оқиға орын алса, өндірушіге және/немесе оның уәкілетті өкіліне және ұлттық органыңызға хабарлаңыз.

Қауіпсіздік пен өнімділік бойынша қорытынды мәліметтер EUDAMED дерекқорында қолжетімді: ec.europa.eu/tools/eudamed.

Өзгерту тарихы

Белсенді құрамдас (АС) ҚАЙТА ҚАРАУ:	Шығарылған күні: Қазан 2019

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AW	Ақпан 2022 ж.
Beckman Coulter ғаламдық таңбалау саясатына және IVD-R (ЕО) 2017/746 талаптарына сәйкес жасалған жаңартулар:	
Қосылған бөлімдер	«BSI 2797 нөмірі», «Мақсатты пайдаланушы», «Клиникалық маңызы», «Концентрациясы», «Анықтық», «Дұрыстық», «Бос сынама шегі және анықтау шегі», «Қосымша ақпарат», «Өзгерту тарихы».
Қосылған ақпарат	«Шектеулер» бөлімінен қараңыз
Фразалар және типографиялық жаңартулар	«Процедура», «Өнімділік», «Шектеулер», «Ескерту және сақтық шаралары» «Сақтау және тұрақтылық» бөлімдерін қараңыз.
Жойылған бөлімдер	«Клиникалық қолдану мысалы», «Реагенттер», «Зертханаішілік жаңғыртылу», «Сызықтық»
Жаңартылған бөлімдер	«Пайдалану мақсаты», «GHS қауіптер классификациясы», «Зақымдалу белгілері», «Процедура», «Қосымша».

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AX	Сәуір 2023
Жаңартылған бөлімдер	Қазақ тілін қосу
Жаңартылған бөлімдер	Сақтау және тұрақтылық

Қайта қаралған нұсқасы	AY
Қайта қаралған күні	Мамыр 2024
Жаңартылған аудармалар	**Клиникалық маңызы:**
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Қайта қаралған нұсқасы	AZ
Қайта қаралған күні	Шілде 2024
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Таңбалар пернесі

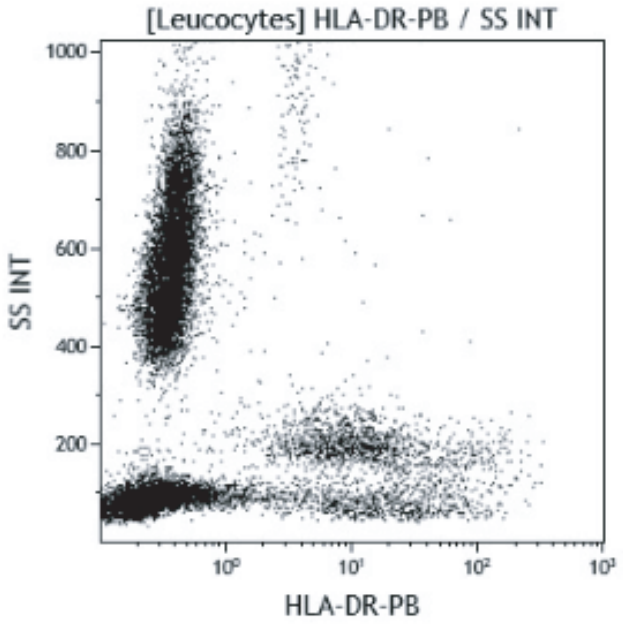
Таңбалар глоссарийі beckman.com/techdocs сайтында (құжат нөмірі: B60062) қолжетімді

APPENDIX

- EXAMPLES

Whole blood samples stained with IOTest Anti-HLA-DR-Pacific Blue Conjugated Antibody.

Acquisition is performed with a Beckman Coulter Navios flow cytometer equipped with the Navios analysis software.



REFERENCES

1. Z. Chen, Y. Li, Y. Tong, Q. Gao, X. Mao, W. Zhang, Z. Xia, C. Fu, "Stepwise discriminant function analysis for rapid identification of acute promyelocytic leukemia from acute myeloid leukemia with multiparameter flow cytometry.", Int. J. Hematol. 103, 306–315 (2016).
2. F. Ren, N. Zhang, Z. Xu, J. Xu, Y. Zhang, X. Chen, Y. Tan, J. Chang, H. Wang, "The CD9+ CD11b- HLA-DR- immunophenotype can be used to diagnose acute promyelocytic leukemia.", Int J Lab Hematol. 41, 168–175 (2019).
3. D. S. Lima, R. P. G. Lemes, D. M. Matos, "Immunosuppressive monocytes (CD14+/HLA-DRlow/-) increase in childhood precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia after induction chemotherapy.", Med. Oncol. Northwood Lond. Engl. 35, 36 (2018).
4. S. Hua, C. Lécuroux, A. Sáez-Cirión, G. Pancino, "Potential Role for HIV-Specific CD38−/HLA-DR CD8 T Cells in Viral Suppression and Cytotoxicity in HIV Controllers.", PloS One. 9, e101920 (2014).
5. C. M. Rueda, P. A. Velilla, C. A. Chougnet, C. J. Montoya, "HIV-Induced T-Cell Activation/Exhaustion in Rectal Mucosa Is Controlled Only Partially by Antiretroviral Treatment.", PloS One. 7, e30307 (2012).
6. H. Zhou, B. Li, J. Li, T. Wu, X. Jin, R. Yuan, P. Shi, Y. Zhou, L. Li, F. Yu, "Dysregulated T Cell Activation and Aberrant Cytokine Expression Profile in Systemic Lupus Erythematosus.", Mediators Inflamm. 2019, 8450947 (2019).
7. D. Mesquita, W. M. Cruvinel, J. a. P. Araujo, K. C. Salmazi, E. G. Kallas, L. E. C. Andrade, "Imbalanced expression of functional surface molecules in regulatory and effector T cells in systemic lupus erythematosus.", Braz. J. Med. Biol. Res. Rev. Bras. Pesqui. Medicas E Biol. 47, 662–669 (2014).
8. B. Arneth, "Activated CD4+ and CD8+ T Cell Proportions in Multiple Sclerosis Patients.", Inflammation. 39, 2040–2044 (2016).
9. J. Kikuchi, M. Hashizume, Y. Kaneko, K. Yoshimoto, N. Nishina, T. Takeuchi, "Peripheral blood CD4(+)CD25(+)CD127(low) regulatory T cells are significantly increased by tocilizumab treatment in patients with rheumatoid arthritis: increase in regulatory T cells correlates with clinical response.", Arthritis Res. Ther. 17, 10 (2015).
10. M. Döring, K. M. Cabanillas Stanchi, S. Haufe, A. Erbacher, P. Bader, R. Handgretinger, M. Hofbeck, G. Kerst, "Patterns of monocyte subpopulations and their surface expression of HLA-DR during adverse events after hematopoietic stem cell transplantation.", Ann. Hematol. 94, 825–836 (2015).
11. J. Alingrin, B. Coiffard, J. Textoris, C. Nicolino-Brunet, M. Gossez, P.-A. Jarrot, F. Dignat-George, G. Monneret, P. A. Thomas, M. Leone, M. Reynaud-Gaubert, L. Papazian, "Sepsis is associated with lack of monocyte HLA-DR expression recovery without modulating T-cell reconstitution after lung transplantation.", Transpl. Immunol. 51, 6–11 (2018).
12. Y.-U. Cho, C.-J. Park, S.-J. Park, H.-S. Chi, S. Jang, S. H. Park, E.-J. Seo, D. H. Yoon, J.-H. Lee, C. Suh, "Immunophenotypic characterization and quantification of neoplastic bone marrow plasma cells by multiparametric flow cytometry and its clinical significance in Korean myeloma patients.", J. Korean Med. Sci. 28, 542–549 (2013).
13. Krensky, A.M., "The HLA system, antigen processing and presentation", 1997, Kidney International, suppl. 58, 51, 2-7.
14. Lee, J. / Dupont, B.O., "The HLA system: An introduction", 1990, The HLA system: A new approach, Springer-Verlag, 1-26.
15. Uckun, F.M., "Regulation of human B-cell ontogeny", 1990, Blood, 76, 1908-1923.
16. Kontny, E., Ryzewska, A., "Surface markers on human activated T lymphocytes IV. Comparison of high-affinity E-rosette receptor expression with the expression of other activation markers (receptor for Interleukin 2, MHC class II (antigens)",1990, Archivum Immunologiae et Ther. Experimentalis, 38, 421-431.
17. Huang, S., Terstappen, L.W.M.M., "Lymphoid and myeloid differentiation of single human CD34+, HLA-DR+, CD38- hematopoietic stem cells", 1994, Blood, 83, 1515-1526.
18. H42-A2 Vol.27 No. 16. P30. Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry; Approved Guideline - Second Edition.
19. Ibrahim FF, Ghannam MM, Ali FM., "Effect of dialysis on erythrocyte membrane of chronically hemodialyzed patients"., 2002. Ren Fail., Nov;24(6):779-90.

IMMUNOTECH SAS 是贝克曼库尔特公司的旗下公司，地址：130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France，电话：+(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda
Alameda Rio Negro, 500, 15 andar, Torre B Alphaville Industrial
CEP 06.454-000 Barueri, São Paulo, Brasil
CNPJ: 42.160.812/0001-44 Telefone: 0800-771-8818

製造販売業者: ベックマン·コールター株式会社
〒135-0063
東京都江東区有明三丁目5 番7号
TOC有明ウエストタワー

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

 IMMUNOTECH SAS A Beckman Coulter Company, 130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France, +(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

BECKMAN COULTER
MADE IN France

CE 2797

IOTest
Conjugated Antibody
CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

TABLE OF CONTENTS

English . . . 2
Français (France) (fr-fr) . . . 6
Deutsche (de-de) . . . 10
Italiano (it-it) . . . 15
Español (es-es) . . . 19
Português (Portugal) (pt-pt) . . . 23
Dansk (da-dk) . . . 27
Svenska (sv-se) . . . 31
Norsk (nb-no) . . . 35
Suomi (fi-fi) . . . 39
Ελληνικά (el-gr) . . . 43
日本語 (ja-jp) . . . 48
中文（中国）(zh-cn) . . . 52
Lietuvių (lt-lt) . . . 56
Magyar (hu-hu) . . . 60
Polski (pl-pl) . . . 64
Čeština (cs-cz) . . . 69
Slovák (sk-sk) . . . 73
한국어 (ko-kr) . . . 77
Türkçe (tr-tr) . . . 81
Русский (ru-ru) . . . 85
Eestlane (et-ee) . . . 90
Hrvatski (hr-hr) . . . 94
Български (bg-bg) . . . 98
中文（台灣）(zh-tw) . . . 102
Română (ro-ro) . . . 106
Slovenščina (sl-si) . . . 110
Srpski (sr-rs) . . . 114
Latviešu (lv-lv) . . . 118
Українська (uk-ua) . . . 122
Português (Brasil) (pt-br) . . . 127
Nederlands (nl-nl) . . . 131
Tiếng Việt (vi-vn) . . . 135
Қазақша (kk-kz) . . . 139
APPENDIX . . . 143
REFERENCES . . . 144

© 2024 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

	Specifications
Specificity	CD15
Clone	80H5
Hybridoma	MOPC 315-43 x balb/c
Immunogen	Human granulocytes
Immunoglobulin	IgM
Species	Mouse
Purification	Gel filtration
Fluorochrome	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molar ratio	FITC / Ig: 12-14
λ excitation	488 nm
Emission Peak	525 nm
Buffer	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA and 0.1% NaN_3

IOTest
Conjugated Antibody
CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

For *in vitro* diagnostic use.

INTENDED USE

This fluorochrome-conjugated antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the CD15 antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

PRINCIPLE

This test is based on the ability of specific monoclonal antibodies to bind to the antigenic determinants expressed by leucocytes.

Specific staining of the leucocytes is performed by incubating the sample with the IOTest reagent. The red cells are then removed by lysis and the leucocytes, which are unaffected by this process, are analyzed by flow cytometry.

The flow cytometer measures light diffusion and the fluorescence of cells. It makes possible the delimitation of the population of interest within the electronic window defined on a histogram, which correlates the orthogonal diffusion of light (Side Scatter or SS) and the diffusion of narrow-angle light (Forward Scatter or FS). Other histograms combining two of the different parameters available on the cytometer can be used as supports in the gating stage depending on the application chosen by the user.

The fluorescence of the delimited cells is analyzed in order to distinguish the positively-stained events from the unstained ones. The results are expressed as a percentage of positive events in relation to all the events acquired by the gating.

INTENDED USER

This product is intended for laboratory professional use.

CLINICAL RELEVANCE

The CD15-FITC is a CD15 antibody used to identify and characterize cells expressing the CD15 antigen by flow cytometry. This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.

When used in combination with other markers, this product can be used in one or more of the following functions:

- To aid in the differential diagnosis of hematologically abnormal patients suspected of having hematological disorder and to monitor patients with known hematological disorder.
- To monitor transplantation process or results.
- To aid in the prognosis of patients having hematopoietic neoplasm.

See following references :

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

CONCENTRATION

See lot specific Certificate of Analysis at www.beckman.com.

SAMPLES

Venous blood must be taken using sterile tubes containing an EDTA salt as the anticoagulant.

The samples should be kept at room temperature (18 – 25°C) and not shaken. The samples should be homogenized by gentle agitation prior to taking the test sample.

The samples must be analyzed within 24 hours of venipuncture.

WARNING AND PRECAUTIONS

1. Do not use the reagent beyond the expiry date.
2. Do not freeze.
3. Let it come to room temperature (18 – 25°C) before use.
4. Minimize exposure to light.

5. Avoid microbial contamination of the reagents, or false results may occur.
6. Antibody solutions containing sodium azide (NaN_3) should be handled with care. Do not take internally and avoid all contact with the skin, mucosa and eyes.

   Moreover, in an acid medium, sodium azide can form the potentially dangerous hydrazoic acid. If it needs to be disposed of, it is recommended that the reagent be diluted in a large volume of water before pouring it into the drainage system so as to avoid the accumulation of sodium azide in metal pipes and to prevent the risk of explosion.
7. All blood samples must be considered as potentially infectious and must be handled with care (in particular: the wearing of protective gloves, gowns and goggles).
8. Never pipet by mouth, and avoid all contact of the samples with the skin, mucosa and eyes.
9. Blood tubes and disposable material used for handling should be disposed of in ad hoc containers intended for incineration.
10. Reagents and waste should be eliminated according to local requirements.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

SDS Safety Data Sheet is available at beckmancoulter.com/techdocs

STORAGE AND STABILITY

This reagent must be kept at between 2 and 8°C and protected from light, before and after the vial has been opened.

Closed vial shelf life per stability study: 639 days.

Stability of opened vial: the reagent is stable for 180 days.

EVIDENCE OF DETERIORATION

Any change in the physical appearance of the reagents may indicate deterioration and the reagent should not be used.

For additional information, or if damaged product is received, call Beckman Coulter Customer Service at 800-742-2345 (USA or Canada) or contact your local Beckman Coulter Representative.

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).
To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

MATERIALS NEEDED BUT NOT SUPPLIED WITH KIT:

- Sampling tubes and material necessary for sampling.
- Automatic pipettes with disposable tips for 20, 100 and 500 µL.
- Plastic haemolysis tubes.
- Red cell lysis reagent with washing stage after lysis. For example: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leucocyte fixation reagent. For example : IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800).
- Buffer (PBS: 0.01 M sodium phosphate; 0.145 M sodium chloride; pH 7.2).
- Centrifuge.
- Automatic agitator (Vortex type).
- Flow cytometer.

PROCEDURE WITH VERSALYSE REAGENT

1. Add the appropriate volume 20 µL of specific IOTest conjugated antibody to each test tube.
2. Add 100 µL of the test sample to each tube. Vortex the tubes gently.
3. Incubate for 15 to 20 minutes at room temperature (18 – 25°C), protected from light.
4. Then perform lysis of the red cells. Refer to VersaLyse (Ref. A09777) leaflet and follow preferably the procedure called “with concomitant fixation”, which consists of adding 1 mL of the “Fix-and-Lyse” mixture prepared extemporaneously. Vortex immediately for one second and incubate for 10 minutes at room temperature, protected from light.
5. Centrifuge for 5 minutes at 150 x g at room temperature.
6. Remove the supernatant by aspiration.
7. Resuspend the cell pellet using 3 mL of PBS.
8. Repeat step 5.
9. Remove the supernatant by aspiration and resuspend the cell pellet using:

- 0.5 mL or 1 mL of PBS plus 0.1% of formaldehyde if the preparations are to be kept less than 24 hours. (A 0.1% formaldehyde PBS can be obtained by diluting 12.5 µL of the IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800) at its 10X concentration in 1 mL of PBS).
- 0.5 mL or 1 mL of PBS without formaldehyde, if the preparations are to be analyzed within 2 hours.

Note: In all cases, keep the preparations between 2 and 8°C and protected from light.

EXPECTED VALUES

In our laboratories, the whole blood samples of 25 apparently healthy donors were treated using the reagent described above. The results obtained for the count of the positive events of interest with this reagent are given in the table below :

Positive Target	Number	Mean (%)	SD	CV (%)
Monocytes	25	98.49	1.00	1.02
Granulocytes	25	99.98	0.02	0.02

These values are intended to be representative only. Each laboratory should establish its own expected values from the local population of normal donors.

PERFORMANCE

Performance data are obtained using the procedure described above on less than 24 hour-old blood samples previously collected in sterile tubes with EDTA salt as anticoagulant. Analysis is performed within 2 hours following immunostaining.

SPECIFICITY

The CD15 antigen (Lewis x / Lex) is the lacto-N-(neo) fucopentaose III molecule. This carbohydrate epitope is carried by both glycolipids and glycoproteins expressed on cell membrane. CD15 antigen is strongly expressed by neutrophils, eosinophils, monocytes and normal myeloid precursor cells. It is not expressed on normal erythrocytes, platelets or lymphocytes. The 80H5 monoclonal antibody recognizes an early myeloid differentiation epitope which is found on metamyelocytes, myelocytes, promyelocytes and activated macrophages. It also reacts with granulocytes. The 80H5 monoclonal antibody has been assigned to the CD15 cluster of differentiation during the fifth International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens held in Boston, USA in 1993 (10, 11).

PRECISION

The percent positive values were determined using Whole Blood. Each sample was run 4 times, twice a day for 1 day on 2 instruments using 2 lots of CD15-FITC Monoclonal Antibody Reagents. Measurements (% positive) were made on Navios flow cytometer. Analysis was conducted based on the CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.

Our acceptance criteria is dependent on the number of positive events measured for each population:

- If positive event <1500, CV <15%
- If positive event >1500, CV <10%

Monocytes							
Number of positive events (Mean) = 1056							
	Inter-Operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-run	Intra-run	Total
CV (%)	0.01	0.01	0.04	0.01	0.01	0.03	0.04
RESULTS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocytes							
Number of positive events (Mean) = 8446							
	Inter-Operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-run	Intra-run	Total
CV (%)	0.01	0.03	0.04	0.01	0.01	0.03	0.05
RESULTS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURACY

The accuracy of CD15-FITC was assessed by comparing the results with a reference reagent as the predicate on a set of whole blood samples run on a Navios flow cytometer. The bias between test and reference reagent was determined based on the difference between test results. If the bias is within the allowable error range or the p-value indicates no significant difference (> 0.05), then test results for the two reagents are considered as equivalent.

The results obtained are summarized in the following table below:

Number of donors = 25				
Positive Target	Mean Δ	Δ % Cell criteria	p-value	RESULTS
Monocytes	-0.21	<5	0.058	PASS
Granulocytes	0.00	<5	6.149E-01	PASS

LIMIT OF BLANK AND LIMIT OF DETECTION

A study was conducted in accordance with CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures. The Limit of Detection (LOD) is the lowest concentration of analyte that can be consistently detected. Results obtained are summarized in the following table:

Positive Target	Limit of Blank (cell/µL)	Limit of Detection (cell/µL)
Monocytes	1	3
Granulocytes	1	3

LIMITATIONS

1. Flow cytometry may produce false results if the cytometer has not been aligned perfectly, if fluorescence leaks have not been correctly compensated for and if the regions have not been carefully positioned.
2. It is preferable to use a RBC lysis technique with a washing step, as this reagent has not been optimized for "no wash" lysis techniques.
3. Accurate and reproducible results will be obtained as long as the procedures used are in accordance with the technical insert leaflet and compatible with good laboratory practices.
4. The conjugated antibody of this reagent is calibrated so as to offer the best specific signal/non-specific signal ratio. Therefore, it is important to adhere to the reagent volume/sample volume ratio in every test.
5. In the case of a hyperleucocytosis, dilute the blood in PBS so as to obtain a value of approximately 5 x 10^9 leucocytes/L (12).

6. In certain disease states, such as severe renal failure or haemoglobinopathies, lysis of red cells may be slow, incomplete or even impossible. In this case, it is recommended to isolate mononucleated cells using a density gradient (Ficoll, for example) prior to staining (13).
7. Monoclonal antibodies, of the IgM isotype, to the Lewis x antigen like 80H5 (CD15) are known to induce aggregation of cells of myelomonocytic origin (14). Such aggregates may be excluded of gates of interest and induce inaccurate estimations of CD15 positive cells.
8. In patients treated with anti-human monoclonal antibody therapies, detection of the specific targeted antigens may be diminished or absent due to partial or complete blocking by the therapeutic antibody.
9. The CD15-FITC results should be interpreted in light of the total clinical presentation of the patient, including: symptoms, clinical history, data from additional tests, and other appropriate information.

See the Appendix for examples and references.

TRADEMARKS

Beckman Coulter, the stylized logo, and the Beckman Coulter product and service marks mentioned herein are trademarks or registered trademarks of Beckman Coulter, Inc. in the United States and other countries.

ADDITIONAL INFORMATION

For a patient/user/third party in the European Union and in countries with identical regulatory regime (Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices); if, during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorized representative and to your national authority.

The Summary of Safety and Performance is available from the EUDAMED database: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISION HISTORY

REVISION AC:	Release date : September 2019

REVISION	**Release Date**
AW	February 2022
Updates to comply with the Beckman Coulter Global labelling Policy and according to IVD-R (EU)2017/746 requirements:	
Added sections	BSI 2797 Number, Intended User, Clinical Relevance, Concentration, Precision, Accuracy, Limit of blank and limit of detection, Additional Information, Revision History.
Added information	See sections Limitations
Phrasing or typographic updates	See sections Procedure, Performance, Limitations, Warning and Precautions, Storage and Stability.
Removed sections	Example of clinical applications, Reagents, Intra-laboratory reproducibilty, Linearity
Updated sections	Intended Use, GHS Hazard Classification, Evidence of deterioration, Procedure, Appendix.

REVISION	**Release Date**
AX	April 2023
Updated sections	Add Kazakh
Updated sections	Storage and stability

Revised Version	AY
Revised Date	May 2024
Updated Translations	**Clinical relevance :**
Updated sections	Revision History

Revised Version	AZ
Revised Date	July 2024
Updated sections	Revision History

Symbols Key

Glossary of Symbols is available at beckman.com/techdocs (document number B60062)

	Spécifications
Spécificité	CD15
Clone	80H5
Hybridome	MOPC 315-43 x balb/c
Immunogène	Human granulocytes
Immunoglobuline	IgM
Espèce	Souris
Purification	Chromatographie de filtration sur gel
Fluorochrome	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Rapport molaire	FITC/Ig : 12-14
Excitation λ	488 nm
Pic d'émission	525 nm
Solution tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA et 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticorps conjugué CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Pour un usage diagnostique *in vitro.*

UTILISATION

Cet anticorps conjugué-fluorochrome permet l'identification qualitative non automatisée des populations de cellules exprimant l'antigène CD15 présent dans les échantillons biologiques humains à l'aide d'une cytométrie en flux (voir la section « Échantillons » ci-dessous).

PRINCIPE

Ce test est fondé sur la capacité d'anticorps monoclonaux spécifiques de se lier à des déterminants antigéniques exprimés par les leucocytes.

Une coloration spécifique des leucocytes est effectuée en incubant l'échantillon avec le réactif IOTest. Les globules rouges sont ensuite supprimés par lyses et les leucocytes, qui ne sont pas affectés par cette procédure, sont analysés par cytométrie en flux.

Le cytomètre en flux mesure la diffusion de la lumière et la fluorescence des cellules. Il rend possible la délimitation de la population d'intérêt au sein de la fenêtre électronique définie sur un histogramme, qui met en corrélation la diffusion orthogonale de la lumière (diffusion latérale ou SS) et la diffusion de la lumière en angle étroit (dispersion avant ou FS). D'autres histogrammes combinant deux des différents paramètres disponibles sur le cytomètre peuvent être utilisés comme supports dans la phase de gating en fonction de l'application choisie par l'utilisateur.

La fluorescence des cellules délimitées est analysée de manière à distinguer les événements colorés positifs de ceux qui ne le sont pas. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'événements positifs par rapport à tous les événements acquis grâce à la méthode de gating.

UTILISATEUR PRÉVU

Ce produit est destiné à un usage professionnel en laboratoire.

PERTINENCE CLINIQUE

Le CD15-FITC est un anticorps CD15 utilisé pour identifier et caractériser les cellules exprimant l'antigène CD15 par cytométrie en flux. Ce produit seul ne peut pas et n'est pas destiné à générer une quelconque conclusion diagnostique.

Lorsqu'il est utilisé conjointement avec d'autres marqueurs, ce produit peut être utilisé pour l'une ou plusieurs des fonctions suivantes :

- Aider dans le diagnostic différentiel des patients ayant une hématologie anormale et suspectés d'être atteints d'une maladie hématologique et surveiller les patients atteints d'une maladie hématologique connue.
- Surveiller la procédure de greffe ou les résultats.
- Faciliter le prognostic des patients ayant un néoplasme hématopoïétique.

Voir les références suivantes :

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

CONCENTRATION

Voir le certificat d'analyse du lot spécifique sur www.beckman.com.

ÉCHANTILLONS

Le sang veineux doit être prélevé avec des tubes stériles contenant un sel EDTA comme anticoagulant.

Les échantillons doivent être conservés à température ambiante (18–25 °C) et ne doivent pas être agités. Les échantillons doivent être homogénéisés par agitation douce avant de prélever l'échantillon de test.

Les échantillons doivent être analysés dans les 24 heures qui suivent la ponction veineuse.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Ne pas utiliser le réactif au-delà de la date de péremption.
2. Ne pas congeler.
3. Laisser le réactif passer à la température ambiante (18–25 °C) avant de l'utiliser.
4. Minimiser l'exposition à la lumière.
5. Éviter la contamination microbienne des réactifs, ou des résultats erronés peuvent se produire.

6. Les solutions d'anticorps contenant de l'azide de sodium (NaN_3) doivent être manipulées avec précautions. Ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau, les muqueuses et les yeux.

   En outre, dans un milieu acide, l'azide de sodium peut former le potentiellement dangereux acide hydrazoïque. S'il doit être éliminé, il est recommandé de diluer le réactif dans un grand volume d'eau avant de le verser dans le système de drainage afin d'éviter l'accumulation d'azide de sodium dans les tubes métalliques et de prévenir le risque d'explosion.
7. Tous les échantillons de sang doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés avec soin (en particulier : port de gants, de blouses et de lunettes de protection).
8. Ne jamais pipetter avec la bouche et éviter tout contact des échantillons avec la peau, les muqueuses et les yeux.
9. Les tubes de prélèvement sanguin et les matériaux jetables utilisés pour la manipulation doivent être éliminés dans des conteneurs appropriés prévus pour incinération.
10. Les réactifs et les déchets doivent être éliminés conformément aux exigences locales.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux

SDS La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVATION ET STABILITÉ

Ce réactif doit être conservé entre 2 et 8 °C, à l'abri de la lumière, avant et après l'ouverture du flacon.

Durée de conservation du flacon fermé selon l'étude de stabilité : 639 jours.

Stabilité du flacon ouvert : le réactif est stable pendant 180 jours.

PREUVE DE DÉTÉRIORATION

Tout changement de l'apparence physique des réactifs peut indiquer une détérioration et le réactif ne doit pas être utilisé.

Pour plus de renseignements ou si un produit défectueux est livré, appeler le service client de Beckman Coulter au 800-742-2345 (USA ou Canada), ou votre représentant de Beckman Coulter local.

CONTENU

Les agents de conservation à base d'azide de sodium peuvent former des composés explosifs dans les conduites d'évacuation métalliques. Voir le bulletin NIOSH : Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Dangers d'explosion de l'azide).
Pour éviter l'accumulation potentielle des composés d'azide, rincer les tuyaux d'évacuation à l'eau après l'élimination de réactifs non dilués. L'élimination de l'azide de sodium doit se faire conformément aux réglementations locales en vigueur.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI AVEC CE COFFRET:

- Les tubes d'échantillonnage et le matériel nécessaires pour l'échantillonnage.
- Pipettes automatiques aux embouts jetables pour 20, 100 et 500 µL.
- Tubes d'hémolyse en plastique.
- Réactif de lyse des érythrocytes avec étape de lavage post-lyse. Par exemple : VersaLyse (Réf. A09777).
- Réactif de fixation de leucocyte. Par exemple : Solution fixative IOTest 3 (Réf. A07800).
- Tampon (PBS : 0,01 M phosphate de sodium ; 0,145 M chlorure de sodium ; pH 7,2).
- Centrifugeuse.
- Agitateur automatique (type vortex).
- Cytomètre en flux.

PROCÉDURE AVEC RÉACTIF VERSALYSE

1. Ajouter le volume approprié 20 µL d'anticorps conjugués IOTest spécifique dans chaque tube de test.
2. Ajouter 100 µL de l'échantillon à tester dans chaque tube. Vortexer doucement les tubes.
3. Incuber pendant 15 à 20 minutes à température ambiante (18–25 °C), à l'abri de la lumière.
4. Puis effectuer la lyse des globules rouges. Consulter la notice VersaLyse (Réf. A09777) et suivre de préférence la procédure appelée « with concomitant fixation » (avec fixation concomitante), qui consiste à ajouter 1 mL du mélange « Fixer et Lyser » préparé à n'importe quel moment. Vortexer immédiatement pendant une seconde et incuber pendant 10 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière.
5. Centrifuger pendant 5 minutes à 150 x g à température ambiante.
6. Retirer le surnageant par aspiration.
7. Remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant 3 mL de PBS.
8. Répéter l'étape 5.
9. Éliminer le liquide surnageant par aspiration et remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant :

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS plus 0,1 % de formaldéhyde si les préparations doivent être conservées moins de 24 heures. (Un PBS à 0,1 % de formaldéhyde peut être obtenu en diluant 12,5 µL de solution de fixation IOTest 3 (Réf. A07800) à 10 fois sa concentration dans 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sans formaldéhyde, si les préparations doivent être analysées dans les 2 heures.

Remarque : dans tous les cas, conserver les préparations entre 2 et 8 °C et à l'abri de la lumière.

VALEURS ATTENDUES

Dans nos laboratoires, les échantillons de sang total de 25 donneurs apparemment sains ont été traités à l'aide du réactif décrit ci-dessus. Les résultats obtenus pour le compte des événements positifs d'intérêt pour ce réactif sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Cible positive	Nombre	Moyenne (%)	ET (Écart type)	CV (%)
Monocytes	25	98,49	1,00	1,02
Granulocytes	25	99,98	0,02	0,02

Ces valeurs sont censées être uniquement représentatives. Chaque laboratoire doit établir ses valeurs attendues à partir d'une population locale de donneurs normaux.

PERFORMANCE

Les données de performance sont obtenues à l'aide de la procédure décrite ci-dessus sur des échantillons de sang de moins de 24 heures préalablement collectés dans des tubes stériles contenant du sel EDTA comme anticoagulant. L'analyse est effectuée dans les 2 heures suivant l'immunocoloration.

SPÉCIFICITÉ

L'antigène CD15 (Lewis x / Lex) est la molécule lacto-N- (neo) fucopentaose III. Cet épitope carbohydraté est contenu par les glycolipides et glycoprotéines exprimées sur la membrane de la cellule. L'antigène CD15 est exprimé fortement par les neutrophiles, éosinophiles, monocytes et les précurseurs myéloïdes normaux. Il n'est pas exprimé sur les érythrocytes normaux, les plaquettes ou les lymphocytes. L'anticorps 80H5 reconnaît un épitope de différenciation myéloïde précoce qui est trouvé sur les métamyélocytes, les myélocytes, les promyélocytes et les macrophages activés. Il réagit également avec les granulocytes. L'anticorps monoclonal 80H5 a été attribué au CD15 lors du 5e workshop international sur les antigènes de différenciation des leucocytes humains à Boston, USA en 1993 (10, 11).

PRÉCISION

Les valeurs de percentile positives ont été déterminées à l'aide de sang total. Chaque échantillon a été analysé 4 fois, deux fois par jour pendant 1 jour sur 2 instruments à l'aide de 2 lots de réactifs d'anticorps monoclonal CD15-FITC. Les mesures (% positif) ont été effectuées sur le cytomètre en flux Navios. L'analyse a été conduite conformément au document CLSI Méthode EP5-A2 : Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Évaluation de la performance de précision des méthodes de mesures quantitatives).

Notre critère d'acceptation est dépendant du nombre d'événements positifs mesurés pour chaque population :

- Si événement positif < 1 500, CV < 15 %
- Si événement positif > 1 500, CV < 10 %

Monocytes							
Nombre d'événements positifs (Moyenne) = 1056							
	Inter-opérateur	Inter-cytomètre	Intra-lot	Inter-lot	Inter-analyse	Intra-analyse	Total
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
RÉSULTATS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocytes							
Nombre d'événements positifs (Moyenne) = 8446							
	Inter-opérateur	Inter-cytomètre	Intra-lot	Inter-lot	Inter-analyse	Intra-analyse	Total
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
RÉSULTATS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUDE

L'exactitude de CD15-FITC a été évaluée en comparant les résultats avec un réactif de référence comme prédicat sur un ensemble d'échantillons de sang total analysé sur un cytomètre en flux Navios. L'écart systématique entre le test et le réactif de référence a été déterminé en fonction de la différence entre les résultats du test. Si l'écart systématique se situe dans la plage d'erreurs autorisée ou que la valeur p n'indique aucune différence significative (> 0,05), alors les résultats du test pour les deux réactifs sont considérés comme équivalent.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Nombre de donneurs = 25				
Cible positive	Moyenne Δ	Critères de cellules Δ %	Valeur-p	RÉSULTATS
Monocytes	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulocytes	0,00	<5	6,149E-01	PASS

LIMITE DU BLANC ET LIMITE DE DÉTECTION

Une étude a été conduite conformément au document CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Évaluation des capacités de détection des procédures de mesures biologiques cliniques). La limite de détection (LOD) est la concentration la plus basse d'analyte qui peut être systématiquement détectée. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Positive Target	Limite du blanc (cellules/µL)	Limite de détection (cellules/µL)
Monocytes	1	3
Granulocytes	1	3

LIMITES

1. La cytométrie en flux peut produire des résultats erronés si le cytomètre n'a pas été parfaitement aligné, si les fuites de fluorescence n'ont pas été correctement compensées et si les régions n'ont pas été soigneusement positionnées.
2. Il est préférable d'utiliser une technique de lyse des GR comprenant une étape de lavage, comme ce réactif n'a pas été optimisé pour les techniques de lyse « sans lavage ».

3. Des résultats précis et reproductibles seront obtenus tant que les procédures utilisées sont en conformité avec la notice technique et compatibles avec les bonnes pratiques de laboratoire.
4. L'anticorps conjugué de ce réactif est étalonné de manière à offrir le meilleur ratio de signal spécifique/signal non spécifique. Par conséquent, il est important de respecter le ratio de volume de réactif/volume d'échantillon à chaque test.
5. En cas d'hyperleucocytose, diluer le sang dans du PBS de façon à obtenir une valeur d'approximativement 5 x 10^9 leucocytes/L (12).
6. Dans certains états pathologiques, tels qu'une grave insuffisance rénale ou une hémoglobinopathie, la lyse des globules rouges peut être lente, incomplète ou même impossible. Dans ce cas, il est recommandé d'isoler les cellules mononucléées à l'aide d'un gradient de densité (Ficoll, par exemple) avant la coloration (13).
7. Les anticorps monoclonaux, de l'isotype IgM, de l'antigène Lewis x tels que 80H5 (CD15) sont connus pour induire une agrégation de cellules d'origine myélomonocytaire (14). Ces agrégats peuvent être exclus des portes d'intérêt et induire des estimations inexactes des cellules positives CD15.
8. Chez les patients traités par thérapie d'anticorps monoclonal anti-humain, la détection d'antigènes ciblés spécifiques peut être diminuée ou absente en raison d'un blocage partiel ou total par l'anticorps thérapeutique.
9. Les résultats de CD15-FITC doivent être interprétés à la lumière du tableau clinique complet du patient, y compris : les symptômes, l'anamnèse, les résultats de tests supplémentaires et toute autre information appropriée.

Voir l'annexe pour des exemples et des références.

MARQUES

Beckman Coulter, le logo stylisé et les marques des produits et des services Beckman Coulter mentionnées ici sont des marques ou des marques déposées de Beckman Coulter, Inc. aux États-Unis et dans d'autres pays.

INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES

Pour un patient/utilisateur/tiers de l'Union européenne et des pays ayant le même régime réglementaire (Règlement 2017/746/UE relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro) ; si, lors de l'utilisation de ce dispositif ou suite à son utilisation, un incident important se produit, veuillez le rapporter au fabricant et/ou à son représentant autorisé et à l'autorité nationale de votre pays.

Le Summary of Safety and Performance (Résumé de sécurité et de performance) est disponible sur la base de données EUDAMED : ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

RÉVISION AC :	Date de publication : Septembre 2019

RÉVISION	**Date de publication**
AW	Février 2022
Mises à jour pour se conformer aux exigences de la politique d'étiquetage générale de Beckman Coulter et aux exigences IVD-R (UE)2017/746 :	
Ajout de sections	Numéro BSI 2797, Utilisateur prévu, Pertinence clinique, Concentration, Exactitude, Précision, Limite du blanc et limite de détection, Informations supplémentaires, Historique de révisions.
Ajout d'informations	Voir les sections Limites
Mises à jour typographiques et de formulations	Voir les sections Procédure, Performance, Limites, Avertissement et précautions, Conservation et stabilité.
Suppression de sections	Exemple d'applications cliniques, réactifs, reproductibilité intra-laboratoire, linéarité
Sections mises à jour	Utilisation, Classification des risques SGH, Preuve de détérioration, Procédure, Annexe.

RÉVISION	**Date de publication**
AX	Avril 2023
Sections mises à jour	Ajouter le kazakh
Sections mises à jour	Conservation et stabilité

Version révisée	AY
Date de révision	Mai 2024
Traductions mises à jour	**Pertinence clinique :**
Sections mises à jour	Historique des révisions

Version révisée	AZ
Date de révision	Juillet 2024
Sections mises à jour	Historique des révisions

Légende des symboles

Un glossaire des symboles est disponible sur beckmancoulter.com/techdocs (document numéro B60062)

	Spezifikationen
Spezifität	CD15
Klon	80H5
Hybridom	MOPC 315-43 x balb/c
Immunogen	Human granulocytes
Immunglobulin	IgM
Spezies	Maus
Aufreinigung	Gelfiltrationschromatographie
Fluorochrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molverhältnis	FITC/Ig: 12-14
λ-Anregung	488 nm
Emissionspeak	525 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA und 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugierter Antikörper CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20 µL/Test

***In-vitro*-Diagnostikum.**

VERWENDUNGSZWECK

Dieser mit einem Fluorochrom konjugierte Antikörper ermöglicht mithilfe der Durchflusszytometrie eine qualitative und nicht automatisierte Identifikation von Zellpopulationen, die das CD15-Antigen exprimieren, das in biologischen Proben menschlicher Herkunft vorhanden ist (siehe den Abschnitt „Proben“ unten).

PRINZIP

Dieser Test basiert auf der Fähigkeit bestimmter monoklonaler Antikörper, an die durch Leukozyten exprimierten antigenen Determinanten zu binden.

Die spezifische Färbung der Leukozyten erfolgt durch Inkubation der Probe mit dem IOTest-Reagenz. Die Erythrozyten können dann mittels Lyse entfernt werden. Die von diesem Vorgang unberührten Leukozyten werden mittels Durchflusszytometrie analysiert.

Das Durchflusszytometer misst die Lichtstreuung und die Fluoreszenz der Zellen. Es ermöglicht die Abgrenzung der gewünschten Population innerhalb des auf einem Histogramm definierten elektronischen Fensters, welches die orthogonale Lichtstreuung (Seitwärtsstreuung, SW) und die Streuung des Lichts im flachen Winkel (Vorwärtsstreuung, VW) in Beziehung zueinander setzt. Andere Histogramme, die zwei der auf dem Zytometer verfügbaren Parameter kombinieren, können zur Unterstützung beim Gating eingesetzt werden, je nachdem welche Anwendung der Benutzer ausgewählt hat.

Die Fluoreszenz der einzelnen Zellen wird analysiert, um die positiv angefärbten Ereignisse von den nicht angefärbten zu unterscheiden. Die Ergebnisse werden als Prozentsatz positiver Ereignisse relativ zu allen durch das Gating erfassten Ereignissen angegeben.

VORGESEHENER BENUTZER

Dieses Produkt ist für den Einsatz durch Laborfachkräfte vorgesehen.

KLINISCHE RELEVANZ

CD15-FITC ist ein CD15-Antikörper zur durchflusszytometrischen Identifikation und Charakterisierung von Zellen, die das CD15-Antigen exprimieren. Es ist weder möglich noch vorgesehen, alleine anhand dieses Produkts zu einer diagnostischen Schlussfolgerung zu kommen.

Bei Verwendung in Verbindung mit anderen Markern kann dieses Produkt für einen oder mehrere der folgenden Zwecke eingesetzt werden:

- Als Hilfsmittel zur Differenzialdiagnose von hämatologisch anormalen Patienten mit Verdacht auf eine hämatologische Erkrankung und zur Überwachung von Patienten mit bestätigter hämatologischer Erkrankung.
- Zur Überwachung von Transplantationsverfahren bzw. -ergebnissen.
- Als Hilfsmittel bei der Prognose für Patienten mit hämatopoetischem Neoplasma.

Siehe die nachstehenden Literaturhinweise:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

KONZENTRATION

Siehe das chargenspezifische Analysezertifikat unter www.beckman.com.

PROBEN

Venöses Blut muss mit sterilen Röhrchen entnommen werden, die ein EDTA-Salz als Antikoagulanz enthalten.

Die Proben bei Raumtemperatur (18–25 °C) aufbewahren und nicht schütteln. Die Proben vor Entnahme der Testprobe durch vorsichtiges Schütteln homogenisieren.

Die Proben müssen innerhalb von 24 Stunden analysiert werden.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Das Reagenz nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden.
2. Nicht einfrieren.
3. Vor der Verwendung auf Raumtemperatur (18–25 °C) bringen.
4. Vor Licht schützen.
5. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien muss vermieden werden, damit kein falsches Ergebnis erzielt wird.

6. Antikörperlösungen, die Natriumazid (NaN_3) enthalten, vorsichtig handhaben. Nicht einnehmen und Berührungen mit Haut, Schleimhäuten und Augen vermeiden.

   Zudem kann Natriumazid in einem sauren Medium zur Bildung potenziell gefährlicher Stickstoffwasserstoffsäure führen. Zur Entsorgung des Reagenzes wird empfohlen, das Reagenz mit viel Wasser zu verdünnen, bevor es in das Abwassersystem gegossen wird, um einer Ansammlung von Natriumazid in den Metallrohren und dem Risiko einer Explosion vorzubeugen.
7. Blutproben sind als potenziell infektiös zu betrachten und müssen mit Vorsicht gehandhabt werden (insbesondere durch Tragen von Schutzhandschuhen, -kittel und -brille).
8. Niemals mit dem Mund pipettieren und jeglichen Kontakt der Proben mit Haut, Schleimhaut und Augen vermeiden.
9. Blutröhrchen und Einwegmaterial, das zur Handhabung verwendet wird, müssen in dafür vorgesehenen, für die Verbrennung bestimmten Behältern entsorgt werden.
10. Reagenzien und Abfälle sind entsprechend den örtlichen Anforderungen zu entsorgen.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft

SDS Das Sicherheitsdatenblatt ist auf beckmancoulter.com/techdocs verfügbar.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Dieses Reagenz muss vor und nach dem Öffnen des Fläschchens lichtgeschützt zwischen 2 und 8 °C gelagert werden.

Haltbarkeit der geschlossenen Durchstechflasche gemäß Stabilitätsstudie: 639 Tage.

Stabilität geöffneter Fläschchen: Das Reagenz ist 180 Tage lang stabil.

VERFALLSANZEICHEN

Ein verändertes Aussehen der Reagenzien kann ein Verfallsanzeichen sein. Entsprechende Reagenzien dürfen nicht verwendet werden.

Wenn Sie weitere Informationen wünschen oder falls das Produkt beschädigt bei Ihnen eintrifft, setzen Sie sich (innerhalb der USA und Kanada) unter der Rufnummer 800-742-2345 mit dem Kundendienst von Beckman Coulter bzw. außerhalb dieser Länder mit dem für Sie zuständigen Beckman Coulter-Mitarbeiter in Verbindung.

INHALT

Natriumazid als Konservierungsmittel kann in metallischen Abflussleitungen explosive Verbindungen bilden. Siehe NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (NIOSH-Bulletin: Gefahr durch explosive Azide).
Um eine mögliche Akkumulation von Azidverbindungen zu vermeiden, die Abwasserrohre nach der Entsorgung von unverdünntem Reagenz mit Wasser spülen. Natriumazid muss entsprechend den örtlichen behördlichen Vorschriften entsorgt werden.

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT IM KIT ENTHALTENE ARTIKEL:

- Probenahmeröhrchen und für die Probenahme benötigte Materialien.
- Automatische Pipetten mit Einwegspritzen für 20, 100 und 500 µL.
- Hämolyseröhrchen aus Kunststoff.
- Reagenz zur Lyse der Erythrozyten mit Waschstufe nach der Lyse. Beispiel: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagenz zur Leukozytenfixierung. Beispiel: IOTest 3-Fixierungslösung (Ref. A07800).
- Puffer (PBS: 0,01 M Natriumphosphat; 0,145 M Natriumchlorid; pH 7,2).
- Zentrifuge.
- Automatisches Mischgerät (Typ Vortex-Mischer).
- Durchflusszytometer.

VERFAHREN MIT VERSALYSE-REAGENZ

1. Jedem Teströhrchen das korrekte Volumen (20 µL) des entsprechenden konjugierten IOTest-Antikörpers zugeben.
2. 100 µL der Testprobe in jedes Röhrchen geben. Die Röhrchen sachte mittels Vortex-Mischer mischen.
3. Bei Raumtemperatur (18–25 °C) 15 bis 20 Minuten lang lichtgeschützt inkubieren.
4. Im Anschluss die Erythrozyten lysieren. Das Merkblatt für VersaLyse (Ref. A09777) beachten und vorzugsweise das Verfahren mit dem Titel „with concomitant fixation“ (mit gleichzeitiger Fixierung) befolgen, das eine Zugabe von 1 mL des spontan zubereiteten „Fix-and-Lyse“(Fixierung und Lyse)-Gemisches vorsieht. Sofort eine Sekunde lang auf dem Vortex-Mischer mischen und 10 Minuten lang lichtgeschützt bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Bei 150 x g 5 Minuten lang bei Raumtemperatur zentrifugieren.
6. Den Überstand absaugen.
7. Das Zellpellet in 3 mL PBS resuspendieren.
8. Schritt 5 wiederholen.
9. Den Überstand absaugen und das Zellpellet resuspendieren mit:

- 0,5 mL oder 1 mL PBS plus 0,1 % Formaldehyd, wenn die Präparate weniger als 24 Stunden aufbewahrt werden sollen. (Ein 0,1%iges Formaldehyd-PBS-Gemisch kann hergestellt werden, indem 12,5 µL der IOTest 3-Fixierlösung (Ref. A07800) bei 10-facher Konzentration in 1 mL PBS verdünnt werden.)
- 0,5 mL oder 1 mL PBS ohne Formaldehyd, wenn die Präparate innerhalb von weniger als 2 Stunden analysiert werden sollen.

Hinweis: Die Präparate in jedem Fall zwischen 2 und 8 °C und vor Licht geschützt aufbewahren.

ERWARTETE WERTE

In unseren Laboren wurden die Vollblutproben von 25 scheinbar gesunden Spendern unter Verwendung des oben beschriebenen Reagenzes behandelt. Die Ergebnisse für die Anzahl der positiven Ereignisse von Interesse, die mit diesem Reagenz erzielt wurden, sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt:

Positives Ziel	Nummer	Mittelwert (%)	SD	VK (%)
Monozyten	25	98,49	1,00	1,02
Granulozyten	25	99,98	0,02	0,02

Die Werte dienen nur zu Veranschaulichungszwecken. Jedes Labor muss anhand der örtlichen Population normaler Spender eigene erwartete Werte festlegen.

LEISTUNG

Leistungsdaten werden unter Anwendung des oben beschriebenen Verfahrens mit weniger als 24 Stunden alten Blutproben ermittelt, die zuvor in sterile Röhrchen mit EDTA-Salz als Antikoagulanz entnommen wurden. Die Analyse erfolgt innerhalb von 2 Stunden nach der Immunfärbung.

SPEZIFITÄT

Das CD15-Antigen (Lewis x / LEX) ist das Molekül Lacto-N-(neo)-Fucopentaose III. Dieses Kohlenhydrat-Epitop wird von Glykolipiden und Glykoproteinen getragen, die auf der Zellmembran exprimiert werden. Das CD15-Antigen wird stark von Neutrophilen, Eosinophilen, Monozyten und normalen myeloischen Vorläuferzellen exprimiert. Es wird nicht auf normalen Erythrozyten, Thrombozyten oder Lymphozyten exprimiert. Der Antikörper 80H5 erkennt ein Epitop der frühen myeloischen Differenzierung, das auf Metamyelozyten, Myelozyten, Promyelozyten und aktivierten Makrophagen vorhanden ist. Er reagiert auch mit Granulozyten. Der monoklonale Antikörper 80H5 wurde auf dem 1993 in Boston, USA, abgehaltenen fünften internationalen HLDA (Human Leucocyte Differentiation Antigens)-Workshop dem CD15-Cluster of Differentiation zugeordnet (10, 11).

PRÄZISION

Die prozentualen positiven Werte wurden unter Verwendung von Vollblut bestimmt. Jede Probe wurde zweimal täglich 1 Tag lang unter Verwendung von 2 Chargen der Reagenzien mit dem monoklonalen Antikörper CD15-FITC 4 Mal auf 2 Instrumenten analysiert. Messungen (% positiv) wurden mit dem Navios-Durchflusszytometer vorgenommen. Die Analyse folgte den Vorgaben der CLSI-Methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Beurteilung der Präzisionsleistung von quantitativen Messmethoden).

Unsere Akzeptanzkriterien sind abhängig von der Anzahl an positiven Ereignissen, die für jede Population gemessen werden:

- Wenn positives Ereignis < 1 500, VK < 15 %
- Wenn positives Ereignis > 1 500, VK < 10 %

Monozyten							
Anzahl der positiven Ereignisse (Mittelwert) = 1056							
	Zwischen Bedienern	Zwischen Durchflusszytometern	Innerhalb einer Charge	Zwischen Chargen	Zwischen Läufen	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
VK (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
ERGEBNISSE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulozyten							
Anzahl der positiven Ereignisse (Mittelwert) = 8446							
	Zwischen Bedienern	Zwischen Durchflusszytometern	Innerhalb einer Charge	Zwischen Chargen	Zwischen Läufen	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
VK (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
ERGEBNISSE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit von CD15-FITC wurde anhand eines Vergleichs der Ergebnisse mit einem Referenzreagenz als Prädikat für einen Satz aus Vollblutproben bewertet, die auf einem Navios-Durchflusszytometer analysiert wurden. Die Abweichung zwischen Test- und Referenzreagenz wurde auf der Grundlage der Differenz zwischen Testergebnissen bestimmt. Sollte die Abweichung innerhalb des zulässigen Fehlerbereichs liegen oder der p-Wert keine signifikante Differenz (> 0,05) nahelegen, gelten die Testergebnisse für die beiden Reagenzien als gleichwertig.

Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Anzahl der Spender = 25				
Positives Ziel	Mittelwert Δ	Δ % Zellkriterien	p-Wert	ERGEBNISSE
Monozyten	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulozyten	0,00	<5	6,149E-01	PASS

GRENZWERT FÜR LEERWERT UND NACHWEISGRENZE

Es wurde eine Studie gemäß CLSI-Dokument EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluierung des Detektionsvermögens von klinischen Labormessverfahren), durchgeführt. Die Nachweisgrenze (LOD) ist die niedrigste Konzentration des Analyten, die durchweg nachgewiesen werden kann. Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Positive Target	Grenzwert für Leerwert (Zelle/µL)	Nachweisgrenze (Zelle/µL)
Monozyten	1	3
Granulozyten	1	3

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Die Durchflusszytometrie kann falsche Ergebnisse liefern, wenn das Zytometer nicht perfekt ausgerichtet wurde, wenn Fluoreszenzlecks nicht korrekt kompensiert wurden und wenn die Bereiche nicht sorgfältig positioniert wurden.

2. Vorzugsweise sollte eine ERY-Lysetechnik mit einem Waschschritt angewandt werden, da dieses Reagenz nicht für Lysetechniken ohne Waschen optimiert wurde.
3. Genaue und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, sofern die verwendeten Verfahren der technischen Packungsbeilage entsprechen und mit der guten Laborpraxis kompatibel sind.
4. Der konjugierte Antikörper dieses Reagenzes ist so kalibriert, dass er das beste Verhältnis von spezifischem zu unspezifischem Signal bietet. Daher ist es wichtig, das Verhältnis Reagenzvolumen/Probenvolumen bei jedem Test einzuhalten.
5. Im Falle einer Hyperleukozytose das Blut in PBS verdünnen, um einen Wert von ungefähr 5 x 10^9 Leukozyten/L zu erhalten(12).
6. Bei bestimmten Krankheitszuständen, beispielsweise einem schweren Nierenversagen oder Hämoglobinopathien, kann die Lyse der Erythrozyten möglicherweise nur langsam oder unvollständig erfolgen oder sogar unmöglich sein. In diesem Fall empfiehlt es sich, vor dem Färben einkernige Zellen mittels eines Dichtegradienten (beispielsweise Ficoll) zu isolieren (13).
7. Es ist bekannt, dass monoklonale Antikörper des IgM-Isotyps gegen das Lewis-X-Antigen wie 80H5 (CD15) eine Aggregation von Zellen myelomonozytären Ursprungs herbeiführen (14). Diese Aggregate werden ggf. von den gewünschten Gates ausgeschlossen und führen so zu ungenauen Schätzungen der CD15-positiven Zellen.
8. Bei Patienten, die sich Therapien mit anti-humanen monoklonalen Antikörpern unterziehen, kann das Nachweisvermögen für die spezifischen anvisierten Antigene aufgrund einer teilweisen oder vollständigen Blockierung durch die therapeutischen Antikörper vermindert sein oder gänzlich ausbleiben.
9. Die Ergebnisse für CD15-FITC müssen unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde für den Patienten interpretiert werden, einschließlich Symptomen, klinischer Vorgeschichte, Daten zusätzlicher Tests sowie sonstiger relevanter Informationen.

Beispiele und Literaturhinweise siehe Anhang.

MARKEN

Beckman Coulter, das stilisierte Logo und die in diesem Dokument erwähnten Beckman Coulter-Produkt- und Dienstleistungsmarken sind in den USA und anderen Ländern Marken oder eingetragene Marken von Beckman Coulter, Inc.

WEITERE INFORMATIONEN

Für einen Patienten/Benutzer/Dritten in der Europäischen Union und in Ländern mit identischer Regulierungspraxis (Verordnung 2017/746/EU über In-vitro-Diagnostika) gilt Folgendes: Sollte es im Rahmen der Verwendung dieses Produktes oder infolge der Verwendung dieses Produktes zu einem schwerwiegenden Zwischenfall gekommen sein, ist dieser dem Hersteller und/oder dessen Bevollmächtigten sowie der nationalen Behörde zu melden.

Die „Summary of Safety and Performance“ (Bericht über Sicherheit und Leistung) kann aus der EUDAMED-Datenbank abgerufen werden: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSVERLAUF

REVISION AC:	Freigabedatum: September 2019

REVISION	**Freigabedatum**
AW	Februar 2022
Aktualisierungen vorgenommen, um den Vorgaben der globalen Etikettierungsrichtlinie von Beckman Coulter und den Vorgaben nach IVD-R (EU) 2017/746 zu entsprechen:	
Abschnitte hinzugefügt	Nummer nach BSI 2797; Vorgesehener Benutzer; Klinische Anwendung; Konzentration; Präzision; Genauigkeit; Grenzwert für Leerwert und Nachweisgrenze; Weitere Informationen; Revisionsübersicht.
Informationen hinzugefügt	Siehe Abschnitt Einschränkungen
Formulierung oder Typografie aktualisiert	Siehe die Abschnitte Verfahren; Leistung; Einschränkungen; Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen; Lagerung und Stabilität.
Abschnitte gestrichen	Beispiel für klinische Anwendungen; Reagenzien; Reproduzierbarkeit innerhalb des Labors; Linearität
Aktualisierte Abschnitte	Verwendungszweck; GHS-Gefahrstoffklassifizierung; Verfallsanzeichen; Verfahren; Anhang.

REVISION	**Freigabedatum**
AX	April 2023
Aktualisierte Abschnitte	Kasachisch hinzufügen
Aktualisierte Abschnitte	Lagerung und Stabilität

Überarbeitete Version	AY
Überarbeitungsdatum	Mai 2024
Aktualisierte Übersetzungen	**Klinische Relevanz:**
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Überarbeitete Version	AZ
Überarbeitungsdatum	Juli 2024
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Liste der Symbole

Das Glossar der Symbole ist auf beckman.com/techdocs (Dokumentnummer B60062) verfügbar.

	Specifiche
Specificità	CD15
Clone	80H5
Ibridoma	MOPC 315-43 x balb/c
Immunogeno	Human granulocytes
Immunoglobulina	IgM
Specie	Topo
Purificazione	Cromatografia di gel filtrazione
Fluorocromo	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Rapporto molare	FITC / Ig: 12-14
Eccitazione λ	488 nm
Picco di emissione	525 nm
Tampone	PBS pH 7,2 più 2 mg/mL di BSA e NaN_3 0,1%

IOTest

Anticorpo coniugato CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Per uso diagnostico *in vitro.*

USO PREVISTO

Questo anticorpo coniugato con fluorocromo consente l'identificazione qualitativa e non automatizzata di popolazioni cellulari che esprimono l'antigene CD15 presente nei campioni biologici umani mediante citometria a flusso (vedere la sezione "Campioni" di seguito).

PRINCIPIO

Questo test si basa sulla capacità di specifici anticorpi monoclonali di legarsi ai determinanti antigenici espressi dai leucociti.

La colorazione specifica dei leucociti viene eseguita incubando il campione con il reagente IOTest. Gli eritrociti vengono quindi rimossi tramite lisi e i leucociti, non interessati da questo processo, vengono analizzati tramite citometria a flusso.

Il citometro a flusso misura la diffusione di luce e la fluorescenza delle cellule. Ciò consente la delimitazione della popolazione di interesse con la finestra elettronica definita in un istogramma, che correla la diffusione ortogonale della luce (scattering laterale o SS) e la diffusione della luce ad angolo stretto (scattering frontale o FS). Altri istogrammi che combinano due dei diversi parametri disponibili sul citometro possono essere usati come supporti nella fase di determinazione del gate in base alle applicazioni scelte dall'utente.

La fluorescenza delle cellule delimitate viene analizzata per distinguere gli eventi colorati in modo positivo e quelli non colorati. I risultati sono espressi come percentuale di eventi positivi in relazione a tutti gli eventi acquisiti mediante determinazione del gate.

UTENTE PREVISTO

Questo prodotto è destinato all'uso professionale in laboratorio.

RILEVANZA CLINICA

CD15-FITC è un anticorpo CD15 utilizzato per identificare e caratterizzare le cellule che esprimono l'antigene CD15 mediante citometria a flusso. Questo prodotto da solo non può e non intende generare alcuna conclusione diagnostica.

Se impiegato in combinazione con altri marcatori, questo prodotto può essere utilizzato con una o più delle seguenti funzioni:

- Come supporto nella diagnosi differenziale di pazienti con anomalie ematologiche e sospette patologie a carico del sangue e nel monitoraggio di pazienti con patologie ematologiche note.
- Per monitorare una procedura o i risultati di un trapianto.
- Come supporto nella prognosi di pazienti con neoplasia ematopoietica.

Vedere i riferimenti seguenti:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

CONCENTRAZIONE

Vedere il Certificato di analisi specifico del lotto sul sito www.beckman.com.

CAMPIONI

I campioni di sangue venoso devono essere prelevati utilizzando provette sterili contenenti un sale EDTA come anticoagulante.

I campioni devono essere conservati a temperatura ambiente (18-25 °C) e non devono essere agitati. I campioni devono essere omogeneizzati agitandoli con delicatezza prima di prelevare il campione per il test.

I campioni devono essere analizzati entro 24 ore dalla venipuntura.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza.
2. Non congelare.
3. Prima dell'uso, portare a temperatura ambiente (18-25 °C).
4. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce.
5. Evitare la contaminazione microbica dei reagenti, poiché potrebbe falsare i risultati.

6. Le soluzioni di anticorpi che contengono sodio azide (NaN_3) devono essere maneggiate con cura. Non ingerire ed evitare qualsiasi contatto con cute, mucose e occhi.

   Inoltre, in un mezzo acido, il sodio azide può formare acido idrazoico, che è potenzialmente pericoloso. Per lo smaltimento, si consiglia di diluire il reagente in un grande volume di acqua prima di versarlo nell'impianto di scarico, in modo da evitare l'accumulo di sodio azide nelle tubazioni metalliche ed evitare il rischio di esplosione.
7. Tutti i campioni di sangue devono essere considerati potenzialmente infetti e devono essere maneggiati con cura (in particolare, indossando guanti, camici e occhiali protettivi).
8. Non pipettare mai usando la bocca ed evitare il contatto dei campioni con la pelle, le mucose e gli occhi.
9. Le provette per il sangue e i materiali monouso usati per la manipolazione devono essere smaltiti in appositi contenitori destinati all'inceneritore.
10. I reagenti e i rifiuti devono essere smaltiti conformemente alla normative locali.

CLASSIFICAZIONE DEI PERICOLI GHS

Classificato come non pericoloso

SDS La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile all'indirizzo beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Questo reagente deve essere mantenuto a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce, prima e dopo l'apertura della fiala.

Durata di conservazione della fiala chiusa secondo studi di stabilità: 639 giorni.

Stabilità di una fiala aperta: il reagente è stabile per 180 giorni.

INDICI DI DETERIORAMENTO

Qualsiasi cambiamento dell'aspetto fisico dei reagenti può indicare un deterioramento. In tale caso, non utilizzare il reagente.

Per ulteriori informazioni, o nel caso in cui il prodotto ricevuto risulti danneggiato, rivolgersi all'assistenza clienti Beckman Coulter al numero 800-742-2345 (USA o Canada) o mettersi in contatto con il rappresentante locale Beckman Coulter.

SOMMARIO

Il conservante sodio azide può formare composti esplosivi nelle tubazioni metalliche di scarico. Vedere il bollettino NIOSH: Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Bollettino dell'Istituto Nazionale per la Sicurezza e la Salute sul Lavoro: Rischio di esplosione del sodio azide).
Per evitare il possibile accumulo di azidi, lavare i tubi di scarico con acqua dopo lo smaltimento del reagente puro. Il sodio azide deve essere eliminato conformemente alle normative locali applicabili.

COMPONENTI NECESSARI MA NON FORNITI CON IL KIT:

- Provette per campioni e materiale necessario per il campionamento.
- Pipette automatiche con punte monouso per 20, 100 e 500 µL.
- Provette per emolisi in plastica.
- Reagente per lisi degli eritrociti con fase di lavaggio successiva alla lisi. Ad esempio: VersaLyse (Rif. A09777).
- Reagente di fissaggio dei leucociti. Ad esempio: Soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800).
- Tampone (PBS: 0,01 M di fosfato di sodio, 0,145 M di cloruro di sodio, pH 7,2).
- Centrifugare.
- Agitatore automatico (tipo Vortex).
- Citometro a flusso.

PROCEDURA CON REAGENTE VERSALYSE

1. Aggiungere il volume appropriato (20 µL) dell'anticorpo coniugato IOTest specifico a ogni provetta di test.
2. Aggiungere 100 µL di campione del test in ogni provetta. Agitare delicatamente le provette con Vortex.
3. Incubare a temperatura ambiente (18-25 °C) per 15-20 minuti, al riparo dalla luce.
4. Quindi eseguire la lisi degli eritrociti. Consultare il foglietto illustrativo di VersaLyse (Rif. A09777) e seguire preferibilmente la procedura denominata "with concomitant fixation" (con fissazione concomitante), che consiste nell'aggiungere 1 mL della miscela fissante e lisante preparata estemporaneamente. Miscelare immediatamente con Vortex per un secondo e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente, al riparo dalla luce.
5. Centrifugare per 5 minuti a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Rimuovere il surnatante mediante aspirazione.
7. Risospendere il pellet cellulare utilizzando 3 mL di PBS.
8. Ripetere il passaggio 5.
9. Eliminare il surnatante tramite aspirazione e risospendere il pellet cellulare tramite:

- 0,5 mL o 1 mL di PBS più 0,1% di formaldeide, se i preparati devono essere conservati per meno di 24 ore. È possibile ottenere PBS con formaldeide allo 0,1% diluendo 12,5 µL di soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800) alla sua concentrazione di 10X in 1 mL di PBS.
- 0,5 mL o 1 mL di PBS senza formaldeide, se i preparati devono essere analizzati entro 2 ore.

Nota: in tutti i casi, mantenere i preparati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce.

VALORI ATTESI

Nei nostri laboratori, i campioni di sangue intero di donatori apparentemente sani 25 sono stati trattati utilizzando il reagente descritto sopra. I risultati ottenuti dal conteggio degli eventi positivi pertinenti a questo reagente sono riportati nella tabella di seguito:

Target positivo	Numero	Media (%)	SD	CV (%)
Monociti	25	98,49	1,00	1,02
Granulociti	25	99,98	0,02	0,02

Tali valori sono forniti unicamente a scopo indicativo. Ogni laboratorio deve definire i propri valori attesi a partire dalla popolazione locale di donatori normali.

PRESTAZIONI

I dati delle prestazioni si ottengono adottando la procedura descritta in precedenza su campioni di sangue raccolti da meno di 24 ore in provette sterili con anticoagulante EDTA. L'analisi viene eseguita entro 2 ore dall'immunocolorazione.

SPECIFICITÀ

L'antigene CD15 (Lewis x / Lex) è la molecola lacto-N-fucopentaose III. Questo epitopo carboidrato è trasportato dai glicolipidi e dalle glicoproteine espressi sulla membrana cellulare. L'antigene CD15 viene fortemente espresso da neutrofili, eosinofili, monociti e cellule precursori mieloidi normali. Non viene espresso sui normali eritrociti, piastrine o linfociti. L'anticorpo 80H5 riconosce un epitopo di differenziazione mieloide precoce che si trova su metamielociti, mielociti, promielociti e macrofagi attivati. Inoltre reagisce con i granulociti. L'anticorpo monoclonale 80H5 è stato assegnato al cluster CD15 di differenziazione durante il 5th International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (V Workshop internazionale sugli antigeni di differenziazione dei leucociti umani), tenutosi a Boston, negli Stati Uniti nel 1993 (10, 11).

PRECISIONE

I valori percentuali positivi sono stati determinati utilizzando sangue intero. Ogni campione è stato analizzato 4 volte, due volte al giorno per 1 giorno su 2 strumenti utilizzando 2 lotti di reagenti per anticorpi monoclonali CD15-FITC. Le misurazioni (% positive) sono state eseguite sul citometro a flusso Navios. L'analisi è stata condotta secondo il metodo EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Valutazione delle prestazioni di precisione dei metodi di misurazione quantitativa).

I nostri criteri di accettazione dipendono dal numero di eventi positivi misurati per ogni popolazione:

- Se evento positivo < 1.500, CV < 15%
- Se evento positivo > 1.500, CV < 10%

Monociti							
Numero di eventi positivi (media) = 1056							
	Inter-operatore	Inter-citometro	Intra-lotto	Inter-lotto	Inter-analisi	Intra-analisi	Totale
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
RISULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulociti							
Numero di eventi positivi (media) = 8446							
	Inter-operatore	Inter-citometro	Intra-lotto	Inter-lotto	Inter-analisi	Intra-analisi	Totale
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
RISULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURATEZZA

L'accuratezza di CD15-FITC è stata valutata confrontando i risultati con un reagente di riferimento come predicato su una serie di campioni di sangue intero eseguiti su un citometro a flusso Navios. La distorsione tra il reagente in esame e quello di riferimento è stata determinata in base alla differenza tra i risultati del test. Se la distorsione rientra nell'intervallo di errore consentito o il valore p indica che non vi è una differenza significativa (> 0,05), allora i risultati dei test per i due reagenti sono considerati equivalenti.

I risultati ottenuti sono riepilogati nella tabella seguente:

Numero di donatori = 25				
Target positivo	Δ medio	Criteri cellulari Δ %	Valore p	RISULTATI
Monociti	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulociti	0,00	<5	6,149E-01	PASS

LIMITE DEL BIANCO E LIMITE DI RILEVAZIONE

È stato effettuato uno studio in conformità al documento EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Valutazione delle capacità di rilevamento delle procedure di misurazione del laboratorio clinico). Il limite di rilevazione (LoD) è la più bassa concentrazione di analita che può essere costantemente rilevata. I risultati ottenuti sono riepilogati nella seguente tabella:

Positive Target	Limite del bianco (cellula/µL)	Limite di rilevazione (cellula/µL)
Monociti	1	3
Granulociti	1	3

LIMITAZIONI

1. La citometria a flusso può produrre falsi risultati se il citometro non viene allineato perfettamente, le perdite di fluorescenza non vengono correttamente compensate e le regioni non vengono posizionate attentamente.
2. È preferibile utilizzare una tecnica di lisi RBC con una fase di lavaggio, in quanto il reagente non è stato ottimizzato per tecniche di lisi "senza lavaggio".
3. Seguendo le procedure descritte nel foglietto illustrativo con le informazioni tecniche, compatibili con le buone pratiche di laboratorio, è possibile ottenere risultati accurati e riproducibili.

4. L'anticorpo coniugato di questo reagente è calibrato in modo da offrire un rapporto segnale specifico/segnale non specifico ottimale. Di conseguenza, è importante rispettare il rapporto fra volume di reagente e volume di campione in tutti i test.
5. In caso di iperleucocitosi, diluire il sangue in PBS in modo da ottenere un valore di circa 5 x 10^9 leucociti/L (12).
6. In alcuni stati patologici, come insufficienza renale grave o emoglobinopatie, la lisi degli eritrociti può risultare lenta, incompleta o persino impossibile. In questo caso, è consigliabile isolare le cellule mononucleate usando un gradiente di densità (ad esempio, Ficoll) prima della colorazione (13).
7. È noto che gli anticorpi monoclonali, dell'isotipo IgM, per l'antigene Lewis x come 80H5 (CD15), inducono l'aggregazione di cellule di origine mielomonocitica (14). Tali aggregati possono essere esclusi dai gate di interesse e inducono stime imprecise di cellule positive CD15.
8. In pazienti trattati con terapie a base di anticorpi monoclonali anti-umani, il rilevamento di antigeni specifici può essere minore o assente a causa del blocco parziale o completo da parte dell'anticorpo terapeutico.
9. I risultati CD15-FITC devono essere interpretati alla luce del quadro clinico completo del paziente che comprende: sintomatologia, anamnesi clinica, risultati di altri test e altre informazioni appropriate.

Per esempi e riferimenti, vedere l'appendice.

MARCHI COMMERCIALI

Beckman Coulter, il logo stilizzato ed i marchi commerciali dei prodotti e servizi di Beckman Coulter menzionati qui, sono marchi commerciali o marchi commerciali registrati di Beckman Coulter, Inc., negli Stati Uniti e in altri paesi.

INFORMAZIONI AGGIUNTIVE

Per un paziente/utente/terza parte nell'Unione Europea e in paesi con identico regime normativo (Regolamento 2017/746/UE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro): se, durante l'utilizzo di questo dispositivo o in seguito al suo utilizzo, si fosse verificato un incidente grave, si prega di segnalarlo al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e all'autorità nazionale competente.

Il Summary of Safety and Performance (Sintesi relativa alla sicurezza e alle prestazioni) è disponibile nel database EUDAMED all'indirizzo: ec.europa.eu/tools/eudamed.

CRONOLOGIA REVISIONI

REVISIONE AC:	Data di pubblicazione: settembre 2019

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AW	Febbraio 2022
Aggiornamenti conformi alla politica sull'etichettatura globale di Beckman Coulter e ai requisiti IVD-R (UE)2017/746:	
Sezioni aggiunte	Numero BSI 2797, Utente previsto, Rilevanza clinica, Concentrazione, Precisione, Accuratezza, Limite del bianco e limite di rilevazione, Informazioni aggiuntive, Cronologia revisioni.
Aggiunta di informazioni	Vedere le sezioni Limitazioni
Aggiornamenti testuali o tipografici	Vedere le sezioni Procedura, Prestazioni, Limitazioni, Avvertenze e precauzioni, Conservazione e stabilità.
Sezioni rimosse	Esempio di applicazioni cliniche, Reagenti, Riproducibilità intra-laboratorio, Linearità
Sezioni aggiornate	Uso previsto, Classificazione pericoli GHS, Indici di deterioramento, Procedura, Appendice.

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AX	Aprile 2023
Sezioni aggiornate	Aggiungere la lingua kazaka
Sezioni aggiornate	Conservazione e stabilità

Versione revisionata	AY
Data di revisione	Maggio 2024
Traduzioni aggiornate	**Rilevanza clinica:**
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Versione revisionata	AZ
Data di revisione	Luglio 2024
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Legenda dei simboli

Il Glossario dei simboli è disponibile all'indirizzo beckman.com/techdocs (documento numero B60062)

	Especificaciones
Especificidad	CD15
Clon	80H5
Hibridoma	MOPC 315-43 x balb/c
Inmunógeno	Human granulocytes
Inmunoglobulina	IgM
Especie	Ratón
Purificación	Cromatografía de filtración en gel
Fluorocromo	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Proporción molar	FITC / Ig: 12-14
Excitación λ	488 nm
Pico de emisión	525 nm
Tampón	PBS pH 7,2 más 2 mg/mL BSA y 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticuerpo conjugado CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20 µL/prueba

Para uso diagnóstico *in vitro.*

USO PREVISTO

Este anticuerpo conjugado con un fluorocromo permite la identificación cualitativa y no automatizada de poblaciones de células que expresan el antígeno CD15 presente en muestras biológicas humanas mediante citometría de flujo (véase la sección «Muestras» más adelante).

PRINCIPIO

Esta prueba se basa en la capacidad de anticuerpos monoclonales específicos para unirse a los determinantes antigénicos expresados por leucocitos.

La tinción específica de los leucocitos se realiza incubando la muestra con el reactivo IOTest. A continuación, se eliminan los eritrocitos mediante lisis y los leucocitos, que no se ven afectados por este proceso, se analizan mediante citometría de flujo.

El citómetro de flujo mide la dispersión de la luz y la fluorescencia de las células. Permite acotar la población de interés dentro de una ventana electrónica, definida en un histograma que correlaciona la dispersión lateral de luz (Side Scatter o SS) con la dispersión frontal de la luz (Forward Scatter o FS). Se pueden utilizar otros histogramas que combinen dos de los distintos parámetros disponibles en el citómetro como apoyo para la fase de selección en función de la aplicación utilizada por el usuario.

La fluorescencia de las células acotadas se analiza para distinguir los eventos con tinción positiva de los eventos sin teñir. Los resultados se expresan como un porcentaje de eventos positivos en relación con todos los eventos adquiridos mediante la selección.

USUARIO PREVISTO

Este producto está diseñado para su uso en un laboratorio profesional.

IMPORTANCIA CLÍNICA

El reactivo CD15-FITC es un anticuerpo frente a CD15 utilizado para identificar y caracterizar células que expresan el antígeno CD15 mediante citometría de flujo. Este producto por sí solo no puede y no está diseñado para generar una conclusión diagnóstica.

Cuando se usa en combinación con otros marcadores, este producto puede utilizarse en una o más de las siguientes funciones:

- Ayudar al diagnóstico diferencial de pacientes con anomalías hematológicas en los que se sospecha de la presencia de un trastorno hematológico y realizar el seguimiento de pacientes con un trastorno hematológico conocido.
- Realizar el seguimiento del proceso o los resultados de un trasplante.
- Ayudar en el pronóstico de pacientes que padecen una neoplasia hematopoyética.

Consulte las siguientes referencias:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

CONCENTRACIÓN

Consulte el certificado de análisis específico del lote en www.beckman.com.

MUESTRAS

La sangre venosa debe recogerse en tubos de muestra estériles que contengan una sal de EDTA como anticoagulante.

Las muestras deben mantenerse a temperatura ambiente (18-25 °C) y no agitarse. Antes de tomar la muestra de prueba, es necesario homogeneizarla mediante una agitación suave.

Las muestras deben analizarse en el plazo de 24 horas tras la venopunción.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. No use el reactivo después de la fecha de caducidad.
2. No lo congele.
3. Déjelo a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su utilización.
4. Minimice el tiempo de exposición a la luz.
5. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, ya que esto puede provocar resultados falsos.

6. Las soluciones de anticuerpo que contienen azida sódica (NaN_3) deben manipularse con precaución. No ingerir y evitar todo contacto con la piel, la mucosa y los ojos.

   Asimismo, en un medio ácido, la azida sódica puede formar ácido hidrazoico potencialmente peligroso. Cuando se vaya a desechar, se recomienda diluir el reactivo en abundante agua antes de verterlo en el sistema de drenaje para evitar la acumulación de azida sódica en tubos metálicos y el riesgo de explosión.
7. Todas las muestras sanguíneas deben considerarse posiblemente infecciosas y deben manipularse con cuidado (en especial, hay que llevar guantes, bata y gafas de protección).
8. No pipetee nunca con la boca y evite todo contacto de las muestras con la piel, las mucosas y los ojos.
9. Los tubos para sangre y el material desechable utilizados para la manipulación deben eliminarse en recipientes especiales previstos para la incineración.
10. Los reactivos y los desechos deben eliminarse de acuerdo con los requisitos locales.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico

SDS La ficha de datos de seguridad está disponible en beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Este reactivo debe conservarse entre 2 y 8 °C en un lugar protegido de la luz, antes y después de abrir el vial.

Vida útil del vial cerrado según estudio de estabilidad: 639 días.

Estabilidad del vial abierto: el reactivo es estable durante 180 días.

SIGNOS DE DETERIORO

Cualquier cambio en el aspecto físico de los reactivos puede indicar un deterioro, por lo que no debe utilizarse el reactivo.

Para obtener información adicional o si el producto está dañado, llame al servicio de atención al cliente de Beckman Coulter en el 800-742-2345 (EE. UU. o Canadá) o póngase en contacto con su representante local de Beckman Coulter.

CONTENIDO

El conservante de azida sódica puede formar compuestos explosivos en las tuberías metálicas del desagüe. Véase el NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Boletín de NIOSH: Peligro de explosión con la azida) (16/8/76).
Para evitar la posible acumulación de compuestos de azida, limpie con agua los tubos de desagüe tras la eliminación del reactivo sin diluir. Para desechar la azida sódica deben seguirse las normativas locales adecuadas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS CON EL KIT:

- Tubos y material de muestras necesarios para el muestreo.
- Pipetas automáticas para puntas desechables de 20, 100 y 500 µL.
- Tubos de hemólisis de plástico.
- Reactivo de lisis de glóbulos rojos con estado de lavado después de la lisis. Por ejemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reactivo de fijación de leucocitos. Por ejemplo: Solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800).
- Tampón (PBS: 0,01 M de fosfato de sodio; 0,145 M de cloruro sódico; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de flujo.

PROCEDIMIENTO CON EL REACTIVO VERSALYSE

1. Añada el volumen adecuado de 20 µL de anticuerpo conjugado de IOTest específico a cada tubo de ensayo.
2. Añadir 100 µL de la muestra problema a cada tubo. Mezclar suavemente los tubos en el Vórtex.
3. Incube entre 15 y 20 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C) y protegido de la luz.
4. A continuación, lleve a cabo la lisis de los eritrocitos. Consulte la ficha técnica VersaLyse (Ref. A09777) y siga preferiblemente el procedimiento denominado «with conconmitant fixation» (con fijación concomitante), que consiste en añadir 1 mL de la mezcla «Fijar y lisar» preparada extemporáneamente. Agite inmediatamente con vórtex durante un segundo e incube durante 10 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Elimine el sobrenadante mediante aspiración.
7. Vuelva a suspender el sedimento celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita el paso 5.
9. Retire el sobrenadante mediante aspiración y vuelva a suspender el sedimento celular con:

- 0,5 mL o 1 mL de PBS más el 0,1 % de formaldehído si las preparaciones deben conservarse menos de 24 horas. (Se puede obtener un 0,1 % de PBS de formaldehído mediante la dilución de 12,5 µL de la solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800) a su concentración de 10x en 1 mL de PBS).
- 0,5 mL o 1 mL de PBS sin formaldehído si las preparaciones deben analizarse en un plazo de 2 horas.

Nota: En todos los casos, mantenga las preparaciones protegidas de la luz entre 2 y 8 °C.

VALORES ESPERADOS

Se trataron en nuestros laboratorios las muestras de sangre total de 25 donantes aparentemente sanos utilizando el reactivo descrito. Los resultados obtenidos del recuento de eventos de interés positivos con este reactivo se proporcionan en la siguiente tabla:

Objetivo positivo	Cantidad	Media (%)	DE	CV (%)
Monocitos	25	98,49	1,00	1,02
Granulocitos	25	99,98	0,02	0,02

Estos valores tienen carácter meramente ilustrativo. Cada laboratorio deberá establecer sus valores esperados según la población local de donantes normales.

RENDIMIENTO

Los datos de rendimiento se obtuvieron utilizando el procedimiento descrito anteriormente en muestras de sangre con menos de 24 horas desde su extracción en tubos estériles con sal de EDTA como anticoagulante. El análisis se realizó en el plazo de 2 horas desde su inmunotinción.

ESPECIFICIDAD

El antígeno CD15 (Lewis x / Lex) es la molécula lacto-N-(neo) fucopentosa III. Este epítopo de carbohidrato se transporta por glicolípidos y glicoproteínas expresados en la membrana celular. El antígeno CD15 se expresa marcadamente por neutrófilos, eosinófilos, monocitos y células precursoras mieloides normales. El CD15 se expresa en eritrocitos, plaquetas o linfocitos. El anticuerpo 80H5 reconoce un epítopo de diferenciación mieloide temprana que se encuentra en metamielocitos, mielocitos, promielocitos y macrófagos activados. También reacciona con los granulocitos. El anticuerpo monoclonal 80H5 se ha asignado a la agrupación de diferenciación del CD15 durante el quinto Taller Internacional de Antígenos de Diferenciación de Leucocitos Humanos celebrado en Boston, EE. UU. en 1993 (10, 11).

PRECISIÓN

Los valores porcentuales positivos se determinaron utilizando sangre total. Cada muestra se procesó 4 veces, dos veces al día durante 1 día en 2 instrumentos utilizando 2 lotes de reactivos de anticuerpo monoclonal CD15-FITC. Las mediciones (% de positivos) se realizaron en un citómetro de flujo Navios. El análisis se realizó según el método EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluación del rendimiento de la precisión de los métodos de medición cuantitativos).

Nuestro criterio de aceptación depende del número de eventos positivos determinado en cada población:

- Si el número de eventos positivos es < 1500, CV < 15 %
- Si el número de eventos positivos es > 1500, CV < 10 %

Monocitos							
Número de eventos positivos (media) = 1056							
	Entre operadores	Entre citómetros	Intralote	Entre lotes	Entre análisis	Intraanálisis	Total
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocitos							
Número de eventos positivos (media) = 8446							
	Entre operadores	Entre citómetros	Intralote	Entre lotes	Entre análisis	Intraanálisis	Total
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUD

La exactitud de CD15-FITC se evaluó comparando los resultados con un reactivo de referencia como valor previsto en un conjunto de muestras de sangre total procesadas en un citómetro de flujo Navios. El sesgo entre la muestra problema y el reactivo de referencia se determinó en función de la diferencia entre los resultados de la prueba. Si el sesgo está dentro del rango de error permitido o el valor p indica una diferencia no significativa (> 0,05), entonces los resultados de la prueba de los dos reactivos se consideran equivalentes.

Los resultados obtenidos se resumen en la tabla que se muestra a continuación:

Número de donantes = 25				
Objetivo positivo	Δ medio	Criterios de Δ % de células	Valor p	RESULTADOS
Monocitos	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulocitos	0,00	<5	6,149E-01	PASS

LÍMITE DE BLANCO Y LÍMITE DE DETECCIÓN

Se realizó un estudio conforme a la norma EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluación de la capacidad de detección para procedimientos de medición en laboratorios clínicos). El límite de detección (LD) es la concentración de analito más baja que se puede detectar sistemáticamente. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla siguiente:

Positive Target	Límite de Blanco (células/µL)	Límite de Detección (células/µL)
Monocitos	1	3
Granulocitos	1	3

LIMITACIONES

1. La citometría de flujo puede producir resultados falsos si el citómetro no se ha alineado a la perfección, si las fugas de fluorescencia no se han compensado correctamente y si las regiones no se han colocado con atención.
2. Es preferible utilizar una técnica de lisis de ERIT con un paso de lavado, ya que este reactivo no se ha optimizado para técnicas de lisis «sin lavado».

3. Se obtendrán resultados exactos y reproducibles siempre que los procedimientos utilizados sean conformes al folleto técnico y compatibles con las prácticas correctas de laboratorio.
4. El anticuerpo conjugado de este reactivo se calibra para ofrecer la mejor relación de señal específica/señal no específica. Por lo tanto, es importante cumplir la relación de volumen del reactivo/volumen de la muestra en cada prueba.
5. En caso de hiperleucocitosis, diluya la sangre en PBS para obtener un valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucocitos/L (12).
6. En algunos estados de la enfermedad, como el fallo renal grave o las hemoglobinopatías, la lisis de los eritrocitos puede ser lenta, incompleta o incluso imposible. En este caso, se recomienda aislar las células mononucleares por gradiente de densidad (por ejemplo, Ficoll) antes de la tinción (13).
7. Se sabe que los anticuerpos monoclonales del isotipo IgM para el antígeno Lewis x 80H5 (CD15) inducen la agregación de células de origen mielomonocítico (14). Dichos agregados pueden excluirse de los canales de interés e inducir estimaciones inexactas de células positivas al CD15.
8. En pacientes tratados con terapias con anticuerpos monoclonales anti-humanos, la detección de los antígenos diana específicos puede estar disminuida o ausente debido al bloqueo parcial o completo por el anticuerpo terapéutico.
9. Los resultados de CD15-FITC deben interpretarse a la luz del cuadro clínico total del paciente, incluidos: síntomas, historial clínico, datos de pruebas adicionales y demás información pertinente.

Consulte el anexo para ver ejemplos y referencias.

MARCAS COMERCIALES

Beckman Coulter, el logotipo estilizado y las marcas de productos y servicios de Beckman Coulter aquí mencionadas son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de Beckman Coulter, Inc. en Estados Unidos y otros países.

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para pacientes/usuarios/terceros de la Unión Europea y países con el mismo régimen normativo (Reglamento 2017/746/UE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro); si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produjese un incidente grave, informe al fabricante y/o a su representante autorizado y a la autoridad nacional.

El Summary of Safety and Performance (Resumen de seguridad y rendimiento) está disponible en la base de datos EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIAL DE REVISIONES

REVISIÓN AC:	Fecha de publicación: Septiembre de 2019

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AW	Febrero de 2022
Actualizaciones para cumplir con la política de etiquetado global de Beckman Coulter y conforme a los requisitos del Reglamento (UE)2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro:	
Se han añadido secciones	Número BSI 2797, Usuario previsto, Rendimiento clínico, Concentración, Precisión, Exactitud, Límite de blanco y límite de detección, Información adicional, Historial de revisiones.
Información añadida	Véase la sección Limitaciones
Actualizaciones de redacción y tipográficas	Véanse las secciones Procedimiento, Rendimiento, Limitaciones, Advertencias y precauciones, Conservación y Estabilidad.
Se han eliminado secciones	Ejemplo de aplicaciones clínicas, Reactivos, Reproducibilidad intralaboratorio, Linealidad
Se han actualizado las secciones	Uso previsto, Clasificación de material peligroso según el SGA, Signos de deterioro, Procedimiento, Anexo.

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AX	Abril 2023
Se han actualizado las secciones	Añadir kazajo
Se han actualizado las secciones	Conservación y Estabilidad

Versión revisada	AY
Fecha de revisión	Mayo 2024
Traducciones actualizadas	**Relevancia clínica:**
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Versión revisada	AZ
Fecha de revisión	Julio 2024
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Lista de símbolos

El glosario de símbolos está disponible en beckman.com/techdocs (número de documento B60062)

	Especificações
Especificidade	CD15
Clone	80H5
Hibridoma	MOPC 315-43 x balb/c
Imunogénio	Human granulocytes
Imunoglobulina	IgM
Espécie	Rato
Purificação	Cromatografia de filtração em gel
Fluorocromo	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Razão molar	FITC/Ig: 12-14
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	525 nm
Tampão	PBS com pH 7,2 mais 2 mg/mL de ASB e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20 µL/teste

Para fins de diagnóstico *in vitro.*

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Este anticorpo conjugado com fluorocromos permite a identificação qualitativa e não automatizada de populações de células que expressam o antigénio CD15 presente em amostras biológicas humanas utilizando citometria de fluxo (consulte a secção «Amostras» abaixo).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade de os anticorpos monoclonais específicos se ligarem aos determinantes antigénicos expressados por leucócitos.

A coloração específica dos leucócitos é realizada incubando a amostra com o reagente IOTest. Em seguida, os glóbulos vermelhos são removidos por lise e os leucócitos, que não são afetados por este processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citómetro de fluxo mede a difusão de luz e a fluorescência das células. Permite delimitar a população de interesse dentro da janela eletrónica definida num histograma que correlaciona a difusão ortogonal de luz (dispersão lateral ou DL) e a difusão de luz em ângulos estreitos (dispersão frontal ou DF). É possível utilizar outros histogramas que combinam dois dos vários parâmetros disponíveis no citómetro como suporte na fase de delimitação, consoante a aplicação escolhida pelo utilizador.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são apresentados como uma percentagem de eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos por meio da delimitação.

UTILIZADOR PREVISTO

Este produto destina-se a ser utilizado por profissionais de laboratório.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD15-FITC é um anticorpo de CD15 utilizado para identificar e caracterizar células que expressam o antigénio CD15 por citometria de fluxo. Este produto, por si só, não pode e não se destina a gerar qualquer conclusão de diagnóstico.

Quando utilizado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser utilizado numa ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com alterações hematológicas, suspeitos de padecerem de doença hematológica, e para monitorizar pacientes com doença hematológica conhecida.
- Para monitorizar os resultados ou o processo de transplante.
- Para auxiliar no prognóstico de pacientes com neoplasia hematopoiética.

Consulte as seguintes referências:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o Certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AMOSTRAS

O sangue venoso deve ser recolhido utilizando tubos estéreis que contenham um sal de AEDT como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas à temperatura ambiente (18–25 °C) e não devem ser agitadas. As amostras devem ser homogeneizadas, agitando-as levemente, antes de a amostra de teste ser retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a punção venosa.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não utilize o reagente depois da data de validade.
2. Não congele.
3. Aguarde que fique à temperatura ambiente (18–25 °C) antes da utilização.
4. Evite a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, caso contrário, poderão ocorrer falsos resultados.

6. As soluções de anticorpos que contêm azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não ingira e evite qualquer contacto com a pele, as mucosas e os olhos.

   Adicionalmente, num meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazóico potencialmente perigoso. Se a sua eliminação for necessária, é recomendável que o reagente seja diluído num grande volume de água antes de ser vertido no sistema de drenagem, para evitar a acumulação de azida sódica em tubos metálicos e prevenir o risco de explosão.
7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas potencialmente infeciosas e manuseadas com cuidado (em especial, devem ser usados óculos, batas e luvas de proteção).
8. Nunca pipete com a boca e evite qualquer contacto das amostras com a pele, as mucosas e os olhos.
9. Os tubos de sangue e os materiais descartáveis utilizados para manuseamento devem ser eliminados em recipientes específicos destinados a incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Ficha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido a uma temperatura entre 2 e 8 °C e protegido da luz, antes e após a abertura do frasco.

Vida útil em frasco fechado para estudo de estabilidade: 639 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente permanece estável durante 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DEGRADAÇÃO

Uma alteração no aspeto físico dos reagentes poderá indicar deterioração, pelo que o reagente não deve ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, contacte a assistência ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou contacte o seu representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em sistemas de canalizações metálicas. Consulte o boletim do NIOSH: Explosive Azide Hazards (Perigos de explosão da azida) (16-8-76).
Para evitar a possível acumulação de compostos de azida, enxague as condutas de resíduos com água após a eliminação do reagente não diluído. A eliminação de azida sódica deve ser efetuada de acordo com os regulamentos locais adequados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostras e materiais necessários para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 20, 100 e 500 µL.
- Tubos de plástico para hemólise.
- Reagente de lise de glóbulos vermelhos com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Tampão (PBS: 0,01 M de fosfato de sódio; 0,145 M de cloreto de sódio; pH 7,2).
- Centrifugue.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM REAGENTE VERSALYSE

1. Adicione o volume adequado de 20 µL de anticorpo conjugado com IOTest específico a cada tubo de teste.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos à temperatura ambiente (18–25 °C), protegido da luz.
4. Em seguida, realize a lise dos glóbulos vermelhos. Consulte o folheto VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento denominado «with concomitant fixation» (com fixação concomitante) que consiste em adicionar 1 mL da mistura de «Fixação e lise» preparada extemporaneamente. Agite imediatamente em vórtex durante um segundo e incube durante 10 minutos à temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g à temperatura ambiente.
6. Remova o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular com 3 mL de PBS.
8. Repita o passo 5.
9. Remova o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular com o seguinte:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído se as preparações se destinarem a ser mantidas por menos de 24 horas. (É possível obter PBS com 0,1% de formaldeído diluindo 12,5 µL de solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na respetiva concentração de 10X em 1 mL de SSTF).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído se as preparações se destinarem a ser analisadas no prazo de 2 horas.

Nota: Mantenha sempre as preparações entre 2 e 8 °C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Nos nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 dadores aparentemente saudáveis foram tratadas utilizando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos de interesse positivos com este reagente são fornecidos na tabela abaixo:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP	CV (%)
Monócitos	25	98,49	1,00	1,02
Granulócitos	25	99,98	0,02	0,02

Estes valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores esperados a partir da população local de dadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos utilizando o procedimento descrito acima em amostras de sangue colhidas há menos de 24 horas em tubos de amostra estéreis com sal de AEDT como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

O antigénio CD15 (Lewis x/Lex) é a molécula lacto-N-(neo) fucopentaose III. Este epítope de hidrato de carbono é transportado pelos glicolípidos e glicoproteínas transmitidos na membrana da célula. O antigénio CD15 é transmitido fortemente pelos neutrófilos, eosinófilos, monócitos e células precursoras mielóides normais. Ele não é transmitido nos eritrócitos, plaquetas nem linfócitos normais. O anticorpo 80H5 reconhece uma epítope de diferenciação mielóide precoce que é encontrada nos metamielócitos, mielócitos, promielócitos e macrófagos activados. Ele também reage com granulócitos. O anticorpo monoclonal 80H5 foi atribuído ao cluster CD15 de diferenciação durante o quinto workshop internacional sob o tema Human Leucocyte Differentiation Antigens em Boston, RU (1993) (10, 11).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados utilizando sangue total. Cada amostra foi executada 4 vezes, duas vezes por dia para 1 dia em 2 instrumentos, utilizando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD15-FITC. As medições (% de positivos) foram realizadas no citómetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação do desempenho de precisão dos métodos de medição quantitativos).

Os nossos critérios de aceitação estão dependentes do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Em caso de eventos positivos <1500, CV <15%
- Em caso de eventos positivos >1500, CV <10%

Monócitos							
Número de eventos positivos (média) = 1056							
	Interoperador	Intercitómetro	Intralote	Interlote	Interprocessamento	Intraprocessamento	Total
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulócitos							
Número de eventos positivos (média) = 8446							
	Interoperador	Intercitómetro	Intralote	Interlote	Interprocessamento	Intraprocessamento	Total
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD15-FITC foi avaliada através da comparação dos resultados com um reagente de referência como equivalente, num conjunto de amostras de sangue total executadas num citómetro de fluxo Navios. A tendência entre o teste e o reagente de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados do teste. Se a tendência se encontrar dentro do intervalo de erro permitido ou o valor p não indicar uma diferença significativa (>0,05), os resultados do teste de ambos os reagentes são considerados equivalentes.

Os resultados obtidos encontram-se resumidos na tabela abaixo:

Número de dadores = 25				
Alvo positivo	Δ médio	Critérios celulares de % Δ	Valor p	RESULTADOS
Monócitos	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulócitos	0,00	<5	6,149E-01	PASS

LIMITE DO BRANCO E LIMITE DE DETEÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com o CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de deteção para procedimentos de medição em laboratórios clínicos). O Limite de deteção (LD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detetada consistentemente. Os resultados obtidos são resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite do branco (célula/µL)	Limite de deteção (célula/µL)
Monócitos	1	3
Granulócitos	1	3

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo poderá produzir falsos resultados se o citómetro não tiver sido perfeitamente alinhado, se as fugas de fluorescência não tiverem sido compensadas corretamente e se as regiões não tiverem sido cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível utilizar uma técnica de lise de RBC com um passo de lavagem, uma vez que este reagente não foi otimizado para técnicas de lise «sem lavagem».

3. Serão obtidos resultados exatos e reprodutíveis desde que os procedimentos utilizados estejam de acordo com o folheto técnico e cumpram as boas práticas laboratoriais.
4. O anticorpo conjugado deste reagente é calibrado para proporcionar a melhor relação entre sinal específico/sinal não específico. Por conseguinte, é importante respeitar a relação entre volume do reagente/volume da amostra em todos os testes.
5. No caso de uma hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (12).
6. Em determinados estados de doença, como insuficiência renal grave ou hemoglobinopatias, a lise de glóbulos vermelhos poderá ser lenta, incompleta ou até impossível. Neste caso, recomenda-se isolar células mononucleadas utilizando um gradiente de densidade (por exemplo, Ficoll) antes da coloração (13).
7. Os anticorpos monoclonais, do isotipo IgM, para o antigénio Lewis x, como o 80H5 (CD15), são conhecidos por induzirem a agregação de células de origem mielomonocítica (14). Tais agregados poderão ser excluídos das delimitações de interesse e induzir estimativas incorretas de células positivas ao CD15.
8. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a deteção dos antigénios específicos visados pode ser reduzida ou inexistente devido ao bloqueio parcial ou total causado pelo anticorpo terapêutico.
9. Os resultados de CD15-FITC devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, historial clínico, dados de testes adicionais e outras informações relevantes.

Consulte o Anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logótipo estilizado e as marcas de produtos e serviços da Beckman Coulter mencionadas neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e noutros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/utilizador/terceiro na União Europeia e em países com um regime regulamentar idêntico (Regulamento 2017/746/UE relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico in vitro): se, durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, ocorrer um incidente grave, comunique-o ao fabricante e/ou ao respetivo representante autorizado e à autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível a partir da base de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÕES

REVISÃO AC:	Data de lançamento: Setembro de 2019

REVISÃO	**Data de lançamento**
AW	Fevereiro de 2022
Atualizações no sentido de cumprir a política de rotulagem da Beckman Coulter Global e os requisitos do regulamento IVD-R (UE)2017/746:	
Secções adicionadas	Número BSI 2797, Utilizador previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite do branco e limite de deteção, Informações adicionais, Histórico de revisões.
Informações adicionadas	Consulte as secções Limitações
Atualizações à fraseologia ou tipografia	Consulte as secções Procedimento, Realização, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Secções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Secções atualizadas	Utilização prevista, Classificação de perigo GHS, Indícios de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de lançamento**
AX	Abril 2023
Secções atualizadas	Adicionar cazaque
Secções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revista	AY
Data de revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Versão revista	AZ
Data de revisão	Julho 2024
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (número do documento B60062)

	Specifikationer
Specificitet	CD15
Klon	80H5
Hybridom	MOPC 315-43 x balb/c
Immunogen	Human granulocytes
Immunoglobulin	IgM
Arter	Mus
Oprensning	Gelfiltreringskromatografi
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molarforhold	FITC/Ig: 12-14
λ-magnetisering	488 nm
Emissionsspids	525 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA og 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugeret antistof CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Til *in vitro* diagnostisk brug.

TILSIGTET BRUG

Dette fluorokromkonjugerede antistof muliggør, ved hjælp af flowcytometri, kvalitativ og ikke-automatiseret identifikation af cellepopulationer, der udtrykker CD15-antigenet, som findes i humane biologiske prøver (se afsnittet ”Prøver” forneden).

PRINCIP

Denne test er baseret på specifikke monoklonale antistoffers evne til at binde sig til de antigene determinanter, der udtrykkes af leukocytter.

Den specifikke farvning af leukocytterne udføres ved inkubation af prøven med IOTest-reagenset. Erytrocytterne fjernes derefter med lysering, og leukocytterne, som ikke påvirkes af denne proces, analyseres ved flowcytometri.

Flowcytometeret måler lysets diffusion og cellernes fluorescens. Dette gør det muligt at afgrænse interessepopulationen inden for det elektroniske vindue, der defineres på et histogram, som korrelerer den ortogonale diffusion af lys (Side Scatter (sidespredning) eller SS) og diffusionen af lys med en snæver vinkel (Forward Scatter (forlæns spredning) eller FS). Andre histogrammer, der kombinerer to af de forskellige parametre, der er til rådighed på cytometret, kan benyttes som støtte under gating-trinnet, afhængig af den af brugeren valgte applikation.

De afgrænsede cellers fluorescens analyseres med henblik på at kunne skelne de positive farvningshændelser fra de ufarvede. Resultaterne udtrykkes som en procentdel af positive hændelser i relation til alle de hændelser, som erhverves ved gatingen.

TILSIGTET BRUGER

Dette produkt er beregnet til professionel brug i laboratoriet.

KLINISK RELEVANS

CD15-FITC er et CD15-antistof, der anvendes til at identificere og karakterisere celler, der udtrykker CD15-antigenet ved flowcytometri. Dette produkt, anvendt alene, kan ikke og er ikke beregnet til at generere nogen diagnostisk konklusion.

Anvendt i kombination med andre markører kan dette produkt benyttes i en eller flere af følgende funktioner:

- Til hjælp ved differentialdiagnosticering af hæmatologisk unormale patienter ved formodning om en hæmatologisk lidelse, samt til monitorering af patienter med kendt hæmatologisk sygdom.
- Til overvågning af transplantationsprocessen eller -resultater.
- Til hjælp ved prognosticering af patienter med hæmatologisk neoplasi.

Se følgende referencer:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analysecertifikat på www.beckman.com.

PRØVER

Prøver af venøst blod skal udtages i sterile prøverør, der indeholder et EDTA-salt som antikoagulant.

Prøverne skal opbevares ved stuetemperatur (18-25 °C) og må ikke rystes. Prøverne skal homogeniseres ved forsigtig omrysten før udtagning af analyseprøven.

Prøverne skal behandles inden for 24 timer efter venepunktur.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Brug ikke reagenset efter udløbsdatoen.
2. Må ikke nedfryses.
3. Bring det til stuetemperatur (18-25 °C) før brug.
4. Minimér eksponering for lys.
5. Undgå mikrobiel kontaminering reagenserne, idet det kan føre til fejlagtige resultater.

6. Antistofopløsninger, der indeholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsigtighed. Må ikke indtages, og undgå enhver kontakt med hud, slimhinder og øjne.

   I syremedier kan natriumazid desuden danne den potentielt farlige hydrogenazid. Hvis det skal bortskaffes, anbefales det, at reagenset fortyndes i en stor mængde vand, inden det hældes i kloakken, for at undgå ophobning af natriumazid i metalrør og dermed forebygge risikoen for eksplosioner.
7. Alle blodprøver skal anses som potentielt smittefarlige og skal behandles forsigtigt (husk især at bruge beskyttelseshandsker, forklæde og beskyttelsesbriller).
8. Sug aldrig med munden, og undgå at prøverne kommer i kontakt med hud, slimhinde og øjne.
9. Blodprøvetagningsrør og engangsmateriale, der bruges i forbindelse med håndteringen, skal bortskaffes i ad hoc-beholdere, der er beregnet til bortskaffelse.
10. Reagenser og affald skal bortskaffes i henhold til gældende lokale krav.

GHS FAREKLASSIFIKATION

Ikke klassificeret som farlig

SDS Sikkerhedsdatablad er tilgængelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Dette reagens skal opbevares ved mellem 2 og 8 °C og beskyttes mod lys før og efter, at hætteglasset er åbnet.

Stabilitet i lukket hætteglas: 639 dage.

Stabilitet i åbent hætteglas: Reagenset er stabilt i 180 dage.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Ændringer i den måde, reagenset ser ud på, kan være tegn på forringelse, og reagenset må ikke anvendes.

Ring til Beckman Coulters kundeservice på 800-742-2345 (USA eller Canada), eller kontakt den lokale Beckman Coulter-repræsentant for at få flere oplysninger, eller hvis du modtager et beskadiget produkt.

INDHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive forbindelser i drænledninger af metal. Se NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (Fare for eksplosiv azid). For at undgå en eventuel akkumulering af azidforbindelser, skylles afløbsrør med vand efter bortskaffelse af ufortyndet reagens. Natriumazid skal bortskaffes i overensstemmelse med relevante lokale forskrifter.

PÅKRÆVEDE MATERIALER, SOM IKKE LEVERES MED SÆT:

- Prøvetagningsrør og materiale, der er påkrævet til prøvetagning.
- Automatiske pipetter med engangsspidser til 20, 100 og 500 µL.
- Plasthæmolyserør.
- Reagens til lysering af erytrocytter med vaskefase efter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens til leukocytfiksering. For eksempel: IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumphosphat; 0,145 M natriumchlorid; pH 7,2).
- Centrifuge
- Automatisk omrører (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MED VERSALYSE-REAGENS

1. Tilsæt det relevante volumen 20 µL af specifikt IOTest-konjugeret ansistof i hvert testrør.
2. Tilføj 100 µL af prøven til hvert prøverør. Vortex rørene forsigtigt.
3. Inkubér i 15 til 20 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C), beskyttet mod lys.
4. Udfør derefter analyse af de røde celler. Se brochure fra VersaLyse (ref. A09777) og følg den foretrukne procedure kaldet “med sideløbende fiksering”, som består i at tilsætte 1 mL af blandingen “Fix-and-Lyse”, der fremstilles samtidig. Vortex øjeblikkeligt i et sekund, og inkubér i 10 minutter ved stuetemperatur, beskyttet imod lys.
5. Centrifugér i 5 minutter ved 150 x g ved stuetemperatur.
6. Fjern supernatanten via aspiration.
7. Resuspender cellepelleten med 3 mL PBS.
8. Gentag trin 5.
9. Fjern supernatanten vha. aspiration, og resuspender cellepelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyd, hvis præparaterne skal opbevares mindre end 24 timer. (En formaldehyd-PBS på 0,1% kan opnås ved fortynding af 12,5 µL af IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800) ved dets 10X koncentration i 1 mL af PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uden formaldehyd, hvis præparaterne skal analyseres inden for 2 timer.

Bemærk: Præparaterne skal under alle omstændigheder beskyttes mod lys og opbevares ved 2-8 °C.

FORVENTEDE VÆRDIER

I vores laboratorier blev fuldblodsprøver, fra 25 umiddelbart raske donorer, behandlet med det ovenfor beskrevne reagens. De opnåede resultater for optælling af relevante positive hændelser med dette reagens er angivet i nedenstående tabel:

Positivt mål	Antal	Middelværdi (%)	SD	CV (%)
Monocytter	25	98,49	1,00	1,02
Granulocytter	25	99,98	0,02	0,02

Disse værdier er beregnet til kun at være repræsentative. Hvert laboratorium bør fastlægge deres egne forventede værdier fra den lokale population af raske donorer.

YDEEVNE

Præstationsdata opnås, når proceduren beskrevet foroven, anvendes på mindre end 24 timer gamle blodprøver, tidligere indsamlet i sterile prøverør med EDTA-salt som antikoagulant. Analyse skal foretages senest 2 timer efter immunfarvning.

SPECIFICITET

CD15-antigenet (Lewis x / Lex) er lacto-N-(neo) fucopentaose III-molekylet. Denne kulhydratepitop bæres af både glykolipider og glykoproteiner, der udtrykkes på cellemembran. CD15-antigenet udtrykkes kraftigt af neutrofiler, eosinofiler, monocytter og normale myeloide precursorceller. Det udtrykkes ikke på normale erythrocytter, blodplader eller lymfocytter. 80H5-antistof genkender en tidlig myeloid differentieringsepitop, som findes på metamyelocytter, myelocytter, promyelocytter og aktiverede makrofager. Det reagerer også med granulocytter. Det 80H5-monoklonale antistof blev bundet til CD15-differentieringsklyngen under det 5. International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (internationale seminar om differentieringsantigener på humane leukocytter) i Boston, USA, i 1993 (10, 11).

PRÆCISION

De procentvise positive værdier blev bestemt ved anvendelse af fuldblod. Hver prøve blev kørt 4 gange, to gange dagligt i 1 dag, på 2 instrumenter med CD15-FITC monoklonale antistofreagenser fra 2 lots. Målingerne (% positiv) blev foretaget på Navios-flowcytometer. Analysen blev udført i henhold til CLSI-protokollen EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering af kvantitative målemetoders præcisionsevne).

Vores acceptkriterier afhænger af antallet af positive hændelser målt for hver population:

- Hvis positiv hændelse < 1500, CV < 15%
- Hvis positiv hændelse > 1500, CV < 10%

Monocytter							
Antal positive hændelser (middelværdi) = 1056							
	Inter-operatør	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-kørsel	Intra-kørsel	I alt
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocytter							
Antal positive hændelser (middelværdi) = 8446							
	Inter-operatør	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-kørsel	Intra-kørsel	I alt
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØJAGTIGHED

Nøjagtigheden af CD15-FITC blev vurderet ved sammenligning af resultaterne med et referencereagens som prædikat på et sæt fuldblodsprøver, kørt på et Navios-flowcytometer. Bias mellem test- og referencereagens blev bestemt på basis af forskellen mellem testresultaterne. Hvis bias er inden for det tilladte fejlområde, eller hvis p-værdien ikke indikerer nogen signifikant forskel (> 0,05), anses testresultaterne for de to reagenser for at være ækvivalente.

De opnåede resultater opsummeres i nedenstående tabel:

Antal donorer = 25				
Positivt mål	Middelværdi Δ	Δ % cellekriterie	p-værdi	RESULTATER
Monocytter	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulocytter	0,00	<5	6,149E-01	PASS

GRÆNSE FOR BLANK OG DETEKTIONSGRÆNSE

En undersøgelse blev gennemført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering af detektionsevne for kliniske laboratoriemåleprocedurer). Detektionsgrænsen (LOD) er den laveste koncentration af analyt, der kan detekteres konsekvent. De opnåede resultater er opsummeret i nedenstående tabel:

Positive Target	Grænse for blank (celle/µL)	Detektionsgrænse (celle/µL)
Monocytter	1	3
Granulocytter	1	3

BEGRÆNSNINGER

1. Flowcytometri kan give forkerte resultater, hvis cytometeret ikke er perfekt justeret, hvis der ikke er blevet kompenseret korrekt for fluorescenslækager, eller hvis områderne ikke er blevet placeret omhyggeligt.
2. Det anbefales at anvende en RBC-lyseringsteknik med et vasketrin, da dette reagens ikke er blevet optimeret til ”no wash”-lyseringsteknikker.
3. Der genereres nøjagtige og reproducerbare resultater, så længe de anvendte procedurer er i overensstemmelse med de tekniske anvisninger på indlæsgssedlen og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerede antistof for dette reagens kalibreres for at kunne tilbyde det bedste specifikke forhold mellem signal/ikke-specifikt signal. Det er derfor vigtigt at overholde forholdet mellem reagensvolumen og prøvevolumen i hver enkelt test.
5. I tilfælde af en hyperleukocytose skal blodet fortyndes i PBS for at opnå en værdi på ca. 5×10^9 leukocytter/L (12).

6. I visse sygdomstilstande, f.eks. alvorligt nyresvigt eller hæmoglobinopatier, kan lysering af røde celler være langsom, ufuldstændig eller endog umulig. I dette tilfælde anbefales det at isolere enkernede celler ved hjælp af en densitetsgradient (f.eks. Ficoll) forud for farvningen (13).
7. Monoklonale antistoffer af IgM-isotypen til Lewis x antigenlignende 80H5 (CD15) er kendt for at fremkalde aggregering af celler af myelomonocytisk oprindelse (14). Sådanne aggregater kan blive udelukket af de pågældende gates og give unøjagtige vurderinger af CD15-positive celler.
8. Hos patienter behandlet med anti-humane monoklonale antistofterapier, kan påvisning af de respektive specifikke antigener være formindsket eller fraværende, på grund af delvis eller fuldstændig blokering af det terapeutiske antistof.
9. CD15-FITC-resultaterne bør fortolkes i lyset af patientens samlede kliniske præsentation, herunder symptomer, sygehistorie, data fra andre tests samt anden relevant information.

Se Tillæg for eksempler og referencer.

VAREMÆRKER

Beckman Coulter, det stiliserede logo og de Beckman Coulter produkt- og servicemærker, der er omtalt heri, er varemærker eller registrerede varemærker tilhørende Beckman Coulter, Inc. i USA og andre lande.

YDERLIGERE OPLYSNINGER

For en patient/bruger/tredjepart i Den Europæiske Union og i lande med identisk lovgivningsmæssig reguleringsordning (forordning 2017/746/EU om medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik); hvis der er sket en alvorlig hændelse under brugen af dette apparat eller som et resultat af dens anvendelse, skal du rapportere den til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og til din nationale myndighed.

Summary of Safety and Performance (Sammenfatning af Sikkerhed og Ydeevne) er tilgængeligt fra EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVISION AC:	Frigivelsesdato: september 2019

REVISION	**Udgivelsesdato**
AW	Februar 2022
Opdateringer for at sikre overholdelse af Beckman Coulters globale mærkningspolitik og overensstemmelse med IVD-R (EU)2017/746:	
Tilføjede afsnit	BSI 2797-nummer, Tilsigtet bruger, Klinisk relevans, Koncentration, Præcision, Nøjagtighed, Grænse for blank og detektionsgrænse, Yderligere oplysninger, Revisionshistorik.
Tilføjet information	Se afsnittet Begrænsninger
Opdatering af formulering eller typografi	Se afsnittene Procedure, Præstation, Begrænsninger, Advarsel og forholdsregler, Opbevaring og Holdbarhed.
Fjernede afsnit	Eksempel på klinisk anvendelse, Reagenser, Intra-laboratorie reproducerbarhed, Linearitet
Opdaterede afsnit	Tilsigtet brug, GHS-fareklassifikation, Tegn på forringelse, Procedure, Tillæg.

REVISION	**Udgivelsesdato**
AX	April 2023
Opdaterede afsnit	Kasakhisk er blevet tilføjet
Opdaterede afsnit	Opbevaring og holdbarhed

Revideret version	AY
Revisionsdato	Maj 2024
Opdaterede oversættelser	**Klinisk relevans:**
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Revideret version	AZ
Revisionsdato	Juli 2024
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Symbolnøgle

En ordliste over symboler findes på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Specifikationer
Specificitet	CD15
Klon	80H5
Hybridom	MOPC 315-43 x balb/c
Immunogen	Human granulocytes
Immunglobulin	IgM
Arter	Mus
Rening	Gelfiltrationskromatografi
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molförhållande	FITC/Ig: 12-14
λ excitering	488 nm
Emissionstopp	525 nm
Buffert	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA och 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugerad antikropp CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

För *in vitro* diagnostiskt bruk.

AVSEDD ANVÄNDNING

Denna fluorokromkonjugerade antikropp möjliggör kvalitativ och ej automatiserad identifiering av cellpopulationer som uttrycker CD15-antigenet som förekommer i humana biologiska prover med användning av flödescytometri (se avsnittet ”Prov” nedan).

PRINCIP

Detta test är baserat på förmågan hos specifika monoklonala antikroppar att bindas till de antigena determinanter som uttrycks av leukocyter.

Specifik färgning av leukocyterna utförs genom att inkubera provet med IOTest-reagenset. De röda cellerna avlägsnas sedan via lysering och leukocyterna, som inte påverkas av denna process, analyseras med flödescytometri.

Flödescytometern mäter ljusdiffusion och fluorescens av celler. Det möjliggör avgränsningen av populationen av intresse i det elektroniska fönstret definierat i ett histogram, som korrelerar den rätvinkliga ljusspridningen (sidospridning eller SS) och spridningen av snävt ljus (framåtspridning eller FS). Andra histogram som kombinerar två av de tillgängliga parametrarna på cytometern, kan användas som stöd i gating-skedet beroende på tillämpningen som användaren har valt.

Fluorescensen av de begränsade cellerna analyseras för att skilja ut positivt färgade händelser från ofärgade händelser. Resultaten uttrycks som en procentandel av positiva händelser i relation till alla händelser som samlats in med hjälp av gating.

AVSEDD ANVÄNDARE

Denna produkt är avsedd för yrkesmässig laboratorieanvändning.

KLINISK RELEVANS

CD15-FITC är en CD15-antikropp som används för att identifiera och egenskapsbestämma celler som uttrycker CD15-antigenen med hjälp av flödescytometri. Denna produkt kan inte och är inte avsedd för att ta fram en diagnostisk slutsats.

Vid användning i kombination med andra markörer kan denna produkt användas i en eller flera av följande funktioner:

- Som hjälp vid differentialanalys av hematologiskt onormala patienter som misstänks ha hematologisk sjukdom eller för övervakning av patienter med kända hematologiska sjukdomar.
- För att övervaka transplantationsprocess eller -resultat.
- Som hjälp vid prognostisering av patienter med blodsjukdomar.

Se följande referenser:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analyscertifikat på www.beckman.com.

PROV

Venblod måste tas i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant.

Proverna bör förvaras i rumstemperatur (18–25 °C) och inte skakas. Prover bör vara homogeniserade genom försiktig omrörning innan provet tas.

Proverna måste analyseras inom 24 timmar efter venpunktur.

VARNING OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Använd inte reagenset efter utgångsdatumet.
2. Får ej frysas.
3. Låt den komma till rumstemperatur (18–25 °C) före användning.
4. Minimera exponering för ljus.
5. Undvik mikrobiell kontaminering av reagens. Det kan leda till felaktiga resultat.

6. Antikroppslösningar som innehåller natriumazid (NaN_3) bör hanteras med försiktighet. Inta inte internt och undvik all kontakt med hud, slemhinnor och ögon.

   I syramedium kan natriumazid dessutom bilda potentiellt farlig hydrazinsyra. Om reagensen måste kasseras rekommenderar vi att den späds ut med en stor volym vatten innan den hälls ut i avloppssystemet för att undvika explosionsrisk och att natriumazid ackumuleras i metallrören.
7. Alla blodprover måste betraktas som potentiellt smittsamma och ska hanteras med försiktighet (i synnerhet vad gäller användande av skyddshandskar, rockar och skyddsglasögon).
8. Pipettera aldrig med munnen och se till att proverna inte kommer i kontakt med hud, slemhinnor och ögon.
9. Blodprovsrör och engångsmaterial som används för hantering ska kasseras i särskilda behållare avsedda för förbränning.
10. Reagens och avfall ska kasseras i enlighet med lokala krav.

RISKKLASSIFICERING ENLIGT GHS

Ej klassat som farligt

SDS Säkerhetsdatablad finns tillgängligt på beckmancoulter.com/techdocs

FÖRVARING OCH STABILITET

Detta reagens måste hållas mellan 2 och 8 °C och skyddas mot ljus, före och efter att ampullen öppnats.

Hållbarhet för sluten ampull per stabilitetsstudie: 639 dagar.

Stabilitet i öppen ampull: reagenset är stabilt i 180 dagar.

TECKEN PÅ FÖRSÄMRING

Alla förändringar i reagensens fysiska utseende kan indikera försämring och att reagenset inte ska användas.

För mer information eller om en skadad produkt tas emot, ring Beckman Coulter kundtjänst på 800-742-2345 (USA eller Kanada) eller kontakta din lokala Beckman Coulter-representant.

INNEHÅLL

Konserveringsmedlet natriumazid kan bilda explosiva föreningar i avloppsledningar av metall. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (76-8-16) (Bulletin från den amerikanska motsvarigheten till arbetsmiljöverket: Fara för azidexplosion).
För att undvika risken för ansamling av azidföreningar ska avloppsrören spolas igenom med vatten efter att outspädda reagenser har kasserats. Kassering av natriumazid måste ske i enlighet med tillämpliga lokala regler.

MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE FÖLJER MED KITET:

- Provrör och nödvändigt material för provtagning.
- Automatiska pipetter med engångsspetsar för 20, 100 och 500 µL.
- Hemolysrör av plast.
- Lyseringsreagens för röda blodceller med tvätt efter lyseringen. Till exempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens för leukocytfixering. Till exempel: IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800).
- Buffert (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Centrifugera.
- Automatisk omrörare (Vortex-typ).
- Flödescytometer.

PROCEDUR MED VERSALYSE-REAGENS

1. Tillsätt lämplig volym 20 µL av specifikt IOTest-konjugerad antikropp till varje provrör.
2. Tillsätt 100 µL av testprovet i varje provrör. Vortexblanda provrören försiktigt.
3. Inkubera i 15 till 20 minuter vid rumstemperatur (18–25 °C) och skyddat mot ljus.
4. Utför sedan lysering av de röda blodkropparna. Se bladet VersaLyse (ref. A09777) och följ företrädesvis proceduren som benämns ”med samtidig fixering”, som består av att tillsätta 1 mL av ”Fixera-och-lysera”-blandningen som beretts strax innan. Vortexblanda omedelbart i en sekund och inkubera i 10 minuter vid rumstemperatur och skyddat mot ljus.
5. Centrifugera i 5 minuter vid 150 x g vid rumstemperatur.
6. Avlägsna ytskiktet genom aspiration.
7. Återsuspendera cellpelleten med 3 mL PBS.
8. Upprepa steg 5.
9. Avlägsna ytskiktet genom aspiration och återsuspendera cellpelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL av PBS plus 0,1 % formaldehyd om preparaten är avsedda att förvaras mindre än 24 timmar. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan erhållas genom spädning av 12,5 µL av IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800) i dess 10X-koncentration i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS utan formaldehyd, om preparaten är avsedda att analyseras inom 2 timmar.

Anmärkning: Behåll i samtliga fall beredningarna vid 2 till 8 °C och skyddade från ljus.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

I våra laboratorier behandlades helblodsprov från 25 till synes friska donatorer med den reagens som beskrivs ovan. Erhållna resultat för antalet positiva händelser av intresse med denna reagens anges i tabellen nedan:

Positivt mål	Nummer	Medelvärde (%)	SD	CV (%)
Monocyter	25	98,49	1,00	1,02
Granulocyter	25	99,98	0,02	0,02

Dessa värden är endast avsedda att vara representativa. Varje laboratorium ska fastställa sina egna förväntade värden utifrån den lokala populationen med normala donatorer.

PRESTANDA

Prestandadata erhålls med proceduren som beskrivs ovan på blodprov som är färskare än 24 timmar som tagits i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant. Analys utförs inom 2 timmar efter immunfärgning.

SPECIFICITET

CD15-antigenet (Lewis x/Lex) är lacto-N-(neo)-fucopentaos-III-molekylen. Denna kolhydratepitop bärs av både glykolipider och glykoproteiner uttryckta på cellmembranet. CD15-antigenet är starkt uttryckt av neutrofiler, eosinofiler, monocyter och normala myeloiska föregångarceller. Det uttrycks inte på normala erytrocyter, blodplättar eller lymfocyter. 80H5-antikroppen känner igen en tidig myeloid differentieringsepitop som återfinns på metamyelocyter, myelocyter, promyelocyter och aktiverade makrofager. Den reagerar också med granulocyter. 80H 5 monoklonal antikropp har tilldelats till CD15-klustret av differentieringen under den femte internationella workshopen om mänskliga leukocytbefriade differentieringsantigener som hölls i Boston, i USA, 1993 (10, 11).

PRECISION

Procentvärdet för positiva värden bestämdes med helblod. Varje prov kördes 4 gånger, två gånger om dagen under 1 dag på 2 instrument med 2 loter CD15-FITC monoklonala antikroppsreagens. Mätningar (% positiva) utfördes på Navios flödescytometer. Analys utfördes baserat på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Utvärdering av precisionsprestanda för kvantitativa mätmetoder).

Våra acceptanskriterier beror på antalet positiva händelser som uppmäts för varje population:

- Om positiv händelse < 1 500, CV < 15 %
- Om positiv händelse > 1 500, CV < 10 %

Monocyter							
Antal positiva händelse (medelvärde) = 1056							
	Mellan operatörer	Mellan cytometrar	Inom lot	Mellan loter	Mellan körningar	Inom körning	Totalt
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
RESULTAT	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocyter							
Antal positiva händelse (medelvärde) = 8446							
	Mellan operatörer	Mellan cytometrar	Inom lot	Mellan loter	Mellan körningar	Inom körning	Totalt
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
RESULTAT	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NOGGRANNHET

Noggrannheten hos CD15-FITC bedömdes genom att jämföra resultaten med en referensreagens som predikat på en uppsättning helblodsprov körda på en Navios flödescytometer. Bias mellan test- och referensreagens bestämdes baserat på skillnaden mellan testresultat. Om bias ligger inom tillåtet felintervall eller p-värdet anger att det inte finns någon signifikant skillnad (> 0,05), så anses testresultaten för de två reagenserna vara likvärdiga.

Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell nedan:

Antal donatorer = 25				
Positivt mål	Medelvärde Δ	Δ % cellkriterier	p-värde	RESULTAT
Monocyter	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulocyter	0,00	<5	6,149E-01	PASS

BLANKGRÄNS OCH DETEKTIONSGRÄNS

En studie genomfördes i enlighet med CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Utvärdering av detekteringsförmåga för kliniska laboratoriemätningsprocedurer). Detektionsgräns (LoD) är den lägsta analytkoncentrationen som konsekvent kan detekteras. Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell:

Positive Target	Blankgräns (cell/µL)	Detektionsgräns (cell/µL)
Monocyter	1	3
Granulocyter	1	3

BEGRÄNSNINGAR

1. Flödescytometri kan ge falska resultat om cytometern inte har justerats perfekt, om fluorescensläckor inte har kompenserats korrekt och om regionerna inte har placerats noggrant.
2. Det är bäst att använda en RBC-lyseringsteknik med ett tvättsteg, eftersom denna reagens inte optimerats för lyseringstekniker ”utan tvätt”.
3. Noggranna och reproducerbara resultat kommer att erhållas så länge de förfaranden som används är i enlighet med den tekniska bipacksedeln och förenliga med god laboratoriepraxis.
4. Den konjugerade antikroppen för detta reagens är kalibrerad för att erbjuda det bästa specifik signal/icke-specifik signal-förhållandet. Därför är det viktigt att följa reagensvolym/provvolym-förhållandet i varje test.
5. Vid hyperleukocytos, späd blodet i PBS för att erhålla ett värde på cirka 5 x 10^9 leukocyter/L (12).

6. Vid vissa sjukdomstillstånd, såsom vid mycket svår njursvikt eller hemoglobinopatier, kan lysering av röda celler vara långsam, ofullständig eller till och med omöjlig. I detta fall är det rekommenderat att isolera mononukleära celler med användning av en densitetsgradient (till exempel Ficoll) innan färgningen (13).
7. Monoklonala antikroppar, av IgM-isotypen, till Lewis x-antigenen som 80H5 (CD15) är kända för att inducera aggregation av celler av myelomonocytisk härkomst (14). Sådana aggregat kan exkluderas från intressanta gater och inducera felaktiga beräkningar av positiva CD15-celler.
8. Hos patienter som behandlas med anti-human monoklonala antikroppar kan detektering av de specifika eftersökta antigenerna minska eller utebli på grund av delvis eller fullständig blockering från behandlingens antikropp.
9. Resultat för CD15-FITC bör tolkas med tanke på patientens totala kliniska bild, inklusive: symptom, anamnes, information från övriga test och annan lämplig information.

Se bilagan för exempel och referenser.

VARUMÄRKEN

Beckman Coulter, den stiliserade logotypen och Beckman Coulters produkt- och tjänstmärken som nämns häri är varumärken eller registrerade varumärken som tillhör Beckman Coulter, Inc. i USA eller andra länder.

YTTERLIGARE INFORMATION

För en patient/användare/tredje part inom EU och i länder med identiskt regelsystem (förordning 2017/746/EU om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik); om, vid användning av denna enhet eller som ett resultat av dess användning, en allvarlig incident inträffat ska den rapporteras till tillverkaren och/eller till dess auktoriserade representant och till den nationella myndigheten.

Summary of Safety and Performance (Sammanfattning av säkerhet och prestanda) finns tillgänglig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVIDERING AC:	Publiceringsdatum: September 2019

REVISION	**Publiceringsdatum**
AW	Februari 2022
Uppdateringar för att uppfylla Beckman Coulter globala etiketteringspolicy och kraven i IVD-R (EU)2017/746:	
Tillagda avsnitt	BSI 2797 Nummer, Avsedd användare, Klinisk relevans, Koncentration, Precision, Noggrannhet, Blankgräns och detektionsgräns, Ytterligare information, Revisionshistorik.
Tillagd information	Se avsnittet Begränsningar
Ordval eller typografiska uppdateringar	Se avsnitten Procedur, Prestanda, Begränsningar, Varningar och försiktighetsåtgärder, Förvaring och stabilitet.
Borttagna avsnitt	Exempel på kliniska tillämpningar, Reagens, Reproducerbarhet inom laboratorium, Linearitet
Uppdaterade avsnitt	Avsedd användning, Faroklassificering enligt GHS, Tecken på försämring, Procedur, Bilaga.

REVISION	**Publiceringsdatum**
AX	April 2023
Uppdaterade avsnitt	Lägg till kazakiska
Uppdaterade avsnitt	Förvaring och hållbarhet

Reviderad version	AY
Datum för revidering	Maj 2024
Uppdaterade översättningar	**Klinisk relevans:**
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Reviderad version	AZ
Datum för revidering	Juli 2024
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Teckenförklaring för symboler

Ordlista för symboler finns på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Spesifikasjoner
Spesifisitet	CD15
Klon	80H5
Hybridom	MOPC 315-43 x balb/c
Immunogen	Human granulocytes
Immunoglobulin	IgM
Art	Mus
Rensing	Gel filtrering kromatografi
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molart forhold	FITC/Ig: 12-14
λ-eksitasjon	488 nm
Strålingstopp	525 nm
Buffer	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/mL BSA og 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugert antistoff CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

For *in vitro*-diagnose.

TILTENKT BRUK

Dette fluorokromkonjugerte antistoffet muliggjør kvalitativ og ikke-automatisert identifisering av cellepopulasjoner som uttrykker CD15-antigenet som finnes i humane biologiske prøver, ved hjelp av flowcytometri (se avsnittet «Prøver» nedenfor).

PRINSIPP

Denne testen er basert på evnen spesifikke monoklonale antistoffer har til å binde seg til antigendeterminantene uttrykt av leukocytter.

Spesifikk farging av leukocyttene utføres ved inkubering av prøven med IOTest-reagenset. De røde cellene fjernes deretter ved lysering, og leukocyttene, som er uberørt av denne prosessen, analyseres ved flowcytometri.

Flytcytometeret måler lysdiffusjon og cellenes fluorescens. Det gjør det mulig å avgrense populasjonen som skal undersøkes innenfor det elektroniske vinduet som er definert på et histogram, og som korrelerer den ortogonale lysspredningen (sidespredning eller SS) og spredningen av trangvinklet lys (foroverpredning eller FS). Andre histogrammer som kombinerer to av de ulike parametrene på cytometeret kan brukes som støtte ved gatingstadiet, avhengig av programmet som velges av brukeren.

Fluorescensen i de avgrensede cellene analyseres for å skille de positivt fargede hendelsene fra de ufargede. Resultatene er uttrykt som en prosentandel positive hendelser i forhold til alle hendelser innhentet ved gatingen.

TILTENKT BRUKER

Dette produktet skal brukes av profesjonelle brukere på laboratorier.

KLINISK RELEVANS

CD15-FITC er et CD15-antistoff som brukes til å identifisere og karakterisere celler som uttrykker CD15-antigenet, ved hjelp av flowcytometri. Dette produktet alene kan ikke og er ikke ment å generere en diagnostisk konklusjon.

Når dette produktet brukes i kombinasjon med andre markører, kan det brukes i én eller flere av følgende funksjoner:

- Bistå ved differensialdiagnostisering av hematologisk unormale pasienter med mistenkt hematologisk lidelse og følge opp pasienter med kjent hematologisk lidelse.
- Overvåke transplantasjonsprosess eller resultater.
- For å bidra ved prognostisering av pasienter med hematopoietisk neoplasi.

Se følgende referanser:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

KONSENTRASJON

Se lot-spesifikt analysesertifikat på www.beckman.com.

PRØVER

Veneblod må tas ved bruk av sterile rør som inneholder EDTA-salt som antikoagulant.

Prøvene skal oppbevares i romtemperatur (18–25 °C) og ikke ristes. Prøvene skal homogeniseres ved forsiktig risting før du tar testprøven.

Prøvene må analyseres innen 24 timer etter venepunksjon.

ADVARSEL OG FORHOLDSREGLER

1. Reagenset må ikke brukes etter utløpsdatoen.
2. Må ikke fryses.
3. La det nå romtemperatur (18–25 °C) før bruk.
4. Bør ikke utsettes for lys.
5. Unngå mikrobiell kontaminering av reagensene, ellers kan det gi feil resultater.

6. Antistoffløsninger som inneholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsiktighet. Ikke til innvortes bruk. Unngå all kontakt med hud, slimhinner og øyne.

   Videre kan natriumazid i et syremedium danne potensielt farlig hydrogenazid. Hvis reagenset må kasseres, anbefales det at det fortynnes i store mengder vann før det tømmes i avløpssystemet, slik at man unngår opphopning av natriumazid i metallrør, og for å hindre eksplosjonsfare.
7. Alle blodprøver må betraktes som potensielt smittefarlige og må håndteres med forsiktighet (gjelder spesielt: bruk av vernehansker, laboratoriefrakk og vernebriller).
8. Pipetter aldri med munnen, og unngå at prøvene kommer i kontakt med huden, slimhinnene og øynene.
9. Blodprøverør og engangsmateriale som brukes til håndtering, skal kastes i beholdere beregnet for forbrenning.
10. Reagenser og avfall skal kastes i henhold til lokale krav.

GHS-FAREKLASSIFISERING

Ikke klassifisert som farlig

SDS Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPPBEVARING OG STABILITET

Dette reagenset må oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttes mot lys før og etter at flasken er åpnet.

Holdbarhet i lukket flaske ifølge stabilitetsstudie: 639 dager.

Stabilitet for åpnet flaske: reagenset er stabilt i 180 dager.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Endringer i reagensenes fysiske utseende kan være tegn på redusert kvalitet, og slike reagenser skal ikke brukes.

For ytterligere informasjon eller hvis produktet mottas skadet, kan Beckman Coulter kundeservice 800-742-2345 (USA og Canada) eller den lokale Beckman Coulter-representanten kontaktes.

INNHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive blandinger i metalliske avløpsrør. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Fare for eksplosive azider) (16.8.76). For å unngå mulig opphopning av azidforbindelser må avløpsrør skylles med vann etter avhending av ufortynnet reagens. Avfallshåndtering av natriumazid må skje i samsvar med relevante lokale forskrifter.

NØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE FØLGER MED SETTET:

- Prøvetakingsrør og materiale nødvendig for prøvetaking.
- Automatiske pipetter med engangsspisser til 20, 100 og 500 µL.
- Hemolyserør av plast.
- Rød cellelyseringsreagens med vasketrinn etter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Leukocytt-fikseringsreagens. For eksempel: IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Sentrifuger.
- Automatisk omrører (vortekstype).
- Flytcytometer.

PROSEDYRE MED VERSALYSE-REAGENS

1. Tilsett riktig volum 20 µL spesifikt konjugert IOTest-antistoff i hvert testrør.
2. Tilsett 100 µL av testprøven i hvert rør. Vorteks rørene forsiktig.
3. Inkuber i 15 til 20 minutter ved romtemperatur (18–25 °C), beskyttet mot lys.
4. Utfør deretter lysering av de røde blodcellene. Les brosjyren VersaLyse (ref. A09777), og prøv å følge prosedyren kalt «with concomitant fixation» (med samtidig fiksering) som består av å tilsette 1 mL av «fikserings- og lyseringsblandingen» som klargjøres prompte. Bland på vorteksmikser umiddelbart i ett sekund, og inkuber i 10 minutter ved romtemperatur, beskyttet mot lys.
5. Sentrifugeres i 5 minutter ved 150 x g ved romtemperatur.
6. Fjern supernatanten ved aspirasjon.
7. Resuspender cellepelleten i 3 mL PBS.
8. Gjenta trinn 5.
9. Fjern supernatanten ved aspirasjon, og resuspender cellepelleten ved hjelp av:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS pluss 0,1 % formaldehyd hvis preparatene skal oppbevares i mindre enn 24 timer. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan oppnås ved å fortynne 12,5 µL IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800) ved 10X konsentrasjon i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uten formaldehyd hvis preparatene skal analyseres innen 2 timer.

Merk: I alle tilfeller skal preparatene oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttet mot lys.

FORVENTEDE VERDIER

I våre laboratorier ble fullblodsprøvene fra 25 tilsynelatende friske donorer behandlet med reagenset beskrevet over. Resultatene som ble oppnådd for telling av de aktuelle positive hendelsene med dette reagenset, er angitt i tabellen nedenfor:

Positivt mål	Nummer	Gjennomsnitt (%)	SD	VK (%)
Monocytter	25	98,49	1,00	1,02
Granulocytter	25	99,98	0,02	0,02

Disse verdiene er bare representative. Hvert enkelt laboratorium bør fastsette egne forventede verdier ut fra den lokale populasjon av normaldonorer.

YTELSE

Ytelsesdata er fremskaffet ved bruk av prosedyren som er beskrevet ovenfor på mindre enn 24 timer gamle blodprøver som tidligere er samlet i sterile rør med EDTA-salt som antikoagulant. Analysen utføres innen 2 timer etter immunfarging.

SPESIFISITET

Antigenet CD15 (Lewis x/Lex) er lakto-N-(neo)fucopentaose III-molekylet. Denne karbohydrat-epitopen bæres av både glykolipider og glykoproteiner som uttrykkes på cellemembranen. Antigenet CD15 uttrykes sterkt av nøytrofile, eosinofile, monocytter og alminnelige myeloide forløper-celler. Det kommer ikke til uttrykk på alminnelige erytrocytter, trombocytter eller leukocytter. Antistoffet 80H5 gjenkjenner en tidlig myeloid differensierings-epitope som finnes på metamyelocytter, myelocytter, promyelocytter og aktiverte makrofager. Det reagerer også med granulocytter. Det monoklonale antistoffet 80H5 ble koblet til differensieringsklyngen CD15 på Det 5. HLDA-arbeidsseminaret om leukocyttdifferensierings-antigener hos mennesker, som ble holdt i 1993 i Boston, USA (10, 11).

PRESISJON

Prosentandelen positive verdier ble bestemt med fullblod. Hver prøve ble kjørt 4 ganger, to ganger om dagen i 1 dag på 2 instrumenter med 2 partier CD15-FITC monoklonale antistoffreagenser. Målinger (% positiv) ble foretatt på et Navios-flytcytometer. Analysen ble utført basert på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering av presisjonsytelse ved kvantitative målemetoder).

Våre godkjenningskriterier er avhengige av antall positive hendelser som måles for hver populasjon:

- Hvis positiv hendelse < 1 500, VK < 15 %
- Hvis positiv hendelse > 1 500, VK < 10 %

Monocytter							
Antall positive hendelser (gjennomsnitt) = 1056							
	Mellom operatører	Mellom cytometere	Innenfor samme lot	Mellom loter	Mellom kjøringer	Innenfor samme kjøring	Total
VK (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocytter							
Antall positive hendelser (gjennomsnitt) = 8446							
	Mellom operatører	Mellom cytometere	Innenfor samme lot	Mellom loter	Mellom kjøringer	Innenfor samme kjøring	Total
VK (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØYAKTIGHET

Nøyaktigheten til CD15-FITC ble vurdert ved å sammenligne resultatene med et referansereagens som predikatet på et sett med fullblodsprøver kjørt på et Navios-flytcytometer. Skjevheten mellom test- og referansereagens ble bestemt basert på forskjellen mellom testresultater. Hvis skjevheten er innenfor det tillatte feilområdet eller p-verdien angir ingen vesentlig forskjell (> 0,05), anses testresultatene for de to reagensene som tilsvarende.

De oppnådde resultatene er oppsummert i den følgende tabellen:

Antall donorer = 25				
Positivt mål	Gjennomsnittlig Δ	Δ % cellekriterier	p-verdi	RESULTATER
Monocytter	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulocytter	0,00	<5	6,149E-01	PASS

GRENSE FOR BLANKPRØVE OG DETEKSJONSGRENSE

En studie ble gjennomført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering av deteksjonsevne for måleprosedyrer på kliniske laboratorier). Deteksjonsgrensen (LOD) er den laveste analyttkonsentrasjonen som kan detekteres konsekvent. Resultatene som ble oppnådd, er oppsummert i tabellen nedenfor:

Positive Target	Grense for blankprøve (celle/µL)	Deteksjonsgrense (celle/µL)
Monocytter	1	3
Granulocytter	1	3

BEGRENSNINGER

1. Flowcytometri kan gi falske resultater hvis cytometeret ikke har blitt justert nøyaktig, hvis fluorescenslekkasjer ikke er kompensert riktig, og hvis regionene ikke er nøye plassert.
2. Det er best å bruke en RBC-lyseringsteknikk med et vasketrinn, ettersom dette reagenset ikke er optimert for lyseringsteknikker uten vask.
3. Nøyaktige og reproduserbare resultater vil oppnås så lenge de anvendte prosedyrene er i samsvar med det tekniske pakningsvedlegget og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerte antistoffet til dette reagenset er kalibrert for å oppnå best mulig forhold mellom spesifikt signal og ikke-spesifikt signal. Derfor er det viktig å overholde forholdet mellom reagensvolum og prøvevolum i hver test.

5. Ved hyperleukocytose fortynnes blodet i PBS for å oppnå en verdi på omtrent 5 x 10^9 leukocytter/L (12).
6. Ved visse sykdomstilstander, for eksempel alvorlig nyresvikt eller hemoglobinopatier, kan lyseringen av røde celler være langsom, ufullstendig eller til og med umulig. I dette tilfellet anbefales det å isolere mononukleærerte celler ved hjelp av en densitetsgradient (for eksempel Ficoll) før farging (13).
7. Monoklonale antistoffer, av IgM-isotypen, mot Lewis x-antigenlike 80H5 (CD15) er kjent for å fremme aggregering av celler av myelomonocytisk opprinnelse (14). Slike aggregater kan utelukkes fra gatinger av interesse og fremkalle unøyaktige estimater av CD15-positive celler.
8. Hos pasienter som behandles med antihumane, monoklonale antistoffbehandlinger, kan deteksjon av bestemte målantigener reduseres eller være fraværende på grunn av delvis eller fullstendig blokkering av det terapeutiske antistoffet.
9. CD15-FITC-resultatene skal tolkes i lys av den totale kliniske vurderingen av pasienten, inkludert: symptomer, klinisk historie, data fra flere tester og annen aktuell informasjon.

Se vedlegget for eksempler og referanser.

VAREMERKER

Beckman Coulter, den stiliserte logoen og vare- og servicemerkene til Beckman Coulter som er omtalt her, er varemerker eller registrerte varemerker som tilhører Beckman Coulter, Inc. i USA og andre land.

TILLEGGSINFORMASJON

For pasient/bruker/tredjepart i EU og land med identisk regelverk (EUs forordning nr. 2017/746 om in vitro-diagnostisk medisinsk utstyr); hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av dette utstyret, eller som et resultat av bruken, skal dette rapporteres til produsenten og/eller den autoriserte representanten samt til nasjonal myndighet.

Summary of Safety and Performance (Sammendrag av sikkerhet og ytelse) er tilgjengelig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISJONSHISTORIE

REVISJON AC:	Utgivelsesdato: September 2019

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AW	Februar 2022
Oppdateringer skal overholde de globale merkingsreglene til Beckman Coulter og være i samsvar med krav iht. IVD-R (EU)2017/746:	
Innsatte avsnitt	BSI 2797-nummer, Tiltenkt bruker, Klinisk relevans, Konsentrasjon, Presisjon, Nøyaktighet, Grense for blankprøve og deteksjonsgrense, Tilleggsinformasjon, Revisjonshistorie.
Innsatt informasjon	Se avsnittet Begrensninger
Oppdatering av formulering eller typografi	Se avsnittene Prosedyre, Ytelse, Begrensninger, Advarsler og forholdsregler, Oppbevaring og stabilitet.
Fjernede avsnitt	Eksempel på kliniske bruksområder, Reagenser, Reproduserbarhet innenfor samme laboratorium, Linearitet
Oppdaterte avsnitt	Tiltenkt bruk, GHS-fareklassifisering, Tegn på nedbryting, Prosedyre, Vedlegg.

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AX	april 2023
Oppdaterte avsnitt	Lagt til kasakhisk
Oppdaterte avsnitt	Oppbevaring og stabilitet

Revidert versjon	AY
Revisjonsdato	mai 2024
Oppdatert oversettelser	**Klinisk relevans:**
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Revidert versjon	AZ
Revisjonsdato	juli 2024
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Symbolforklaring

Symbolordliste er tilgjengelig på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Tekniset tiedot
Spesifisyys	CD15
Klooni	80H5
Hybridooma	MOPC 315-43 x balb/c
Immunogeeni	Human granulocytes
Immunoglobuliini	IgM
Lajit	Hiiri
Puhdistus	Geelisuodatus
Fluorokromi	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Moolisuhde	FITC/Ig: 12-14
λ-viritys	488 nm
Säteilyhuippu	525 nm
Puskuri	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA:ta ja 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugoitunut vasta-aine CD15-FITC

REF B36298 100 testiä; 2 ml, 20 µl / testi

Diagnostiseen *in vitro* -käyttöön.

KÄYTTÖTARKOITUS

Tämän fluorokromikonjugoidun vasta-aineen avulla voidaan kvalitatiivisesti ja muilla kuin automaattisilla tavoilla tunnistaa solupopulaatioita, jotka ilmentävät ihmisen biologisissa näytteissä esiintyvää CD15-antigeeniä virtaussytometriaa käyttämällä (katso jäljempää kohta Näytteet).

PERIAATE

Testi perustuu tiettyjen monoklonaalisten vasta-aineiden kykyyn sitoutua leukosyyttien ilmentämiin antigeenideterminantteihin.

Leukosyyttien spesifinen värjäys tehdään inkuboimalla näyte IOTest-reagenssilla. Punasolut poistetaan sen jälkeen lyysaamalla, ja leukosyytit, joihin tämä prosessi ei vaikuta, analysoidaan virtaussytometrialla.

Virtaussytometri mittaa valonhajontaa ja solujen fluoresenssia. Sen avulla on mahdollista rajata kiinnostuksen kohteena olevan populaatio pylväskaavioon määritetyssä elektronisessa ikkunassa, jossa ortogonaalinen valonhajonta (sivusironta eli SS) vastaa kapean kulman valonhajontaa (eteenpäinsironta eli FS). Muita sytometrin kahta eri parametria yhdistäviä pylväskaavioita voidaan käyttää rajaamisvaiheen tukena käyttäjän valitseman sovelluksen mukaan.

Rajattujen solujen fluoresenssi analysoidaan, jotta positiivisesti värjäytyneet tapahtumat voidaan erottaa värjäytymättömistä tapahtumista. Tulokset ilmaistaan positiivisten tapahtumien prosenttimääränä suhteessa kaikkiin rajauksella kerättyihin tapahtumiin.

AIOTTU KÄYTTÄJÄ

Tämä tuote on tarkoitettu ammattimaiseen laboratoriokäyttöön.

KLIININEN RELEVANSSI

CD15-FITC on CD15-vasta-aine, jonka avulla tunnistetaan ja karakterisoidaan CD15-antigeenia ilmentävät solut virtaussytometrialla. Tämä tuote yksinään ei voi eikä sen ole tarkoitus tuottaa mitään diagnostisia johtopäätöksiä.

Kun sitä käytetään yhdessä muiden merkkiaineiden kanssa, tuotetta voidaan käyttää yhteen tai useaan seuraavista toiminnoista:

- Differentiaalidiagnoosin tueksi hematologisesti poikkeaville potilaille, joilla epäillään olevan hematologinen häiriö, sekä sellaisten potilaiden valvontaan, joilla tiedetään olevan hematologinen häiriö.
- Transplantaatioprosessin tai sen tulosten seurantaan.
- Avuksi ennusteen tekemiseen potilaista, joilla on hematopoieettinen neoplasma.

Katso seuraavat viitteet:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

PITOISUUS

Katso eräkohtainen analyysitodistus osoitteesta www.beckman.com.

NÄYTTEET

Laskimoverinäytteet on otettava käyttäen steriilejä putkia, joissa on antikoagulanttina EDTA-suolaa.

Näytteet on säilytettävä huoneenlämmössä (18–25 °C), eikä niitä saa ravistaa. Näytteet on homogenoitava sekoittamalla hellävaraisesti ennen testinäytteen ottamista.

Näytteet on analysoitava 24 tunnin sisällä laskimopunktiosta.

VAROITUS JA VAROTOIMET

1. Älä käytä reagenssia viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
2. Ei saa jäätyä.
3. Anna sen lämmetä huoneenlämpöiseksi (18–25 °C) ennen käyttöä.
4. Minimoi altistuminen valolle.
5. Vältä reagenssien mikrobikontaminaatiota, muutoin vaarana ovat virheelliset tulokset.
6. Natriumatsidia (NaN_3) sisältäviä vasta-aineliuoksia tulee käsitellä varoen. Sitä ei saa niellä, ja sen joutumista iholle, limakalvoille ja silmiin on vältettävä.

Lisäksi happamassa liuoksessa natriumatsidi voi muodostaa mahdollisesti vaarallista hydratsoehappoa. Jos reagenssi on hävitettävä, se on suositeltavaa laimentaa suureen vesimäärään ennen sen kaatamista viemäriin, jotta natriumatsidia ei pääse kertymään metalliputkiin ja vältetään räjähdysvaara.

7. Kaikkia verinäytteitä on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina, ja niitä on käsiteltävä varovaisesti (erityisesti on muistettava suojakäsineiden, -pukujen ja -lasien käyttö).
8. Älä koskaan pipetoi suulla ja vältä näytteiden kaikkea kosketusta ihoon, limakalvoihin ja silmiin.
9. Veriputket ja käsittelyyn käytetyt kertakäyttöiset materiaalit on hävitettävä poltettaviksi tarkoitetuissa ad hoc -astioissa.
10. Reagenssit ja jätteet on hävitettävä paikallisten vaatimusten mukaisesti.

GHS-VAARALUOKITUS

Ei luokiteltu vaaralliseksi

SDS Käyttöturvallisuustiedote on saatavana osoitteessa beckmancoulter.com/techdocs

SÄILYTYS JA STABILITEETTI

Tätä reagensseja on säilytettävä 2–8 °C:n lämpötilassa ja suojattava valolta ennen ampullin avaamista ja sen jälkeen.

Suljetun ampullin säilyvyysaika stabiliteettitutkimuksen mukaan: 639 päivää.

Avatun ampullin stabiliteetti: reagenssi on stabiili 180 päivän ajan.

MERKIT PILAANTUMISESTA

Mahdolliset muutokset reagenssin fyysisessä ulkonäössä voivat viitata huonontumiseen, eikä reagenssia saa tällöin käyttää.

Jos tarvitset lisätietoja tai jos sait vahingoittuneen tuotteen, soita Beckman Coulter -asiakaspalveluun numeroon 800 742 2345 (USA ja Kanada) tai ota yhteyttä Beckman Coulterin paikalliseen edustajaan.

SISÄLTÖ

Natriumatsidi-säilöntäaine saattaa muodostaa räjähtäviä yhdisteitä metallisissa viemäriputkissa. Katso NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.08.1976). Huuhtele viemäriputket vedellä laimentamattoman reagenssin poiston jälkeen mahdollisen atsidiyhdisteiden kerääntymisen estämiseksi. Hävitä natriumatsidi asianmukaisten paikallismääräysten mukaisesti.

TARVITTAVAT MATERIAALIT, JOITA EI TOIMITETA SARJAN MUKANA:

- Näytteenottoon tarvittavat näytteenottoputket ja materiaalit.
- Automaattiset pipetit, joissa kertakäyttökärjet 20, 100 ja 500 µl.
- Muoviset hemolyysiputket.
- Punasolujen lyysireagenssi ja pesuvaihe lyysin jälkeen. Esimerkiksi: VersaLyse (viite A09777).
- Leukosyyttien kiinnitysreagenssi. Esimerkiksi: IOTest 3 -fiksatiiviliuos (viite A07800).
- Puskuri (PBS: 0,01 M natriumfosfaattia, 0,145 M natriumkloridia, pH 7,2).
- Sentrifugi.
- Automaattinen sekoitin (Vortex-/pyörretyyppinen).
- Virtaussytometri.

VERSALYSE-REAGENSSIN MENETTELY

1. Lisää asianmukainen tilavuus 20 µl spesifiä IOTest-konjugoitua vasta-ainetta jokaiseen testiputkeen.
2. Lisää 100 µl testinäytettä kuhunkin putkeen. Sekoita putkia vorteksilla varovaisesti.
3. Inkuboi 15–20 minuuttia huoneenlämmössä (18–25 °C), valolta suojattuna.
4. Tee sitten punasolujen lyysaus. Tutustu VersaLyse (viite A09777) -selosteeseen ja noudata mieluiten menettelyä, jonka nimessä on maininta ”rinnakkaiskiinnityksen kanssa” ja johon sisältyy ohje lisätä 1 ml kiinnitys- ja lyysiseosta, joka on valmistettu kyseistä tapausta varten. Sekoita välittömästi vorteksilla yhden sekunnin ajan ja inkuboi 10 minuuttia huoneenlämmössä, valolta suojattuna.
5. Sentrifugoi 150 x g 5 minuutin ajan huoneenlämmössä.
6. Poista supernatantti aspiroimalla.
7. Suspendoi solupelletti uudelleen käyttämällä 3 ml PBS:ää.
8. Toista vaihe 5.
9. Poista supernatantti aspiroimalla ja suspendoi solupelletti käyttämällä:

- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää plus 0,1 % formaldehydiä, jos valmisteet aiotaan säilyttää alle 24 tuntia. (0,1 % formaldehydiä sisältävä PBS saadaan laimentamalla 12,5 µl IOTest 3 -fiksatiiviliuosta (viite A07800) sen 10-kertaisella pitoisuudella 1 ml:aan PBS:ää).
- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää ilman formaldehydiä, jos valmisteet tullaan analysoimaan 2 tunnin sisällä.

Huomautus: Pidä valmisteet kaikissa tapauksissa 2–8 °C:n lämpötilassa ja valolta suojattuna.

ODOTETUT ARVOT

Laboratorioissamme 25 ilmeisesti terveen luovuttajan kokoverinäytteet käsiteltiin edellä kuvatulla reagenssilla. Seuraavassa taulukossa esitetään tällä reagenssilla saadut tulokset, kun kiinnostuksen kohteena olleet positiiviset tapahtumat laskettiin:

Positiivinen kohde	Lukumäärä	Keskiarvo (%)	SD	CV (%)
Monosyytit	25	98,49	1,00	1,02
Granulosyytit	25	99,98	0,02	0,02

Nämä arvot on tarkoitettu vain esimerkeiksi. Jokaisen laboratorion tulee luoda omat odotetut arvonsa paikallisen normaalien luovuttajien populaation mukaan.

SUORITUSKYKY

Suorituskykytiedot saadaan edellä kuvatulla menetelmällä käyttämällä alle 24 tunnin ikäisistä näytteistä, jotka on aiemmin kerätty steriileihin putkiin, joissa antikoagulanttina on EDTA-suola. Analyysi suoritetaan 2 tunnin kuluessa immunovärjäyksestä.

SPESIFISYYS

CD15-antigeeni (Lewis x / Lex) on lakto-N-(neo)-fukopentaoosi III -molekyyli. Tämä hiilihydraattiepitooppi sisältyy sekä glykolipideihin että glykoproteiineihin, joita ilmennetään solukalvolla. CD15-antigeeniä ilmennetään voimakkaasti neutrofiileissä, eosinofiileissä, monosyyteissä ja normaaleissa myeloideissa esisoluissa. Sitä ei ilmennetä normaaleissa erytrosyyteissä, verihiutaleissa tai lymfosyyteissä. Monoklonaalinen vasta-aine 80H5 tunnistaa varhaisen myeloidisen differentiaatioepitoopin, jota esiintyy metamyelosyyteissä, myelosyyteissä, promyelosyyteissä ja aktivoiduissa makrofageissa. Se reagoi myös granulosyyttien kanssa. Monoklonaalinen vasta-aine 80H5 määritettiin kuuluvaksi differentiaatioryhmään CD15 viidennessä kansainvälisessä ihmisleukosyyttien differentiaatioantigeenejä käsitelleessä seminaarissa (Workshop on Human Leucocyte Differentiation ihmisleukosyyttien, HLDA), joka pidettiin Bostonissa, Yhdysvalloissa vuonna 1993 (10, 11).

TARKKUUS

Prosentuaaliset positiiviset arvot määritettiin käyttämällä kokoverta. Jokainen näyte käsiteltiin 4 kertaa, kahdesti päivässä päivänä 1 2 laitteessa käyttämällä 2 erää CD15-FITC monoklonaalisia vasta-ainereagensseja. Mittaukset (% positiivisia) tehtiin Navios-virtaussytometrillä. Analyysi tehtiin perustuen CLSI:n menetelmään EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivisten mittausmenetelmien tarkkuussuorituskyvyn arviointi).

Hyväksyntäkriteerimme on riippuvainen kussakin populaatiossa mitattujen positiivisten tapahtumien määrästä:

- Jos tapahtuma on positiivinen < 1 500, CV < 15 %
- Jos tapahtuma on positiivinen > 1 500, CV < 10 %

Monosyytit							
Positiivisten näytteiden lukumäärä (keskiarvo) = 1056							
	Käyttäjien välinen	Sytometrin sisäinen	Erän sisäinen	Erien välinen	Ajojen välinen	Ajon sisäinen	Yhteensä
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
TULOKSET	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulosyytit							
Positiivisten näytteiden lukumäärä (keskiarvo) = 8446							
	Käyttäjien välinen	Sytometrin sisäinen	Erän sisäinen	Erien välinen	Ajojen välinen	Ajon sisäinen	Yhteensä
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
TULOKSET	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ULKOINEN TARKKUUS

Kohteen CD15-FITC tarkkuus arvioitiin vertaamalla tuloksia viitereagenssiin, joka toimi Navios-virtaussytometrilla käsitellyn kokoverinäytesarjan predikaattina. Testireagenssin ja vertailureagenssin välinen poikkeama määritettiin testitulosten välisen eron perusteella. Jos poikkeama on sallitun virhealueen rajoissa tai p-arvo ei osoita merkityksellistä eroa (> 0,05), näiden kahden reagenssin testituloksia pidetään vastaavina.

Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Luovuttajien määrä = 25				
Positiivinen kohde	Keskiarvo Δ	Δ % -solukriteeri	p-arvo	TULOKSET
Monosyytit	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulosyytit	0,00	<5	6,149E-01	PASS

NOLLAMITTAUKSEN YLÄRAJA JA MITTAUKSEN ALARAJA

Tutkimus tehtiin CLSI EP17-A2:n mukaisesti, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Detektiokyvyn arviointi kliinisissä laboratoriomittausmenettelyissä). Mittauksen alaraja (LoD) on analyytin alhaisin pitoisuus, joka voidaan havaita johdonmukaisesti. Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Positive Target	Nollamittauksen yläraja (solu/µl)	Mittauksen alaraja (solu/µl)
Monosyytit	1	3
Granulosyytit	1	3

RAJOITUKSET

1. Virtaussytometrialla saadut tulokset voivat olla virheellisiä, jos sytometri on kohdistettu epätarkasti, jos fluoresenssivuotoja ei ole kompensoitu oikein ja jos alueita ei ole sijoitettu tarkasti.
2. On suositeltavaa käyttää punasolujen lyysaukseen pesuvaiheen sisältävää tekniikkaa, koska tätä reagenssia ei ole optimoitu lyysaustekniikoille, joihin ei sisälly pesua.
3. Tulokset oivat tarkkoja ja toistettavissa, kunhan käytetyt menetelmät ovat teknisen selosteen mukaisia ja noudattavat hyviä laboratoriokäytäntöjä.
4. Tämän reagenssin konjugoitu vasta-aine kalibroidaan siten, että saadaan paras spesifisen signaalin ja epäspesifisen signaalin suhde. Siksi on tärkeää noudattaa reagenssin tilavuuden / näytteen suhdetta jokaisessa testissä.

5. Jos kyseessä on hyperleukosytoosi, laimenna veri PBS:ään siten, että saat arvoksi noin 5 x 10^9 leukosyyttiä/l (12).
6. Tietyissä sairaustiloissa, kuten vaikeassa munuaisten vajaatoiminnassa tai hemoglobinopatioissa, punasolujen hajoaminen voi olla hidasta, epätäydellistä tai jopa mahdotonta. Tässä tapauksessa yksitumaiset solut on suositeltavaa eristää käyttämällä tiheysgradienttia (esimerkiksi Ficoll) ennen värjäystä (13).
7. Lewis x -antigeenin, kuten 80H5 (CD15), IgM-isotyypin monoklonaalisten vasta-aineiden tiedetään aiheuttavan alkuperältään myelomonosyyttisten solujen aggregaatiota (14). Tällaiset aggregaatit voidaan jättää kohderajausten ulkopuolelle, ja ne voivat aiheuttaa epätarkkoja arvioita CD15-positivisista soluista.
8. Potilailla, joita on hoidettu muun kuin ihmisen monoklonaalisilla vasta-aineilla, kohdeantigeenin havaitseminen voi heikentyä tai estyä osittain tai kokonaan hoidossa käytetyn vasta-aineen vaikutuksesta.
9. CD15-FITC-tulosten tulkinnassa on otettava huomioon potilaan kaikki kliiniset tiedot, mukaan lukien oireet, kliininen historia, lisätestien tiedot ja muut asianmukaiset tiedot.

Katso esimerkkejä ja viitteitä liitteestä.

TAVARAMERKIT

Beckman Coulter, tyylitelty logo ja tässä mainitut Beckman Coulter -tuotteiden ja palveluiden merkit ovat Beckman Coulter, Inc:in tavaramerkkejä tai rekisteröityjä tavaramerkkejä Yhdysvalloissa ja muissa maissa.

LISÄTIETOJA

Potilaalle / käyttäjälle / kolmannelle osapuolelle Euroopan unionin alueella ja maissa, joissa on samanlainen sääntelyjärjestelmä (in vitro -diagnostiikkaan tarkoitettuja lääkinnällisiä laitteita koskeva asetus 2017/746/EU): jos tämän laitteen käytön aikana tai sen käytön seurauksena on tapahtunut vakava tapahtuma, ilmoita siitä valmistajalle ja/tai valmistajan valtuutetulle edustajalle sekä kansalliselle viranomaiselle.

Turvallisuutta ja suorituskykyä koskeva yhteenveto on saatavilla EUDAMED-tietokannasta osoitteesta ec.europa.eu/tools/eudamed.

TARKISTUSHISTORIA

VERSIO AC:	Julkaisupäivä: Syyskuu 2019

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AW	Helmikuu 2022
Päivitetty noudattamaan Beckman Coulterin maailmanlaajuista merkintämenettelyä ja IVD-R (EU)2017/746 -standardin vaatimuksia:	
Lisätyt osat	BSI 2797 -numero, Käyttötarkoituksen mukainen käyttäjä, Kliininen relevanssi, Pitoisuus, Tarkkuus, Ulkoinen tarkkuus, Nollamittauksen yläraja ja mittauksen alaraja, Lisätietoja, Tarkistushistoria.
Lisätyt tiedot	Katso kohta Rajoitukset
Sanamuodot tai typografiset päivitykset	Katso kohdat Menettely, Suorituskyky, Rajoitukset, Varoitus ja varotoimet, Säilytys ja stabiliteetti.
Poistetut osat	Esimerkki kliinisistä käyttötarkoituksista, Reagenssit, Laboratorionsisäinen toistettavuus, Lineaarisuus
Päivitetyt osat	Käyttötarkoitus, GHS-vaaraluokitus, Merkit pilaantumisesta, Menettely, Liite.

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AX	Huhtikuu 2023
Päivitetyt osat	Lisää kazakki
Päivitetyt osat	Säilytys ja stabiliteetti

Tarkistettu versio	AY
Tarkistuksen päivämäärä	Toukokuu 2024
Päivitetyt käännökset	**Kliininen merkitys:**
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Tarkistettu versio	AZ
Tarkistuksen päivämäärä	Heinäkuu 2024
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Symboliluettelo

Symbolisanasto on saatavana osoitteessa beckman.com/techdocs (asiakirjan numero B60062)

	Προδιαγραφές
Ειδικότητα	CD15
Κλώνος	80H5
Υβρίδωμα	MOPC 315-43 x balb/c
Ανοσογόνο	Human granulocytes
Ανοσοσφαιρίνη	IgM
Είδος	Μυς
Κάθαρση	Χρωματογραφία μέσω πηκτής
Φθορόχρωμα	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Γραμμομοριακή αναλογία	FITC/Ig: 12-14
διέγερση λ	488 nm
Μέγιστη τιμή εκπομπών	525 nm
Ρυθμιστικό Διάλυμα	PBS pH 7,2 συν 2 mg/mL BSA και 0,1% NaN_3

IOTest
Συζευγμένο αντίσωμα
CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20 µL/εξέταση

Για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Αυτό το συζευγμένο με φθοροχρώματα αντίσωμα επιτρέπει την ποιοτική και μη αυτοματοποιημένη ταυτοποίηση των κυτταρικών πληθυσμών που εκφράζουν το αντιγόνο CD15 που απαντάται σε ανθρώπινα βιολογικά δείγματα, με χρήση κυτταρομετρίας ροής (δείτε την παρακάτω ενότητα «Δείγματα»).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Αυτή η εξέταση βασίζεται στην ικανότητα συγκεκριμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων να δεσμεύονται στους αντιγονικούς καθοριστές που εκφράζονται από τα λευκοκύτταρα.

Η ειδική χρώση των λευκοκυττάρων πραγματοποιείται μέσω της επώασης του δείγματος με το αντιδραστήριο IOTest. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια αφαιρούνται στη συνέχεια με λύση και τα λευκοκύτταρα, τα οποία δεν επηρεάζονται από αυτήν τη διαδικασία, αναλύονται με κυτταρομετρία ροής.

Το κυτταρόμετρο ροής μετρά τη διάχυση φωτός και τον φθορισμό των κυττάρων. Καθιστά δυνατή την οριοθέτηση του πληθυσμού ενδιαφέροντος εντός του ηλεκτρονικού παραθύρου που ορίζεται σε ένα ιστόγραμμα, το οποίο συσχετίζει την ορθογώνια διάχυση φωτός (πλάγια σκέδαση ή SS) και τη διάχυση φωτός κλειστής γωνίας (πρόσθια σκέδαση ή FS). Άλλα ιστογράμματα που συνδυάζουν δύο από τις διαθέσιμες διαφορετικές παραμέτρους του κυτταρόμετρου μπορούν να χρησιμοποιηθούν υποστηρικτικά κατά το στάδιο της οριοθέτησης, ανάλογα με την εφαρμογή που επιλέγει ο χρήστης.

Ο φθορισμός των οριοθετημένων κυττάρων αναλύεται προκειμένου να είναι δυνατή η διάκριση μεταξύ των θετικά σημασμένων συμβάντων και των μη σημασμένων συμβάντων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ποσοστό των θετικών συμβάντων σε σχέση με το σύνολο των συμβάντων που ελήφθησαν από την οριοθέτηση.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΟΣ ΧΡΗΣΤΗΣ

Αυτό το προϊόν προορίζεται για επαγγελματική εργαστηριακή χρήση.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΝΑΦΕΙΑ

Το CD15-FITC είναι ένα αντίσωμα CD15 που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό κυττάρων που εκφράζουν το αντιγόνο CD15 με κυτταρομετρία ροής. Αυτό το προϊόν από μόνο του δεν μπορεί να παράγει οποιοδήποτε διαγνωστικό συμπέρασμα και δεν προορίζεται για αυτήν τη χρήση.

Όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλους δείκτες, αυτό το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μία ή περισσότερες από τις ακόλουθες λειτουργίες:

- Ως βοήθημα στη διαφορική διάγνωση μη φυσιολογικών αιματολογικά ασθενών με υποψία αιματολογικής διαταραχής και για την παρακολούθηση ασθενών με γνωστή αιματολογική διαταραχή.
- Για την παρακολούθηση της διαδικασίας μεταμόσχευσης ή των αποτελεσμάτων.
- Ως βοήθημα στην πρόγνωση ασθενών με αιμοποιητική νεοπλασία.

Δείτε τις ακόλουθες παραπομπές:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ

Δείτε το ειδικό για την παρτίδα πιστοποιητικό ανάλυσης στη διεύθυνση www.beckman.com.

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Τα δείγματα φλεβικού αίματος πρέπει να διατηρούνται σε αποστειρωμένα σωληνάρια που περιέχουν άλας EDTA ως αντιπηκτικό.

Τα δείγματα θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) και δεν θα πρέπει να ανακινούνται. Πριν από τη λήψη του δείγματος προς εξέταση, τα δείγματα πρέπει να ομογενοποιούνται με ήπια ανάδευση.

Τα δείγματα πρέπει να αναλύονται εντός 24 ωρών από τη φλεβοκέντηση.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

1. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης.
2. Μην καταψύχετε.
3. Αφήστε το να περιέλθει σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) πριν από τη χρήση.
4. Ελαχιστοποιήστε την έκθεση στο φως.

5. Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διαφορετικά ενδέχεται να προκύψουν ψευδή αποτελέσματα.
6. Να χειρίζεστε τα διαλύματα αντισωμάτων που περιέχουν αζίδιο του νατρίου (NaN_3) με προσοχή. Μην εισπνέετε και αποφεύγετε κάθε επαφή με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.

   Επιπλέον, σε όξινο μέσο, το αζίδιο του νατρίου μπορεί να σχηματίσει ένα δυνητικά επικίνδυνο υδραζωτικό οξύ. Αν χρειαστεί να απορριφθεί, συνιστάται η αραίωση του αντιδραστηρίου με μεγάλη ποσότητα νερού πριν από την έκχυση στο αποχετευτικό σύστημα, προκειμένου να αποφευχθεί η συσσώρευση αζιδίου του νατρίου στις μεταλλικές σωληνώσεις και να αποτραπεί ο κίνδυνος έκρηξης.
7. Πρέπει να θεωρείτε όλα τα δείγματα αίματος δυνητικά μολυσματικά και να τα χειρίζεστε με προσοχή (ειδικότερα: να φοράτε προστατευτικά γάντια, ποδιές και γυαλιά).
8. Μην χρησιμοποιείτε ποτέ πιπέτα με το στόμα και αποφεύγετε κάθε επαφή των δειγμάτων με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.
9. Τα σωληνάρια αίματος και το υλικό μίας χρήσης που χρησιμοποιούνται για τον χειρισμό πρέπει να απορρίπτονται σε ειδικά δοχεία που προορίζονται για αποτέφρωση.
10. Τα αντιδραστήρια και τα απόβλητα πρέπει να απομακρύνονται σύμφωνα με τις τοπικές απαιτήσεις.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ GHS

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο

SDS Το δελτίο δεδομένων ασφάλειας διατίθεται στη διεύθυνση beckmancoulter.com/techdocs

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Πρέπει να φυλάσσετε αυτό το αντιδραστήριο σε θερμοκρασία 2 έως 8 °C και να το προστατεύετε από το φως πριν και μετά το άνοιγμα του φιαλιδίου.

Διάρκεια ζωής κλειστού φιαλιδίου ανά μελέτη σταθερότητας: 639 ημέρες.

Σταθερότητα ανοιχτού φιαλιδίου: το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό για 180 ημέρες.

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ

Οποιαδήποτε μεταβολή στην εμφάνιση των αντιδραστηρίων είναι πιθανό να υποδεικνύει αλλοίωση και το αντιδραστήριο δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται.

Για επιπλέον πληροφορίες ή σε περίπτωση παραλαβής ελαττωματικού προϊόντος, επικοινωνήστε με την υπηρεσία εξυπηρέτησης πελατών της Beckman Coulter στο 800-742-2345 (για ΗΠΑ και Καναδά) ή με τον τοπικό αντιπρόσωπο της Beckman Coulter.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Το συντηρητικό αζιδίου του νατρίου μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικές ενώσεις στους μεταλλικούς αποχετευτικούς αγωγούς. Δείτε το ενημερωτικό δελτίο του NIOSH: Explosive Azide Hazard (Κίνδυνος έκρηξης αζιδίου) (16/8/76)
Για να αποφύγετε την ενδεχόμενη συσσώρευση ενώσεων αζιδίου, να εκπλένετε τους σωλήνες αποβλήτων με νερό μετά την απόρριψη μη αραιωμένου αντιδραστηρίου. Η απόρριψη του αζιδίου του νατρίου πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους αντίστοιχους τοπικούς κανονισμούς.

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΚΙΤ:

- Σωλήνες δειγματοληψίας και υλικό που είναι απαραίτητο για τη δειγματοληψία.
- Αυτόματες πιπέτες με ρύγχη μιας χρήσης για 20, 100 και 500 µL.
- Πλαστικά σωληνάρια αιμόλυσης.
- Αντιδραστήριο λύσης ερυθροκυττάρων με στάδιο πλύσης μετά τη λύση. Για παράδειγμα: VersaLyse (Ref. A09777).
- Αντιδραστήριο μονιμοποίησης λευκοκυττάρων. Για παράδειγμα: Διάλυμα μονιμοποίησης IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ρυθμιστικό διάλυμα (PBS: 0,01 M φωσφορικό νάτριο, 0,145 M χλωριούχο νάτριο, pH 7,2).
- Φυγόκεντρος.
- Αυτόματος αναδευτήρας (τύπου περιδίνησης).
- Κυτταρόμετρο ροής.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ VERSALYSE

1. Προσθέστε τον κατάλληλο όγκο 20 µL ειδικού συζευγμένου αντισώματος IOTest σε κάθε δοκιμαστικό σωληνάριο.
2. Προσθέστε 100 µL του αναλυόμενου δείγματος σε κάθε σωληνάριο. Περιδινήστε απαλά τα σωληνάρια.
3. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) για 15 έως 20 λεπτά, προστατεύοντας από το φως.
4. Στη συνέχεια, πραγματοποιήστε λύση των ερυθροκυττάρων. Ανατρέξτε στο φύλλο οδηγιών του VersaLyse (Ref. A09777) και ακολουθήστε κατά προτίμηση τη διαδικασία «με ταυτόχρονη μονιμοποίηση», που περιλαμβάνει την προσθήκη 1 mL μείγματος «μονιμοποίησης και λύσης», το οποίο παρασκευάστηκε πρόχειρα. Περιδινήστε αμέσως επί ένα δευτερόλεπτο και επωάστε επί 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, προστατεύοντας από το φως.
5. Φυγοκεντρήστε για 5 λεπτά στα 150 x g σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση.
7. Πραγματοποιήστε επαναιώρηση του κυτταρικού ιζήματος με 3 mL PBS.
8. Επαναλάβετε το βήμα 5.
9. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση και επαναιωρήστε το κυτταρικό ίζημα με:

- 0,5 mL ή 1 mL PBS συν 0,1% φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να φυλαχθούν για λιγότερο από 24 ώρες. (Μπορείτε να παρασκευάσετε διάλυμα 0,1% φορμαλδεΰδης/PBS με αραίωση 12,5 µL του μονιμοποιητικού διαλύματος IOTest 3 (Ref. A07800) 10πλάσιας συγκέντρωσης σε 1 mL PBS).
- 0,5 mL ή 1 mL PBS χωρίς φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να αναλυθούν εντός 2 ωρών.

Σημείωση: Σε κάθε περίπτωση, φυλάσσετε τα παρασκευάσματα προστατευμένα από το φως, σε θερμοκρασία μεταξύ 2 και 8 °C.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Στα εργαστήριά μας, τα δείγματα ολικού αίματος από 25 φαινομενικά υγιείς δότες υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με χρήση του αντιδραστηρίου που περιγράφεται παραπάνω. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν για την καταμέτρηση των θετικών συμβάντων ενδιαφέροντος με αυτό το αντιδραστήριο παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

Θετικός στόχος	Αριθμός	Μέση τιμή (%)	SD	CV (%)
Μονοκύτταρα	25	98,49	1,00	1,02
Κοκκιοκύτταρα	25	99,98	0,02	0,02

Οι τιμές αυτές παρέχονται αποκλειστικά για ενδεικτικούς σκοπούς. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να ορίσει τις δικές του αναμενόμενες τιμές βάσει του τοπικού πληθυσμού των φυσιολογικών δοτών.

ΑΠΟΔΟΣΗ

Τα δεδομένα απόδοσης λαμβάνονται με χρήση της διαδικασίας που περιγράφηκε παραπάνω σε δείγματα αίματος ηλικίας μικρότερης των 24 ωρών που συλλέχθηκαν προηγουμένως σε αποστειρωμένα σωληνάρια με άλας EDTA ως αντιπηκτικό. Η ανάλυση εκτελείται εντός 2 ωρών από την ανοσοχρώση.

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Το αντιγόνο CD15 (Lewis x / Lex) είναι το μόριο lacto-N-(neo) fucopentaose III. Αυτό το υδατανθρακικό επίτοπο συναντάται τόσο στα γλυκολιπίδια όσο στις γλυκοπρωτεΐνες που εκφράζονται στην κυτταρική μεμβράνη. Το αντιγόνο CD15 εκφράζεται έντονα από ουδετερόφιλα, ηωσινόφιλα, μονοκύτταρα και φυσιολογικά μυελοειδή πρόδρομα κύτταρα. Δεν εκφράζεται σε φυσιολογικά ερυθροκύτταρα, αιμοπετάλια ή λεμφοκύτταρα. Το αντίσωμα 80H5 αναγνωρίζει ένα πρώιμο επίτοπο μυελοειδούς διαφοροποίησης που εντοπίζεται σε μεταμυελοκύτταρα, μυελοκύτταρα, προμυελοκύτταρα και ενεργοποιημένα μακροφάγα. Επίσης αντιδρά με κοκκιοκύτταρα. Το μονοκλωνικό αντίσωμα 80H5 έχει εκχωρηθεί στο σύμπλοκο διαφοροποίησης CD15 κατά το πέμπτο Διεθνές Εργαστήριο για τα αντιγόνα διαφοροποίησης των ανθρώπινων λευκών αιμοσφαιρίων που πραγματοποιήθηκε στη Βοστόνη, Η.Π.Α. το 1993 (10, 11).

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Οι ποσοστιαίες θετικές τιμές προσδιορίστηκαν με χρήση ολικού αίματος. Κάθε δείγμα αναλύθηκε 4 φορές, δύο φορές την ημέρα για 1 ημέρα σε 2 όργανα με χρήση 2 παρτίδων αντιδραστηρίων μονοκλωνικού αντισώματος CD15-FITC. Οι μετρήσεις (% θετικών) πραγματοποιήθηκαν σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με βάση τη μέθοδο CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Αξιολόγηση της απόδοσης ακρίβειας για μεθόδους ποσοτικής μέτρησης).

Τα κριτήρια έγκρισης εξαρτώνται από τον αριθμό των θετικών συμβάντων που μετρώνται για κάθε πληθυσμό:

- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος <1.500, <15% CV
- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος >1.500, <10% CV

Μονοκύτταρα							
Αριθμός θετικών συμβάντων (μέσος όρος) = 1056							
	Μεταξύ χειριστών	Μεταξύ κυτταρόμετρων	Εντός παρτίδας	Μεταξύ παρτίδων	Μεταξύ αναλύσεων	Εντός ανάλυσης	Σύνολο
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Κοκκιοκύτταρα							
Αριθμός θετικών συμβάντων (μέσος όρος) = 8446							
	Μεταξύ χειριστών	Μεταξύ κυτταρόμετρων	Εντός παρτίδας	Μεταξύ παρτίδων	Μεταξύ αναλύσεων	Εντός ανάλυσης	Σύνολο
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ακρίβεια του CD15-FITC αξιολογήθηκε με σύγκριση των αποτελεσμάτων με ένα αντιδραστήριο αναφοράς ως μέσο πρόγνωσης, σε ένα σύνολο δειγμάτων ολικού αίματος που αναλύθηκε σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Το συστηματικό σφάλμα μεταξύ εξέτασης και αντιδραστηρίου αναφοράς προσδιορίστηκε με βάση τη διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δοκιμής. Εάν το συστηματικό σφάλμα βρίσκεται εντός του επιτρεπόμενου εύρους σφαλμάτων ή η τιμή p δεν υποδεικνύει καμία σημαντική διαφορά (>0,05), τα αποτελέσματα δοκιμών για τα δύο αντιδραστήρια θεωρούνται ισοδύναμα.

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον πίνακα που ακολουθεί:

Αριθμός δοτών = 25				
Θετικός στόχος	Μέση τιμή Δ	Κριτήρια κυττάρων Δ %	Τιμή p	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
Μονοκύτταρα	-0,21	<5	0,058	PASS
Κοκκιοκύτταρα	0,00	<5	6,149E-01	PASS

ΟΡΙΟ ΤΥΦΛΟΥ ΚΑΙ ΟΡΙΟ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

Διεξήχθη μια μελέτη με βάση τις οδηγίες του CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Αξιολόγηση της ικανότητας ανίχνευσης για διαδικασίες μέτρησης κλινικών εργαστηρίων). Το όριο ανίχνευσης (OA) είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση αναλυόμενης ουσίας που μπορεί να ανιχνευτεί σταθερά. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Positive Target	Όριο τυφλού (κύτταρο/μL)	Όριο ανίχνευσης (κύτταρο/μL)
Μονοκύτταρα	1	3
Κοκκιοκύτταρα	1	3

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Η κυτταρομετρία ροής ενδέχεται να παράγει ψευδή αποτελέσματα αν το κυτταρόμετρο δεν είναι σωστά ευθυγραμμισμένο, αν οι διαρροές φθορισμού δεν έχουν αντισταθμιστεί σωστά και αν οι περιοχές δεν έχουν τοποθετηθεί προσεκτικά.
2. Η τεχνική λύσης RBC είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται με ένα βήμα πλύσης, καθώς το συγκεκριμένο αντιδραστήριο δεν έχει βελτιστοποιηθεί για τεχνικές λύσης «χωρίς πλύση».
3. Ακριβή και επαναλήψιμα αποτελέσματα προκύπτουν στο μέτρο που οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι σύμφωνες με το ένθετο τεχνικών οδηγιών και συμβατές με τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές.
4. Το συζευγμένο αντίσωμα αυτού του αντιδραστηρίου είναι βαθμονομημένο ώστε να προσφέρει την καλύτερη αναλογία ειδικής σήμανσης/μη ειδικής σήμανσης. Γι' αυτό είναι σημαντικό να τηρείτε την αναλογία όγκου αντιδραστηρίου/όγκου δείγματος σε κάθε εξέταση.
5. Σε περίπτωση υπερλευκοκυττάρωσης, αραιώστε το αίμα σε PBS ώστε να επιτευχθεί τιμή περίπου 5 x 10^9 λευκοκύτταρα/L (12).
6. Σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις, όπως η σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια ή οι αιμοσφαιρινοπάθειες, η λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων ενδέχεται να είναι αργή, ατελής ή και ανέφικτη. Σε αυτήν την περίπτωση, συνιστάται η απομόνωση των μονοπύρηνων κυττάρων με διαβάθμιση πυκνότητας (για παράδειγμα Ficoll) πριν από τη χρώση (13).
7. Τα μονοκλωνικά αντισώματα, του ισοτύπου IgM, του αντιγόνου Lewis x όπως το 80H5 (CD15) είναι γνωστό ότι επάγουν τη συσσωμάτωση κυττάρων μυελομονοκυτταρικής προέλευσης (14). Τέτοιες συναθροίσεις ενδέχεται να εξαιρεθούν από τις οριοθετήσεις ενδιαφέροντος και να προκαλέσουν ανακριβείς εκτιμήσεις για τα θετικά για CD15 κύτταρα.
8. Σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπείες με αντι-ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα, η ανίχνευση των ειδικών στοχευόμενων αντιγόνων ενδέχεται να είναι μειωμένη ή να απουσιάζει λόγω μερικού ή πλήρους αποκλεισμού από το θεραπευτικό αντίσωμα.
9. Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων του CD15-FITC θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η συνολική κλινική εικόνα του ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων των συμπτωμάτων, του κλινικού ιστορικού, των δεδομένων πρόσθετων εξετάσεων και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Δείτε το Παράρτημα για παραδείγματα και παραπομπές.

ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ

Η επωνυμία Beckman Coulter, το τυποποιημένο λογότυπο και τα σήματα προϊόντων και υπηρεσιών της Beckman Coulter που αναφέρονται στο παρόν είναι εμπορικά σήματα ή σήματα κατατεθέντα της Beckman Coulter, Inc. στις Ηνωμένες Πολιτείες και σε άλλες χώρες.

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Για ασθενή/χρήστη/τρίτους στην Ευρωπαϊκή Ένωση και σε χώρες με όμοιο ρυθμιστικό καθεστώς (Οδηγία 2017/746/ΕΕ σχετικά με τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα), εάν, κατά τη χρήση αυτής της συσκευής ή ως αποτέλεσμα της χρήσης της, προκύψει σοβαρό περιστατικό, πρέπει να το αναφέρετε στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στις εθνικές αρχές της χώρας στην οποία κατοικείτε.

Το Summary of Safety and Performance (Σύνοψη ασφάλειας και απόδοσης) είναι διαθέσιμο στη βάση δεδομένων EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΕΩΝ

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ AC:	Ημερομηνία έκδοσης: Σεπτέμβριος 2019

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AW	Φεβρουάριος 2022
Ενημερώσεις για την επίτευξη συμμόρφωσης με την παγκόσμια πολιτική σήμανσης της Beckman Coulter και σύμφωνα με τις απαιτήσεις IVD-R (ΕΕ)2017/746:	
Προσθήκη ενοτήτων	Αριθμός BSI 2797, προβλεπόμενος χρήστης, κλινική συνάφεια, συγκέντρωση, πιστότητα, ακρίβεια, όριο τυφλού και όριο ανίχνευσης, πρόσθετες πληροφορίες, ιστορικό αναθεωρήσεων.
Προσθήκη πληροφοριών	Δείτε τις ενότητες «Περιορισμοί»
Εκφραστικές ή τυπογραφικές ενημερώσεις	Δείτε τις ενότητες «Διαδικασία», «Απόδοση», «Περιορισμοί», «Προειδοποίηση και προφυλάξεις», «Αποθήκευση και σταθερότητα».
Αφαίρεση ενοτήτων	Παράδειγμα κλινικών εφαρμογών, αντιδραστήρια, διεργαστηριακή επαναληψιμότητα, γραμμικότητα
Ενημερωμένες ενότητες	Προβλεπόμενη χρήση, Ταξινόμηση επικινδυνότητας κατά GHS, Ενδείξεις αλλοίωσης, Διαδικασία, Παράρτημα.

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AX	Απρίλιος 2023
Ενημερωμένες ενότητες	Προσθήκη Καζακικών
Ενημερωμένες ενότητες	Φύλαξη και σταθερότητα

Αναθεωρημένη έκδοση	AY
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Μάιος 2024
Ενημέρωση μεταφράσεων	**Κλινική συνάφεια:**
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθεωρημένη έκδοση	AZ
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Ιούλιος 2024
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Υπόμνημα συμβόλων

Το γλωσσάριο συμβόλων είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση beckman.com/techdocs (αριθμός εγγράφου B60062)

	仕様
特異性	CD15
クローン	80H5
ハイブリドーマ	MOPC 315-43 x balb/c
免疫原	Human granulocytes
免疫グロブリン	IgM
動物種	マウス
精製	ゲルろ過
蛍光色素	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
モル比	FITC / Ig： 12-14
λ励起	488 nm
発光のピーク	525 nm
緩衝化剤	PBS(pH 7.2) + 2 mg/mL BSAおよび0.1% NaN_3

IOTest

コンジュゲート抗体
CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20 µL/テスト

体外診断用。

用途

この蛍光色素結合抗体混合物により、フローサイトメトリーを用いてヒト生物検体に存在するCD15抗原を発現する細胞集団の定性的かつ非自動での同定が可能になります（以下の「検体」の項を参照）。

原理

このテストは、白血球が発現する抗原決定因子に対する特異的モノクローナル抗体の結合能に基づいています。

白血球の特異的染色は、検体をIOTest試薬とインキュベートすることによって行います。次に、赤血球を溶解によって除去し、このプロセスの影響を受けない白血球をフローサイトメトリーによって分析します。

フローサイトメーターは、細胞の光拡散および蛍光を測定します。これにより、直角散乱光（側方散乱、SS）および鋭角散乱光（前方散乱、FS）と相関するヒストグラム上で規定した電子枠内で対象集団の限界設定が可能になります。ユーザーが選択したアプリケーションに依存して、サイトメーターで利用可能な種々のパラメーターの2つを組み合わせたその他のヒストグラムが、ゲーティング段階の補助として利用できます。

陽性染色イベントと未染色イベントを鑑別するために、区分した細胞の蛍光を測定します。結果は、ゲーティングで得られた全イベントに対する陽性イベントの比率として表します。

対象ユーザー

本製品は、検査室での専門的な使用を目的としています。

臨床的妥当性

CD15-FITCは、フローサイトメトリーでCD15抗原を発現する細胞を同定および特性評価するために使用する抗体です。CD15この製品だけで診断の結論を下すことはできず、そのように意図されていません。

本製品は、他のマーカーと組み合わせて使用する場合、次の機能の1つまたは複数で使用できます。

- 血液学的疾患が疑われる血液学的に異常な患者の鑑別診断を補助し、既知の血液学的疾患を有する患者をモニタリングするため。
- 移植プロセスまたは結果をモニターするため。
- 造血系新生物を有する患者の予後を支援するため。

以下の参考文献を参照してください。

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

濃度

www.beckman.comでロット固有の分析証明書を参照してください。

検体

静脈血は、抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブを用いて採取しなければなりません。

検体は室温（18～25°C）で保管し、揺らさないようにする必要があります。検体は、テスト検体を採取する前に、穏やかな撹拌によって均質化する必要があります。

この検体は、静脈穿刺から24時間以内に分析する必要があります。

警告および注意

1. 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
2. 凍結しないでください。
3. 使用前に室温（18～25°C）にしてください。
4. 露光をできるだけ避けてください。
5. 試薬の微生物汚染を避けてください。誤った結果の原因となる場合があります。

6. アジ化ナトリウム（NaN_3）を含む抗体溶液は慎重に扱う必要があります。体内に摂取してはならず、皮膚、粘膜および眼との接触はすべて避けてください。

   また、酸性媒体では、アジ化ナトリウムから潜在的危険性のあるアジ化水素酸が生成されることがあります。アジ化ナトリウムを含む試薬を廃棄する必要がある場合、金属製のパイプにアジ化ナトリウムが蓄積しないように、また爆発の危険性を防ぐために、試薬を多量の水で希釈してから排水システムに廃棄することを推奨します。
7. すべての血液検体は感染性の可能性があるとみなして慎重に取り扱う必要があります（特に保護手袋、実験着、ゴーグルの着用）。
8. 絶対に口でピペットを吸わないでください。また、皮膚、粘膜、目に検体が接触しないようにしてください。
9. 使用済みの採血管およびディスポーザブル製品は、焼却用の専用容器に入れて廃棄してください。
10. 試薬や廃棄物は地方自治体の要件に従って廃棄してください。

GHSハザード分類

危険有害物質には分類されない

SDS　安全性データシートは、beckmancoulter.com/techdocsで入手できます。

保管および安定性

この試薬は、バイアル開封の前後に2～8℃で保管し、遮光する必要があります。

各安定性試験におけるクローズドバイアルの保存期間：639日間

開封後のバイアル：試薬は180日間安定しています。

変質や劣化の兆候

試薬の物理的な外観の変化は劣化の徴候である場合があり、その試薬を使用してはなりません。

追加情報に関して、または損傷している製品をお受け取りになった場合、ベックマン・コールターのカスタマーサービス800-742-2345（米国またはカナダ）にお電話をくださるか、最寄りの代理店に連絡してください。

内容

保存剤のアジ化ナトリウムは、金属製排水管内で爆発性化合物を生成するおそれがあります。 NIOSH Bulletinを参照してください: アジド爆発危険性（76/8/16）
アジド化合物が蓄積する可能性を回避するため、未希釈の試薬を廃棄した後は排水管を水で洗い流します。アジ化ナトリウムは地方自治体の規定に従い適切に廃棄してください。

ご用意いただくもの:

- サンプリングに必要なサンプリングチューブと材料。
- 使い捨てチップ付き自動ピペット（100および500 µL用）。20
- プラスチックの溶血チューブ。
- 溶血処理後に洗浄操作した赤血球溶血試薬。例：VersaLyse（製品番号A09777）。
- 白血球固定試薬。例：IOTest 3固定液（製品番号A07800）。
- 緩衝化剤（PBS：0.01 Mリン酸ナトリウム、0.145 M塩化ナトリウム、pH 7.2）。
- 遠心機
- 自動アジテーター（ボルテックスタイプ）。
- フローサイトメーター

VERSALYSE試薬による手順

1. 各試験チューブに適切な容量である20 µLの特異的IOTest結合抗体を添加します。
2. 各チューブに100 µLのテスト検体を添加します。チューブを穏やかに攪拌します。
3. 遮光した状態で、室温（18～25°C）で15～20分間インキュベートします。
4. 次に、赤血球の溶解を行います。VersaLyse(製品番号A09777)のリーフレットを参照し、できれば「同時固定」と呼ばれる手順に従います。この手順では、その場で調製した「固定/溶解」混合液1 mLを加えます。直ちに1秒間撹拌し、室温、遮光下で10分間インキュベートします。
5. 室温で5分間遠心分離（150 x g）します。
6. 吸引により上清を除去します。
7. 3 mLのPBSを用いて細胞ペレットを懸濁します。
8. ステップ5を繰り返します。
9. 吸引により上清を除去し、以下により細胞ペレットを再懸濁します。

- 調製液の保存期間が24時間未満の場合、ホルムアルデヒド0.1%を含むPBS 0.5 mLまたは1 mL。（0.1%ホルムアルデヒドを含むPBSは、12.5 µLの10倍濃度のIOTest 3固定液（製品番号A07800）を1 mLのPBSに希釈して作製できます）。
- 調製液を2時間以内に分析する場合、ホルムアルデヒドを含まないPBS 0.5 mLまたは1 mL。

注記：いかなる場合でも、調製液は2～8°Cに保ち、遮光してください。

期待値

弊社検査室では、上記の試薬を用いて見かけ上健常なドナー25名の全血検体を処理しました。本試薬による陽性イベント数測定で得た結果を以下の表に示します。

陽性標的細胞	番号	平均（%）	SD	CV（%）
単球	25	98.49	1.00	1.02
顆粒球	25	99.98	0.02	0.02

これらの値は、代表的な値であることのみを意図しています。各検査室は、正常なドナーの現地の集団から独自の期待値を確立してください。

性能

性能データは、以前に抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブに採取した24時間未満経過した血液検体を対象に、上述の手順を用いて取得しなければなりません。分析は、免疫染色後2時間以内に行います。

特異性

CD15 抗原（Lewis X: Lex）は、lact-N-（neo）fucopentaeose-III分子です。 この糖鎖エピトープは、細胞膜に発現する糖脂質や糖タンパク上に存在します。CD15 抗原は、好中球、好酸球、単球、および正常骨髄前駆細胞に強く発現します。CD15 は、正常な赤血球、血小板またはリンパ球では発現しません。80H5抗体は、後骨髄球、骨髄球、前骨髄球および活性化マクロファージにみられる、骨髄分化初期のエピトープを認識し、顆粒球とも反応します。80H5 モノクロナール抗体は、1993 年に米国ボストンで行われた「ヒト白血球分化抗原に関する第 5 回国際ワークショップ」で分化のCD15 クラスターに割り当てられています(11、12)。

精密性

陽性値の割合は、全血を使用して決定しました。各検体について、2つの装置で各4回を1日に2回、2ロットのCD15-FITCモノクローナル抗体試薬を使用して測定しました。Naviosフローサイトメーターで測定（%陽性）しました。CLSIメソッドEP5-A2に基づいて分析しました。Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.（定量的測定メソッドの精密性性能の評価。）

当社の判定基準は、各集団について測定された陽性イベントの数によって異なります。

- 陽性イベント< 1,500の場合、CV< 15%
- 陽性イベント> 1,500の場合、CV< 10%

単球							
陽性イベント数（平均） = 1056							
	オペレータ間	血球計算器間	ロット内	ロット間	測定間	測定内	総計
CV（%）	0.01	0.01	0.04	0.01	0.01	0.03	0.04
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

顆粒球							
陽性イベント数（平均） = 8446							
	オペレータ間	血球計算器間	ロット内	ロット間	測定間	測定内	総計
CV（%）	0.01	0.03	0.04	0.01	0.01	0.03	0.05
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

正確性

CD15-FITCの正確度は、一連の全血検体についてNaviosフローサイトメーターで測定した規準としての参照試薬と、結果を比較して評価しました。テスト試薬と参照試薬との間のバイアスは、テスト結果の差に基づいて決定しました。バイアスが許容誤差範囲内にある場合、またはp値が有意差を示さない場合（> 0.05）、2つの試薬のテスト結果は同等と見なされます。

得られた結果を、下表にまとめます。

ドナー数 = 25				
陽性標的細胞	平均Δ	Δ % 細胞基準	p値	結果
単球	-0.21	<5	0.058	PASS
顆粒球	0.00	<5	6.149E-01	PASS

ブランク上限と検出限界

試験は、CLSI EP17-A2、Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（臨床検査室測定手順の検出能力の評価）に基づいて実施されました。検出限界（LoD）とは、一貫して検出可能な分析物の最小濃度です。取得した結果は、下表に表示されています。

Positive Target	ブランク上限（細胞/µL）	検出限界（細胞/µL）
単球	1	3
顆粒球	1	3

制限事項

1. フローサイトメトリーは、血球計数器が完全に配列されていない場合、蛍光リークが正しく相殺されていない場合、および領域が慎重に配置されていない場合、誤った結果を示す可能性があります。
2. この試薬は「洗浄なし」溶解手法用に最適化されていないため、洗浄ステップでRBC溶解法を使用することをお勧めします。
3. 取扱説明書および対応する検査室の実施基準に従って作業する限り、正確かつ再現性のある結果が得られます。
4. この試薬の結合抗体は、特異的シグナル/非特異的シグナル比が最適となるようにキャリブレーションされています。そのため、各テストでは、試薬量/検体量比を順守することが重要です。
5. 白血球増加症の場合、白血球数がおよそ5 x 10^9個/Lとなるよう、血液をPBSで希釈してください（12）。
6. 重度の腎不全やヘモグロビン異常など、特定の疾患状態では、赤血球の溶解が遅くなったり、不完全になったり、あるいは溶解できないことさえあります。この場合、染色する前に密度勾配（Ficollなど）を使用して単核細胞を分離することを推奨します（13）。
7. 80H5（CD15）などのルイスX抗原に対するIgMアイソタイプのモノクローナル抗体は、骨髄単球由来細胞の凝集を誘導することが知られています（14）。このような凝集体は対象のゲーティングから除外され、CD15陽性細胞の推定が不正確になる可能性があります。

8. 抗ヒトモノクローナル抗体療法で治療を受けた患者では、治療用抗体による部分的または完全な遮断により、特定の標的抗原の検出が減少または消失する場合があります。
9. CD15-FITCの結果は、患者の総合的な臨床像、例えば諸症状、病歴、他のテストデータ、その他の該当情報などを踏まえて解釈する必要があります。

附録にある例および参考文献を参照してください。

商標

ここに記載されているBeckman Coulter、ロゴマーク、ならびにベックマン・コールターの製品およびサービスマークは、ベックマン・コールターの米国およびその他の国における商標と登録商標です。

その他

欧州連合、および規制制度が欧州連合と同一の国の患者/ユーザー/第三者（体外診断医療機器規制2017/746/EU）については、本機器の使用中または使用の結果、重大な事故が発生した場合、製造元および/または認定代理店ならびに所管の行政機関に報告してください。

「安全性および性能の概要」はEUDAMEDデータベース：ec.europa.eu/tools/eudamedより入手できます。

改訂履歴

改訂番号 AC：	公開日：2019年9月

改訂	**発行日**
AW	2022年2月
ベックマン・コールターのグローバルラベリングポリシーおよびIVD-R（EU）2017/746の要件に準拠するための更新：	
セクションの追加	BSI 2797番号、対象ユーザー、臨床関連性、濃度、精度、正確度、ブランク上限および検出限界、その他、改訂履歴。
情報を追加	「制限事項」のセクションを参照してください
言い回しまたはタイプミスの更新	「手順」、「性能」、「制限」、「警告および注意」、「保管および安定性」のセクションを参照してください。
セクションの削除	臨床応用の例、試薬、検査室内再現性、直線性
セクションの更新	用途、GHSハザード分類、変質や劣化の兆候、手順、附録。

改訂	**発行日**
AX	4月 2023
セクションの更新	カザフ語を追加
セクションの更新	コントロールの調製

改訂版	AY
改訂日	5月 2024
更新された翻訳	**臨床的妥当性：**
セクションの更新	保管および安定性

改訂版	AZ
改訂日	7月 2024
セクションの更新	保管および安定性

記号凡例

記号一覧は、beckman.com/techdocsで入手できます（文書番号B60062）

	规格
特异性	CD15
克隆	80H5
杂交瘤	MOPC 315-43 x balb/c
免疫原	Human granulocytes
免疫球蛋白	IgM
种类	小鼠
纯化	凝胶过滤法
荧光染料	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
摩尔比率	FITC/Ig： 12-14
λ 激励	488 nm
辐射峰值	525 nm
缓冲液	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 和 0.1% NaN_3

IOTest

结合抗体
CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20 µL/测试

供体外诊断使用。

预期用途

此种荧光染料结合抗体可通过流式细胞术对人体生物样本中存在的 CD15 抗原表达细胞群进行定性和非自动化鉴别（参阅下文“样本”部分）。

原理

该测试以特异性单克隆抗体能够与白细胞表达的抗原决定簇相结合这一特性为基础。

将样本与 IOTest 试剂一起培育，以便进行白细胞的特异性染色。然后通过裂解去除红细胞，再使用流式细胞术分析不受裂解过程影响的白细胞。

流式细胞仪可测定细胞的光漫射和荧光。这样可以限定直方图上定义的电子窗口内的感兴趣群体，直方图可以关联光的正交漫射（侧向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。细胞仪上可用的结合两个不同参数的其他直方图可以用于支持设门阶段，具体取决于用户所选的应用。

为了区分阳性染色事件和未染色事件，我们对划定细胞的荧光进行了分析。结果表示为阳性事件相对于设门获得的所有事件的百分比。

预期用户

本产品的预期用户为实验室专业人员。

临床意义

CD15-FITC 是一种 CD15 抗体，这些抗体用于通过流式细胞术鉴定和表征表达 CD15 抗原的细胞。单独使用此产品不能产生任何诊断结论，这也并非其预期用途。

与其他标志物结合使用时，本产品可用于以下一种或多种用途：

- 对疑似有血液系统疾病的血液学异常患者进行辅助鉴别诊断，并对已知患有血液系统疾病的患者进行监测。
- 监测移植过程或结果。
- 辅助造血系统肿瘤患者的预后诊断。

参阅以下参考文献：

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

浓度

请参阅 www.beckman.com 上的特定批次分析证书。

样本

必须使用含有 EDTA 盐作为抗凝血剂的无菌试管采集静脉血。

样本应保存在室温 (18-25°C) 条件下，并注意避免摇动。在吸取测试样本之前，应通过轻轻搅动使样本均质化。

样本必须在静脉采血后的 24 小时内分析。

警告和注意事项

1. 请勿使用已过失效日期的试剂。
2. 切勿冷冻。
3. 使用前使其达到室温 (18–25°C)。
4. 尽量减少曝光。
5. 避免试剂受到微生物污染，否则可能出现错误结果。
6. 应小心处理含有叠氮化钠 (NaN_3) 的抗体溶液。请勿内服，并避免接触皮肤、粘膜和眼睛。

   此外，在中度酸性条件下，叠氮化钠可形成具有潜在危害的叠氮酸。若需要对其进行处置，建议您在将试剂倒入排污系统前用大量清水将其稀释，以避免叠氮化钠在金属管中累积并预防爆炸。
7. 所有血样都必须被视为具有潜在传染性，并且必须小心处理（具体地讲：穿戴防护手套、防护服和护目镜）。

8. 不得通过嘴巴移液，并避免样本以任何方式接触皮肤、黏膜和眼睛。
9. 用于处理的血液试管和一次性材料应丢弃于专门用于焚化的容器中。
10. 应根据当地要求处置试剂和废物。

GHS 危险等级分类

未被归为危险品

SDS 化学品安全技术说明书发布在 beckmancoulter.com/techdocs 上

存储和稳定性

在开瓶前后，必须将此试剂保存在 2-8°C 环境下，并注意避免光照。

根据稳定性研究的开封前保质期：639 天。

已开瓶试剂的稳定性：试剂可稳定保存 180 天。

变质的迹象

试剂物理外观的任何变化都可能表明试剂变质，此时不应使用试剂。

有关其他信息，或者如果收到受损产品，请致电贝克曼库尔特公司客服：800-742-2345（美国或加拿大），或联系您当地的贝克曼库尔特代表。

目录

叠氮化钠防腐剂可在金属下水管道中形成易爆化合物。 请参阅 NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76)（美国国家职业安全与卫生研究所公报：易爆的叠氮化物危险品 [76/8/16]）。
为避免可能产生的叠氮化合物堆积，请在丢弃未经稀释的试剂后用水冲洗排污管。对叠氮化钠的丢弃必须符合当地的相关规定。

试剂盒中未提供的必需材料：

- 采样所需的采样管和材料。
- 可吸取 20100 和 500 µL 试剂的带有一次性吸头的自动移液器。
- 塑料溶血管。
- 红细胞溶解试剂在溶解后清洗。例如：VersaLyse（REF A09777）。
- 白细胞固定剂。例如：IOTest 3 固定剂（REF A07800）。
- 缓冲液（PBS：0.01 M 磷酸钠；0.145 M 氯化钠；pH 7.2）。
- 离心处理。
- 自动搅动器（旋涡型）。
- 流式细胞仪。

VERSALYSE 试剂的使用程序

1. 将适当体积的 20 µL 特异性 IOTest 结合抗体添加到每个测试试管中。
2. 添加 100 µL 测试样本到每个试管中。轻轻摇动试管。
3. 在室温 (18–25°C) 下避光孵育 15-20 分钟。
4. 然后进行红细胞裂解。请参阅 VersaLyse（REF A09777）说明书，最好按照名为“同时固定”的程序实施：加入 1 mL 临时配制的“固定-裂解”混合液。立即摇动 1 秒，并在室温条件下培育 10 分钟，注意避光。
5. 在室温下以 150 x g 离心处理 5 分钟。
6. 通过吸样去除上层清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新悬浮细胞微粒。
8. 重复第 5 步。
9. 通过吸样去除上层清液并使用以下溶液重新悬浮细胞微粒：

- 0.5 mL 或 1 mL PBS 与 0.1% 甲醛，若备品的保存时间低于 24 小时。（可通过在 1 mL PBS 中稀释 10 倍浓度的 12.5 µL IOTest 3 固定剂 [REF A07800] 获取含 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 0.5 mL 或 1 mL PBS，无甲醛，若制剂将在 2 小时内分析。

注释：任何情况下，制备试剂均需在 2-8°C 下避光保存。

预计值

我们在实验室中采用上述试剂处理了 25 名表观健康供体的全血样本。使用该试剂进行阳性目标颗粒计数得到的结果如下表所示：

阳性目标	数量	平均值 (%)	标准差	CV (%)
单核细胞	25	98.49	1.00	1.02
粒细胞	25	99.98	0.02	0.02

这些值仅供参考。各实验室应通过当地正常供体群体确定自己的预期值。

性能

使用上文描述的程序，通过分析之前采集在无菌试管（含有 EDTA 盐作为抗凝血剂）中未达 24 小时的血液样本获得了性能数据。在免疫染色后的 2 小时内进行分析。

特异性

CD15 抗原 (Lewis x / Lex) 是 lacto-N-(neo) fucopentaose III 分子。此碳水化合物表位由表达在细胞膜上的糖脂和糖蛋白所携带。CD15 抗原在嗜中性白细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和常规的骨髓祖细胞中表达很强。在正常红细胞、血小板或淋巴细胞上不表达。80H5 抗体识别出现在晚幼粒细胞、中幼粒细胞、早幼粒细胞和激活的巨噬细胞上的早期骨髓分化表位。也与粒细胞产生反应。在 1993 年于美国波士顿举行的第 5 届人类白细胞分化抗原国际研讨会上，将 80H5 单克隆抗体指定到 CD15 分化集群中 (11, 12)。

精度

阳性百分比值用全血测定。每份样本使用 2 个批次的 CD15-FITC 单克隆抗体试剂，在 2 台仪器上运行 4 次，每天 2 次，持续 1 天。使用 Navios 流式细胞仪进行测量（阳性 %）。分析基于 CLSI method EP5-A2：Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：定量测量方法精度性能的评估）。

我们的接受限取决于针对每个群体所测得的阳性颗粒数：

- 如果阳性颗粒数 < 1,500，则 CV < 15%
- 如果阳性颗粒数 > 1,500，则 CV < 10%

单核细胞							
阳性颗粒数（平均值） = 1056							
	操作人员间	细胞仪间	批次内	批次间	运行间	运行内	总数
CV (%)	0.01	0.01	0.04	0.01	0.01	0.03	0.04
结果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

粒细胞							
阳性颗粒数（平均值） = 8446							
	操作人员间	细胞仪间	批次内	批次间	运行间	运行内	总数
CV (%)	0.01	0.03	0.04	0.01	0.01	0.03	0.05
结果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

准确性

评估 CD15-FITC 的准确性的方法为：将其与参考试剂分别应用于一组全血样本，然后用 Navios 流式细胞仪进行检测，之后比较结果。该测试与参考试剂之间的偏差根据测试结果的差异而确定。如果偏差在允许的错误范围内，或者 p 值没有显著差异 (> 0.05)，则认为这两种试剂的测试结果是等效的。

所得结果如下表所示：

献血人次 = 25				
阳性目标	平均值 Δ	Δ % 细胞标准	p 值	结果
单核细胞	-0.21	<5	0.058	PASS
粒细胞	0.00	<5	6.149E-01	PASS

空白检测限和检测限

研究人员根据 CLSI EP17-A2 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2 临床实验室测量程序检测能力的评估）进行了一项研究。检测限 (LOD) 指可被一致检出的最低分析物浓度。所得结果如下表所示：

Positive Target	空白检测限（个细胞/µL）	检测限（个细胞/µL）
单核细胞	1	3
粒细胞	1	3

限制

1. 若流式细胞术未完全校准、荧光泄漏未得到正确补偿或未在该区域谨慎定位，则流式细胞术可能会产生错误结果。
2. 最好使用包含洗涤步骤的 RBC 裂解技术，因为该试剂未针对“无洗涤”裂解技术进行优化。
3. 只要所使用的程序符合技术插页说明书并遵守实验室管理规范，就可以获得准确和可重现的结果。
4. 校准该试剂的结合抗体，以提供最佳的特异性信号/非特异性信号比率。因此，在每次测试中都务必遵从此试剂体积/样本体积比率。
5. 如果白细胞过多，请在 PBS 中稀释血液，使白细胞浓度降低到约 5 x 10^9 个/L (12)。
6. 在严重肾衰竭、血红蛋白病等特定疾病状态中，红细胞裂解会变得缓慢、不完全，甚至无法实现。在这种情况下，建议在染色前通过密度梯度（例如聚蔗糖）隔离单核细胞 (13)。
7. 类 80H5 抗 Lewis x 抗原 (CD15) IgM 亚型单克隆抗体已知可诱导粒单核细胞源的细胞发生聚集 (14)。这种聚集体可能被排除在目标门控之外，并引起 CD15 阳性细胞估算不正确。
8. 接受抗人单克隆抗体治疗的患者可能会因治疗抗体的部分或完全阻断而难以或无法检测特定的靶抗原。
9. 在判读 CD15-FITC 结果时，需参照患者的整体临床表现，包括：症状、临床病史、其他检查数据和其他适用的信息。

请参阅附录中的示例和参考文献。

商标

Beckman Coulter、标志以及文中提及的贝克曼库尔特产品和服务标记均是美国贝克曼库尔特有限公司在美国和其他国家/地区的商标或注册商标。

其他信息

对于欧盟及具有相同监管制度的国家/地区的患者/用户/第三方（Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices [有关体外诊断医疗装置的法规 2017/746/EU]）：如果在使用本装置期间或由于使用本装置而发生严重事件，请向制造商和/或其授权代表以及当地国家主管部门报告。

Summary of Safety and Performance（安全和性能摘要）提供在 EUDAMED 数据库中：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修订历史

修订版本 AC：	发布日期：2019 年 9 月

修订	**发布日期**
AW	2022 年 2 月
更新文档以符合贝克曼库尔特公司全球标签政策和 IVD-R (EU)2017/746 的要求：	
新增章节	BSI 2797 编号、预期用户、临床意义、浓度、精度、准确性、空白检测限和检测限、其他信息、修订记录。
添加了信息	参阅“限制”章节
更新了措辞或版面	参阅程序、性能、限制、警告和注意事项、储存和稳定性章节。
删除了几个章节	临床应用示例、试剂、实验室内重复性、线性度
更新后章节	预期用途、GHS 危险等级分类、变质的迹象、程序、附录。

修订	**发布日期**
AX	4 月 2023
更新后章节	添加哈萨克语
更新后章节	储存及稳定性

修订版本	AY
修订日期	5 月 2024
更新的翻译	**临床意义**：
更新后章节	修订历史

修订版本	AZ
修订日期	7 月 2024
更新后章节	修订历史

符号注解

符号词汇表发布于 beckman.com/techdocs（文档编号 B60062）

	Specifikacijos
Specifiškumas	CD15
Klonas	80H5
Hibridoma	MOPC 315-43 x balb/c
Imunogenas	Human granulocytes
Imunoglobulinas	IgM
Rūšis	Pelė
Išgryninimas	Gelio filtravimas
Fluorochromas	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molinis santykis	FITC/Ig: 12-14
λ žadinimas	488 nm
Spinduliuotės smailė	525 nm
Buferinis tirpalas	7,2 pH fosfato buferinis tirpalas plius 2 mg/ml GSA ir 0,1 % NaN_3

„IOTest“
Konjuguotas antikūnas CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 ml, 20 µl vienam tyrimui

Diagnostikai *in vitro*.

NAUDOJIMO PASKIRTIS

Naudojant šį su fluorochromu konjuguotą antikūną, srauto citometrijos būdu galima kokybiškai ir neautomatizuotu būdu identifikuoti ląstelių populiacijas, išreiškiančias CD15 antigeną, esantį žmogaus biologiniuose mėginiuose (žr. paskesnį skyrių „Mėginiai“).

PRINCIPAS

Šis tyrimas pagrįstas specifinių monokloninių antikūnų gebėjimu jungtis prie antigenų determinantų, kuriuos ekspresuoja leukocitai.

Specifinis leukocitų dažymo procesas atliekamas mėginį inkubuojant reagentu „IOTest“. Tada lizuojant pašalinami eritrocitai ir srauto citometrijos būdu analizuojami leukocitai, kurie per šį etapą nepaveikiami.

Srauto citometru matuojama ląstelių šviesos sklaida ir fluorescencija. Šiuo būdu galima tiriamąją populiaciją apriboti histogramoje apibrėžtu elektroniniu langu, kuris koreliuoja su šviesos sklaida stačiu kampu (šonine sklaida arba ŠS) ir šviesos sklaida smailu kampu (priekine sklaida arba FS). Kitos citometre įdiegtos histogramos, kuriose derinami du skirtingi parametrai, gali būti naudojamos kaip papildoma priemonė nustatant atrankos intervalus, žiūrint, kokį naudojimo būdą pasirinko naudotojas.

Analizuojant apribotų ląstelių fluorescenciją, teigiamai nudažyti įvykiai atskiriami nuo neigiamai nudažytų. Rezultatai išreiškiami kaip teigiamų įvykių procentinė dalis visų įvykių, gautų nustačius atrankos intervalą, atžvilgiu.

NUMATOMAS NAUDOTOJAS

Šis gaminys skirtas naudoti specialistams laboratorijose.

KLINIKINĖ SVARBA

CD15-FITC yra CD15 antikūnas, naudojamas CD15 antigeną ekspresuojančioms ląstelėms identifikuoti ir charakterizuoti srauto citometrijos būdu. Naudojant vien šį gaminį negalima padaryti jokios diagnostinės išvados ir jis nėra tam skirtas.

Kartu su kitais žymenimis naudojamas šis gaminys gali būti naudojamas vienu ar keliais iš toliau nurodytų tikslų.

- Hematologiškai nenormalių pacientų, kuriems įtariama hematologinė liga, diferencinei diagnozei palengvinti ir pacientams, kuriems jau nustatyta hematologinė liga, stebėti.
- Transplantacijos procesui arba rezultatams stebėti.
- Kraujodaros sistemos neoplazma sergančių pacientų prognozės numatymui palengvinti.

Žr. šias nuorodas:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

KONCENTRACIJA

Žr. konkrečios partijos analizės sertifikatą, pateikiamą interneto svetainėje www.beckman.com.

MĖGINIAI

Veninio kraujo mėginius reikia imti į sterilius mėgintuvėlius su EDTA druska kaip antikoaguliantu.

Mėginius reikia laikyti kambario temperatūroje (18–25 °C) ir nekratyti. Prieš paimant tiriamąjį mėginį reikia atsargiai sujudinti mėginus, kad jie taptų vienalyčiai.

Mėginiai turi būti išanalizuoti per 24 valandas po venų punkcijos.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. Reagento nenaudoti pasibaigus galiojimo laikui.
2. Neužšaldyti.
3. Prieš naudojant reikia leisti sušilti iki kambario temperatūros (18–25 °C).
4. Laikykite kuo mažiau apšviestoje vietoje.
5. Saugokite, kad reagentai nebūtų užteršti mikrobais, nes antraip gali būti gaunami klaidingi rezultatai.

6. Su antikūnų tirpalais, kurių sudėtyje yra natrio azido (NaN_3), reikia elgtis atsargiai. Nevartokite į vidų ir saugokitės, kad nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.

   Be to, rūgščioje terpėje natrio azidas gali išskirti potencialiai pavojingą hidrazo rūgštį. Jei jį reikia pašalinti, prieš pilant į nutekėjimo sistemą, reagentą rekomenduojama praskiesti dideliu vandens kiekiu, kad būtų išvengta natrio azido kaupimosi metaliniuose vamzdžiuose ir išvengta sprogimo pavojaus.
7. Visi kraujo mėginiai turi būti laikomi potencialiai užkrečiamais ir su jais turi būti elgiamasi atsargiai (itin svarbu dėvėti apsaugines pirštines, apsiaustus ir akinius).
8. Jokiu būdu nesiurbkite burna ir saugokitės, kad mėginių nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.
9. Panaudoti kraujo mėgintuvėliai ir vienkartinės medžiagos turėtų būti išmetami į sudeginamas ad hoc talpyklas.
10. Reagentai ir atliekos turi būti šalinami pagal vietinius reikalavimus.

GHS PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Neklasifikuojama kaip pavojinga

SDS Saugos duomenų lapą galima gauti interneto svetainėje beckmancoulter.com/techdocs

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Prieš atidarant ir atidarius buteliuką reagentas turi būti laikomas 2–8 °C temperatūroje ir saugomas nuo šviesos.

Uždaryto buteliuko tinkamumo naudoti laikas pagal stabilumo tyrimą: 639 d.

Atidaryto buteliuko stabilumas: reagentas lieka stabilus 180 d.

KOKYBĖS PABLOGĖJIMO POŽYMIAI

Bet koks reagentų fizinės išvaizdos pokytis gali reikšti pablogėjusias gaminio savybes, todėl tokio reagento naudoti negalima.

Prireikus papildomos informacijos arba gavę sugadintą gaminį skambinkite į „Beckman Coulter“ klientų aptarnavimo skyrių telefonu 800-742-2345 (JAV arba Kanadoje) arba susisiekite su vietiniu „Beckman Coulter“ atstovu.

TURINYS

Natrio azido konservantas metalo vamzdynuose gali sudaryti sprogiuosius junginius. Žr. „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (Nacionalinio darbų saugos ir sveikatos instituto biuletenį: sprogstamojo azido pavojus) (76-8-16).
Norėdami išvengti galimo azido junginių susikaupimo, išpylę į kanalizacijos sistemą neatskiesto reagento, vandeniu praplaukite nutekamuosius vamzdžius. Natrio azidas turi būti šalinamas pagal taikomų vietos reglamentų reikalavimus.

REIKALINGOS, BET SU RINKINIU NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS

- Mėginiams imti reikalingi mėginių ėmimo mėgintuvėliai ir medžiagos.
- Automatinės pipetės su vienkartiniais antgaliais, skirtos 20, 100 ir 500 µl tūrio mėginiams.
- Plastikiniai hemolizės mėgintuvėliai.
- Raudonųjų kraujo kūnelių lizavimo reagentas su plovimo etapu baigus lizuoti. Pavyzdys: „VersaLyse“ (kat. nr. A09777).
- Leukocitų fiksavimo reagentas. Pavyzdys: fiksavimo tirpalas „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800).
- Buferinis tirpalas (fosfato buferinis tirpalas: 0,01 M natrio fosfato; 0,145 M natrio chlorido; pH 7,2).
- Nucentrifuguokite.
- Automatinis maišytuvas (sūkurinio tipo).
- Srauto citometras.

PROCEDŪRA NAUDOJANT REAGENTĄ „VERSALYSE“

1. Į kiekvieną tiriamąjį mėgintuvėlį įpilkite po 20 µl specifinio „IOTest“ konjuguoto antikūno.
2. Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite po 100 µl tiriamojo mėginio. Mėgintuvėlius atsargiai išmaišykite sūkuriniu būdu.
3. 15–20 minučių inkubuokite kambario temperatūroje (18–25 °C), saugodami nuo šviesos.
4. Tai padarę sulizuokite eritrocitus. Žr. „VersaLyse“ (kat. Nr. A09777) informacinį lapelį; rekomenduojama laikytis procedūros, vadinamos „su vienalaikiu fiksavimu“, kurios metu įpilama 1 ml prieš pat naudojant paruošto fiksavimo ir lizavimo mišinio. Tuojau pat vieną sekundę maišykite sūkuriniu būdu ir 10 minučių inkubuokite kambario temperatūroje, saugodami nuo šviesos.
5. 5 minutes centrifuguokite veikiant 150 x g jėgai kambario temperatūroje.
6. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą.
7. Iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami 3 ml fosfato buferinį tirpalą.
8. Pakartokite 5 veiksmą.
9. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą ir iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami toliau nurodytas medžiagas.

- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo ir 0,1 % formaldehido, jeigu preparatai bus laikomi mažiau nei 24 val. (0,1 % formaldehido fosfato buferinio tirpalo galima gauti 12,5 µl 10X koncentracijos fiksavimo tirpalo „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800) atskiedus 1 ml fosfato buferinio tirpalo.)
- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo be formaldehido, jeigu preparatai bus analizuojami per 2 val.

Pastaba. Visais atvejais preparatus laikykite 2–8 °C temperatūroje ir saugodami nuo šviesos.

TIKĖTINOS VERTĖS

Mūsų laboratorijose 25 tariamai sveikų donorų viso kraujo mėginiai buvo apdoroti pirmiau aprašytu reagentu. Toliau pateiktoje lentelėje nurodyti dominančių teigiamų įvykių skaičiaus rezultatai, gauti naudojant šį reagentą.

Teigiamas taikinys	Skaičius	Vidurkis (%)	SN	VK (%)
Monocitai	25	98,49	1,00	1,02
Granulocitai	25	99,98	0,02	0,02

Šios vertės tėra reprezentacinės. Kiekviena laboratorija turi iš vietinės normalių donorų populiacijos nustatyti savo numatomas vertes.

VEIKIMAS

Veikimo duomenys gauti, pirmiau aprašytą procedūrą atliekant su mažiau nei 24 val. senumo mėginiais, kurie buvo anksčiau paimti į sterilius mėgintuvėlius su antikoaguliantu EDTA druska. Analizė atliekama ne vėliau kaip 2 val. po imunodažymo.

SPECIFIŠKUMAS

CD15 antigenas („Lewis x" / „Lex") yra lakto-N-(neo) fukopentaozės III molekulė. Šis angliavandenio epitopas pernešamas ir ant glikolipidų, ir ant glikoproteinų, išreiškiamų ant ląstelės membranos. CD15 antigenas gausiai išreiškiamas neutrofiluose, eozinofiluose, monocituose ir normaliose mieloidinėse pirmtakinėse ląstelėse. Jis neišreiškiamas ant normalių eritrocitų, trombocitų arba limfocitų. 80H5 antikūnas atpažįsta ankstyvosios mieloidinės diferenciacijos epitopą, kuris aptinkamas ant metamielocitų, mielocitų, promielocitų ir aktyvintų makrofagų. Jis taip pat reaguoja su granuliocitais. 80H5 monokloninis antikūnas buvo priskirtas CD15 diferenciacijos klasteriui per penktąjį Tarptautinį žmogaus leukocitų diferenciacijos antigenų seminarą, kuris vyko Bostone, JAV, 1993 m. (10, 11).

GLAUDUMAS

Procentinės teigiamosios vertės nustatytos naudojant visą kraują. Kiekvienas mėginys buvo analizuojamas 4 kartus: 1 dieną, po du kartus, naudojant 2 prietaisus ir 2 CD15-FITC monokloninių antikūnų reagentų partijas. Matavimai (% teigiamų) buvo atlikti srauto citometru „Navios". Analizė atlikta pagal „CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods" (CLSI metodą EP5-A2 „Kiekybinių matavimo metodų glaudumo veikimo vertinimas").

Mūsų priėmimo kriterijai priklauso nuo kiekvienoje populiacijoje nustatyto teigiamų įvykių skaičiaus:

- jeigu teigiamų įvykių < 1 500, VK < 15 %
- Jeigu teigiamų įvykių > 1 500, VK < 10 %

Monocitai							
Teigiamų įvykių skaičius (vidurkis) = 1056							
	Skirtingų operatorių	Skirtingų citometrų	Tos pačios partijos	Skirtingų partijų	Skirtingų analizių	Tos pačios analizės	Iš viso
VK (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
REZULTATAI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocitai							
Teigiamų įvykių skaičius (vidurkis) = 8446							
	Skirtingų operatorių	Skirtingų citometrų	Tos pačios partijos	Skirtingų partijų	Skirtingų analizių	Tos pačios analizės	Iš viso
VK (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
REZULTATAI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TIKSLUMAS

CD15-FITC tikslumas vertintas palyginant rezultatus su etaloniniu reagentu kaip patvirtinamąja priemone, srauto citometru „Navios" analizuojant viso kraujo mėginių rinkinį. Bandomojo ir etaloninio reagentų paklaida nustatyta pagal tyrimo rezultatų skirtumą. Jeigu paklaida neviršija leidžiamojo paklaidų diapazono arba p reikšmė nerodo reikšmingo skirtumo (> 0,05), abiejų reagentų tyrimo rezultatai laikomi lygiaverčiais.

Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Donorų skaičius = 25				
Teigiamas taikinys	Vidurkis Δ	Δ % ląstelių kriterijai	p reikšmė	REZULTATAI
Monocitai	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulocitai	0,00	<5	6,149E-01	PASS

RUOŠINIO RIBA IR APTIKIMO RIBA

Pagal CLSI EP17-A2 dokumentą „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures" (Klinikinių laboratorinių matavimų procedūrų aptikimo pajėgumų vertinimas) atliktas mokslinis tyrimas. Aptikimo riba (LOD) yra mažiausioji analitės koncentracija, kurią galima nuolat aptikti. Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Positive Target	Ruošinio riba (ląst./µl)	Aptikimo riba (ląst./µl)
Monocitai	1	3
Granulocitai	1	3

RIBOJIMAI

1. Atliekant srauto citometriją klaidingi rezultatai gali būti gauti tuo atveju, jei citometras nebuvo tiksliai sureguliuotas, fluorescencijos nuotėkiai nebuvo tinkamai kompensuoti ar regionai nebuvo kruopščiai išdėstyti.
2. Pageidautina taikant RBC lizavimo metodą atlikti plovimo etapą, nes šis reagentas nėra optimizuotas lizavimo „be plovimo" metodikoms.
3. Tikslūs ir atkuriami rezultatai bus gaunami tol, kol naudojamos procedūros atitiks techniniame lapelyje pateiktą informaciją ir bus atliekamos laikantis geros laboratorijos praktikos.
4. Šio reagento konjuguotas antikūnas sukalibruotas taip, kad būtų gaunamas geriausias specifinio ir nespecifinio signalų santykis. Dėl šios priežasties atliekant kiekvieną tyrimą svarbu tiksliai laikytis nurodyto reagento ir mėginio tūrių santykio.
5. Hiperleukocitozės atveju kraują atskieskite fosfato buferiniu tirpalu, kad gautumėte maždaug 5 x 10^9 leukocitų/l koncentraciją (12).

6. Sergant kai kuriomis ligomis, pavyzdžiui, sunkiu inkstų nepakankamumu arba hemoglobinopatijomis, eritrocitai gali būti lėtai arba nevisiškai sulizuojami arba jų visai neįmanoma lizuoti. Tokiu atveju rekomenduojama prieš dažant atskirti vienbranduoles ląsteles tankio gradiento būdu (pavyzdžiui, Ficollo) (13).
7. Žinoma, kad Luiso x antigeno IgM izotipo monokloniniai antikūnai, pvz., 80H5 (CD15), sąlygoja mielomonocitinės kilmės ląstelių agregatų susidarymą (14). Tokie agregatai gali būti pašalinti iš tiriamųjų intervalų ir sąlygoti netikslius CD15 teigiamųjų ląstelių įverčius.
8. Jeigu pacientams atliekama žmogaus monokloninių antikūnų terapija, specifiniai tiksliniai antigenai gali būti aptinkami prasčiau arba visai neaptinkami dėl dalinio arba visiško terapinio antikūno blokavimo.
9. CD15-FITC rezultatai turi būti interpretuojami remiantis bendra paciento klinikine būkle, atsižvelgiant į: simptomus, klinikinę anamnezę, papildomų tyrimų duomenis ir kitą atitinkamą informaciją.

Pavyzdžiai ir nuorodos pateikti priede.

PREKIŲ ŽENKLAI

„Beckman Coulter“, stilizuotas logotipas ir kiti šiame dokumente nurodyti „Beckman Coulter“ gaminių ir prekių ženklai yra „Beckman Coulter, Inc.“ prekių ženklai arba registruotieji prekių ženklai Jungtinėse Amerikos Valstijose ir kitose šalyse.

PAPILDOMA INFORMACIJA

Pacientams / naudotojams / trečiosioms šalims Europos Sąjungoje ir šalyse, kuriose galioja identiški reguliaciniai reikalavimai (Reglamentas (ES) 2017/746 dėl in vitro diagnostikos medicinos priemonių): jeigu naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko sunkus incidentas, apie jį praneškite gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui ir savo šalies nacionalinei institucijai.

„Summary of Safety and Performance“ (Saugos ir veikimo suvestinė) pateikiama EUDAMED interneto svetainėje ec.europa.eu/tools/eudamed.

PERŽIŪRŲ ISTORIJA

PERŽIŪRA AC:	Leidimo data: 2019 m. rugsėjis

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AW	2022 m. vasaris
Atnaujinta pagal „Beckman Coulter“ visuotinių ženklinimo taisyklių ir IVD-R (ES)2017/746 reikalavimus.	
Pridėti skyriai	BSI 2797 numeris, „Numatomas naudotojas“, „Klinikinė svarba“, „Koncentracija“, „Glaudumas“, „Tikslumas“, „Ruošinio riba ir aptikimo riba“, „Papildoma informacija“, „Peržiūrų istorija“.
Pridėta informacija	Žr. skyrių „Ribojimai“
Frazavimo arba tipografiniai atnaujinimai	Žr. skyrius „Procedūra“, „Veikimas“, „Ribojimai“, „Įspėjimai ir atsargumo priemonės“, „Laikymas ir stabilumas“.
Pašalinti skyriai	„Klinikinio naudojimo pavyzdys“, „Reagentai“, „Laboratorijos vidaus atkartojamumas“, „Tiesiškumas“
Atnaujinti skyriai	„Paskirtis“, „Visuotiniai suderintos sistemos (GHS) pavojingumo klasifikacija“, „Kokybės pablogėjimo požymiai“, „Procedūra“, priedas.

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AX	Balandis 2023
Atnaujinti skyriai	Pridėta kazachų kalba
Atnaujinti skyriai	Laikymas ir stabilumas

Peržiūrėta versija	AY
Peržiūros data	Gegužė 2024
Atnaujintas vertimas	**Klinikinė svarba:**
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Peržiūrėta versija	AZ
Peržiūros data	Liepa 2024
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Simbolių sutartiniai ženklai

Simbolių terminų žodynas pateikiamas interneto svetainėje beckman.com/techdocs (dokumento numeris B60062).

	Specifikációk
Specificitás	CD15
Klón	80H5
Hibridóma	MOPC 315-43 x balb/c
Immunogén	Human granulocytes
Immunglobulin	IgM
Faj	Egér
Tisztítás	Gél szűrés kromatográfia
Fluorokróm	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Moláris arány	FITC / Ig: 12-14
λ gerjesztés	488 nm
Kibocsátási csúcs	525 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plusz 2 mg/mL BSA és 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugált antitest CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20 µL/teszt

***In vitro* diagnosztikai használatra.**

RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

Ez a fluorokrómmal konjugált antitest lehetővé teszi a humán biológiai mintákban a(z) CD15 antigént expresszáló sejtpopulációk áramlási citometriával végzett kvalitatív és nem automatizált azonosítását (lásd a „Minták” című alábbi fejezet).

MŰKÖDÉSI ELV

A vizsgálat azon alapul, hogy a specifikus monoklonális antitestek képesek-e kötődni a leukociták által expresszált antigén-determinánsokhoz.

A leukociták specifikus festése a mintának az IOTest reagenssel való inkubálásával történik. Az eritrocitákat ezután lízissel eltávolítják, és a leukocitákat, amelyekre nincs hatással ez a művelet, analizálni lehet áramlási citometriával.

Az áramlási citométer a sejtek fényszórását és fluoreszcenciáját méri. Ez lehetővé teszi a vizsgált populáció elhatárolását egy olyan elektronikus ablakon belül, amelyet a derékszögben szórt fény (oldalszóródás vagy SS) és a hegyes szögben szórt fény (előreszóródás vagy FS) intenzitását összehasonlító hisztogramon határoztak meg. Más, a citométer által mértek közül két paramétert kombináló hisztogramok használhatók kiegészítésként a kapuzási fázisban, a felhasználó által választott alkalmazástól függően.

Az elkülönített sejtek fluoreszcenciáját a rendszer elemzi a pozitívan festődött események megkülönböztetésére a nem festődöttektől. Az eredmények kifejezése a pozitív események százalékos arányaként történik a kapuzás által regisztrált összes eseményhez képest.

CÉLFELHASZNÁLÓ

Ez a termék laboratóriumi szakemberek általi használatra készült.

KLINIKAI JELENTŐSÉG

A CD15-FITC egy CD15 antitest, amely a(z) CD15 antigént expresszáló sejtek áramlási citometriás azonosítására és jellemzésére szolgál. Ez a termék önmagában nem képes arra, és nem is arra a célra lett kialakítva, hogy bármilyen diagnosztikai következtetést generáljon.

Más markerekkel kombinált használata esetén ez a termék az alábbiak közül egy vagy több célra használható:

- Segít azon rendellenes vérképű betegek differenciáldiagnózisában, akiknél fennáll hematológiai betegség gyanúja, valamint az ismert hematológiai betegséggel rendelkező betegek monitorozásában.
- A transzplantációs folyamat vagy eredmények monitorozására.
- Segít a hemopoetikus neoplasiaban szenvedő betegek prognózisának felállításában.

Lásd a következő hivatkozásokat:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

KONCENTRÁCIÓ

Lásd: www.beckman.com, tételspecifikus analitikai bizonylat.

MINTÁK

A vénás vért steril, alvadásgátlóként EDTA sóját tartalmazó csövekbe kell gyűjteni.

A mintákat szobahőmérsékleten (18–25 °C között) kell tárolni, és nem szabad felrázni. A tesztminta vétele előtt a mintákat homogenizálni kell óvatos rázással.

A minták elemzését a vénaszúráshoz képest 24 órán belül el kell végezni.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

1. Ne használja a reagenst a lejárati időn túl.
2. Fagyasztani tilos.
3. Használat előtt hagyja felmelegedni szobahőmérsékletre (18–25 °C).
4. Minimalizálja a fényexpozíciót.
5. Kerülje el a reagensek mikrobiális kontaminációját, ebben az esetben hamis eredményeket kaphat.

6. A nátrium-azidot (NaN_3) tartalmazó antitestoldatokat körültekintően kell kezelni. A terméket nem szabad lenyelni, és nem érintkezhet bőrrel, nyálkahártyával vagy a szemmel.

   Sőt, savas közegben a nátrium-azid potenciálisan robbanékony nitrogén-hidrogénsavat képez. Ha ártalmatlanítani kell, javasolt a reagenst nagy mennyiségű vízzel hígítani a szennyvízcsatornába öntés előtt, hogy ne halmozódhasson fel nátrium-azid a fémcsövekben, és ne keletkezzen robbanásveszély.
7. Minden vérmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és óvatosan kell kezelni (azaz védőkesztyűt, köpenyt és szemüveget viselve).
8. Soha ne pipettázzon szájjal, és a minták soha ne érintkezzenek szemmel, bőrrel vagy nyálkahártyával!
9. A vércsöveket és a kezeléshez használt, egyszer használatos anyagokat olyan ad hoc tartóedényben kell kidobni, amely égetésre szolgál.
10. A reagenseket és a hulladékot a helyi követelmények szerint kell ártalmatlanítani.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Nincs veszélyes anyagként besorolva

SDS A biztonsági adatlap megtalálható a következő weboldalon: beckmancoulter.com/techdocs

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A reagenst a fiola kibontása előtt és után is 2 és 8 °C között, fénytől védve kell tárolni.

A lezárt fiola eltarthatósági ideje a stabilitási vizsgálat alapján: 639 nap.

A felbontott fiola stabilitása: a reagens 180 napig stabil.

A MINŐSÉGROMLÁS JELEI

A reagensek fizikai megjelenésének bármilyen megváltozása megromlásra utalhat, és a reagenst nem szabad felhasználni.

További információkért, illetve sérült termék kézhezvétele esetén hívja a Beckman Coulter ügyfélszolgálatát a 800-742-2345-es számon (az Amerikai Egyesült Államokban és Kanadában), vagy lépjen kapcsolatba a Beckman Coulter területileg illetékes képviselőjével.

A CSOMAG TARTALMA

A nátrium-azid tartósítószer robbanékony vegyületeket képezhet a fém lefolyócsövekben. Lásd az alábbi NIOSH-közleményt: Explosive Azide Hazard (Robbanékony azidokkal kapcsolatos veszélyek) (76. 8. 16.).
Az azidvegyületek esetleges felhalmozódásának elkerülése érdekében a hígítatlan reagens szennyvízlefolyóba történő kiöntése után a szennyvízvezetéket vízzel át kell öblíteni. A nátrium-azid ártalmatlanítását a vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell végezni.

SZÜKSÉGES, DE A KÉSZLETTEL NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK:

- Mintacsövek és a mintavételhez használt anyagok.
- Automata pipetták eldobható hegyekkel 20, 100 és 500 µL-hez.
- Műanyag hemolíziscsövek.
- Vörösvértesteket lizáló reagens, a lízis után mosási fázissal. Például: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leukocitafixáló reagens. Például: IOTest 3 fixálóoldat (Ref. A07800).
- Puffer (PBS: 0,01 M nátrium-foszfát; 0,145 M nátrium-klorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automata keverő (vortex típusú).
- Áramlási citométer.

ELJÁRÁS VERSALYSE REAGENS ESETÉN

1. Adjon megfelelő mennyiségű, 20 µL speciális IOTest konjugált antitestet az egyes kémcsövekbe.
2. Adjon 100 µL tesztmintát mindegyik mintacsőhöz. Óvatosan vortexelje a mintacsöveket.
3. Inkubálja 15–20 percig szobahőmérsékleten (18–25 °C), fénytől védett helyen.
4. Ezután végezze el a vörösvértestek lízisét. Kövesse a VersaLyse (Ref. A09777) füzet utasításait és lehetőség szerint a „konkomittáns fixációval” nevű eljárást alkalmazza, amelynek során 1 mL, akkor és ott elkészített „Fix-and-Lyse” keveréket kell hozzáadni a mintához. Azonnal vortexelje egy másodpercig, majd inkubálja 10 percig szobahőmérsékleten, fénytől védve.
5. Centrifugálja 5 percig szobahőmérsékleten, 150 x g-vel.
6. Felszívás segítségével távolítsa el a felülúszót.
7. Reszuszpendálja a sejtpelletet 3 mL PBS-ben.
8. Ismételje meg az 5. lépést.
9. Felszívással távolítsa el a felülúszót, és reszuszpendálja a sejtpelletet az alábbi reagenssel:

- 0,1% formaldehidet tartalmazó 0,5 mL vagy 1 mL PBS, ha a készítményt kevesebb mint 24 óráig fogják tárolni. (0,1% formaldehidet tartalmazó PBS készítéséhez hígítson 12,5 µL IOTest 3 fixálóoldatot (Ref. A07800) a 10X koncentrációra 1 mL PBS-ben.)
- 0,5 mL vagy 1 mL PBS formaldehid nélkül, ha a preparátum elemzése 2 órán belül fog történni.

Megjegyzés: A készítményeket fénytől védve, 2 és 8 °C között kell tárolni.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

A laboratóriumainkban látszólag egészséges 25 donorok teljesvér-mintáit kezeltük a fent ismertetett reagenssel. Az ezzel a reagenssel kapott vizsgált pozitív események számolási eredményeit az alábbi táblázat tartalmazza:

Pozitív cél	Szám	Átlag (%)	SD	CV (%)
Monociták	25	98,49	1,00	1,02
Granulociták	25	99,98	0,02	0,02

Ezek az értékek csak tájékoztatásul szolgálnak. Az egyes laboratóriumoknak meg kell határozniuk a saját várt értékeiket a helyi egészséges donorok populációjából.

TELJESÍTMÉNY

A teljesítményadatokat a fent leírt eljárás segítségével lehet megkapni az alvadásgátlóként EDTA-sót tartalmazó steril csövekbe levett vérmintákból a vérvételt követő kevesebb mint 24 órán belül. Az analízist az immunfestést követő 2 órán belül kell elvégezni.

SPECIFICITÁS

A CD15 antigén (Lewis x/Lex) a lakto-N-(neo) fukopentaóz III molekula. Ezt a szénhidrát epitópot a sejtmembránon kimutatható glikolipidek és glikoproteinek is hordozzák. A CD15 erősen kimutatható a neutrofilokon, eozinofilokon, monocitákon és a normál mieloid prekurzor sejteken. Nem jelenik meg a normál eritrocitákon, vérlemezkéken és limfocitákon. A 80H5 antitest felismeri a korai mieloid differenciálódási epitópot, mely megtalálható a metamielocitákon, a mielocitákon, a promielocitákon és az aktivált makrofágokon. Reakcióba lép a granulocitákkal is. A 80H5 monoklonális antitestet a CD15 differenciálódási csoporthoz rendelték az ötödik International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Műhely az emberi leukocita differenciálódási antigénekről) során, Bostonban, az Egyesült Államokban, 1993-ban (10, 11).

PRECIZITÁS

A százalékos pozitív értékeket teljes vér felhasználásával határozták meg. Mindegyik mintát 4-szer futtatták, naponta kétszer 1 napig, 2 berendezésen, a CD15-FITC monoklonális antitest reagensek 2 gyártási tételének felhasználásával. A méréseket (pozitív %) Navios áramlási citométerrel végezték. Az analízist a CLSI által közzétett EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (A kvantitatív mérési módszerek precizitási teljesítményének értékelése) módszer alapján végezték.

Az elfogadhatósági kritériumaink az egyes populációknál mért pozitív események számától függ:

- Ha a pozitív esemény < 1500, CV < 15%
- Ha a pozitív esemény > 1500, CV < 10%

Monociták							
Pozitív események száma (átlag) = 1056							
	Felhasználók közötti	Citométerek közötti	Egy gyártási tételen belüli	Eltérő gyártási tételek közötti	Futtatások közötti	Egy futtatáson belüli	Összes
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
EREDMÉNYEK	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulociták							
Pozitív események száma (átlag) = 8446							
	Felhasználók közötti	Citométerek közötti	Egy gyártási tételen belüli	Eltérő gyártási tételek közötti	Futtatások közötti	Egy futtatáson belüli	Összes
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
EREDMÉNYEK	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PONTOSSÁG

A CD15-FITC pontosságának értékeléséhez összevetették egy referencia reagens és a Navios áramlási citométeren futtatott teljesvér-minták eredményeit. A teszt- és a referenciareagens közötti torzítást a teszteredmények közötti különbségek alapján határozták meg. Ha a torzítás a megengedhető hibatartományon belül maradt, vagy ha a p-érték nem jelzett szignifikáns különbséget (> 0,05), akkor a két reagenssel kapott teszteredményeket egyenértékűnek tekintették.

Az eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Donorok száma = 25				
Pozitív cél	Átlag Δ	Δ % sejt kritériumok	p-érték	EREDMÉNYEK
Monociták	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulociták	0,00	<5	6,149E-01	PASS

VAK HATÁRÉRTÉK ÉS KIMUTATHATÓSÁGI HATÁRÉRTÉK

Vizsgálatot végeztek a CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (A klinikai laboratóriumi mérési eljárások kimutatási képességének értékelése) útmutatónak megfelelően. Kimutathatósági határérték (LOD) – a vizsgált anyag következetesen kimutatható legalacsonyabb koncentrációja. A kapott eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Positive Target	Vak határérték (sejt/µL)	Kimutathatósági határérték (sejt/µL)
Monociták	1	3
Granulociták	1	3

KORLÁTOZÁSOK

1. Az áramlási citometria hamis eredményeket adhat, ha a citométert nem igazítják tökéletesen, ha nem kompenzálják megfelelően a fluoreszcenciaszivárgást és ha a régiókat nem pozicionálják elég gondosan.
2. Érdemes egy mosási lépést is tartalmazó vörösvértest lizáló módszert alkalmazni, mivel ezt a reagenst nem optimalizálták „mosás nélküli” lizáló módszerekhez.

3. Pontos és megismételhető eredmények születnek, amennyiben az eljárásokat a műszaki tájékoztató szerint és a helyes laboratóriumi gyakorlattal összhangban végzik el.
4. A reagens konjugált antitestjét úgy kalibrálták, hogy a legjobb specifikus jel/nem specifikus jel arányt produkálja. Ezért fontos, hogy minden tesztnél betartsa a reagenstérfogat/mintatérfogat arányt.
5. Emelkedett leukocitaszám esetén hígítsa a vért annyi PBS hozzáadásával, hogy a fehérvérsejtek koncentrációja körülbelül 5 x 10^9 leukocita/L legyen (12).
6. Bizonyos betegségek, például súlyos veseelégtelenség vagy hemoglobinopátiák esetében előfordulhat, hogy a vörösvértestek lízise lassú, részleges, vagy akár lehetetlen. Ilyenkor javasolt a festés előtt a mononukleáris sejtek elkülönítése egy sűrűséggradiens alapján működő eljárással (ilyen például a Ficoll) (13).
7. Ismert, hogy a Lewis x antigén, pl. a 80H5 (CD15) elleni, IgM izotípusú monoklonális antitestek a mielomonocitás eredetű sejtek aggregációját okozzák (14). Az ilyen aggregátumok a vizsgált sejteket tartalmazó kapuk területén kívül eshetnek; ilyenkor pontatlanná válik a CD15-pozitív sejtek mennyiségének becslése.
8. A humán antigén elleni monoklonális antitest terápiában részesülő betegek esetében a specifikus célantigén kimutatásának mértéke csökkenhet vagy sikertelen lehet az alkalmazott terápiás antitest által okozott részleges vagy teljes gátlás miatt.
9. Az CD15-FITC eredményeket a beteg teljes klinikai képének fényében kell értelmezni, figyelembe véve a tüneteket, a kórtörténetet, más tesztek eredményeit és egyéb releváns adatokat.

A példákért és az irodalomjegyzékért lásd a Függeléket.

VÉDJEGYEK

A Beckman Coulter, a stilizált logó, valamint az itt említett Beckman Coulter termék- és szolgáltatásjegyek a Beckman Coulter, Inc. védjegyei vagy bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és más országokban.

TOVÁBBI INFORMÁCIÓK

Az Európai Unióban, illetve az EU-val azonos szabályozási rendszerrel (lásd: az EU 2017/746 rendelete az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökről) rendelkező országokban élő beteg/felhasználó/harmadik fél esetében: ha a jelen eszköz használata során vagy használata eredményeként súlyos váratlan esemény történik, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy hivatalos területi képviselőjének, valamint az illetékes nemzeti hatóságnak.

A Summary of Safety and Performance (A biztonság és a teljesítmény összefoglalása) című dokumentum elérhető az EUDAMED adatbázisban: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ÁTDOLGOZÁSOK

AC ÁTDOLGOZÁS:	Közzététel dátuma: 2019. szeptember

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AW	2022. február
A Beckman Coulter globális címkézési szabályzatának megfelelő, valamint az IVD-R (EU) 2017/746 követelmények szerinti frissítések:	
Hozzáadott szakaszok	BSI 2797 szám, Célfelhasználó, Klinikai jelentőség, Koncentráció, Precizitás, Pontosság, Vak határérték és kimutathatósági határérték, További információk, Átdolgozások.
Új információk	Lásd a Korlátozások című részeket
Megfogalmazási vagy tipográfiai frissítések	Lásd az Eljárás, Teljesítmény, Korlátozások, Figyelmeztetések és óvintézkedések, Tárolás és stabilitás című részeket.
Eltávolított szakaszok	Példa klinikai alkalmazásra, Reagensek, Laboratóriumon belüli reprodukálhatóság, Linearitás
Frissített szakaszok	Rendeltetésszerű használat, GHS szerinti veszélyességi besorolás, A minőségromlás jelei, Eljárás, Függelék.

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AX	Április 2023
Frissített szakaszok	Kazak nyelv hozzáadása
Frissített szakaszok	Tárolás és stabilitás

Átdolgozott verzió	AY
Átdolgozás dátuma	Május 2024
Frissített fordítások	**Klinikai jelentőség:**
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Átdolgozott verzió	AZ
Átdolgozás dátuma	július 2024
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Szimbólumok listája

A szimbólumok jegyzéke elérhető a következő weboldalon: beckman.com/techdocs (dokumentumszám: B60062)

	Specyfikacje
Swoistość	CD15
Klon	80H5
Hybrydoma	MOPC 315-43 x balb/c
Immunogen	Human granulocytes
Immunoglobulina	IgM
Gatunek	Mysz
Oczyszczanie	Chromatografia filtracji żelowej
Fluorochrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Stosunek molowy	FITC / Ig: 12-14
Wzbudzenie λ	488 nm
Pik emisji	525 nm
Bufor	PBS o pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Przeciwciało skoniugowane CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

Do użytku diagnostycznego *in vitro*.

PRZEZNACZENIE

To przeciwciało skoniugowane z fluorochromem umożliwia jakościową i niezautomatyzowaną identyfikację populacji komórek wykazujących ekspresję antygenu CD15 obecnego w ludzkich próbkach biologicznych metodą cytometrii przepływowej (zobacz część „Próbki" poniżej).

ZASADA DZIAŁANIA

Ten test jest oparty na zdolności swoistych przeciwciał monoklonalnych do wiązania się z determinantami antygenowymi ekspresjonowanymi przez lekukocyty.

Barwienie swoiste leukocytów jest wykonywane poprzez inkubację próbki z odczynnikiem IOTest. Krwinki czerwone są następnie usuwane poprzez lizę, a leukocyty, na które ta liza nie wpływa, są analizowane metodą cytometrii przepływowej.

Cytometr przepływowy mierzy rozpraszanie światła i fluorescencję komórek. Umożliwia to odgraniczenie populacji zainteresowania w elektronicznym oknie zdefiniowanym na histogramie, który koreluje ortogonalne rozpraszanie światła (rozpraszanie boczne — Side Scatter, w skrócie SS) i rozpraszanie światła pod wąskim kątem (rozpraszanie do przodu, Forward Scatter, w skrócie FS). Na etapie bramkowania, w zależności od zastosowania wybranego przez użytkownika, można używać innych histogramów łączących dwa z różnych parametrów dostępnych w cytometrze.

Fluorescencja odgraniczonych komórek jest analizowana w celu odróżnienia zdarzeń barwionych dodatnio od zdarzeń nieulegających barwieniu. Wyniki są wyrażane jako odsetek zdarzeń dodatnich względem wszystkich zdarzeń zarejestrowanych poprzez bramkowanie.

UŻYTKOWNIK DOCELOWY

Produkt jest przeznaczony do profesjonalnego użytku w laboratoriach.

ZNACZENIE KLINICZNE

CD15-FITC to przeciwciało CD15 służące do identyfikowania i charakteryzowania komórek wykazujących ekspresję antygenu CD15 za pomocą cytometrii przepływowej. Ten produkt nie może samodzielnie generować i nie jest przeznaczony do generowania jakichkolwiek wniosków diagnostycznych.

W połączeniu z innymi markerami produkt ten może służyć do jednego lub kilku z następujących zastosowań:

- Do wspomagania diagnostyki różnicowej pacjentów z nieprawidłowymi wynikami badań hematologicznych, u których podejrzewa się zaburzenia hematologiczne, i do monitorowania pacjentów, u których rozpoznano zaburzenia hematologiczne.
- Do monitorowania procesu lub wyników przeszczepiania.
- Jako pomoc w ustaleniu rokowania u pacjentów z nowotworem układu krwiotwórczego.

Zobacz poniższe piśmiennictwo:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

STĘŻENIE

Zobacz świadectwo analizy właściwe dla serii pod adresem www.beckman.com.

PRÓBKI

Krew żylną należy pobierać do sterylnych probówek zawierających antykoagulant w postaci soli EDTA.

Próbki należy przechowywać w temperaturze pokojowej (18–25°C), bez wytrząsania. Przed pobraniem próbki do testu należy uzyskać jednorodną mieszaninę poprzez delikatne mieszanie.

Próbki muszą zostać zbadane w ciągu 24 godzin od pobrania krwi żylnej przez nakłucie.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Nie używać odczynników po upływie daty ważności.
2. Nie zamrażać.
3. Przed użyciem odczekać, aż osiągnie temperaturę pokojową (18–25°C).
4. Maksymalnie ograniczyć narażenie na działanie światła.
5. Nie dopuścić do skażenia mikrobiologicznego odczynników, gdyż może to spowodować uzyskanie fałszywych wyników.

6. Z roztworami przeciwciał zawierającymi azydek sodu (NaN_3) należy postępować ostrożnie. Nie spożywać i nie dopuszczać do kontaktu ze skórą, błoną śluzową oraz oczami.

   Ponadto w środowisku kwaśnym azydek sodu może tworzyć potencjalnie niebezpieczny kwas azotowodorowy. W przypadku konieczności usunięcia zalecane jest rozcieńczenie odczynnika w dużej objętości wody przed wlaniem go do kanalizacji, aby uniknąć gromadzenia się azydku sodu w metalowych rurach i uniknąć ryzyka wybuchu.
7. Wszystkie próbki krwi należy uważać za potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi ostrożnie (w szczególności nosić ochronne rękawice, fartuchy i okulary).
8. Nigdy nie wolno pipetować ustami. Nie dopuszczać do kontaktu próbek ze skórą, błonami śluzowymi i oczami.
9. Probówki przeznaczone na krew i materiały jednorazowego użytku używane podczas procedury należy usuwać do pojemników ad hoc przeznaczonych do spalenia.
10. Odczynniki i odpady należy usuwać zgodnie z wymogami lokalnymi.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Produkt nie został sklasyfikowany jako niebezpieczny

SDS Karta charakterystyki jest dostępna pod adresem beckmancoulter.com/techdocs

MAGAZYNOWANIE I STABILNOŚĆ

Ten odczynnik musi być przechowywany w temperaturze 2–8°C z zapewnieniem ochrony przed światłem, zarówno przed otwarciem fiolki jak i po jej otwarciu.

W oparciu o wyniki badania stabilności dopuszczalny okres przechowywania w zamkniętej fiolce ustalono na: 639 dni.

Stabilność otwartej fiolki: odczynnik zachowuje stabilność przez 180 dni.

OZNAKA POGORSZENIA WŁAŚCIWOŚCI

Wszelkie zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników mogą wskazywać na pogorszenie właściwości — odczynników takich nie należy używać.

W celu otrzymania dodatkowych informacji lub w przypadku otrzymania uszkodzonego produktu należy skontaktować się z działem obsługi klienta firmy Beckman Coulter pod numerem telefonu 800-742-2345 (USA lub Kanada) lub z miejscowym przedstawicielem firmy Beckman Coulter.

ZAWARTOŚĆ

Środek konserwujący, azydek sodu, może tworzyć związki wybuchowe w metalowych rurach kanalizacyjnych. Patrz NIOSH Bulletin (Biuletyn instytutu NIOSH): Explosive Azide Hazard (Niebezpieczeństwo wybuchu azydku) (16.8.76).
Po usunięciu nierozcieńczonego odczynnika należy przepłukać rury ściekowe wodą, aby uniknąć gromadzenia się azydków. Azydek sodu musi być usuwany zgodnie z odpowiednimi przepisami lokalnymi.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE Z ZESTAWEM:

- Probówki do pobierania próbek i materiały wymagane do pobierania próbek.
- Pipety automatyczne z jednorazowymi końcówkami na 20, 100 i 500 µL.
- Probówki z tworzywa sztucznego przeznaczone do hemolizy.
- Odczynnik do lizy erytrocytów, z etapem przemywania po etapie lizy. Przykład: VersaLyse (nr ref. A09777).
- Odczynnik do utrwalania limfocytów. Przykład: Roztwór utrwalający IOTest 3 (nr ref. A07800).
- Bufor (PBS: 0,01 M fosforan sodu; 0,145 M chlorek sodu; pH 7,2).
- Wirówka.
- Mieszadło automatyczne (typu worteks).
- Cytometr przepływowy.

PROCEDURA Z ODCZYNNIKIEM VERSALYSE

1. Dodać odpowiednią objętość 20 µL swoistego przeciwciała skoniugowanego IOTest do każdej probówki testowej.
2. Do każdej probówki dodać 100 µL próbki testowej. Łagodnie worteksować probówki.
3. Inkubować przez 15–20 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C), chroniąc przed światłem.
4. Następnie przeprowadzić lizę krwinek czerwonych. Zapoznać się z ulotką VersaLyse (nr ref. A09777). Preferowane jest postępowanie zgodnie z procedurą „z towarzyszącym utrwalaniem", która polega na dodaniu 1 mL przygotowanej wcześniej mieszaniny do utrwalania i lizy (Fix-and-Lyse). Bezzwłocznie worteksować przez jedną sekundę i inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej, chroniąc przed światłem.
5. Wirować przez 5 minut przy 150 x g w temperaturze pokojowej.
6. Usunąć supernatant poprzez zasysanie.
7. Zawiesić osad komórkowy w 3 mL PBS.
8. Powtórzyć etap 5.
9. Usunąć supernatant poprzez zasysanie i ponownie zawiesić osad komórkowy w:

- 0,5 mL lub 1 mL PBS oraz 0,1% formaldehydu, jeśli preparaty mają być przechowywane przez mniej niż 24 godz. (0,1% roztwór formaldehydu w PBS można uzyskać, rozcieńczając 12,5 µL roztworu utrwalającego IOTest 3 (nr ref. A07800) stężonego 10X w 1 mL PBS).
- 0,5 mL lub 1 mL PBS bez formaldehydu, jeśli preparaty zostaną poddane analizie w ciągu 2 godz.

Uwaga: Niezależnie od sytuacji preparaty należy przechowywać w temperaturze 2–8°C, chroniąc je przed światłem.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

W naszych laboratoriach próbki krwi pełnej od 25 dawców niewykazujących objawów chorobowych poddano obróbce z użyciem opisanego powyżej odczynnika. Uzyskane wyniki w zakresie liczby dodatnich zdarzeń zainteresowania w przypadku tego odczynnika podano w tabeli poniżej:

Dodatnie docelowe komórki	Liczba	Średnia (%)	SD	WZ (%)
Monocyty	25	98,49	1,00	1,02
Granulocyty	25	99,98	0,02	0,02

Wartości te są przeznaczone wyłącznie do celów poglądowych. Każde laboratorium powinno ustalić własne wartości oczekiwane z użyciem próbek reprezentatywnych dla lokalnej populacji zdrowych dawców.

WYDAJNOŚĆ

Dane dotyczące wydajności uzyskano z wykorzystaniem procedury opisanej powyżej na próbkach krwi mających mniej niż 24 godziny, uprzednio pobranych do sterylnych probówek z solą EDTA jako antykoagulantem. Badanie przeprowadzono w ciągu 2 godzin po barwieniu immunologicznym.

SWOISTOŚĆ

Antygen CD15 (Lewis x/Lex) to cząsteczka lakto-N-(neo)-fukopentaozy III. Ten węglowodanowy epitop występuje zarówno na glikolipidach i glikoproteinach ulegających ekspresji w błonie komórkowej. Antygen CD15 ulega silnej ekspresji w neutrofilach, eozynofilach, monocytach i prawidłowych mieloidalnych komórkach prekursorowych. Nie ulega ekspresji na prawidłowych erytrocytach, płytkach krwi lub limfocytach. Przeciwciało 80H5 rozpoznaje epitop wczesnego różnicowania komórek mieloidalnych, który występuje na metamielocytach, mielocytach, promielocytach i aktywowanych makrofagach. Reaguje także z granulocytami. Przeciwciało monoklonalne 80H5 zaliczono do gronka różnicowania CD15 na 5. warsztatach International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens w Bostonie, USA w 1993 r. (10, 11).

PRECYZJA

Odsetek wartości dodatnich określono przy użyciu krwi pełnej. Każdą próbkę oznaczano 4 razy, dwa razy na dobę przez 1 dzień na 2 analizatorach przy użyciu 2 serii odczynnika przeciwciała monoklonalnego CD15-FITC. Pomiary (% dodatnich) przeprowadzono na cytometrze przepływowym Navios. Badanie przeprowadzono na podstawie metody opisanej w wytycznych CLSI w dokumencie EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Ocena wydajności precyzji metody pomiarów ilościowych).

Nasze kryteria akceptacji są uzależnione od liczby zdarzeń dodatnich zmierzonych w każdej populacji:

- Jeśli zdarzenie dodatnie < 1500, WZ < 15%
- Jeśli zdarzenie dodatnie > 1500, WZ < 10%

Monocyty							
Liczba zdarzeń dodatnich (średnia) = 1056							
	Między operatorami	Między cytometrami	W ramach serii	Między seriami	Między oznaczeniami	W ramach analizy	Łącznie
WZ (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
WYNIKI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocyty							
Liczba zdarzeń dodatnich (średnia) = 8446							
	Między operatorami	Między cytometrami	W ramach serii	Między seriami	Między oznaczeniami	W ramach analizy	Łącznie
WZ (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
WYNIKI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOKŁADNOŚĆ

Dokładność odczynnika CD15-FITC oceniano poprzez porównanie wyników uzyskanych za pomocą tego odczynnika z wynikami uzyskanymi za pomocą odczynnika referencyjnego, wykorzystywanego jako odniesienie, na zestawie próbek krwi pełnej oznaczanych na cytometrze przepływowym Navios. Odchylenie między odczynnikiem testowym i referencyjnym określono na podstawie różnicy między wynikami testu. Jeśli odchylenie mieści się w dopuszczalnym zakresie błędu lub wartość p wskazuje na brak istotnej różnicy (> 0,05), wyniki testu dla dwóch odczynników są uznawane za równoważne.

W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Liczba dawców = 25				
Dodatnie docelowe komórki	Średnia Δ	Kryteria Δ % komórki	Wartość p	WYNIKI
Monocyty	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulocyty	0,00	<5	6,149E-01	PASS

GRANICA PRÓBY ŚLEPEJ I GRANICA WYKRYWALNOŚCI

Przeprowadzono badanie zgodnie z dokumentem CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zdolności wykrywania dla procedur pomiarowych w laboratoriach medycznych). Granica wykrywalności (LOD) to najniższe stężenie analitu, które może być powtarzalnie wykrywane. W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Positive Target	Granica próby ślepej (l. komórek/µL)	Granica wykrywalności (l. komórek/µL)
Monocyty	1	3
Granulocyty	1	3

ORGANICZENIA

1. Wyniki cytometrii przepływowej mogą być zafałszowane, jeśli osiowanie cytometru nie było dokładne, przepuszczona fluorescencja nie została prawidłowo skompensowana, a regiony nie zostały starannie upozycjonowane.
2. Preferowane jest stosowanie techniki lizy RBC z etapem przemywania, ponieważ odczynnik ten nie został zoptymalizowany dla technik lizy „bez przemywania".
3. Uzyskane wyniki będą dokładne i odtwarzalne pod warunkiem, że stosowane będą procedury zgodne z informacjami zawartymi w ulotce z danymi technicznymi oraz z dobrymi praktykami laboratoryjnymi.
4. Skoniugowane przeciwciało zawarte w tym odczynniku zostało skalibrowane tak, aby zapewniać najlepszy stosunek sygnału swoistego do nieswoistego. Dlatego ważne jest przestrzeganie stosunku objętości odczynnika do objętości próbki w każdym teście.
5. W przypadku hiperleukocytozy należy rozcieńczyć krew w PBS, aby uzyskać wartość w przybliżeniu 5 x 10^9 leukocytów/L (12).
6. W niektórych stanach chorobowych, takich jak ciężka niewydolność nerek lub hemoglobinopatie, liza krwinek czerwonych może być powolna, niepełna lub nawet niemożliwa. W takich przypadkach przed barwieniem zalecane jest wyizolowanie komórek jednojądrzastych na gradiencie gęstości (na przykład Ficoll) (13).
7. Przeciwciała monoklonalne o izotypie IgM skierowane przeciwko antygenowi Lewis x, takiemu jak 80H5 (CD15), indukują agregację komórek pochodzenia mielomonocytowego (14). Takie agregaty mogą być wykluczane z bramek badanych i mogą powodować niedokładne oszacowania liczby komórek o odczynie dodatnim względem CD15.
8. U pacjentów poddawanych terapii anty-ludzkimi przeciwciałami monoklonalnymi, wykrywanie swoistych antygenów docelowych może być osłabione lub niemożliwe z powodu częściowego lub całkowitego zablokowania przez przeciwciało terapeutyczne.
9. Wyniki oznaczenia CD15-FITC należy interpretować w świetle ogólnego obrazu klinicznego pacjenta, w tym objawów, historii klinicznej, danych z dodatkowych testów oraz innych właściwych informacji.

Przykłady i piśmiennictwo można znaleźć w załączniku.

ZNAKI TOWAROWE

Beckman Coulter, stylizowane logo oraz wymienione w tym dokumencie znaki produktów i usług firmy Beckman Coulter są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Beckman Coulter, Inc. w Stanach Zjednoczonych i innych krajach.

DODATKOWE INFORMACJE

Dotyczy pacjentów/użytkowników/stron trzecich w Unii Europejskiej i w krajach o identycznym systemie regulacyjnym (rozporządzenie 2017/746/UE w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro) — jeśli podczas lub w wyniku korzystania z tego wyrobu wystąpi poważny incydent, należy zgłosić go producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz odpowiedniemu organowi krajowemu.

Dokument The Summary of Safety and Performance (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania) jest dostępne w bazie danych EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIA ZMIAN

WERSJA AC:	Data wydania: Wrzesień 2019 r.

WERSJA	**Data wydania**
AW	Luty 2022 r.
Aktualizacje w celu zapewnienia zgodności z globalnymi zasadami oznakowania firmy Beckman Coulter i według wymogów rozporządzenia IVD-R (UE)2017/746:	
Dodano części	Numer BSI 2797, Użytkownik docelowy, Znaczenie kliniczne, Stężenie, Precyzja, Dokładność, Granica próby ślepej i granica wykrywalności, Informacje dodatkowe, Historia zmian.
Dodano informacje	Zobacz części Ograniczenia
Aktualizacje wyrażeń lub typograficzne	Zobacz części Procedura, Wydajność, Ograniczenia, Ostrzeżenia i środki ostrożności, Magazynowanie i stabilność.
Usunięte części	Przykłady zastosowań klinicznych, Odczynniki, Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna, Liniowość
Zaktualizowane części	Przeznaczenie, Klasyfikacja zagrożeń wg GHS, Dowód pogorszenia jakości, Procedura, Załącznik.

WERSJA	**Data wydania**
AX	Kwiecień 2023
Zaktualizowane części	Dodano język kazachski
Zaktualizowane części	Przechowywanie i stabilność

Wersja zmieniona	AY
Data zmiany	Maj 2024
Zaktualizowano tłumaczenia	**Znaczenie kliniczne:**
Zaktualizowane części	Historia zmian

Wersja zmieniona	AZ
Data zmiany	Lipiec 2024
Zaktualizowane części	Historia zmian

Legenda symboli

Słowniczek symboli jest dostępny pod adresem beckman.com/techdocs (numer dokumentu B60062)

	Specifikace
Specificita	CD15
Klon	80H5
Hybridom	MOPC 315-43 x balb/c
Imunogen	Human granulocytes
Imunoglobulin	IgM
Druhy	Myš
Purifikace	Gel filtrační chromatografie
Fluorochrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molární poměr	FITC/Ig: 12-14
Excitace λ	488 nm
Emisní vrchol	525 nm
Pufr	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugovaná protilátka CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 ml, 20 µl/test

Pro diagnostické účely *in vitro*.

URČENÉ POUŽITÍ

Tato protilátka konjugovaná s fluorochromem umožňuje kvalitativní a neautomatizovanou identifikaci buněčných populací exprimujících antigen CD15 v lidských biologických vzorcích (viz část „Vzorky“ níže) pomocí průtokové cytometrie.

PRINCIP

Tento test je založen na schopnosti monoklonálních protilátek specificky se vázat na antigenní determinanty exprimované na leukocytech.

Specifické značení leukocytů se provádí inkubováním vzorku s reagencií IOTest. Červené krvinky jsou poté odstraněny provedením lýzy a bílé krvinky, jež tímto procesem nejsou ovlivněny, jsou analyzovány na průtokovém cytometru.

Průtokový cytometr měří difúzi světla a fluorescenci buněk. Umožňuje oddělit zkoumanou populaci v rámci elektronického okna definovaného na histogramu, který je v korelaci s ortogonální difúzí světla (kolmý rozptyl) a s difúzí světla v úzkém úhlu (přímý rozptyl). Jako podporu ve fázi gatování lze, v závislosti na aplikaci zvolené uživatelem, použít další histogramy s kombinací dvou různých parametrů, které jsou v cytometru k dispozici.

Fluorescence oddělených buněk je analyzována s cílem odlišit pozitivně obarvené události od neobarvených. Výsledky jsou vyjádřeny jako procentní podíl pozitivních událostí ze všech událostí zjištěných gatováním.

ZAMÝŠLENÝ UŽIVATEL

Tento produkt je určen pro profesionální laboratorní použití.

KLINICKÁ VÝZNAMNOST

CD15-FITC je protilátka CD15 používaná k identifikaci a charakterizaci buněk exprimujících antigen CD15 pomocí průtokové cytometrie. Tento produkt sám o sobě nevytváří a nemá vytvářet žádný diagnostický závěr.

Při použití v kombinaci s dalšími markery lze tento produkt použít k jedné nebo více z následujících funkcí:

- Jako pomůcka pro diferenciální diagnostiku pacientů s hematologickými abnormalitami, u kterých je podezření na hematologickou poruchu, a k monitorování pacientů se známou hematologickou poruchou.
- K monitorování procesu nebo výsledků transplantace.
- Jako pomůcka pro stanovení prognózy u pacientů s hematopoetickou neoplazií.

Viz následující odkazy:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

KONCENTRACE

Viz certifikát o analýze specifický pro šarži na www.beckman.com.

VZORKY

Vzorky žilní krve musejí být odebrány do sterilních zkumavek obsahujících sůl EDTA jako antikoagulační činidlo.

Vzorky by měly být uchovávány při laboratorní teplotě (18–25 °C) a neměly by se protřepávat. Vzorek by měl být před odebráním vzorku k testování homogenizován mírným promícháním.

Vzorky je nutné analyzovat do 24 hodin od venepunkce.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagencii nepoužívejte po datu exspirace.
2. Nezmrazujte.
3. Před použitím nechte vytemperovat na laboratorní teplotu (18–25 °C).
4. Minimalizujte expozici světlu.
5. Zabraňte mikrobiologické kontaminaci reagencií, jinak mohou být výsledky chybné.

6. S roztoky protilátek obsahujícími azid sodný (NaN_3) je třeba manipulovat opatrně. Neužívejte vnitřně a zabraňte veškerému kontaktu s pokožkou, sliznicemi a očima.

   V kyselém prostředí může azid sodný navíc vytvářet potenciálně nebezpečnou kyselinu azidovodíkovou. Při likvidaci se doporučuje před vylitím do odpadu reagencii zředit velkým objemem vody, aby nedocházelo k hromadění nebezpečného azidu sodného v kovovém potrubí a předešlo se tak riziku exploze.
7. Všechny vzorky krve je nutno považovat za potenciálně infekční a je nutné manipulovat s nimi opatrně (zvláště: používat ochranné rukavice, pláště a brýle).
8. Nikdy nepipetujte ústy a zabraňte tomu, aby se vzorky dostaly do kontaktu s kůží, sliznicí ani očima.
9. Zkumavky s krví a jednorázový materiál určený pro manipulaci je třeba likvidovat v kontejnerech ad hoc určených ke spálení.
10. Reagencie a odpad by měly být odstraňovány v souladu s místními požadavky.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Není klasifikované jako nebezpečné

SDS Bezpečnostní list je k dispozici na internetové adrese beckmancoulter.com/techdocs.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Před otevřením lahvičky a po jejím otevření musí být tato reagencie uchovávána při teplotě mezi 2 a 8 °C a chráněna před světlem.

Doba použitelnosti uzavřené lahvičky podle studie stability: 639 dnů/dní.

Stabilita již jednou otevřené lahvičky: reagencie je stabilní po dobu 180 dní.

ZNÁMKY ZHORŠENÍ KVALITY

Jakákoli změna fyzického vzhledu reagencií může znamenat jejich znehodnocení a taková reagencie by se neměla používat.

Pokud potřebujete další informace nebo jste obdrželi poškozený produkt, zavolejte na telefonní číslo zákaznické služby společnosti Beckman Coulter 800-742-2345 (USA nebo Kanada) nebo se obraťte na místního zástupce společnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervační látka azid sodný může v kovovém odpadním potrubí vytvářet výbušné sloučeniny. Viz buletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečí výbušných azidů) (16.8.76).
Po vypuštění neředěné reagencie propláchněte odpadní potrubí vodou, aby se v něm nehromadily azidové sloučeniny. Likvidace azidu sodného musí být prováděna podle příslušných místních předpisů.

MATERIÁLY POTŘEBNÉ, ALE NEDODANÉ SE SOUPRAVOU:

- Zkumavky na odběr vzorků a materiál potřebný k odběru vzorků.
- Automatické pipety s jednorázovými špičkami pro 20, 100 a 500 µl.
- Plastové zkumavky na hemolýzu.
- Reagencie pro lýzu červených krvinek s fází promývání po lýze. Například: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagencie pro fixaci leukocytů. Například: Fixační roztok IOTest 3 (ref. A07800).
- Pufr (PBS: 0,01 M fosforečnan sodný; 0,145 M chlorid sodný; pH 7,2).
- Odstředivka.
- Automatické míchadlo (typu vortex).
- Průtokový cytometr.

POSTUP S REAGENCIÍ VERSALYSE

1. Přidejte příslušný objem 20 µl specifické konjugované protilátky IOTest do každé testovací zkumavky.
2. Do každé zkumavky přidejte 100 µl testovaného vzorku. Zkumavky jemně promíchejte na vortexové míchačce.
3. Provádějte inkubaci po dobu 15 až 20 minut při laboratorní teplotě (18–25 °C), chraňte před světlem.
4. Poté lyzujte červené krvinky. Postupujte dle brožury VersaLyse (ref. A09777) a řiďte se, pokud možno, postupem nazvaným „s průvodní fixací“, který spočívá v přidání 1 ml fixační a lyzační směsi připravené bezprostředně před použitím. Ihned vortexujte po dobu jedné sekundy a inkubujte po dobu 10 minut při laboratorní teplotě, přičemž chraňte před světlem.
5. Odstřeďujte 5 minut při 150 x g při laboratorní teplotě.
6. Supernatant odsajte.
7. Resuspendujte buněčnou peletu pomocí 3 ml PBS.
8. Opakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte buněčnou peletu pomocí:

- 0,5 ml nebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, pokud mají být preparáty uchovány po dobu kratší než 24 hodin. (PBS s 0,1 % formaldehydu lze získat zředěním 12,5 µl fixačního roztoku IOTest 3 (ref. A07800) o koncentraci 10x v 1 ml PBS.)
- 0,5 ml nebo 1 ml PBS bez formaldehydu, pokud mají být preparáty analyzovány do 2 hodin.

Poznámka: Ve všech případech uchovávejte preparáty při teplotě mezi 2 a 8 °C a chraňte je před světlem.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratořích bylo 25 vzorků plné krve zjevně zdravých dárců zpracováno za použití výše popsané reagencie. Získané výsledné počty cílových pozitivních událostí s touto reagencií jsou uvedeny v následující tabulce:

Pozitivní nosič	Počet	Průměr (%)	SD (směrodatná odchylka)	VK (%)
Monocyty	25	98,49	1,00	1,02
Granulocyty	25	99,98	0,02	0,02

Tyto hodnoty by měly být pouze reprezentativní. Každá laboratoř si musí stanovit vlastní očekávané hodnoty na základě místní populace normálních dárců.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Data o výkonu se získávají výše popsaným postupem na vzorcích krve starých méně než 24 hodin, které byly odebrány do sterilních zkumavek se solí EDTA jakožto antikoagulačním činidlem. Analýza se provádí do 2 hodin od imunobarvení.

SPECIFICITA

Antigen CD15 (Lewis x / Lex) je molekula lakto-N-(neo) fukopentaosy III. Tento sacharidový epitop je nesen glykolipidy i glykoproteiny exprimovanými na buněčné membráně. Antigen CD15 je silně exprimován neutrofily, eozinofily, monocyty a normálními myeloidními buněčnými prekurzory. Není exprimován na normálních erytrocytech, krevních destičkách ani lymfocytech. Protilátka 80H5 rozpoznává epitop časné myeloidní diferenciace, který se nachází na metamyelocytech, myelocytech, promyelocytech a aktivovaných makrofázích. Rovněž reaguje s granulocyty. Monoklonální protilátka 80H5 byla přiřazena k diferenciační skupině CD15 na pátém mezinárodním semináři o diferenciačních antigenech lidských leukocytů konaném v Bostonu v USA roku 1993 (10, 11).

PRECIZNOST

Procentuální pozitivní hodnoty byly stanoveny použitím plné krve. Každý vzorek byl analyzován 4krát, dvakrát denně v průběhu 1 dne na 2 přístrojích pomocí 2 šarží reagencií s monoklonální protilátkou CD15-FITC. Měření (% pozitivních) byla provedena na průtokovém cytometru Navios. Analýza byla provedena na základě metody CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vyhodnocení výkonu preciznosti kvantitativních měřicích metod).

Naše kritéria přijatelnosti závisí na počtu pozitivních událostí změřených pro každou populaci:

- Pokud pozitivní událost < 1 500, VK < 15 %
- Pokud pozitivní událost > 1 500, VK < 10 %

Monocyty							
Počet pozitivních událostí (průměr) = 1056							
	Mezi obslužnými pracovníky	Mezi cytometry	V rámci šarže	Mezi šaržemi	Mezi cykly	V rámci cyklu	Celkem
VK (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocyty							
Počet pozitivních událostí (průměr) = 8446							
	Mezi obslužnými pracovníky	Mezi cytometry	V rámci šarže	Mezi šaržemi	Mezi cykly	V rámci cyklu	Celkem
VK (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PŘESNOST

Přesnost CD15-FITC byla vyhodnocena porovnáním výsledků s referenční reagencií sloužící jako srovnávací látka na sadě vzorků plné krve analyzované na průtokovém cytometru Navios. Na základě rozdílu mezi výsledky testů byla stanovena odchylka mezi testem a referenční reagencií. Pokud je odchylka v rámci rozsahu přípustné chyby nebo hodnota p naznačuje, že nedošlo k žádnému významnému rozdílu (> 0,05), výsledky testů daných dvou reagencií se považují za shodné.

Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Počet dárců = 25				
Pozitivní nosič	Průměr Δ	Kritéria Δ % buněk	Hodnota p	VÝSLEDKY
Monocyty	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulocyty	0,00	<5	6,149E-01	PASS

MEZ PRÁZDNÉHO VZORKU A MEZ MĚŘITELNOSTI

Byla provedena studie v souladu se směrnicí CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnocení schopnosti detekce pro klinické laboratorní postupy měření). Mez měřitelnosti (LOD) je nejnižší koncentrace analytu, kterou lze spolehlivě detekovat. Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Positive Target	Mez prázdného vzorku (buňky/µl)	Mez měřitelnosti (buňky/µl)
Monocyty	1	3
Granulocyty	1	3

OMEZENÍ

1. Průtoková cytometrie může přinést falešné výsledky, pokud cytometr nebyl dokonale seřízen, pokud nebyly správně kompenzovány úniky fluorescence a pokud oblasti nebyly pečlivě umístěny.
2. Je vhodné používat techniku lýzy RBC s promývacím krokem, protože tato reagencie není optimalizována pro techniku lýzy bez promývání.

3. Přesných a reprodukovatelných výsledků bude dosaženo, pokud jsou použité postupy v souladu s technickým příbalovým letákem a se správnou laboratorní praxí.
4. Konjugovaná protilátka této reagencie je kalibrována tak, aby poskytovala nejlepší možný poměr specifického signálu k nespecifickému signálu. Proto je důležité při každém testu dodržovat poměr objemu reagencie a objemu vzorku.
5. V případě hyperleukocytózy nařeďte krev v přípravku PBS tak, aby byla dosažena hodnota přibližně 5 x 10^9 leukocytů/l (12).
6. U určitých chorob, například závažného selhání ledvin či hemoglobinopatií, se může stát, že lýza červených krvinek bude probíhat pomalu, nedokončí se, nebo dokonce nebude možná. V tomto případě se před značením doporučuje izolovat mononukleární buňky s použitím hustotního gradientu (např. Ficoll) (13).
7. Je známo, že monoklonální protilátky izotypu IgM proti antigenu Lewis x jako 80H5 (CD15) vyvolávají agregaci buněk myelomonocytického původu (14). Takové agregáty lze vyloučit ze zkoumaných vymezených oblastí (gate), což vede k nepřesným odhadům buněk pozitivních na CD15.
8. U pacientů léčených pomocí monoklonálních protilátek proti lidským antigenům může být detekce specificky cílených antigenů snížena nebo může chybět kvůli částečné nebo celkové blokaci terapeutickými protilátkami.
9. Výsledky analýzy CD15-FITC je nutné interpretovat s přihlédnutím k celkovému klinickému obrazu pacienta, včetně symptomů, klinické anamnézy, údajů z dalších testů a dalších vhodných informací.

Příklady a reference jsou uvedeny v příloze.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, stylizované logo a známky produktů a služeb společnosti Beckman Coulter uvedené v tomto dokumentu jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Beckman Coulter, Inc. ve Spojených státech amerických a dalších zemích.

DALŠÍ INFORMACE

Pro pacienty, uživatele nebo třetí osoby v Evropské unii a v zemích se stejným regulačním režimem (nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro); pokud při používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání dojde k závažné nehodě, prosím ohlaste tuto nehodu výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a kompetentnímu vnitrostátnímu orgánu.

Summary of Safety and Performance (Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti) je k dispozici v databázi EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIE REVIZÍ

REVIZE AC:	Datum vydání: Září 2019

REVIZE	**Datum vydání**
AW	Únor 2022
Aktualizace kvůli shodě s globálními zásadami označování společnosti Beckman Coulter a dle požadavků IVD-R (EU) 2017/746:	
Přidání částí	Číslo BSI 2797, Určený uživatel, Klinická významnost, Koncentrace, Preciznost, Přesnost, Mez prázdného vzorku a mez měřitelnosti, Další informace, Historie změn.
Přidány informace	Viz část Omezení
Aktualizace formulací a typografické aktualizace	Viz části Postup, Výkon, Omezení, Varování a bezpečnostní opatření, Skladování a stabilita.
Odstranění částí	Příklad klinických použití, Reagencie, Reprodukovatelnost v rámci laboratoře, Linearita
Aktualizované části	Určené použití, Klasifikace nebezpečí podle GHS, Známky znehodnocení, Postup, Příloha.

REVIZE	**Datum vydání**
AX	duben 2023
Aktualizované části	Přidání kazašského jazyka
Aktualizované části	Skladování a stabilita

Revidovaná verze	AY
Datum revize	Květen 2024
Aktualizované překlady	**Klinická významnost:**
Aktualizované části	Historie revizí

Revidovaná verze	AZ
Datum revize	cervenec 2024
Aktualizované části	Historie revizí

Klíč k symbolům

Slovníček symbolů je k dispozici na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	Špecifikácie
Špecificita	CD15
Klon	80H5
Hybridóm	MOPC 315-43 x balb/c
Imunogén	Human granulocytes
Imunoglobulín	IgM
Druhy	Myš
Purifikácia	Gélová filtrácia Chromatografia
Fluorochróm	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molárny pomer	FITC/Ig: 12-14
Excitácia λ	488 nm
Vrchol emisií	525 nm
Tlmivý roztok	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugovaná protilátka CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 ml, 20 µl/test

Na *in vitro* diagnostické použitie.

URČENÉ POUŽITIE

Táto protilátka konjugovaná s fluorochrómom umožňuje pomocou prietokovej cytometrie vykonávať kvalitatívnu, neautomatizovanú identifikáciu populácie buniek exprimujúcich antigén CD15 v ľudských biologických vzorkách (pozri časť „vzorky“ nižšie).

PRINCÍP

Tento test je založený na schopnosti špecifických monoklonálnych protilátok viazať sa na antigénne determinanty exprimované na leukocytoch.

Špecifické farbenie leukocytov sa vykoná inkubáciou vzorky s činidlom IOTest. Červené krvinky sa následne odstránia lýzou a leukocyty, na ktoré tento postup nemá vplyv, sa analyzujú prietokovou cytometriou.

Prietokový cytometer meria rozptyl svetla a fluorescenciu buniek. Umožňuje vymedzenie požadovanej populácie v rámci elektronického okna zadefinovaného v histograme znázorňujúcom koreláciu ortogonálneho rozptylu svetla (bočný rozptyl, SS) a rozptylu svetla v úzkom uhle (predný rozptyl, FS). Ostatné histogramy obsahujúce kombináciu dvoch rozličných parametrov dostupných na cytometri možno použiť na podporu vo fáze gatingu v závislosti od aplikácie zvolenej používateľom.

Fluorescencia vymedzených buniek sa analyzuje s cieľom odlíšiť pozitívne sfarbené udalosti od nesfarbených. Výsledky sú vyjadrené ako percento pozitívnych udalostí vzhľadom na všetky udalosti zaznamenané gatingom.

URČENÝ POUŽÍVATEĽ

Tento produkt je určený na profesionálne laboratórne použitie.

KLINICKÝ VÝZNAM

CD15-FITC je protilátka proti CD15 používaná na identifikáciu a charakterizáciu buniek exprimujúcich antigén CD15 pomocou prietokovej cytometrie. Tento výrobok sám osebe nemôže a ani nemá slúžiť na vyvodzovanie akýchkoľvek diagnostických záverov.

Pri použití v kombinácii s inými markermi možno tento produkt použiť na jeden alebo viac z týchto účelov:

- Ako pomôcka pri diferenciálnej diagnostike hematologicky abnormálnych pacientov s podozrením na hematologickú poruchu a na monitorovanie pacientov so známou hematologickou poruchou.
- Na monitorovanie transplantačného procesu alebo výsledkov.
- ako pomôcka pri stanovovaní prognózy u pacientov s hematopoetickou neoplazmou,

Pozrite si nasledujúce odkazy:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

KONCENTRÁCIA

Pozrite si certifikát analýzy pre konkrétnu šaržu na adrese www.beckman.com.

VZORKY

Vzorky žilovej krvi musia byť odobraté do sterilných skúmaviek, ktoré obsahujú soľ EDTA ako antikoagulačné činidlo.

Vzorky by sa mali uchovávať pri izbovej teplote (18 – 25 °C) a nemalo by sa nimi triasť. Vzorky by sa mali pred odobratím testovacej vzorky homogenizovať jemným pretrepaním.

Vzorky sa musia analyzovať do 24 hodín od odberu.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

1. Činidlo nepoužívajte po dátume exspirácie.
2. Nezamrazujte.
3. Pred použitím nechajte zahriať na izbovú teplotu (18 – 25 °C).
4. Minimalizujte vystavenie svetlu.
5. Zabráňte mikrobiálnej kontaminácii činidiel, inak môže dôjsť k falošným výsledkom.

6. S roztokmi protilátok obsahujúcimi azid sodný (NaN_3) by sa malo zaobchádzať opatrne. Nepožívajte ich a vyhýbajte sa akémukoľvek kontaktu s kožou, sliznicami a očami.

   V médiu s obsahom kyseliny môže navyše azid sodný vytvárať potenciálne nebezpečnú kyselinu azidovodíkovú. Ak je činidlo potrebné zlikvidovať, odporúča sa ho pred vyliatím do kanalizácie zriediť vo veľkom objeme vody, aby sa predišlo riziku explózie v dôsledku hromadenia azidu sodného v kovovom potrubí.
7. Všetky vzorky krvi sa musia považovať za potenciálne infekčné, a preto sa s nimi musí narábať opatrne (predovšetkým: používajte ochranné rukavice, plášte a okuliare).
8. Nikdy nepipetujte ústami a zabráňte akémukoľvek kontaktu vzoriek s pokožkou, sliznicami a očami.
9. Skúmavky na krv a jednorazový materiál používané pri manipulácii sa musia zlikvidovať do schválených nádob určených na spálenie.
10. Činidlá a odpad by sa mali eliminovať v súlade s miestnymi požiadavkami.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Nie je klasifikované ako nebezpečné

SDS Bezpečnostný list je dostupný na adrese beckmancoulter.com/techdocs

SKLADOVANIE A STABILITA

Toto činidlo sa musí skladovať pri teplote od 2 do 8 °C a chrániť pred svetlom pred aj po otvorení fľaštičky.

Doba použiteľnosti uzavretej fľaštičky podľa štúdie stability: 639 dní.

Stabilita otvorenej fľaštičky: činidlo je stabilné 180 dní.

ZNÁMKY ZNEHODNOTENIA

Akákoľvek zmena fyzického vzhľadu činidla môže svedčiť o zhoršení kvality a takéto činidlo by sa nemalo používať.

Ak potrebujete ďalšie informácie alebo ak je výrobok poškodený, kontaktujte stredisko zákazníckych služieb spoločnosti Beckman Coulter na telefónnom čísle 800-742-2345 (ak sa nachádzate v USA alebo Kanade) alebo kontaktujte miestneho zástupcu spoločnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervačné činidlo azid sodný môže v kovovej kanalizačnej sieti vytvárať výbušné zlúčeniny. Pozrite si informačný bulletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečenstvo výbušného azidu) (16. 8. 76).
Aby nedošlo k možnému nahromadeniu azidových zlúčenín, po likvidácii neriedeného činidla vypláchnite potrubie vodou. Likvidácia azidu sodného musí prebiehať v súlade s príslušnými miestnymi predpismi.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ NIE JE SÚČASŤOU SÚPRAVY:

- Vzorkovacie skúmavky a materiál potrebný na vzorkovanie.
- Automatické pipety s jednorazovými špičkami na dávkovanie objemov 20, 100 a 500 µl.
- Plastové hemolytické skúmavky.
- Činidlo na lýzu červených krviniek s umývacou fázou po lýze. Napríklad: VersaLyse (Ref. A09777).
- Činidlo na fixáciu leukocytov. Napríklad: fixačný roztok IOTest 3 (Ref. A07800).
- TImiaci roztok (PBS: fosforečnan sodný 0,01 M; chlorid sodný 0,145 M; pH 7,2).
- Centrifúga.
- Automatické miešadlo (typ Vortex).
- Prietokový cytometer.

POSTUP S ČINIDLOM VERSALYSE

1. Do každej testovacej skúmavky pridajte príslušný objem 20 µl špecifickej konjugovanej IOTest protilátky.
2. Do každej skúmavky pridajte 100 µl testovanej vzorky. Skúmavky jemne vortexujte.
3. Inkubujte 15 až 20 minút pri izbovej teplote (18 – 25 °C) bez prístupu svetla.
4. Potom vykonajte lýzu červených krviniek. Postupujte podľa písomnej informácie VersaLyse (Ref. A09777) a ideálne použite postup označený ako „so sprievodnou fixáciou“, ktorý zahŕňa pridanie 1 ml bezprostredne pripravenej zmesi „na fixáciu a lýzu“. Ihneď premiešajte jednu sekundu a inkubujte 10 minút pri izbovej teplote a chráňte pred svetlom.
5. Odstreďujte 5 minút pri 150 x g pri izbovej teplote.
6. Nasatím odoberte supernatant.
7. Resuspendujte bunkový pelet použitím 3 ml PBS.
8. Zopakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte bunkový pelet použitím:

- 0,5 ml alebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, ak sa preparáty budú skladovať kratšie ako 24 hodín. (Roztok PBS s 0,1 % formaldehydu možno pripraviť zriedením 12,5 µl fixačného roztoku IOTest 3 (Ref. A07800) v 10X koncentrácii v 1 ml roztoku PBS).
- 0,5 ml alebo 1 ml PBS bez formaldehydu, ak sa preparáty budú analyzovať do 2 hodín.

Poznámka: Preparáty vždy uchovávajte pri teplote 2 až 8 °C a mimo dosahu svetla.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratóriách sa vzorky plnej krvi od 25 zjavne zdravých darcov spracovali pomocou vyššie popísaného činidla. Získané výsledky pre príslušné počty skúmaných pozitívnych udalostí s týmto činidlom sú uvedené v tabuľke nižšie:

Pozitívny cieľ	Počet	Priemer (%)	SD	CV (%)
Monocyty	25	98,49	1,00	1,02
Granulocyty	25	99,98	0,02	0,02

Tieto hodnoty slúžia len ako reprezentatívne údaje. Každé laboratórium by si malo určiť vlastné očakávané hodnoty na základe miestnej populácie normálnych darcov.

VÝKONNOSŤ

Údaje o výkonnosti boli získané pomocou vyššie opísaného postupu z menej ako 24 hodín starých vzoriek krvi odobraných do sterilných skúmaviek so soľou EDTA ako antikoagulačným činidlom. Analýza prebehla do 2 hodín od imunologického farbenia.

ŠPECIFICITA

Antigén CD15 (Lewis x / Lex) ja molekula lakto-N-(neo)-fukopentaózy III. Tento sacharidový epitop sa nachádza na glykolipidových i glykoproteínových epitopoch exprimovaných na bunkovej membráne. Antigén CD15 exprimujú silne neutrofily, eozinofily, monocyty a normálne myeloidné prekurzorové bunky. Neexprimujú ho normálne erytrocyty, trombocyty ani lymfocyty. Protilátka 80H5 rozoznáva epitop skorej myeloidnej diferenciácie typický pre metamyelocyty, myelocyty, promyelocyty a aktivované makrofágy. Reaguje takisto s granulocytmi. Monoklonálna protilátka 80H5 bola priradená ku clusteru diferenciácie CD15 na piatom medzinárodnom workshope k antigénom diferenciácie ľudských leukocytov v Bostone (USA) v roku 1993 (10, 11).

PRESNOSŤ

Percentuálne pozitívne hodnoty boli stanovené s použitím plnej krvi. Každá vzorka bola analyzovaná 4-krát, dva razy denne počas 1 dňa na 2 prístrojoch pri použití 2 šarží činidiel s monoklonálnymi protilátkami proti CD15-FITC. Merania (% pozitívnych) sa vykonávali na prietokovom cytometri Navios. Analýza sa vykonávala podľa metódy CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Hodnotenie zhodnosti pri metódach kvantitatívneho merania).

Naše kritériá prijateľnosti závisia od počtu pozitívnych udalostí nameraného v jednotlivých populáciách:

- Ak je pozitívnych udalostí < 1500, CV < 15 %
- Ak je pozitívnych udalostí > 1500, CV < 10 %

Monocyty							
Počet pozitívnych udalostí (priemer) = 1056							
	Medzi operátormi	Medzi cytometrami	V rámci jednej šarže	Medzi šaržami	Medzi analýzami	V rámci jednej analýzy	Celkovo
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocyty							
Počet pozitívnych udalostí (priemer) = 8446							
	Medzi operátormi	Medzi cytometrami	V rámci jednej šarže	Medzi šaržami	Medzi analýzami	V rámci jednej analýzy	Celkovo
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRESNOSŤ

Presnosť CD15-FITC bola vyhodnotená porovnaním výsledkov s porovnávacím referenčným činidlom na súbore vzoriek plnej krvi analyzovaných v prietokovom cytometri Navios. Odchýlka medzi testovaným a referenčným činidlom bola stanovená na základe rozdielu medzi výsledkami testov. Ak je odchýlka v medziach prípustného chybového rozsahu, alebo ak p-hodnota svedčí o nevýznamnom rozdiele (> 0,05), výsledky testovania daných dvoch činidiel sa považujú za rovnocenné.

Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Počet darcov = 25				
Pozitívny cieľ	Priemer Δ	Kritériá Δ % buniek	p-hodnota	VÝSLEDKY
Monocyty	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulocyty	0,00	<5	6,149E-01	PASS

MEDZA PRÁZDNEJ VZORKY A MEDZA MERATEĽNOSTI

Bola vykonaná štúdia v súlade s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnotenie detekčnej schopnosti pre postupy klinických laboratórnych meraní). Medza merateľnosti (LoD) je najnižšia koncentrácia analytu, ktorú možno konzistentne detegovať. Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Positive Target	Medza prázdnej vzorky (buniek/µl)	Medza merateľnosti (buniek/µl)
Monocyty	1	3
Granulocyty	1	3

OBMEDZENIA

1. Prietoková cytometria môže vytvárať falošné výsledky, ak cytometer nie je správne zarovnaný, ak úniky fluorescencie nie sú správne kompenzované, alebo ak nie sú oblasti správne umiestnené.

2. Vhodnejšie je používať metódu lýzy RBC s krokom premývania, keďže toto činidlo nie je optimalizované na metódy lýzy „bez premývania“.
3. Presné a reprodukovateľné výsledky sa získajú len vtedy, ak sa použijú postupy v súlade s technickými údajmi v príbalovom letáku a v súlade s osvedčenou laboratórnou praxou.
4. Konjugovaná protilátka tohto činidla sa kalibruje tak, aby ponúkala najlepší pomer špecifického signálu/nešpecifického signálu. Preto je dôležité pri každom teste dodržať pomer objem činidla/objem vzorky.
5. V prípade hyperleukocytózy zrieďte krv v PBS na koncentráciu približne 5 x 10^9 leukocytov/l (12).
6. Pri niektorých chorobných stavoch, akými sú napríklad závažné zlyhanie obličiek alebo hemoglobinopatie, môže byť lýza červených krviniek pomalá, neúplná alebo dokonca nemožná. V takom prípade sa odporúča pred farbením izolovať mononukleárne bunky pomocou hustotného gradientu (napríklad Ficoll) (13).
7. U monoklonálnych protilátok izotypu IgM voči antigénu Lewis x, ako napríklad 80H5 (CD15), je známa indukcia agregácie buniek s myelomonocytárnym pôvodom (14). Takéto agregáty môžu byť vylúčené z príslušných brán a spôsobovať nepresné odhady CD15-pozitívnych buniek.
8. U pacientov liečených monoklonálnymi protilátkami proti ľudským protilátkam môže byť detekcia špecifických cieleným antigénom znížená alebo môže úplne chýbať v dôsledku čiastočného alebo úplného blokovania terapeutickej protilátky.
9. Pri interpretácii výsledkov CD15-FITC treba brať do úvahy celkový klinický obraz pacienta vrátane symptómov, klinickej anamnézy, výsledkov ďalších testov a iných súvisiacich informácií.

Príklady a referencie nájdete v Dodatku.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, štylizované logo a známky produktov a služieb spoločnosti Beckman Coulter spomenuté v tomto dokumente sú ochranné známky alebo registrované ochranné známky spoločnosti Beckman Coulter, Inc. v USA a ďalších krajinách.

DOPLŇUJÚCE INFORMÁCIE

Pre pacienta/používateľa/tretiu stranu v Európskej únii a v krajinách s identickým regulačným režimom (Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/746 o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro): ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne vážna nehoda, nahláste ju výrobcovi a/alebo jeho autorizovanému zástupcovi a vášmu národnému orgánu.

Summary of Safety and Performance (Súhrn informácií o bezpečnosti a výkonnosti) je k dispozícii v databáze EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRIA REVÍZIÍ

REVÍZIA AC:	Dátum vydania: September 2019

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AW	Február 2022
Aktualizácie kvôli súladu s dokumentom Beckman Coulter Global Labelling Policy (Globálne pravidlá označovania spoločnosti Beckman Coulter) a podľa požiadaviek nariadenia IVDR (EÚ) 2017/746:	
Pridané časti	Číslo BSI 2797, Určený používateľ, Klinický význam, Koncentrácia, Zhodnosť, Presnosť, Medza prázdnej vzorky a medza merateľnosti, Doplňujúce informácie, História revízií.
Pridané informácie	Pozri časti Obmedzenia
Aktualizácie formulácií alebo typografické aktualizácie	Pozri časti Postup, Výkonnosť, Obmedzenia, Výstraha a opatrenia, Skladovanie a stabilita.
Odstránené časti	Príklad klinických aplikácií, Činidlá, Intralaboratórna reprodukovateľnosť, Linearita
Aktualizované časti	Určené použitie, Klasifikácia nebezpečenstiev podľa GHS, Známky zhoršenia kvality, Postup, Dodatok.

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AX	Apríl 2023
Aktualizované časti	Pridať kazaštinu
Aktualizované časti	Skladovanie a stabilita

Revidovaná verzia	AY
Dátum revízie	Máj 2024
Aktualizované preklady	**Klinický význam:**
Aktualizované časti	História revízií

Revidovaná verzia	AZ
Dátum revízie	Júl 2024
Aktualizované časti	História revízií

Popis symbolov

Slovník symbolov je dostupný na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	규격
특이도	CD15
클론	80H5
하이브리도마	MOPC 315-43 x balb/c
면역원	Human granulocytes
면역글로불린	IgM
종	생쥐
정제	젤 여과
형광색소	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
분자비	FITC/Ig: 12-14
λ 자극	488 nm
방출 피크	525 nm
완충액	PBS pH 7.2 + 2mg/mL BSA 및 0.1 % NaN_3

IOTest

복합 항체
CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20µL/검사

체외 **진단용으로 사용합니다.**

사용목적

본 형광색소 결합 항체를 사용 시 유세포 분석법으로 인간의 생물학적 검체에 있는 CD15 항원을 나타내는 세포군의 정성적 동정 및 비자동 동정을 수행할 수 있습니다(아래 "검체" 섹션 참조).

원리

이 검사는 백혈구로 발현되는 항원 결정기에 특이적 단일클론 항체가 결합할 수 있는 능력에 기초합니다.

백혈구의 특이적 염색은 검체를 IOTest 시약과 함께 배양하여 수행합니다. 그런 다음 적혈구를 용해하여 제거하고 이 과정에서 영향을 받지 않은 백혈구를 유세포 분석법을 통해 분석하십시오.

유세포 분석기는 세포의 빛 확산과 형광 영역을 측정합니다. 유세포 분석기를 사용하면 빛의 직교 확산(측면 산란, SS)과 좁은 각의 광확산(전방 산란, FS)의 상호 관계를 지정하는 막대그래프상에 정의된 전자 창 내에서 관심 개체의 한계를 결정할 수 있습니다. 유세포 분석기에서 사용할 수 있는 두 가지 파라메타를 결합하는 기타 막대그래프를 사용자가 선택한 애플리케이션에 따라 게이팅 단계에서 지원 자료로 사용 가능합니다.

범위가 결정된 세포의 형광 영역을 분석하여 명확하게 염색된 이벤트와 염색되지 않은 이벤트를 구분합니다. 분석 결과는 게이팅으로 획득한 전체 이벤트와 비교한 양성 이벤트의 비율로 표현합니다.

의도된 사용자

본 제품은 실험실 전문가용입니다.

임상 관련성

CD15-FITC은(는) 유세포 분석법으로 CD15 항원을 나타내는 세포를 식별하고 특성화하는 데 사용하는 CD15 항체입니다. 본 제품만 사용하여 진단과 관련된 결론을 내릴 수 없으며, 해당 용도로 사용해서도 안 됩니다.

다른 표지자와 함께 사용하는 경우 이 제품은 다음 중 하나 이상의 기능에 사용할 수 있습니다.

- 혈액 장애가 있는 것으로 의심되는 혈액학적 이상을 겪는 환자의 감별 진단을 위한 보조 수단으로 활용하거나 알려진 혈액 장애가 있는 환자를 모니터링하는 데 사용합니다.
- 이식 과정 또는 결과를 모니터링합니다.
- 혈액암 환자 예후의 보조 수단으로 활용.

다음 참조를 살펴보십시오.

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

농도

www.beckman.com에서 로트별 분석증명서를 확인할 수 있습니다.

검체

정맥혈은 EDTA 염을 항응고제로 포함한 무균 튜브를 사용하여 채취해야 합니다.

검체는 실온(18~25°C)에 보관해야 하며 흔들어서는 안 됩니다. 검사 검체를 채취하기 전에 부드럽게 교반하여 검체를 균질화해야 합니다.

검체는 정맥천자 후 24시간 이내에 분석해야 합니다.

경고 및 주의 사항

1. 유효 기간이 지난 시약은 사용하지 마십시오.
2. 냉동하지 마십시오.
3. 사용 전 실온(18~25°C)에 두십시오.
4. 빛 노출을 최소화하십시오.
5. 시약이 미생물에 오염되지 않도록 하십시오. 그러지 않으면 잘못된 결과를 얻을 수 있습니다.
6. 아지드화나트륨(NaN_3)을 함유한 항체 용액은 주의해서 다루어야 합니다. 흡입을 피하고 피부, 점막 및 눈에 절대 닿지 않도록 하십시오.

또한 산성 매질에 함유된 아지드화나트륨은 잠재적 위험 물질인 히드라조산을 만들어낼 수 있습니다. 시약을 폐기할 때는 금속 파이프 내 아지드화나트륨 축적과 폭발 위험을 방지하기 위해 다량의 물에 희석한 후 배수 시설로 흘려보내야 합니다.

7. 모든 혈액 검체는 잠재적으로 전염성이 있다고 간주하고 주의해서 다루어야 합니다(특히 보호용 장갑, 가운 및 보안경 착용).
8. 피펫을 절대 입으로 사용하지 않도록 하고 검체가 피부, 점막 및 눈에 닿지 않도록 하십시오.
9. 취급에 사용한 혈액 튜브 및 일회용 물질은 소각용 특수 용기에서 폐기해야 합니다.
10. 시약 및 폐기물은 현지 요구 사항에 따라 제거해야 합니다.

GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음

SDS 안전보건자료는 beckmancoulter.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다.

보관 및 안정성

이 시약은 바이알 개봉 전후에 2~8°C로 유지하면서 빛으로부터 보호해야 합니다.

안정성 시험에 따른 밀봉 바이알 유효 기간: 639일.

개봉한 바이알의 안정성: 시약은 180일 동안 안정적입니다.

성능 저하 증거

시약 외관에 물리적 변화가 있는 경우 성능 저하를 나타내는 것일 수 있으므로 시약을 사용해서는 안 됩니다.

자세한 정보가 필요하거나 손상된 제품을 받은 경우에는 Beckman Coulter 고객 서비스에 800-742-2345(미국 또는 캐나다)로 또는 현지 Beckman Coulter 담당자에게 문의하십시오.

목차

소디움 아자이드 보존제는 금속 배수관에서 폭발성 화합물을 형성할 수 있습니다. NIOSH 게시판을 참조하십시오. Explosive Azide Hazard(폭발성 아지드 유해물질)(76/8/16)
아지드 화합물의 축적 가능성을 방지하려면 희석되지 않은 시약을 폐기한 다음 폐기 파이프를 물로 세척하십시오. 소디움 아자이드의 폐기는 해당 지역 규정을 따라야 합니다.

필요하지만 키트와 함께 제공되지 않는 품목:

- 검체 튜브와 검체 채취에 필요한 물질.
- 20, 100 및 500µL용 일회용 팁이 있는 자동 피펫.
- 플라스틱 용혈 튜브.
- 용해 후 세척 단계의 적혈구 용해 시약. 예: VersaLyse(참조 A09777).
- 백혈구 고정 시약. 예: IOTest 3 고정액(참조 A07800).
- 완충액(PBS: 0.01M 인산나트륨, 0.145M 염화나트륨, pH 7.2).
- 원심분리기.
- 자동 교반기(교반 유형).
- 유세포 분석기.

VERSALYSE 시약을 이용한 절차

1. 적절한 용량인 20µL의 특이 IOTest 결합 항체를 각 테스트 튜브에 첨가합니다.
2. 100µL의 검사 검체를 각 튜브에 첨가합니다. 튜브를 부드럽게 교반합니다.
3. 실온(18~25°C)에서 빛을 피해 15~20분 동안 배양하십시오.
4. 그런 다음 적혈구 용해를 수행합니다. VersaLyse(참조 A09777) 책자 내용을 참조하여 즉석에서 준비한 1mL의 "고정 및 세포 용해" 혼합물을 첨가하는 "수반 고정" 절차를 따릅니다. 즉시 1초 동안 교반한 후 직사광선을 피해 상온에서 10분 동안 배양합니다.
5. 상온에서 150 x g로 5분 동안 원심분리합니다.
6. 흡입 시 상청액을 제거하십시오.
7. 3mL의 PBS를 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.
8. 5단계를 반복합니다.
9. 그런 다음 흡입 방식으로 상등액을 제거하고 다음을 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.

- 조제 물질을 24시간 미만으로 보관하려는 경우 0.1 %의 포름알데히드가 함유된 0.5mL 또는 1mL의 PBS. (0.1 % 포름알데히드 PBS는 12.5µL의 IOTest 3 고정액(참조 A07800)을 1mL의 PBS에 10X 농도로 희석하여 얻을 수 있습니다).
- 조제 물질을 2시간 이내에 분석하려는 경우 포름알데히드가 없는 0.5mL 또는 1mL의 PBS.

참고: 조제물은 항상 빛을 피해 2~8°C로 유지하십시오.

예상 수치

실험실에서 25명의 건강한 공여자의 전혈 검체를 위에 설명된 시약을 사용하여 처리했습니다. 이 시약에서 관심 대상의 양성 이벤트 수 계산을 위해 얻은 결과는 아래 표와 같습니다.

양성 표적	번호	평균(%)	표준편차	CV(%)
단핵구	25	98.49	1.00	1.02
과립구	25	99.98	0.02	0.02

위 값은 전형적인 값으로만 참고해야 합니다. 각 실험실은 소재 지역의 정상 공여자 집단을 통해 고유한 예상값을 설정해야 합니다.

성능

성능 데이터는 위에 설명한 절차를 이용하여 이전에 EDTA 염을 항응고제로 하여 무균 튜브에서 수집한 지 24시간 미만인 혈액 검체로 획득합니다. 분석은 면역염색 후 2시간 이내에 수행됩니다.

특이도

CD15 항원(루이스 x / 렉스)은 락토-N-(네오) 푸코펜토오스 III 분자입니다. 이 탄수화물 에피토프는 세포막에서 표현되는 당지질과 당단백질로 운반됩니다. CD15 항원은 호중구, 산호성 백혈구, 단핵 백혈구 및 정상 골수 전구 세포에서 강하게 표현됩니다. 정상 적혈구, 혈소판 또는 백혈구에서는 표현되지 않습니다. 80H5 항체는 후골수구, 골수구, 전골수구 및 활성 대식 세포에서 발견되는 초기 골수 구분 에피토프를 인식하며 과립성 백혈구에도 반응합니다. 80H5 단일 클론 항체는 1993년 미국 보스턴에서 개최된 인체 백혈구 분화 항원에 대한 제5차 국제 워크샵에서 CD15 분화 클러스터에 부여되었습니다 (11, 12).

정밀도

양성 비율 값은 전혈을 사용하여 측정되었습니다. 각 검체는 2개의 CD15-FITC 단일 클론 항체 시약 로트를 사용하여 2개의 장비에서 하루 동안 일일 2회씩 4번 실행되었습니다. 측정값(양성 비율)은 Navios 유세포 분석기로 도출했습니다. 분석은 CLSI 방법 EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods(EP5-A2: 정량적 측정 방법의 정밀도 성능 평가)를 기반으로 수행했습니다.

허용 기준은 각 집단에서 측정한 양성 이벤트 수에 따라 다릅니다.

- 양성 이벤트 수가 < 1,500인 경우 CV < 15 %
- 양성 이벤트 수가 > 1,500인 경우 CV < 10 %

단핵구							
양성 이벤트 수(평균) = 1056							
	작업자 간	유세포 분석기 간	로트 내	로트 간	실행 간	실행 내	총계
CV(%)	0.01	0.01	0.04	0.01	0.01	0.03	0.04
결과	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

과립구							
양성 이벤트 수(평균) = 8446							
	작업자 간	유세포 분석기 간	로트 내	로트 간	실행 간	실행 내	총계
CV(%)	0.01	0.03	0.04	0.01	0.01	0.03	0.05
결과	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

정확도

CD15-FITC의 정확도는 그 결과를 Navios 유세포 분석기로 처리된 전혈 검체에 공인 참조 시약을 가한 값과 비교하여 평가했습니다. 검사 시약과 참조 시약 간 바이어스는 검사 결과 간 차이를 기반으로 지정되었습니다. 바이어스가 허용 가능한 오차 범위 내에 있거나 p-값이 유의한 차이를 나타내지 않는 경우 (> 0.05) 두 시약의 검사 결과는 동일한 것으로 간주됩니다.

얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

공여자 수 = 25				
양성 표적	평균 Δ	Δ % 세포 기준	p-값	결과
단핵구	-0.21	<5	0.058	PASS
과립구	0.00	<5	6.149E-01	PASS

공시료 최저 검출한계 및 검출한계

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures(CLSI EP17-A2, 임상 실험실 측정 절차에 대한 검출 능력 평가)에 따라 연구를 실시했습니다. 검출한계(LoD)는 일관되게 검출 가능한 분석물질의 최저 농도입니다. 얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

Positive Target	공시료 최저 검출한계(세포/µL)	검출한계(세포/µL)
단핵구	1	3
과립구	1	3

한계

1. 유세포 분석기가 완벽하게 정렬되지 않은 경우, 형광 누출이 올바르게 보정되지 않은 경우 또는 영역 위치를 신중하게 지정하지 않은 경우 유세포 분석법에서 잘못된 결과가 나올 수 있습니다.
2. 이 시약은 "비세척" 용해 기법에 최적화되지 않았으므로 세척 단계를 포함한 적혈구 용해법을 사용하는 것이 바람직합니다.
3. 사용한 절차가 동봉된 기술 책자의 내용을 따르고 실험실 모범 사례와 호환되는 경우 정확하고 재현 가능한 결과를 얻을 수 있습니다.
4. 이 시약의 결합 항체는 최상의 특이/비특이 신호비를 제공하도록 보정됩니다. 그러므로 모든 검사에서 시약의 용적/검체 용적 비율을 준수하는 것이 중요합니다.
5. 과백혈구 증가증의 경우 혈액을 PBS에 희석하여 대략 백혈구 5 x 10^9개/L 값을 얻어야 합니다(12).
6. 심한 신부전 또는 혈색소병증 같은 특정 질병 상태에서 적혈구의 용해는 느리거나 불완전하거나 심지어는 불가능할 수도 있습니다. 이러한 경우 염색 전에 밀도 구배(예: Ficoll)를 사용하여 단핵구 세포를 분리하는 것이 좋습니다(13).
7. 80H5(CD15)와 같은 Lewis x 항원에 대한 IgM 동형의 단일 클론 항체는 골수단핵구에서 유래한 세포의 응집을 유도하는 것으로 알려져 있습니다(14). 그러한 군집이 관심 관문에서 제외되어 CD15 양성 세포의 부정확한 예측을 초래할 수 있습니다.
8. 항 인간 단일 클론 항체 요법으로 치료받은 환자에서, 특이 표적 항원의 검출이 치료 항체에 의한 일부 또는 전체 차단으로 인해 감소하거나 이루어지지 않을 수 있습니다.
9. CD15-FITC 결과는 증상, 병력, 추가 검사 데이터, 기타 적절한 정보 등 환자의 모든 임상 증상을 고려하여 해석해야 합니다.

예시와 참고 자료는 부록을 참조하십시오.

상표

본 문서에 포함된 Beckman Coulter, 스타일 로고, Beckman Coulter 제품 및 서비스 마크는 미국 및 기타 국가에서 Beckman Coulter, Inc.의 상표이거나 등록 상표입니다.

추가 정보

유럽 연합 및 이와 동일한 규정 체제(EU 규정 2017/746, 체외 진단용 의료 기기 관련)를 사용하는 국가에 거주하는 환자/사용자/타사의 경우, 이 장치의 사용 중이나 사용으로 인해 심각한 상황이 발생했다면 제조업체 및/또는 공인 담당자와 해당 국가의 담당 기관에 신고하십시오.

Summary of Safety and Performance(안전성 및 성능에 관한 개요)는 ec.europa.eu/tools/eudamed 주소의 EUDAMED 데이터베이스에서 확인할 수 있습니다.

개정 이력

개정판 AC:	발행 날짜: 2019년 9월

개정	**발행 날짜**
AW	2022년 2월
Beckman Coulter 글로벌 라벨 지정 정책 및 IVD-R (EU) 2017/746 요건에 따라 업데이트했습니다.	
추가된 섹션	BSI 2797 번호, 대상 사용자, 임상적 관련성, 농도, 정밀도, 정확도, 공시료 최저 검출한계 및 검출한계, 추가 정보, 개정 이력.
추가된 정보	한계 섹션 참조
언어적 표현이나 글자 배치를 업데이트했습니다.	절차, 성능, 한계, 경고 및 주의 사항, 보관 및 안정성 섹션을 참조하십시오.
삭제된 섹션	임상 용도의 예, 시약, 실험실 내 재현성, 직선성
업데이트된 섹션	사용목적, GHS 유해물질 등급, 성능 저하 증거, 절차, 부록.

개정	**발행 날짜**
AX	4월 2023
업데이트된 섹션	카자흐어 추가
업데이트된 섹션	보관 및 안정성

개정된 버전	AY
개정 날짜	5월 2024
업데이트된 번역	**임상적 관련성:**
업데이트된 섹션	개정 이력

개정된 버전	AZ
개정 날짜	7월 2024
업데이트된 섹션	개정 이력

기호 목록

기호 용어집은 beckman.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다(문서 번호 B60062)

	Spesifikasyonlar
Özgüllük	CD15
Klon	80H5
Hibridoma	MOPC 315-43 x balb/c
İmmünojen	Human granulocytes
Immunoglobulin	IgM
Türler	Fare
Arıtma	Jel filtrasyon kromatografisi
Florokrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molar oran	FITC/Ig: 12-14
λ eksitasyonu	488 nm
Emisyon piki	525 nm
Tampon	PBS pH 7,2 artı 2 mg/mL BSA ve %0,1 NaN_3

IOTest
Konjuge Antikor CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

***İn vitro* diagnostik kullanım içindir.**

KULLANIM AMACI

Bu florokrom konjuge antikor, akış sitometrisi kullanılarak insan biyolojik örneklerinde var olan CD15 antijenini eksprese eden hücre popülasyonlarının otomatik olmayan ve kalitatif tanımlamasına olanak tanır (aşağıdaki "Örnekler" bölümüne bakın).

İLKE

Bu test, spesifik monoklonal antikorların lökositler tarafından eksprese edilen antijenik belirleyicilere bağlanabilmesine dayanmaktadır.

Lökositlerin spesifik boyaması, örnek, IOTest reaktifi ile inkübe edilerek gerçekleştirilir. Sonra kırmızı hücreler parçalanarak giderilir ve bu işlemden etkilenmeyen lökositler, akış sitometrisi ile analiz edilir.

Akış sitometrisi ışık difüzyonunu ve hücre floresanını ölçer. Bu durum, ilgili popülasyonun, ışığın ortogonal difüzyonu (Yana Yayılma veya SS) ve dar açılı ışığın difüzyonu (İleri Yayılma veya FS) ile ilişkilendirilen histogram üzerinde tanımlanmış elektronik pencerede sınırlanmasını sağlar. Sitometredeki farklı parametrelerden ikisini birleştiren diğer histogramlar, kullanıcının seçtiği uygulamaya bağlı olarak kapılama aşamasında destek olarak kullanılabilir.

Sınırlı hücrelerin floresanı analiz edilerek pozitif boyalı olaylar boyasızlardan ayrılır. Sonuçlar pozitif olayların geçiş ile edinilmiş tüm olaylara yüzdesi olarak ifade edilir.

HEDEF KULLANICI

Bu ürün, laboratuvarda profesyonel kullanım için tasarlanmıştır.

KLİNİK GEÇERLİLİK

CD15-FITC, akış sitometrisiyle CD15 antijenini eksprese eden hücreleri tanımlamak ve karakterize etmek amacıyla kullanılan bir CD15 antikorudur. Bu ürün tek başına, herhangi bir tanı sonucu oluşturamaz ve tanı sonucu oluşturmak üzere tasarlanmamıştır.

Bu ürün, diğer belirteçlerle birlikte kullanıldığında aşağıdaki işlevlerden biri veya daha fazlası için kullanılabilir:

- Hematolojik bozukluğu olduğundan şüphelenilen hematolojik olarak anormal hastalarda ayırıcı tanıya yardımcı olmak ve bilinen hematolojik bozukluğu olan hastaları izlemek için.
- Nakil işlemini veya sonuçlarını izlemek için.
- Hematopoetik neoplazmı olan hastalarda prognoza yardımcı olmak için.

Şu referanslara bakın:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

KONSANTRASYON

Lota özel Analiz Sertifikası için www.beckman.com adresine bakın.

ÖRNEKLER

Antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüpler kullanılarak venöz kan alınmalıdır.

Örnekler oda sıcaklığında (18-25°C) tutulmalı ve çalkalanmamalıdır. Örnekler test örneği alınmadan önce hafifçe çalkalanarak homojenize edilmelidir.

Örnekler venipunktür sonrası 24 saat içinde analiz edilmelidir.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. Reaktifi son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
2. Dondurmayın.
3. Kullanmadan önce oda sıcaklığına (18-25°C) getirin.
4. Işığa maruz kalmasını en aza indirin.
5. Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonundan kaçının yoksa yanlış sonuçlar oluşabilir.
6. Sodyum azid (NaN_3) içeren antikor solüsyonları dikkatle işlenmelidir. Yutmayın ve cilt, mukoza ve gözlerle temasından kaçının.

Ayrıca, asit ortamında, sodyum azid potansiyel olarak tehlikeli hidrazoik asit oluşturabilir. Atılması gerekiyorsa, metal borularda sodyum azid birikmesini ve patlama riskini önlemek için, reaktifin drenaj sistemine dökülmeden önce çok miktarda suyla seyreltilmesi önerilmektedir.

7. Tüm kan örnekleri potansiyel olarak bulaşıcı olarak kabul edilmeli ve dikkatle ele alınmalıdır (özellikle koruyucu eldiven, önlük ve gözlük takılmalıdır).
8. Asla ağızla pipetleme yapmayın ve örneklerin cilt, mukoza veya gözle herhangi bir şekilde temas etmesini önleyin.
9. Taşıma için kullanılan kan tüpleri ve tek kullanımlık malzeme, yakma amacıyla özel kaplara atılmalıdır.
10. Reaktifler ve atıklar yerel gereksinimlere göre elimine edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır

SDS Güvenlik Bilgi Formuna beckmancoulter.com/techdocs adresinden ulaşılabilir

SAKLAMA VE STABİLİTE

Bu reaktifin, şişe açılmadan önce ve açıldıktan sonra 2 ile 8°C arasında tutulması ve ışıktan korunması gereklidir.

Stabilite çalışması için şişe raf ömrü: 639 gün.

Açılan şişenin stabilitesi: reaktif 180 gün stabildir.

BOZULMA GÖSTERGESİ

Reaktiflerin fiziksel görünümündeki herhangi bir değişiklik bozulmayı gösterebilir ve reaktif kullanılmamalıdır.

Ek bilgi almak isterseniz veya aldığınız ürün hasarlı çıktıysa, 800-742-2345 numaralı telefondan (ABD veya Kanada) Beckman Coulter Müşteri Hizmetlerini arayın veya yerel Beckman Coulter Temsilcinizle temas kurun.

İÇİNDEKİLER

Sodyum azid koruyucu maddesi metal kanalizasyon hatlarında patlayıcı bileşimler oluşturabilir. NIOSH Bültenine bakın: Explosive Azide Hazard (Patlayıcı Azide Tehlikesi) (16.8.76).
Azid bileşenlerinin olası birikimini engellemek amacıyla, seyreltilmemiş reaktifi çöpe attıktan sonra atık borularını bol suyla yıkayın. Sodyum azid, uygun yerel düzenlemelere göre çöpe atılmalıdır.

GEREKLİ OLAN ANCAK KİT İLE BİRLİKTE VERİLMEYEN MALZEMELER:

- Numune alma tüpleri ve numune alma için gerekli malzemeler.
- 20, 100 ve 500 µL için tek kullanımlık uçlu otomatik pipetler.
- Plastik hemoliz tüpleri.
- Lizis sonrası yıkama aşamasıyla birlikte eritrosit lizis reaktifi. Örneğin: VersaLyse (Ref. A09777).
- Lökosit fiksasyon reaktifi. Örneğin: IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonu (Ref. A07800).
- Tampon (PBS: 0,01 M sodyum fosfat; 0,145 M sodyum klorür; pH 7,2).
- Santrifüjleyin.
- Otomatik karıştırıcı (Vorteks tipi).
- Akış sitometresi.

VERSALYSE REAKTİFİ İLE PROSEDÜR

1. Her test tüpüne uygun hacimde 20 µL spesifik IOTest konjuge antikoru ekleyin.
2. Her bir tüpe 100 µL test örneği ekleyin. Tüpleri yavaşça vorteksleyin.
3. Oda sıcaklığında (18-25°C) ışıktan koruyarak 15-20 dakika boyunca inkübe edin.
4. Ardından kırmızı hücrelerin lizisini gerçekleştirin. VersaLyse (Ref. A09777) broşürüne bakın ve tercihen "birlikte kullanılan fiksasyon ile" adlı, doğaçlama hazırlanan 1 mL "Fiksasyon ve Lizis" karışımını eklemeyi içeren prosedürü izleyin. Hemen bir saniye boyunca vorteksleyin ve ışıktan koruyarak, 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
5. Oda sıcaklığında 5 dakika 150 x g hızda santrifüjleyin.
6. Aspirasyon ile üst fazı alın.
7. 3 mL PBS kullanarak hücre peletini yeniden süspanse edin.
8. Adım 5'i tekrarlayın.
9. Yüzer maddeyi aspirasyonla alın ve hücre topağını şunu kullanarak yeniden süspanse edin:

- Preparatlar 24 saatten az tutulacaksa, 0,5 mL veya 1 mL PBS'nin yanı sıra %0,1 formaldehit. (%0,1 formaldehit PBS, 1 mL PBS içinde 10X konsantre IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonundan (Ref. A07800) 12,5 µL seyreltilerek elde edilebilir).
- 0,5 mL veya 1 mL PBS formaldehidsiz, preparatlar 2 saat içinde analiz edilmelidir.

Not: Tüm durumlarda, preperatlar 2 ile 8°C arasında tutulmalı ve ışıktan korunmalıdır.

BEKLENEN DEĞERLER

Laboratuvarlarımızda, yukarıda açıklanan reaktif kullanılarak sağlıklı görünen 25 donörün tam kan örnekleri işlenmiştir. Bu reaktif ile ilgi konusu pozitif olayların sayısı için elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir:

Pozitif Hedef	Sayı	Ortalama (%)	SS	VK (%)
Monositler	25	98,49	1,00	1,02
Granülositler	25	99,98	0,02	0,02

Bu değerlerin sadece temsili olması amaçlanmaktadır. Her laboratuvar normal donörlerden oluşan yerel popülasyonunda kendi beklenen değerlerini oluşturmalıdır.

PERFORMANS

Performans verileri, antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüplerde daha önce toplanan, 24 saatten eski olmayan kan örnekleri üzerinde yukarıdaki prosedür kullanılarak elde edilmiştir. İmmün boyamayı takiben 2 saat içinde analiz gerçekleştirilir.

ÖZGÜLLÜK

CD15 antijeni (Lewis x/Lex) lakto-N-(neo) fukopentaoz III molekülüdür. Bu karbonhidrat epitopu hücre membranında ifade edilen hem glikolipidler hem glikoproteinler tarafından taşınır. CD15 antijeni nötrofiller, eozinofiller, monositler ve normal myeloid öncü hücreler tarafından kuvvetle ifade edilir. Normal eritrositler, trombositler veya lenfositlerde ifade edilmez. 80H5 antikoru metamyelositler, myelositler, promyelositler ve aktive makrofajlarda bulunan bir erken myeloid diferansiyasyon epitopunu tanır. Ayrıca granülositlerle reaksiyona girer. 80H5 monoklonal antikoru 1993'te ABD'de Boston'da yapılan beşinci İnsan Lökosit Diferansiyasyon Antijenleri Uluslararası Çalışma Grubunda CD15 diferansiyasyon kümesine tahsis edilmiştir (10, 11).

KESİNLİK

Yüzde pozitif değerler, Tam Kan kullanılarak belirlenmiştir. Her örnek, 2 lot CD15-FITC Monoklonal Antikor Reaktifleri kullanılarak 2 cihazda 1 gün için günde iki kez olmak üzere 4 kez çalışılmıştır. Ölçümler (% pozitif) Navios akış sitometresi üzerinde yapılmıştır. Analiz, CLSI yöntemi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kantitatif Ölçüm Yöntemlerinin Kesinlik Performansına İlişkin Değerlendirme) temelinde yürütülmüştür.

Kabul kriterlerimiz, her popülasyon için ölçülen pozitif olay sayısına bağlıdır:

- Pozitif olay <1.500, VK <%15 ise
- Pozitif olay >1.500, VK <%10 ise

Monositler							
Pozitif olay sayısı (Ortalama)=1056							
	Kullanıcılar arası	Sitometreler arası	Lot içi	Lotlar arası	Çalışmalar arası	Çalışma içi	Total
VK (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
SONUÇLAR	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granülositler							
Pozitif olay sayısı (Ortalama)=8446							
	Kullanıcılar arası	Sitometreler arası	Lot içi	Lotlar arası	Çalışmalar arası	Çalışma içi	Total
VK (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
SONUÇLAR	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOĞRULUK

CD15-FITC doğruluğu, bir Navios akış sitometresinde çalışılan tam kan örnekleri grubunda esas alınan referans reaktifle sonuçlar karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Test ve referans reaktif arasındaki sapma, test sonuçları arasındaki fark temelinde belirlenmiştir. Sapma, izin verilen hata aralığı dahilindeyse veya p değeri anlamlı fark göstermediğinde (>0,05), iki reaktif için test sonuçlarının eşdeğer olduğu kabul edilir.

Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Donör sayısı=25				
Pozitif Hedef	Ortalama Δ	Δ % Hücre kriteri	p değeri	SONUÇLAR
Monositler	-0,21	<5	0,058	PASS
Granülositler	0,00	<5	6,149E-01	PASS

KÖR LİMİTİ VE TESPİT LİMİTİ

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klinik Laboratuvar Ölçüm Prosedürleri için Tespit Kabiliyetinin Değerlendirilmesi) ile uyumlu bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Tespit Limiti (LOD), tutarlı olarak tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonudur. Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Positive Target	Kör Limiti (hücre/µL)	Tespit Limiti (hücre/µL)
Monositler	1	3
Granülositler	1	3

SINIRLAMALAR

1. Akış sitometrisi, sitometre mükemmel şekilde hizalanmadıysa, floresan sızıntıları doğru şekilde telafi edilmediyse ve bölgeler dikkatli bir şekilde konumlandırılmadıysa yanlış sonuçlar üretebilir.
2. Bu reaktif "yıkamasız" parçalama teknikleri için optimize edilmediğinden, yıkama adımı içeren bir RBC parçalama tekniği kullanılması tercih edilir.
3. Kullanılan prosedürler teknik bilgi broşürüne uygun olduğu ve iyi laboratuvar uygulamalarına uygun olduğu sürece doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilecektir.
4. Bu reaktifin konjugat antikoru, en iyi spesifik sinyal/spesifik olmayan sinyal oranını sunacak şekilde kalibre edilir. Bu nedenle her testte reaktif hacmi/örnek hacmi oranına bağlı kalmak önemlidir.
5. Hiperlökositoz durumunda yaklaşık 5 x 10^9 lökosit/L (12) değerini elde etmek için kanı PBS içinde seyreltin.
6. Şiddetli böbrek yetmezliği veya hemoglobinopatiler gibi bazı hastalık durumlarında, eritrosit lizisi yavaş, eksik ve hatta imkansız olabilir. Bu durumda mononükleotidli hücrelerin boyama öncesinde yoğunluk gradyanı (örneğin Ficoll) kullanılarak izole edilmesi önerilmektedir (13).
7. 80H5 gibi Lewis x antijeninin (CD15) IgM izotipinin monoklonal antikorlarının miyelomonositik kökenli hücrelerin agregasyonunu tetiklediği bilinmektedir (14). Bu gibi agregatlar, ilgilenilen geçitlerden hariç tutulabilir ve CD15 pozitif hücrelerinin hatalı tahminlerine neden olur.

8. Anti-insan monoklonal antikor terapisi ile tedavi edilen hastalarda, terapötik antikorun kısmi veya tam engellemesi nedeniyle spesifik hedeflenen antijenlerin tespiti azalabilir veya yapılamayabilir.
9. CD15-FITC sonuçları, semptomlar, klinik öykü, ilave testlerden elde edilen veriler ve diğer uygun bilgiler dahil olmak üzere hastanın genel klinik tablosu dikkate alınarak yorumlanmalıdır.

Örnekler ve referanslar için Ek'e bakın.

TİCARİ MARKALAR

Bu belgede belirtilen Beckman Coulter, stilize logo ve Beckman Coulter ürün ve hizmet markaları, Beckman Coulter, Inc. firmasının ABD'de ve diğer ülkelerdeki ticari veya tescilli ticari markalarıdır.

EK BİLGİLER

Avrupa Birliği'nde ve aynı düzenleme rejiminin olduğu ülkelerdeki (In Vitro Diagnostik Tıbbi Cihazlar hakkında 2017/746/EU sayılı Yönetmelik) hasta/kullanıcı/üçüncü taraflar için; bu cihazın kullanımı sırasında veya cihazın kullanımının bir sonucu olarak ciddi bir olay meydana gelirse lütfen olayı üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makamınıza bildirin.

Summary of Safety and Performance (Güvenlik ve Performans Özeti) EUDAMED veritabanında mevcuttur: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVİZYON GEÇMİŞİ

REVİZYON AC:	Yayın tarihi: Eylül 2019

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AW	Şubat 2022
Beckman Coulter Global Etiketleme Politikasıyla uyumluluk sağlamak için ve IVD-R (AB)2017/746 gerekliliklerine göre güncellemeler yapıldı:	
Bölümler eklendi	BSI 2797 Numarası, Hedef Kullanıcı, Klinik Anlam, Konsantrasyon, Kesinlik, Doğruluk, Kör limiti ve tespit limiti, Ek Bilgiler, Revizyon Geçmişi.
Bilgi eklendi	Sınırlamalar bölümlerine bakın
İfade veya yazım güncellemeleri	Prosedür, Performans, Sınırlamalar, Uyarılar ve Önlemler, Saklama ve Stabilite bölümlerine bakın.
Bölümler kaldırıldı	Klinik uygulama örneği, Reaktifler, Laboratuvar içi yeniden üretilebilirlik, Linearite
Güncellenmiş bölümler	Kullanım Amacı, GHS Tehlike Sınıflandırması, Bozulma Göstergesi, Prosedür, Ek.

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AX	Nisan 2023
Güncellenmiş bölümler	Kazakça ekle
Güncellenmiş bölümler	Saklama ve stabilite

Düzeltilmiş Sürüm	AY
Revizyon Tarihi	Mayıs 2024
Güncellenmiş Çeviriler	**Klinik önemi:**
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Düzeltilmiş Sürüm	AZ
Revizyon Tarihi	Temmuz 2024
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Sembol Anahtarı

Semboller Sözlüğü beckman.com/techdocs adresinde bulunabilir (belge numarası B60062)

	Спецификации
Специфичность	CD15
Клон	80H5
Гибридома	MOPC 315-43 x balb/c
Иммуноген	Human granulocytes
Иммуноглобулин	IgM
Вид	Мышь
Очистка	Гель-фильтрация хроматографии
Флуорохром	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Молярное отношение	FITC / Ig: 12-14
Возбуждение λ	488 nm
Пик эмиссии	525 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 мг/мл БСА и 0,1% NaN_3

Конъюгированное антитело IOTest CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 мл, 20 мкл/тест

Для диагностики *in vitro*.

НАЗНАЧЕНИЕ

Это конъюгированное с флуорохромом антитело позволяет с использованием проточной цитометрии выполнить качественное и не автоматизированное определение клеточных популяций, экспрессирующих антиген CD15, который присутствует в биологических пробах человека (см. раздел «Пробы» ниже).

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Данный тест основан на способности специфических моноклональных антител связывать антигенные детерминанты, экспрессированные лейкоцитами.

Специфическое окрашивание лейкоцитов выполняется путем инкубирования пробы с реагентом IOTest. Затем методом лизиса удаляются эритроциты, и выполняется анализ лейкоцитов, не затронутых этим процессом, методом проточной цитометрии.

Проточный цитометр измеряет светорассеяние и флуоресценцию клеток. Это дает возможность разграничения интересующей популяции в электронном окне, определенном на гистограмме, что коррелирует с ортогональным светорассеянием (боковое рассеяние, или SS) и рассеянием света под острым углом (прямое рассеяние, или FS). Другие гистограммы, сочетающие два из других параметров, доступных на цитометре, могут использоваться как вспомогательные на стадии селекции, в зависимости от приложения, выбранного пользователем.

Флуоресценцию разграниченных клеток анализируют с целью различения положительно-окрашенных и неокрашенных событий. Результаты выражаются в виде процентного отношения положительных событий ко всем событиям, полученным в ходе селекции.

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ

Изделие предназначено для использования в лаборатории персоналом с профессиональной подготовкой.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

CD15-FITC представляет собой антитело к CD15, используемое для идентификации и определения характеристик клеток, экспрессирующих антиген CD15, методом проточной цитометрии. Этот продукт отдельно от других исследований не может приводить к принятию каких-либо диагностических решений и не предназначен для этого.

При использовании в сочетании с другими маркерами этот продукт может использоваться в следующих целях.

- Для использования при дифференциальной диагностике пациентов с отклонениями гематологических результатов (при подозрении на наличие гематологических нарушений), а также для мониторинга пациентов с известными гематологическими нарушениями.
- Для отслеживания процесса или результатов трансплантации.
- Для определения прогноза у пациентов с гематопоэтическими новообразованиями.

См. следующие ссылки:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

См. специфический для партии сертификат анализа на веб-сайте www.beckman.com.

ПРОБЫ

При взятии образца венозной крови необходимо использовать стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта.

Пробы следует хранить при комнатной температуре (18–25°C), не встряхивая. Пробы следует гомогенизировать, осторожно перемешав, до отбора тестовой пробы.

Пробы требуется проанализировать в течение 24 ч после венипункции.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Не используйте реагенты после истечения срока годности.
2. Не замораживать.
3. Перед использованием довести до комнатной температуры (18–25°C).
4. Минимизируют воздействие света.

5. Во избежание получения ошибочных результатов не допускайте микробной контаминации реагентов.
6. Следует с осторожностью обращаться с растворами антител, содержащими натрия азид (NaN_3). Не принимайте внутрь и избегайте любого контакта с кожей, слизистыми оболочками и глазами.

   Кроме того, в кислой среде натрия азид может образовывать потенциально опасную азотистоводородную кислоту. Если требуется утилизация, рекомендуется разводить реагент в большом объеме воды, прежде чем выливать его в канализацию, чтобы избежать накопления натрия азида в металлических трубах и исключить возможность взрыва.
7. Все пробы крови должны считаться потенциально инфицированными, при обращении с ними необходимо соблюдать осторожность (в частности, использовать защитные перчатки, одежду и очки).
8. Никогда не пипетируйте ртом и избегайте любого контакта проб с кожей, слизистыми и глазами.
9. При утилизации пробирок и одноразовых материалов следует использовать специальные предназначенные для сжигания контейнеры.
10. При утилизации реагентов и отходов необходимо следовать требованиям местного законодательства.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Не классифицируется как опасное вещество

SDS Паспорт безопасности доступен на сайте beckmancoulter.com/techdocs

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Этот реагент требуется хранить при температуре от 2 до 8°C, защищая от света, до и после вскрытия флакона.

Срок хранения закрытого флакона согласно исследованию стабильности: 639 день.

Стабильность в открытом флаконе: реагент сохраняет стабильность в течение 180 дн.

ПРИЗНАКИ ПОРЧИ

Любые изменения внешнего вида реагентов могут говорить о порче, использовать такой реагент не следует.

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь со своим местным представителем Beckman Coulter.

СОДЕРЖАНИЕ

Консервант с содержанием азида натрия может образовывать взрывоопасные соединения в металлической водопроводной арматуре. См. бюллетень Национального института по охране труда и промышленной гигиене (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Взрывоопасные азиды) (16.8.76). Чтобы избежать накопления азидных соединений, промывайте сливные трубы водой после сброса неразбавленного реагента. Утилизацию азида натрия следует проводить в соответствии с соответствующими местными нормами.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, КОТОРЫЕ НЕ ВХОДЯТ В НАБОР:

- Необходимые для взятия проб пробирки и материалы.
- Автоматические пипетки с одноразовыми наконечниками для 20, 100 и 500 мкл.
- Пластиковые пробирки для гемолиза.
- Реагент для лизиса эритроцитов с этапом промывки после лизиса. Например: VersaLyse (ссылочный номер A09777).
- Реагент для фиксации лейкоцитов. Например: IOTest 3 Fixative Solution (фиксирующий раствор) (ссылочный номер A07800).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрия фосфата; 0,145 M натрия хлорида; pH 7,2).
- Центрифугируйте.
- Автоматическая мешалка (вортексная)
- Проточный цитометр.

ПРОЦЕДУРА С РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

1. Добавляют соответствующий объем 20 (мкл) специфического конъюгированного антитела IOTest в каждую тестовую пробирку.
2. Добавьте 100 мкл тестовой пробы в каждую пробирку. Аккуратно перемешайте пробирки на вортексе.
3. Инкубируют при комнатной температуре (18–25°C) в течение 15-20 мин, в защищенном от света месте.
4. Затем выполняют лизис эритроцитов. См. вкладыш VersaLyse (ссылочный номер A09777) и, предпочтительно, следуйте процедуре с названием «с сопутствующей фиксацией», которая заключается в добавлении 1 мл смеси «Фиксирующей и лизирующей», приготовленной для немедленного применения. Немедленно перемешивают на вортексе в течение одной секунды и инкубируют в течение 10 минут при комнатной температуре, защищая от света.
5. Центрифугируют в течение 5 минут при 150 g при комнатной температуре.
6. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации.
7. Ресуспендируют осадок клеток, используя 3 мл PBS.
8. Повторите шаг 5.
9. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации и ресуспендируют осадок клеток, используя:

- 0,5 мл или 1 мл PBS плюс 0,1% формальдегида, если препараты следует хранить менее 24 ч. (PBS с 0,1% формальдегида можно получить путем разведения 12,5 мкл фиксирующего раствора IOTest 3 (ссылочный номер A07800) в 10-кратной концентрации в 1 мл PBS).
- 0,5 мл или 1 мл PBS без формальдегида, если препараты следует проанализировать в течение 2 ч.

Примечание. В обязательном порядке защищайте подготавливаемые материалы от солнечного света, храните их при температуре от 2 до 8°C.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В наших лабораториях пробы цельной крови от клинически здоровых доноров (количество доноров: 25) были обработаны с использованием описанного выше реагента. Результаты, полученные для количества положительных интересующих явлений с этим реагентом, приводятся в таблице ниже:

Положительная мишень	Число	Среднее (%)	SD	CV (%)
Моноциты	25	98,49	1,00	1,02
Гранулоциты	25	99,98	0,02	0,02

Эти значения используются только в качестве примера. В каждой лаборатории должны быть установлены собственные диапазоны ожидаемых значений с учетом проб нормальных доноров из числа местного населения.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Рабочие характеристики получены с использованием описанной выше процедуры на пробах, собранных не ранее чем за 24 часа до анализа в стерильные пробирки с солью ЭДТА как антикоагулянтом. Анализ проводится в течение 2 часов после иммуноокрашивания.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Антиген CD15 (Lewis x/Lex) представляет собой молекулу лакто-N-(нео) фукопентаозы III. Этот эпитоп углевода переносится гликолипидами и гликопротеинами, экспрессируемыми на клеточной мембране. Антиген CD15 сильно экспрессируется нейтрофилами, эозинофилами, моноцитами и нормальными миелоидными клетками-предшественниками. Он не экспрессируется на нормальных эритроцитах, тромбоцитах или лимфоцитах. Антитело 80H5 распознает ранний миелоидный дифференцирующий эпитоп, который обнаруживается на метамиелоцитах, миелоцитах, промиелоцитах и активированных макрофагах. Оно также вступает в реакцию с гранулоцитами. Моноклональное антитело 80H5 было отнесено к кластеру дифференциации CD15 на Пятом Международном семинаре по дифференциальным антигенам человеческих лейкоцитов в Бостоне, США (1993) (10, 11).

ПРЕЦИЗИОННОСТЬ

Процент положительных результатов был установлен с использованием цельной крови. Каждую пробу измеряли 4 раза, два раза в день в течение 1 дня на 2 приборах, с использованием 2 партий реагентов моноклональных антител CD15-FITC. Измерения (% положительных) выполняли на проточном цитометре Navios. Анализ проводился на основе метода CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оценка прецизионности количественных методик измерения).

Наши критерии принятия зависят от количества положительных событий, измеренных для каждой популяции:

- Если положительных событий <1 500, CV <15%
- Если положительных событий >1 500, CV <10%

Моноциты							
Количество положительных событий (среднее) = 1056							
	Между операторами	Между цитометрами	Внутри партии	Между партиями	Между анализами	Внутри анализа	Итого
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
РЕЗУЛЬТАТЫ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Гранулоциты							
Количество положительных событий (среднее) = 8446							
	Между операторами	Между цитометрами	Внутри партии	Между партиями	Между анализами	Внутри анализа	Итого
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
РЕЗУЛЬТАТЫ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТЬ

Точность CD15-FITC оценивалась путем сравнения результатов с результатами по референсному реагенту как предикатом. Анализ выполняли на проточном цитометре Navios с использованием набора проб цельной крови. Систематическая ошибка оценки между тестовым и референсным реагентами была определена на основании различий между результатами теста. Если систематическая ошибка оценки находится в пределах допустимого диапазона ошибки или если p-значение указывает на отсутствие значительного различия (>0,05), тогда результаты теста для двух реагентов рассматриваются как эквивалентные.

Полученные результаты обобщены в таблице далее.

Количество доноров = 25				
Положительная мишень	Среднее значение Δ	Критерии Δ % клеток	p-значение	РЕЗУЛЬТАТЫ
Моноциты	-0,21	<5	0,058	PASS
Гранулоциты	0,00	<5	6,149E-01	PASS

ПРЕДЕЛ БЛАНКА И ПРЕДЕЛ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Исследование было проведено в соответствии с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Оценка способности обнаружения для методик измерения клинической лаборатории). Предел чувствительности (LOD) — наименьшая концентрация аналита, которая может последовательно обнаруживаться. Полученные результаты обобщены в таблице ниже.

Positive Target	Предел бланка (клеток/мкл)	Предел чувствительности (клеток/мкл)
Моноциты	1	3
Гранулоциты	1	3

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. При проведении проточной цитометрии возможно получение ложных результатов, если цитометр не был идеально позиционирован, не была проведена правильная компенсация утечек флуоресцентного агента или точное позиционирование областей.
2. Предпочтительно использовать технику лизиса RBC с шагом промывки, так как этот реагент не был оптимизирован для техник лизиса «без промывки».
3. Для получения точных и повторяемых результатов необходимо выполнять процедуры в соответствии с инструкцией-вкладышем и требованиями надлежащей лабораторной практики.
4. Выполняется калибровка конъюгированного антитела этого реагента с целью получения наилучшего для данной конкретной задачи соотношения специфичного и неспецифичного сигнала. Поэтому при каждом тесте важно придерживаться правильного соотношения объема реагента и пробы.
5. При гиперлейкоцитозе, разбавляют кровь PBS до приблизительно 5 x 10^9 лейкоцитов/л (12).
6. При определенных заболеваниях, таких как острая почечная недостаточность или гемоглобинопатии, лизис эритроцитов может протекать медленно, быть неполным или даже невозможным. В таком случае рекомендуется изолировать одноядерные клетки, используя градиент плотности (например, фиколл), перед окрашиванием (13).
7. Известно, что моноклональные антитела изотипа IgM к антигену Льюиса x, такому как 80H5 (CD15), индуцируют агрегацию клеток миеломоноцитарного происхождения (14). Такие скопления могут быть исключены из интересующих селекторов и приводить к неточным оценкам CD15-положительных клеток.
8. У пациентов, получавших лечение античеловеческими моноклональными антителами, обнаружение специфических целевых антител может быть снижено или может отсутствовать вследствие частичной или полной блокировки терапевтическими антителами.
9. Результаты CD15-FITC должны интерпретироваться с учетом общих клинических проявлений пациента, включая симптомы, историю болезни, данные дополнительных тестирований и прочую информацию.

Примеры и ссылки см. в Приложении.

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

Beckman Coulter, стилизованный логотип и упоминаемые здесь знаки продукции и услуг Beckman Coulter являются товарными знаками или зарегистрированными товарными знаками корпорации Beckman Coulter, Inc. в Соединенных Штатах и других странах.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для пациента / пользователя / третьей стороны в Европейском Союзе и в странах с идентичным регуляторным режимом (Регламент 2017/746/EC в отношении медицинских изделий для in vitro диагностики); если, во время использования этого изделия или в результате его использования произошел серьезный инцидент, сообщите о нем производителю и/или его уполномоченному представителю и своему национальному органу регулирования.

Summary of Safety and Performance (Сводные данные по безопасности и функциональным характеристикам) доступны в Европейской базе данных изделий медицинского назначения (EUDAMED): ec.europa.eu/tools/eudamed.

СВЕДЕНИЯ О ВЕРСИЯХ

ВЕРСИЯ AC:	Дата выпуска: Сентябрь 2019 г.

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AW	Февраль 2022 г.
Обновления с целью приведения в соответствие политике международной маркировки Beckman Coulter и для выполнения требований IVD-R (EC)2017/746:	
Добавлены разделы	Номер BSI 2797, «Предполагаемый пользователь», «Клиническая значимость», «Концентрация», «Прецизионность», «Точность», «Предел бланка и предел чувствительности», «Дополнительная информация», «Сведения о версиях».
Добавлена информация	См. раздел «Ограничения»
Обновлены формулировки или исправлены опечатки	См. разделы «Процедура», «Эксплуатационные характеристики», «Ограничения», «Предупреждения и меры предосторожности», «Хранение и стабильность».
Удалены разделы	«Примеры клинических областей применения», «Реагенты», «Внутрилабораторная сходимость», «Линейность»
Обновленные разделы	«Назначение», «Классификация опасностей по системе СГС», «Признаки порчи», «Процедура», «Приложение».

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AX	Апрель 2023
Обновленные разделы	Добавить казахский язык
Обновленные разделы	Хранение и стабильность

Пересмотренная версия	AY
Дата пересмотра	Май 2024
Обновленные переводы	**Клиническая значимость:**
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Пересмотренная версия	AZ
Дата пересмотра	Июль 2024
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Определения символов

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (номер документа B60062)

	Spetsifikatsioonid
Spetsiifilisus	CD15
Kloon	80H5
Hübridoom	MOPC 315-43 x balb/c
Immunogeen	Human granulocytes
Immunoglobuliin	IgM
Liigid	Hiir
Puhastamine	Geeli filtreerimine
Fluorokroom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molaarsuhe	FITC/Ig: 12-14
λ ergastumine	488 nm
Emission Peak	525 nm
Puhver	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/ml BSA ja 0,1% NaN_3

IOTest
konjugeeritud antikeha CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 ml, 20 µl / analüüs

***In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks.**

KASUTUSOTSTARVE

See fluorokroomiga konjugeeritud antikeha võimaldab voolutsütomeetriaga kvalitatiivselt ja mitteautomatiseeritult tuvastada rakupopulatsioone, mis esitavad inimese bioloogilistes proovides antigeeni CD15 (vt allpool osa „Proovid“).

PÕHIMÕTE

Analüüs põhineb spetsiifiliste monoklonaalsete antikehade võimel seonduda leukotsüütide sünteesitavate antigeensete determinantidega.

Leukotsüütide eriomaseks värvimiseks tuleb proovi koos tootesarja IOTest reagendiga inkubeerida. Seejärel eemaldatakse erütrotsüüdid lüüsimisega ja pärast seda analüüsitakse voolutsütomeetriaga leukotsüüte, mida see protsess ei mõjuta.

Läbivoolutsütomeeter mõõdab valguse hajumist ja rakkude fluorestsentsi. See muudab võimalikuks huvialuse populatsiooni piiristamise histogrammil määratud elektroonilisel alal. Histogramm korreleerib valguse ortogonaalset hajumist (külghajumine ehk KH) ja kitsasnurga valguse hajumist (edasihajumine ehk EH). Teisi histogramme, kus ühendatakse tsütomeetrias saadaolevat kahte parameetrit, võib kasutada lüüsimisetapis olenevalt kasutaja valitud rakendusest.

Piiritletud rakkude fluorestsentsi analüüsitakse, et eristada positiivselt värvitud sündmusi värvimata sündmustest. Tulemusi kajastatakse positiivsete sündmuste protsentuaalse osakaaluna kõigi väravdamisega hõivatud sündmuste suhtes.

SIHTKASUTAJA

See toode on ette nähtud laboratoorseks kasutamiseks.

KLIINILINE TÄHTSUS

CD15-FITC on CD15 antikeha, mida kasutatakse CD15 antigeeni sünteesivate rakkude voolutsütomeetriaga tuvastamiseks ja kirjeldamiseks. See toode üksi ei saa ega ole mõeldud ühegi diagnostilise otsuse tegemiseks.

Koos teiste markeritega kasutades saab seda toodet kasutada ühes või mitmes järgmistest funktsioonidest:

- Lihtsustamaks diferentsiaaldiagnoosi panemist hematoloogiliste ebanormaalsustega patsientidele, kellel kahtlustatakse hematoloogilise häire esinemist, ja teadaoleva hematoloogilise häirega patsientide jälgimiseks.
- Siirdamisprotsessi või tulemuste jälgimiseks.
- Vereloome neoplasmiga patsientidele prognoosi andmise hõlbustamiseks.

Vt järgmisi viiteid.

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

KONTSENTRATSIOON

Vt partiispetsiifilist analüüsi sertifikaati veebilehelt www.beckman.com.

PROOVID

Veeniverd tuleb võtta steriilsete katsutitega, mis sisaldavad antikoagulandina etüleendiamiintetraatsetaadi (EDTA) soola.

Proove tuleb hoida toatemperatuuril (18–25 °C) ja neid ei tohi raputada. Proove tuleb ühtlustada seda enne näidisproovi võtmist ettevaatlikult loksutades.

Proove tuleb analüüsida 24 tunni jooksul alates veenipunktsioonist.

HOIATUS JA ETTEVAATUSABINÕUD

1. Ärge kasutage reagenti pärast aegumiskuupäeva.
2. Ärge külmutage.
3. Enne kasutamist laske tasakaalustuda toatemperatuuriga (18–25 °C).
4. Minimeerige kokkupuudet valgusega.
5. Vältige reagentide mikroobidega saastumist, vastasel juhul võite saada valed tulemused.

6. Antikehade lahuseid, mis sisaldavad naatriumasiidi (NaN_3), tuleb käsitseda ettevaatlikult. See pole mõeldud seespidiseks kasutamiseks. Vältige kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.

   Lisaks võib naatriumasiid moodustada happelises keskkonnas potentsiaalselt ohtliku hüdrasoonhappe. Kui see tuleb kõrvaldada, on soovitatav lahjendada reagenti suure hulga veega, enne kui see äravoolusüsteemi valada, et vältida plahvatusohtu ja naatriumasiidi kogunemist metalltorudesse.
7. Kõiki vereproove tuleb pidada potentsiaalselt nakkusohtlikuks ja käsitseda ettevaatusega (kasutage kaitsekindaid, kitlit ning kaitseprille).
8. Ärge kunagi pipettige suuga ja vältige proovide kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.
9. Verekatsutid ja käitlemiseks kasutatav ühekordselt kasutatav materjal tuleb hävitada põletamiseks ettenähtud spetsiaalsetes konteinerites.
10. Reagendid ja jäätmed tuleb kõrvaldada vastavalt kohalikele nõuetele.

GHS-I OHUKLASSIFIKATSIOON

Ei ole klassifitseeritud ohtlikuks

SDS Ohutuskaart on saadaval saidil beckmancoulter.com/techdocs

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Seda reagenti tuleb enne ja pärast viaali avamist hoida temperatuuril 2–8 °C ning valguse eest kaitstult.

Suletud viaali säilivusaeg stabiilsusuuringu põhjal: 639 päeva.

Avatud viaali stabiilsus: reagent on stabiilne 180 päeva.

RIKNEMISE TUNNUSED

Igasugune muutus reagentide füüsilises välimuses võib viidata reagendi riknemisele ja seda ei tohi kasutada.

Lisateabe hankimiseks või kahjustatud toote saamisel helistage Beckman Coulteri klienditeenindusse numbril 800-742-2345 (USA või Kanada) või võtke ühendust kohaliku Beckman Coulteri esindajaga.

SISU

Naatriumasiidist konservant võib moodustada metallist kanalisatsioonitorudes plahvatusohtlikke ühendeid. Vt asutuse NIOSH teadaannet. Explosive Azide Hazard (Plahvatusohtliku asiidi oht) (16.8.76).
Vältimaks võimalikku asiidiühendite akumuleerimist, loputage äravoolutorusid pärast lahjendamata reagendi kõrvaldamist. Naatriumasiidi kõrvaldamine peab olema kooskõlas asjakohaste kohalike eeskirjadega.

VAJALIKUD, KUID KOMPLEKTI MITTEKUULUVAD MATERJALID

- Proovide kogumiseks vajalikud proovivõtukatsutid ja vahendid.
- Automaatpipetid ühekordselt kasutatavate otsakutega, mis võimaldavad teisaldada 20, 100 ja 500 µl.
- Plastist hemolüüsi katsutid.
- Erütrotsüütide lüüsireagent koos pesemisetapiga pärast lüüsi. Analüüsinäide VersaLyse (viitenr A09777).
- Leukotsüütide fikseerimisreagent. Näide Tootesarja IOTest 3 fikseerimisreagent (viitenr A07800).
- Puhver (PBS: 0,01 M naatriumfosfaat; 0,145 M naatriumkloriid; pH 7,2).
- Tsentrifuugige.
- Automaatsegisti (vibratsioonsegamise tüüpi).
- Voolutsütomeeter.

PROTSEDUUR REAGENDIGA VERSALYSE

1. Lisage igasse analüüsikatsutisse vastav kogus 20 µl kindlat tootesarja IOTest konjugeeritud antikeha.
2. Lisage igasse katsutisse 100 µl analüüsiproovi. Vibratsioonsegage ettevaatlikult katsuteid.
3. Inkubeerige valguse eest kaitstult 15–20 minutit toatemperatuuril (18–25 °C).
4. Seejärel lüüsige erütrotsüüdid. Lugege VersaLyse'i (viitenr A09777) teabelehte ja järgige eelistatavalt protseduuri nimega „samaaegse fikseerimisega", mis põhineb ekstemporaalselt ettevalmistatud 1 ml segu „Fix-and-Lyse" lisamisel. Vibratsioonsegage kohe üks sekund ja inkubeerige 10 minutit toatemperatuuril valguse eest kaitstult.
5. Tsentrifuugige 5 minutit toatemperatuuril kasutades sätet 150 x g.
6. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus.
7. Taassuspendeerige rakusade PBS-is, mille kogus on 3 ml.
8. Korrake etappi 5.
9. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus ja taassuspendeerige rakugraanuleid vahendiga:

- 0,5 ml või 1 ml PBS-i ja 0,1% formaldehüüdi, kui preparaate tuleb hoida vähem kui 24 tundi. (0,1% formaldehüüdi sisaldava PBS-i saamiseks võite lahjendada 12,5 µl tootesarja IOTest 3 10x kontsentratsioonil fikseerimislahust (viitenr A07800) PBS-is, mille kogus on) 1 ml.
- 0,5 ml või 1 ml formaldehüüdita PBS-iga, kui valmissegusid analüüsitakse 2 tunni jooksul.

Märkus Preparaate tuleb alati hoida temperatuuril 2–8 °C ja valguse eest kaitstult.

OODATUD VÄÄRTUSED

Ettevõttesisestes laborites töödeldi ülalkirjeldatud reagendiga täisvere proove, mis koguti 25 tõenäoliselt tervelt doonoritelt. Alljärgnev tabel annab ülevaate selle reagendiga saadud positiivsete huvipakkuvate sündmuste loendustulemustest:

Positiivne siht	Arv	Keskmine (%)	SH	CV (%)
Monotsüüdid	25	98,49	1,00	1,02
Granulotsüüdid	25	99,98	0,02	0,02

Need väärtused on mõeldud üksnes näitlikena. Iga laboratoorium peaks kindlaks määrama oma oodatavad vahemikud kohaliku tavapäraste doonorite populatsiooni alusel.

TOIMIMINE

Toimimisandmed saadakse kasutades ülalkirjeldatud protseduuri vähem kui 24 tundi vanadel antikoagulandi EDTA naatriumsoolaga steriilsetesse katsutitesse kogutud vereproovidel. Analüüs tehakse 2 tunni jooksul pärast immuunovärvimist.

SPETSIIFILISUS

CD15 antigeen (Lewis x / Lex) on lakto-N-(neo)fukopentaoosi III molekul. Seda süsivesiku epitoopi kannavad nii rakumembraanil väljendatud glükolipiidid kui ka glükoproteiinid. CD15 antikeha on tugevalt väljendatud neutrofiilidel, eosinofiilidel, monotsüütidel ja normaalsetel müeloidsetel eellasrakkudel. See ei ole väljendatud normaalsetel erütsotsüütidel, trombotsüütidel ega lümfotsüütidel. 80H5 antikeha tunneb ära varajase müeloidse eristusepitoobi, mida leidub metamüelotsüütidel, müelotsüütidel, promüelotsüütidel ja aktiveeritud makrofaagidel. See reageerib ka granulotsüütidega. 80H5 monoklonaalne antikeha on määratud CD15 eristusrühmale viiendal rahvusvahelisel seminaril inimeste leukotsüütide eristamisantigeenide teemal, mis peeti 1993. aastal USA-s Bostonis (10, 11).

TÄPSUS

Positiivsete väärtuste protsent määrati täisverest. Igat proovi testiti 4 korda, kaks korda päevas, 1 päeva jooksul 2 instrumendil, kasutades 2 CD15-FITC monoklonaalsete antikehade reagentide partiid. Mõõtmised (% positiivne) tehti Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsiti CLSI meetodi EP5-A2 põhjal. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivsete mõõtmismeetodite täpsuse näitajate hindamine).

Meie sobivuskriteeriumid sõltuvad iga populatsiooni kohta mõõdetud positiivsete sündmuste arvust:

- Positiivse sündmuse korral < 1500, CV < 15%
- Positiivse sündmuse korral > 1500, CV < 10%

Monotsüüdid							
Positiivsete sündmuste arv (keskmine) = 1056							
	Kasutajatevaheline	Tsütomeetritevaheline	Partiisisene	Partiidevaheline	Testidevaheline	Testisisene	Kokku
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
TULEMUSED	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulotsüüdid							
Positiivsete sündmuste arv (keskmine) = 8446							
	Kasutajatevaheline	Tsütomeetritevaheline	Partiisisene	Partiidevaheline	Testidevaheline	Testisisene	Kokku
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
TULEMUSED	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

MÕÕTETÄPSUS

CD15-FITC mõõtetäpsust hinnati võrreldes tulemusi võrdlusreagendiga kui predikaadiga täisvereproovide komplektis, mida oli testitud Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsi- ja võrdlusreagendi erinevused määrati analüüsitulemuste erinevuse põhjal. Kui erisus jääb lubatud veavahemikku või kui p-väärtus ei näita statistiliselt olulist erinevust (> 0,05), loetakse kahe reagendi analüüsitulemused võrdväärseteks.

Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis.

Doonorite arv = 25				
Positiivne siht	Keskmine Δ	Δ% raku kriteeriumid	p-väärtus	TULEMUSED
Monotsüüdid	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulotsüüdid	0,00	<5	6,149E-01	PASS

NULLPIIR JA TUVASTUSPIIR

Uuriti vastavalt CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Kliinilise labori mõõtmisprotseduuride avastamisvõime hindamise) nõuetele. Tuvastuspiir (LOD) on väikseim analüüdi kontsentratsioon, mida saab järjekindlalt määrata. Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis:

Positive Target	Nullpiir (rakku/µl)	Tuvastuspiir (rakku/µl)
Monotsüüdid	1	3
Granulotsüüdid	1	3

PIIRANGUD

1. Voolutsütomeetria võib anda valed tulemused, kui tsütomeeter ei ole ideaalselt joondatud, kui fluorestsentsi lekkeid ei ole õigesti kompenseeritud ja kui piirkonnad ei ole hoolikalt paigutatud.
2. Eelistatav on kasutada pesemisetapiga RBC lüüsi tehnikat, kuna seda reagenti pole optimeeritud „pesemiseta“ lüüsi tehnikate jaoks.
3. Täpsed ja korratavad tulemused saadakse, kui kasutatavad protseduurid on kooskõlas tehnilise teabelehe ja heade laboritavadega.
4. Selle reagendi pööratud antikeha kalibreeritakse nii, et tagatud oleks parim spetsiifilise/mittespetsiifilise signaali suhe. Seetõttu on igas analüüsis oluline järgida reagendi- ja proovimahu suhet.
5. Hüperleukotsütoosi korral lahjendage verd PBS-is nii, et saadav väärtus oleks ligikaudu 5 x 10^9 leukotsüüti/l kohta (12).
6. Teatud haigusseisundite (näiteks raske neerupuudulikkuse või hemoglobinopaatia) korral võib erütrotsüütide lüüsimine olla aeglane, mittetäielik või isegi võimatu. Sellisel juhul on enne värvimist soovitatav mononukleaarsete rakkude isoleerimine tihedusgradiendi (näiteks Ficoll-gradiendi) abil (13).

7. IgM istotüübiga Lewis x antigeeni 80H5 (CD15) monoklonaalsed antikehad kutsuvad teadaolevalt esile müelomonotsüütse päritoluga rakkude kogunemist (14). Sellised koondnäitajad võidakse huvipakkuvatest vahemikest välja jätta ja see võib põhjustada CD15-positiivsete rakkude ebatäpset hindamist.
8. Inimesevastaste monoklonaalsete antikehadega ravitud patsientidel võib spetsiifiliste antigeenide tuvastamise võime väheneda või puududa, sest need on terapeutiliste antikehade poolt osaliselt või täielikult blokeeritud.
9. CD15-FITC tulemuste tõlgendamisel tuleb arvestada patsiendi terviklikku kliinilist pilti, sh sümptomeid, kliinilist anamneesi, lisaanalüüside andmeid ja muud asjakohast teavet.

Vt näiteid ja viiteid lisast.

KAUBAMÄRGID

Beckman Coulter, stiliseeritud logo ning selles juhendis nimetatud ettevõtte Beckman Coulter toote- ja teenusemärgid on ettevõtte Beckman Coulter, Inc. kaubamärgid või registreeritud kaubamärgid Ameerika Ühendriikides ja teistes riikides.

LISATEAVE

Patsiendile / kasutajale / muule osapoolele Euroopa Liidus ja identse regulatsioonirežiimiga riikides (määrus (EL) nr 2017/746 in vitro diagnostikameditsiiniseadmete kohta), kui selle seadme kasutamise ajal või selle kasutamise tagajärjel on toimunud tõsine vahejuhtum, teatage sellest tootjale ja/või tema volitatud esindajale ning teie riiklikult pädevale asutusele.

Summary of Safety and Performance (Ohutuse ja kliinilise toimivuse kokkuvõte) on EUDAMED-andmebaasis: ec.europa.eu/tools/eudamed.

VERSIOONI AJALUGU

REDAKTSIOON AC:	Väljastuskuupäev: September 2019

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AW	Veebruar 2022
Värskendused, mis vastavad Beckman Coulteri ülemaailmse märgistamise poliitikale ja IVD-R (EL) 2017/746 nõuetele:	
Lisatud osad	BSI 2797 number, sihtkasutaja, kliiniline tähtsus, kontsentratsioon, täpsus, mõõtetäpsus, nullpiir ja tuvastuspiir, lisateave, versiooni ajalugu.
Lisatud informatsioon	Vaata osa „Piirangud“
Fraseerimine või tüpograafiline värskendamine	Vaata osasid Protseduur, Toimimine, Piirangud, Hoiatus ja ettevaatusabinõud, Säilitamine ja stabiilsus.
Eemaldatud osad	Kasutusotstarvete, reagentide, laborisisese korratavuse, lineaarsuse näited
Uuendatud jaotised	Kasutusotstarve, GHS-i ohuklassifikatsioon, Riknemise tunnused, Protseduur, Lisa.

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AX	aprill 2023
Uuendatud jaotised	Lisada kasahhi keel
Uuendatud jaotised	Säilitamine ja stabiilsus

Muudetud versioon	AY
Muutmise kuupäev	mai 2024
Värskendatud tõlked	**Kliiniline tähtsus:**
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Muudetud versioon	AZ
Muutmise kuupäev	juuli 2024
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Sümboli tähis

Sümbolite mõisted on kättesaadavad veebilehel beckman.com/techdocs (dokument nr B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD15
Klon	80H5
Hibridom	MOPC 315-43 x balb/c
Imunogen	Human granulocytes
Imunoglobulin	IgM
Vrsta	Miš
Pročišćavanje	Gel filtracija
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molarni omjer	FITC / Ig: 12-14
λ ekscitacija	488 nm
Vršna emisija	525 nm
Pufer	PBS pH 7,2 uz 2 mg/mL BSA i 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano antitijelo CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Za *in vitro* dijagnostičku uporabu.

NAMJENA

To fluorokromom konjugirano antitijelo omogućuje kvalitativno i neautomatizirano prepoznavanje populacija stanica koje eksprimiraju antigen CD15 prisutan u humanim biološkim uzorcima uz pomoć protočne citometrije (pogledajte odjeljak „Uzorci" u nastavku).

NAČELO

Ovaj je test utemeljen na mogućnosti vezivanja specifičnih monoklonskih antitijela na antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično se bojenje leukocita izvodi inkubacijom uzorka s reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utječe, analiziraju se protočnom citometrijom.

Citometar toka mjeri difuziju svjetlosti i fluorescenciju stanica. Omogućuje razgraničavanje promatrane populacije unutar elektroničkog prozora definiranog na histogramu, koji stvara korelaciju između ortogonalne difuzije svjetlosti (bočnog raspršenja (BR)) i difuzije uskokutne svjetlosti (prednjeg raspršenja (PR)). Drugi histogrami koji kombiniraju dva od više različitih parametara dostupnih na citometru mogu se upotrebljavati kao pomoć u fazi ograđivanja ovisno o primjeni koju je odabrao korisnik.

Analizira se fluorescencija ograničenih stanica da bi se pozitivno obojeni događaji odvojili od neobojenih. Rezultati se izražavaju kao postotak pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobivene ograđivanjem.

PREDVIĐENI KORISNIK

Proizvod je namijenjen za profesionalnu laboratorijsku uporabu.

KLINIČKA RELEVANTNOST

CD15-FITC antitijelo je na CD15 koje se koristi za prepoznavanje i karakteriziranje stanica koje eksprimiraju antigen CD15 protočnom citometrijom. Ovaj proizvod samostalno ne može generirati nikakav dijagnostički zaključak niti je tome namijenjen.

Kada se upotrebljava u kombinaciji s drugim markerima, ovaj se proizvod može upotrebljavati u jednoj ili više sljedećih funkcija:

- Kao pomoć prilikom postavljanja diferencijalne dijagnoze u hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematološki poremećaj te za praćenje pacijenata s poznatim hematološkim poremećajem.
- Za nadzor postupka ili rezultata transplantacije.
- Kao pomoć prilikom donošenja prognoze za pacijente s hematopoetskom neoplazmom.

Pogledajte sljedeće reference:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

KONCENTRACIJA

Na web-mjestu www.beckman.com pogledajte Certifikat o analizi specifičan za lot koji upotrebljavate.

UZORCI

Venska krv mora se uzeti sterilnim epruvetama koje kao antikoagulans sadrže EDTA sol.

Uzorke držite na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C) i nemojte ih tresti. Prije uzimanja testnog uzorka potrebno je homogenizirati uzorke pažljivim mućkanjem.

Uzorci venske krvi moraju se analizirati u roku od 24 sata od njihova uzimanja.

UPOZORENJE I MJERE OPREZA

1. Reagens nemojte upotrebljavati nakon isteka roka trajanja.
2. Nemojte zamrzavati.
3. Prije upotrebe pustite da dosegne sobnu temperaturu (18 – 25 °C).
4. Smanjite izlaganje svjetlu.
5. Izbjegavajte mikrobnu kontaminaciju reagensa ili može doći do netočnih rezultata.
6. Otopinama antitijela koje sadrže natrijev azid (NaN_3) potrebno je rukovati oprezno. Ne gutajte i izbjegavajte dodir s kožom, sluznicom i očima.

Štoviše, natrijev azid u kiselom mediju može formirati potencijalno opasnu hidrazoičnu kiselinu. Ako je reagens potrebno odložiti u otpad, preporučuje se da ga razrijedite u velikoj količini vode prije nego što ga izlijete u odvodni sustav da biste izbjegli nakupljanje natrijeva azida u metalnim cijevima i spriječili opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno zaraznima te je njima potrebno rukovati oprezno (odnosno nositi zaštitne rukavice, odjeću i naočale).
8. Nikada ne pipetirajte ustima te izbjegavajte doticaj uzoraka s kožom, sluznicom i očima.
9. Epruvete s krvlju i otpadni materijal za rukovanje treba odložiti u jednokratne spremnike namijenjene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad potrebno je ukloniti u skladu s lokalnim zahtjevima.

KLASIFIKACIJA OPASNOSTI PREMA GHS-U

Nije klasificiran kao opasan

SDS Sigurnosni list dostupan je na adresi beckmancoulter.com/techdocs

POHRANA I STABILNOST

Reagens se mora čuvati na temperaturi između 2 i 8 °C te zaštićen od svjetlosti, kako prije, tako i poslije otvaranja bočice.

Vijek trajanja zatvorene bočice prema ispitivanju stabilnosti: 639 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dana.

DOKAZ PROPADANJA

Svaka promjena fizičkog izgleda reagensa može upućivati na propadanje te se reagens ne smije upotrebljavati.

Ako su vam potrebne dodatne informacije ili ste primili oštećen proizvod, nazovite korisnički servis tvrtke Beckman Coulter na 800-742-2345 (u SAD-u ili Kanadi) ili se obratite lokalnom predstavniku tvrtke Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans s natrijevim azidom može stvoriti eksplozivne spojeve u metalnim cjevovodima. Pogledajte bilten NIOSH: Explosive Azide Hazard (Opasnost od eksplozije azida) (16. 8. 76.).
Da biste spriječili moguće taloženje komponenata azida, prilikom odlaganja nerazrijeđenog reagensa u otpad odvodne cijevi isperite vodom. Odlaganje natrijeva azida u otpad mora biti u skladu s odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU DIO KOMPLETA:

- Epruvete za uzorke i materijal potreban za uzimanje uzoraka.
- Automatske pipete s jednokratnim nastavcima za 20, 100 i 500 µL.
- Plastične hemolitičke epruvete.
- Reagens za liziranje eritrocita s fazom pranja nakon liziranja. Na primjer: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primjer: Otopina za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijeva fosfata, 0,145 M natrijeva klorida, pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska miješalica (tip vorteks).
- Citometar toka.

POSTUPAK S REAGENSOM VERSALYSE

1. Dodajte odgovarajući volumen 20 µL određenog konjugiranog antitijela IOTest u svaku testnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µL testnog uzorka u svaku epruvetu. Epruvete polako promiješajte u vorteks-miješalici.
3. Inkubirajte od 15 do 20 min na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C), zaštićeno od svjetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje eritrocita. Pogledajte brošuru VersaLyse (ref. A09777) i po mogućnosti slijedite postupak „uz istovremeno fiksiranje" koji se sastoji od dodavanja 1 mL svježe pripremljene mješavine za fiksiranje i liziranje. Odmah promiješajte u vorteks-miješalici jednu sekundu i inkubirajte 10 min pri sobnoj temperaturi, zaštićeno od svjetlosti.
5. Centrifugirajte 5 min pri 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću 3 mL PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Uklonite supernatant aspiracijom i stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću:

- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a plus 0,1 % formaldehida ako se pripravke planira čuvati manje od 24 sati. (PBS s 0,1 % formaldehida možete pripremiti razrjeđivanjem 12,5 µL otopine za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800) pri njezinoj 10X koncentraciji u 1 mL PBS-a).
- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a bez formaldehida, ako pripravak treba analizirati u roku od 2 sati.

Napomena: U svakom slučaju pripravke čuvajte zaštićene od svjetlosti na temperaturi između 2 i 8 °C.

OČEKIVANE VRIJEDNOSTI

U našim su laboratorijima obrađeni uzorci pune krvi naizgled zdravih donora (njih 25) pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati prikupljeni pomoću tog reagensa u svrhu brojanja pozitivnih relevantnih događaja navedeni su u tablici u nastavku:

Pozitivna ciljna vrijednost	Broj	Srednja vrijednost (%)	SD	CV (%)
Monociti	25	98,49	1,00	1,02
Granulociti	25	99,98	0,02	0,02

Te su vrijednosti samo okvirne. Svaki laboratorij mora utvrditi vlastite očekivane vrijednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o performansama dobivaju se prethodno opisanim postupkom na manje od 24 sata starim uzorcima krvi prethodno prikupljenima u sterilne epruvete uz EDTA sol kao antikoagulans. Analiza se provodi u roku od 2 sata nakon imunobojenja.

SPECIFIČNOST

CD15 antigen (Lewis x/Lex) je molekula lakto-N-(neo) fuktopenatoze III. Ovaj epitop karbohidrata je prenijet glikolipidima i glikoproteinima na membrani stanice. CD15 antigen snažno je izražen preko nutrofila, eosinofila, monocita i normalnih stanica mijeloidnog prekursora. Nije izražen na normalnim eritocitima, plateletima ili limfocitima. 80H5 protutijelo prepoznaje rani mijeloidni difernecijacijski epitop koji je pronađen u metamijelocitima, mijelocitima, promijelocitima i aktiviranim makrofazima. Također reagira i s granulocitima. 80H5 monoklonalna protutijela pridružena su CD15 grupi diferencijacije tijekom petog međunarodnog radnog sastanka o Antigenima za diferencijaciju humanog leukocita u Bostonu, USA (1993) (10, 11).

PRECIZNOST

Postotne pozitivne vrijednosti utvrđene su pomoću pune krvi. Svaki je uzorak obrađen 4 puta, dvaput dnevno tijekom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagensa s monoklonskim antitijelima CD15-FITC. Mjerenja (% pozitivnih vrijednosti) provedena su s pomoću citometra toka Navios. Analiza je provedena na temelju CLSI metode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procjena radnih značajki preciznosti metoda kvantitativnog mjerenja).

Naši kriteriji prihvatljivosti ovise o broju pozitivnih događaja izmjerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivni događaj < 1500, CV < 15 %
- Ako je pozitivni događaj > 1500, CV < 10 %

Monociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrijednost) = 1056							
	Među operatorima	Među citometrima	Unutar lota	Među lotovima	Među obradama	Unutar obrade	Ukupno
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrijednost) = 8446							
	Među operatorima	Među citometrima	Unutar lota	Među lotovima	Među obradama	Unutar obrade	Ukupno
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost mjerenja CD15-FITC procijenjena je usporedbom rezultata s referentnim reagensom kao predikatom na skupu uzoraka pune krvi obrađenima na protočnom citometru Navios. Odstupanje između testa i referentnog reagensa utvrđeno je na temelju razlike između rezultata testa. Ako je odstupanje unutar dopuštenog raspona pogreške ili ako p-vrijednost upućuje na to da nema značajne razlike (> 0,05), rezultati testa za dva reagensa smatraju se istovjetnima.

Dobiveni rezultati sažeti su u tablici u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivna ciljna vrijednost	Srednja vrijednost Δ	Kriterij stanica Δ %	p-vrijednost	REZULTATI
Monociti	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulociti	0,00	<5	6,149E-01	PASS

GRANICA SLIJEPE PROBE I GRANICA DETEKCIJE

Ispitivanje je izvedeno u skladu s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Procjena sposobnosti otkrivanja za postupke mjerenja u kliničkim laboratorijima). Granica detekcije (LOD) – najniža koncentracija analita koja se može dosljedno otkriti. Dobiveni rezultati sažeti su u sljedećoj tablici:

Positive Target	Granica slijepe probe (stanica/µL)	Granica detekcije (stanica/µL)
Monociti	1	3
Granulociti	1	3

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti pogrešne rezultate ako citometar nije savršeno poravnat, ako fluorescentna curenja nisu pravilno kompenzirana i ako regije nisu pažljivo pozicionirane.
2. Poželjno je upotrebljavati tehniku liziranja pomoću RBC-a uz korak pranja jer ovaj reagens nije optimiziran za tehnike liziranja „bez pranja”.
3. Točni i ponovljivi rezultati dobivat će se sve dok se postupci izvode u skladu s tehničkom brošurom i u skladu s dobrim laboratorijskim praksama.
4. Konjugirano antitijelo tog reagensa kalibrirano je tako da pruža najbolji omjer specifičnog i nespecifičnog signala. Zato je važno pridržavati se omjera volumena reagensa i volumena uzorka prilikom svakog testiranja.
5. U slučaju hiperleukocitoze razrijedite uzorak u PBS-u da biste dobili vrijednost od približno 5 x 10^9 leukocita/L (12).

6. Pri određenim bolestima, kao što je ozbiljno zatajenje bubrega ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak i nemoguće. U tom se slučaju prije bojenja preporučuje izoliranje jednojezgrenih stanica s pomoću gradijenta gustoće (na primjer, Ficoll) (13).
7. Za monoklonska je protutijela izotipa IgM na Lewisov x antigen kao što je 80H5 (CD15) poznato da potiču nakupljanje stanica mijelomonocitnog podrijetla (14). Takvi se agregati mogu isključiti iz predmetnih usmjeravanja i potaknuti netočne procjene pozitivnih CD15 stanica.
8. U pacijenata koji primaju terapiju monoklonskim antihumanim antitijelima detekcija određenih ciljanih antigena može biti smanjena ili nepostojeća zbog djelomičnog ili potpunog blokiranja terapijskih antitijela.
9. Rezultate CD15-FITC treba tumačiti u kontekstu ukupne kliničke slike pacijenta, uključujući simptome, anamnezu, podatke iz dodatnih testova i druge odgovarajuće informacije.

Za primjere i reference pogledajte Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizirani logotip te oznake proizvoda i usluga tvrtke Beckman Coulter žigovi su ili registrirani žigovi tvrtke Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim državama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta / korisnika / treću stranu u Europskoj uniji i u državama s identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskim proizvodima za in vitro dijagnostiku): ako tijekom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe dođe do ozbiljnog štetnog događaja, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovu ovlaštenom zastupniku te nadležnom nacionalnom tijelu.

Summary of Safety and Performance (Sažetak podataka o sigurnosti i performansama) potražite u bazi podataka EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

POVIJEST REVIZIJA

REVIZIJA AC:	Datum objave: rujan 2019.

REVIZIJA	**Datum objave**
AW	Veljača 2022.
Ažuriranja radi usklađivanja s pravilnikom o globalnom označavanju tvrtke Beckman Coulter i u skladu sa zahtjevima uredbe (EU)2017/746 o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima (IVD-R):	
Dodani odjeljci	Broj BSI 2797, Ciljni korisnik, Klinička relevantnost, Koncentracija, Preciznost, Točnost, Granica slijepe probe i granica detekcije, Dodatne informacije, Povijest revizija.
Dodane informacije	Pogledajte odjeljke Ograničenja
Preformuliranje ili tipografska ažuriranja	Pogledajte odjeljke Postupak, Performanse, Ograničenja, Upozorenje i mjere opreza, Pohrana i stabilnost.
Uklonjeni odjeljci	Primjer kliničkih primjena, Reagensi, Unutarlaboratorijska obnovljivost, Linearnost
Ažurirani odjeljci	Namjena, Klasifikacija opasnosti prema GHS-u, Dokaz pogoršanja stanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum objave**
AX	Travanj 2023
Ažurirani odjeljci	Dodati kazaški
Ažurirani odjeljci	Čuvanje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Svibanj 2024
Ažurirani prijevodi	**Klinička relevantnost:**
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Srpanj 2024
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Pojmovnik simbola

Pojmovnik simbola dostupan je na web-mjestu beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Спецификации
Специфичност	CD15
Клонинг	80H5
Хибридома	MOPC 315-43 x balb/c
Имуноген	Human granulocytes
Имуноглобулин	IgM
Вид	Мишка
Пречистване	Гел-филтрация
Флуорохром	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Моларно съотношение	FITC / Ig: 12-14
λ възбуждане	488 nm
Емисионен пик	525 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 mg/mL BSA и 0,1 % NaN_3

IOTest
Конюгирано антитяло
CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20 µL/тест

За *in vitro* диагностика.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Това флуорохром-конюгирано антитяло позволява качествена и неавтоматизирана идентификация с помощта на поточна цитометрия на клетъчни популации, експресиращи CD15 антиген, присъстващ в човешки биологични проби (вижте раздел „Проби“ по-долу).

ПРИНЦИП

Този тест се базира на способността на специфични моноклонални антитела да се свързват с антигенни детерминанти, експресирани от левкоцитите.

Специфично оцветяване на левкоцитите се извършва чрез инкубиране на пробата с реактива IOTest. След това червените кръвни телца се отстраняват чрез лизиране, а левкоцитите, които не се повлияват от този процес, се анализират чрез поточна цитометрия.

Поточният цитометър измерва разсейването на светлината и флуоресценцията на клетките. Това прави възможно разграничаването на популацията, която се изследва, в електронния прозорец, дефиниран на една хистограма, която корелира с ортогоналната дифузия на светлината (странично разсейване) и дифузията на тесноъгълна светлина (предно разсейване). Други хистограми, комбиниращи два от различните параметри на разположение на цитометъра, могат да бъдат използвани като основа в етапа на определяне на област за анализ в зависимост от приложението, избрано от потребителя.

Флуоресценцията на разграничените клетки се анализира, за да се разграничат позитивно оцветените събития от неоцветените такива. Резултатите се изразяват като процент на положителни събития във връзка с всички събития, получени от определянето на областта за анализ.

ПРЕДВИДЕН ПОТРЕБИТЕЛ

Този продукт е предназначен само за лабораторна професионална употреба.

КЛИНИЧНА ЗНАЧИМОСТ

CD15-FITC е антитяло CD15, използвано за идентифициране и характеризиране чрез поточна цитометрия на клетки, експресиращи CD15 антиген. Този продукт не може и не е предназначен самостоятелно да генерира каквото и да е диагностично заключение.

Когато се използва в комбинация с други маркери, този продукт може да се използва в една или повече от следните функции:

- Като помощно средство при поставяне на диференциална диагноза на хематологично абнормни пациенти, суспектни за хематологично нарушение, и за проследяване на пациенти с известно хематологично нарушение.
- За проследяване на процес или резултати от трансплантация.
- Като помощно средство при създаване на прогноза за пациенти с хематопоетична неоплазма.

Вижте следните справки:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Вижте Сертификата за анализ за конкретната партида на www.beckman.com.

ПРОБИ

Венозна кръв трябва да се взема в стерилни епруветки, съдържащи сол EDTA като антикоагулант.

Пробите трябва да бъдат съхранявани при стайна температура (18–25°C) и не трябва да се разклащат. Пробите трябва да бъдат хомогенизирани чрез внимателно смесване, преди да се вземе пробата за теста.

Пробите трябва да бъдат анализирани в рамките на 24 часа от венопункturата.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Не използвайте реактива след изтичане на срока на годност.
2. Не замразявайте.
3. Оставете на стайна температура (18–25°C) преди употреба.
4. Минимизирайте излагането на светлина.

5. Избягвайте микробно замърсяване на реактивите, в противен случай е възможно да се получат погрешни резултати.
6. С разтворите на антитела, съдържащи натриев азид (NaN_3), трябва да се работи внимателно. Не приемайте вътрешно и избягвайте всякакъв контакт с кожата, лигавицата и очите.

   В допълнение, в киселинна среда натриевият азид може да образува потенциално опасната хидразоена киселина. Ако тя трябва да се изхвърли, препоръчва се реактивът да се разреди в голям обем вода, преди да се излее в дренажната система, за да се избегне натрупването на натриев азид в металните тръби и да се предотврати риск от експлозия.
7. Всички кръвни проби трябва да се считат за потенциално заразни и с тях трябва да се борави внимателно (по-специално: носене на защитни ръкавици, облекло и очила).
8. Никога не пипетирайте с уста и избягвайте всякакви контакти между пробите и Вашата кожа, лигавица и очи.
9. Епруветките за кръв и материалите за еднократна употреба, използвани за боравене, трябва да се изхвърлят във временни контейнери, предназначени за изгаряне.
10. Реактивите и отпадъците трябва да бъдат елиминирани в съответствие с местните изисквания.

КЛАСИФИЦИЯ НА ОПАСНОСТИТЕ ПО GHS

Не е класифициран като опасен

SDS Информационният лист за безопасност е наличен на адрес beckmancoulter.com/techdocs

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Този реактив трябва да се съхранява при температури между 2 и 8°C и да бъде защитен от светлина преди и след отваряне на флакона.

Изследване на срок на годност при затворена епруветка и стабилност: 639 дни.

Стабилност на отворен флакон: реактивът е стабилен за 180 дни.

ДАННИ ЗА ВЛОШАВАНЕ

Всяка промяна във физическия изглед на реактивите може да е признак за влошаване и реактивът не трябва да бъде използван.

За допълнителна информация или при получаване на повреден продукт се свържете с отдела за обслужване на клиенти на Beckman Coulter на тел. 800-742-2345 (САЩ или Канада) или се свържете с местния представител на Beckman Coulter.

СЪДЪРЖАНИЕ

Консервантът натриев азид може да образува експлозивни съединения в метални отводнителни тръбопроводи. Вижте Бюлетина на NIOSH: Explosive Azide Hazard (Бюлетин на Националния институт по безопасност и хигиена на труда: Опасност от експлозия на азид) (16/8/76).
За да избегнете възможно натрупване на азидни съединения, промивайте канализационните тръби с вода след изхвърляне на неразтворен реактив. Изхвърлянето на натриев азид трябва да бъде в съответствие с местните разпоредби.

НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СА ДОСТАВЕНИ С КОМПЛЕКТА:

- Епруветки за проби и материали, необходими за вземане на проби.
- Автоматични пипети с накрайници за еднократна употреба за 20, 100 и 500 µL.
- Пластмасови хемолизни епруветки.
- Реактив за лизис на червени кръвни телца с етап на отмиване след лизис. Например: VersaLyse (Реф. A09777).
- Реактив за левкоцитна фиксация. Например: IOTest 3 фиксиращ разтвор (Реф. A07800).
- Буфер (PBS: 0,01 M натриев фосфат; 0,145 M натриев хлорид; pH 7,2).
- Центрофугирайте.
- Автоматичен агитатор (тип вортекс).
- Поточен цитометър.

ПРОЦЕДУРА С РЕАКТИВ VERSALYSE

1. Добавете подходящия обем 20 µL от конкретното IOTest конюгирано антитяло към всяка тестова епруветка.
2. Добавете 100 µL от тестовата проба във всяка епруветка. Внимателно разбъркайте във вортекс епруветките.
3. Инкубирайте за 15 до 20 минути при стайна температура (18–25°C), като предпазвате от светлина.
4. След това се изпълнява лизиране на червените кръвни телца. Вижте брошурата на VersaLyse (Реф. A09777) и изпълнете за предпочитане процедурата, наречена „със съпътстващо фиксиране“, която се състои от добавяне на 1 mL от сместа „Фиксиране и лизиране“, приготвена за незабавно приложение. Незабавно завъртете епруветките с вортекс за една секунда и инкубирайте за 10 минути при стайна температура на защитено от светлина място.
5. Центрофугирайте 5 минути при 150 x g при стайна температура.
6. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация.
7. Разтворете отново клетъчната утайка, като използвате 3 mL PBS.
8. Повторете стъпка 5.
9. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация и ресуспендирайте клетъчната утайка с:

- 0,5 mL или 1 mL PBS плюс 0,1 % формалдехид, ако препаратите трябва да бъдат съхранявани по-малко от 24 часа. (Може да се получи 0,1 % формалдехид PBS чрез разреждане на 12,5 µL разтвор за фиксиране IOTest 3 (Реф. A07800) при 10X концентрация в 1 mL PBS).
- 0,5 mL или 1 mL PBS без формалдехид, ако препаратите ще бъдат анализирани в рамките на 2 часа.

Забележка: Във всички случаи съхранявайте препаратите при температури между 2 и 8°C и защитени от светлина.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

В нашите лаборатории бяха третирани пробите цялостна кръв на 25 видимо здрави донори с описания по-горе реактив. Получените с този реактив резултати за броя на положителните събития, които са от значение, са дадени в таблицата по-долу:

Положителна цел	Брой	Средна (%)	SD	CV (%)
Моноцити	25	98,49	1,00	1,02
Гранулоцити	25	99,98	0,02	0,02

Тези стойности са само представителни. Всяка лаборатория трябва да установи свои очаквани стойности от местната популация нормални донори.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данните за ефективността се получават с помощта на описаната по-горе процедура за кръвни проби до 24 часа, предварително събрани в стерилни епруветки със сол EDTA като антикоагулант. Анализ се извършва в рамките на 2 часа след имуноцветяване.

СПЕЦИФИЧНОСТ

Антигенът CD15 (Lewis x / Lex) е молекула на лакто-N-(нео) фукопентаоза III. Този въглехидратен епитоп се извършва както от гликолипиди, така и от гликопротеини, изразени върху клетъчната мембрана. Антигенът CD15 се изразява силно при неутрофилите, еозинофилите, моноцитите и нормалните миелоидни прекурсорни клетки. Той не се изразява при нормални еритроцити, тромбоцити или лимфоцити. Антитялото 80H5 разпознава епитоп за ранна миелоидна диференциация, който се намира при метамиелоцитите, миелоцитите, промиелоцитите и активираните макрофаги. Той също така реагира на гранулоцити. Моноклоналното антитяло 80H5 е било отнесено към клъстера за диференциация на CD15 на петия международен Семинар за човешките антигени на левкоцитната диференциация, проведен в Бостън, САЩ през 1993 г. (10, 11).

ТОЧНОСТ

Процентните положителни стойности са определени посредством цялостна кръв. Всяка проба е обработена 4 пъти, два пъти на ден за 1 ден на 2 инструмента, като са използвани 2 партиди реактиви с CD15-FITC моноклонално антитяло. Измерванията (% положителни) са направени на поточен цитометър Navios. Анализът е проведен на основата на CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods. (Метод EP5-A2 на CLSI: Оценка на точността на методите за количествено измерване.)

Нашите критерии за приемливост зависят от броя положителни събития, измерени за всяка популация:

- Ако положителните събития са < 1500, CV < 15 %
- Ако положителните събития са > 1500, CV < 10 %

Моноцити							
Брой положителни събития (средно) = 1056							
	Между оператори	Между цитометри	Вътрепартидна	Между партиди	Между цикли	В рамките на цикъл	Общо
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
РЕЗУЛТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Гранулоцити							
Брой положителни събития (средно) = 8446							
	Между оператори	Между цитометри	Вътрепартидна	Между партиди	Между цикли	В рамките на цикъл	Общо
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
РЕЗУЛТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТ

Точността на CD15-FITC е изследвана чрез сравняване на резултатите с референтен реактив като потвърждение върху група от проби от цялостна кръв, обработени на поточен цитометър Navios. Отклонението между тестовия и референтния реактив се определя въз основа на разликата между резултатите от теста. Ако отклонението е в рамките на допустимия обхват на грешка или p-стойността не показва значима разлика (> 0,05), резултатите от теста за двата реактива се считат за еквивалентни.

Получените резултати са обобщени в таблицата, дадена по-долу:

Брой донори = 25				
Положителна цел	Средна Δ	Критерии Δ % клетки	p-стойност	РЕЗУЛТАТИ
Моноцити	-0,21	<5	0,058	PASS
Гранулоцити	0,00	<5	6,149E-01	PASS

ГРАНИЦА НА СЛЯПА ПРОБА И ГРАНИЦА НА ОТКРИВАНЕ

Проведено е проучване в съответствие с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оценка на възможността за детекция за измервателни процедури в клинични лаборатории). Границата на откриване (LOD) е най-ниската концентрация на аналита, която може да бъде стабилно открита. Получените резултати са обобщени в следващата таблица:

Positive Target	Граница на сляпата проба (клетки/µL)	Граница на откриване (клетки/µL)
Моноцити	1	3
Гранулоцити	1	3

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Поточната цитометрия може да даде неточни резултати, ако цитометърът не е бил идеално приравнен, ако течове на флуоресценция не са били правилно компенсирани или ако регионите не са били внимателно позиционирани.

2. Предпочита се използването на техника за лизиране на червени кръвни клетки със стъпка за промиване, тъй като този реактив не е оптимизиран за техники за лизиране „без промиване“.
3. Ще бъдат получени точни и възпроизводими резултати, при условие, че използваните процедури са в съответствие с техническата листовка и са съвместими с добрите лабораторни практики.
4. Конюгираното антитяло на този реактив е калибрирано, за да се осигури най-доброто съотношение между специфичен сигнал/неспецифичен сигнал. Затова е важно да се придържате към съотношението обем на реактива/обем на пробата във всеки тест.
5. В случай на хиперлевкоцитоза кръвта се разрежда в PBS, така че да се получи стойност приблизително 5 x 10^9 левкоцити/L (12).
6. При определени болестни състояния, например тежка бъбречна недостатъчност или хемоглобинопатии, лизирането на червените кръвни телца може да бъде бавно, непълно или дори невъзможно. В този случай се препоръчва да се изолират мононуклеарни клетки, като се използва градиент на плътността (Ficoll например) преди оцветяване (13).
7. Моноклоналните антитела от изотип IgM към антигени Lewis x като 80H5 (CD15) са известни като индуциращи агрегация на клетки от миеломоноцитен произход (14). Такива агрегати могат да бъдат изключени от областите за анализ и да индуцират неточни оценки на CD15 положителните клетки.
8. При пациенти, лекувани с терапии с античовешко моноклонално антитяло, отриването на специфични целеви антигени може да бъде занижено или да липсват поради частично или цялостно блокиране от терапевтичното антитяло.
9. Резултатите от CD15-FITC трябва да се интерпретират спрямо общата клинична презентация на пациента, включваща: симптоми, клинична анамнеза, данни от допълнителни тестове и друга съответстваща информация.

Вижте Приложението за примери и справки.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ

Beckman Coulter, стилизираното лого и марките на продуктите и услугите на Beckman Coulter, присъстващи в този документ, са търговски марки или регистрирани търговски марки на Beckman Coulter, Inc. в САЩ и в други държави.

ДОПЪЛНИТЕЛНА ИНФОРМАЦИЯ

За пациенти/потребители/трети лица в Европейския съюз и в страни с идентичен регулаторен режим (Регламент 2017/746/ЕС относно ин витро диагностичните медицински изделия); ако по време на използването на това изделие или в резултат на използването му е настъпил сериозен инцидент, моля, съобщете за това на производителя и/или неговия упълномощен представител и на Вашия национален орган.

Summary of Safety and Performance (Обобщение на безопасността и работата) е налично в базата данни EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ХРОНОЛОГИЯ НА РЕДАКЦИИТЕ

РЕДАКЦИЯ AC:	Дата на издаване: септември 2019 г.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AW	февруари 2022 г.
Актуализации с цел съответствие с Глобалната политика за етикетиране на Beckman Coulter и съгласно изискванията на Регламент (ЕС) 2017/746 за медицинските изделия за ин витро диагностика (IVD-R):	
Добавени раздели	Номер 2797 на BSI, Предвиден потребител, Клинична значимост, Концентрация, Прецизност, Точност, Граница на сляпата проба и граница на откриване, Допълнителна информация, Хронология на редакциите.
Добавена информация	Вижте разделите „Ограничения“
Актуализации във формулировките или типографията	Вижте раздели „Процедура“, „Работни характеристики“, „Ограничения“, „Предупреждения и предпазни мерки“, „Съхранение и стабилност“.
Премахнати раздели	Пример за клинични приложения, Реактиви, Вътрешнолабораторна възпроизводимост, Линейност
Актуализирани раздели	Предвидена употреба, Класификация на опасностите по GHS, Признаци за влошаване, Процедура, Приложение.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AX	Април 2023
Актуализирани раздели	Добавен е казахски
Актуализирани раздели	Съхранение и стабилност

Редактирана версия	AY
Редактирана дата	Май 2024
Актуализирани преводи	**Клинична значимост:**
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Редактирана версия	AZ
Редактирана дата	Юли 2024
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Легенда на символите

Речник на символите е наличен на beckman.com/techdocs (номер на документа B60062)

	規格
專一性	CD15
轉殖	80H5
融合瘤	MOPC 315-43 x balb/c
免疫原	Human granulocytes
免疫球蛋白	IgM
物種	小鼠
純化	凝膠過濾層析
螢光染料	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
莫耳比率	FITC/Ig： 12-14
λ 激發	488 nm
發射峰	525 nm
緩衝劑	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 及 0.1% NaN_3

IOTest
結合抗體
CD15-FITC

REF B36298 100 次檢測；2 mL, 20 µL/測試

***體外*診斷用。**

預期用途

使用此螢光染料結合的抗體，能夠以流式細胞分析儀器對人體生物檢體中出現的表現 CD15 抗原之細胞群進行非自動化定性鑑別（請參閱下列「檢體」部分）。

原理

本測試的基礎在於特異性單株抗體結合由白血球表現之抗原決定簇的能力。

以 IOTest 試劑與檢體反應，對白血球進行特異性染色。然後以溶解作用去除紅血球，而白血球不受此程序影響，並可透過流式細胞分析儀器進行分析。

流式細胞分析儀器可測量細胞的光漫射和螢光。這樣可以界定直方圖上定義的電子窗口內的目標群體，直方圖可以關聯光的正交漫射（側向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。細胞分析儀器上可用之結合兩個不同參數的其他直方圖，可用於支持圈選階段，這取決於使用者所選的應用。

為了區分陽性染色事件和未染色事件，對劃定細胞的螢光進行了分析。結果表示為陽性事件相對於圈選所得全部事件的百分比。

預期使用者

本產品應當用於實驗室內的專業用途。

臨床相關性

CD15-FITC 是一種 CD15 抗體，以流式細胞分析儀器使用此抗體庫可辨認表達 CD15 抗原的細胞並鑑別其特徵。單獨使用此程序並不足以診斷出任何結果。

本產品搭配其他標誌物使用時，可用於以下一或多個功能：

- 可輔助疑似罹患血液疾病之血液異常患者的鑑別診斷，以及監測罹患已知血液疾病的患者。
- 監測移植過程或結果。
- 有助於罹患造血組織腫瘤之患者的預後情況。

請參閱下列參考資料：

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

濃度

請參閱 www.beckman.com 參閱各批次專屬的分析證書。

檢體

靜脈血必須使用無菌試管抽取，此無菌試管中含有 EDTA 鹽作為抗凝劑。

檢體應存放在室溫 (18~25°C)，且不得搖晃。取用測試檢體前，應將檢體輕輕攪動，使之均勻化。

檢體必須在靜脈穿刺後 24 小時內進行分析。

警告和預防措施

1. 請勿使用過期試劑。
2. 切勿冷凍。
3. 使用前，請將其恢復至室溫 (18~25°C)。
4. 儘量避免陽光直射。
5. 請避免試劑受到微生物污染，否則可能會出現錯誤結果。
6. 含有疊氮化鈉 (NaN_3) 的抗體溶液應謹慎處理。請勿內服，並避免接觸皮膚、黏膜和眼睛。

   此外，在酸性介質中，疊氮化鈉可形成具有潛在危害的疊氮酸。若需要對其進行處置，建議在試劑倒入排水系統前以大量清水稀釋，避免疊氮化鈉在金屬管道中累積並預防爆炸。
7. 所有血液檢體必須視為具有潛在傳染性，且必須小心處理（務必穿戴防護手套、防護衣和護目鏡）。

8. 切勿用嘴吸液，並避免檢體接觸皮膚、黏膜和眼睛。
9. 用於處理的血液試管和一次性材料應放入焚化專用的特殊容器中處置。
10. 應根據當地要求清除試劑和廢棄物。

GHS 危害分類

未歸類為危險物質

SDS 安全性資料表載於 beckmancoulter.com/techdocs

存儲和穩定性

在打開試劑瓶前後，試劑必須避光保存於 2~8°C。

穩定性研究的封閉式藥瓶有效期限：639 天。

開瓶後穩定性：試劑穩定性可維持 180 天。

變質的證據

試劑外觀的任何變化表示可能發生變質，因此不應使用該試劑。

如需瞭解其他資訊，或如果收到已損壞的產品，請撥打 800-742-2345（美國或加拿大）聯絡貝克曼庫爾特客戶服務部，或聯絡您當地的貝克曼庫爾特代表。

內容物

疊氮化鈉防腐劑可能會在金屬排水管道中形成爆炸性化合物。 請參閱 NIOSH Bulletin： Explosive Azide Hazard（爆炸性疊氮化物危害）(76/8/16)。為防止疊氮化合物可能累積，丟棄未稀釋的試劑後請用水沖洗污水管。必須依照相關當地法規丟棄疊氮化鈉。

試劑盒未提供但卻需要的材料：

- 採樣時需要採樣試管和材料。
- 帶有可吸取 20、100 和 500 µL 一次性吸頭的自動移液器。
- 塑膠溶血試管。
- 用於溶解後洗滌階段的紅血球溶解試劑。舉例：VersaLyse (參考 A09777)。
- 白血球固定試劑。舉例：IOTest 3 固定液 (參考 A07800)。
- 緩衝劑 (PBS：0.01 M 磷酸鈉；0.145 M 氯化鈉；pH 7.2）。
- 離心機。
- 自動攪拌器（漩渦型）。
- 流式細胞分析儀器。

使用 VERSALYSE 試劑的程序

1. 向每個試管中添加 20 µL 適當體積的特異性 IOTest 結合抗體。
2. 向每個試管中添加 100 µL 測試檢體。輕輕漩渦振盪試管。
3. 在室溫 (18~25°C) 下避光反應 15~20 分鐘。
4. 然後將紅血球溶解。請參閱 VersaLyse (參考 A09777) 的手冊，最好按照名為「共伴固定」的程序操作，其包含添加臨時製備的 1 mL「固定加溶解」混合物。立即震盪 1 秒後，在室溫下避光反應 10 分鐘。
5. 在室溫下以 150 x g 離心 5 分鐘。
6. 吸除上清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新懸浮細胞團塊。
8. 重複第 5 步。
9. 吸除上清液並按照以下方式重新懸浮細胞團塊：

- 若製劑存放時間不超過 24 小時，則以 0.5 mL 或 1 mL PBS 加 0.1% 甲醛。（可在 1 mL PBS 中稀釋 10X 濃度的 12.5 µL IOTest 3 固定液 (參考 A07800)，得到含有 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 若製劑將在 2 小時內分析，使用 0.5 mL 或 1 mL PBS（無甲醛）。

註：在所有情況下，將製劑在 2~8°C 避光保存。

預期值

在我們的實驗室中，採用上述試劑處理 25 名明顯健康的捐贈者的全血檢體。使用該試劑進行陽性目標事件計數得到的結果如下表所示：

陽性目標	數量	平均值 (%)	SD	CV (%)
單核球	25	98.49	1.00	1.02
顆粒性白血球	25	99.98	0.02	0.02

這些數值是具代表性的參考值。每個實驗室都應運用當地正常捐贈者族群的檢測結果，自行確立適用的預期值。

性能

對於之前採集在無菌試管（含有 EDTA 鹽作為抗凝劑）中短於 24 小時的血液檢體，使用上面描述的程序獲取了性能資料。在免疫染色後的 2 小時內進行分析。

專一性

CD15 抗原 (Lewis x / Lex) 是 lacto-N-(neo) fucopentaose III 分子。此碳水化合物表位由表達在細胞膜上的糖脂和糖蛋白所攜帶。CD15 抗原在嗜中性白血球、嗜酸性粒細胞、嗜鹼性粒細胞和常規的骨髓祖細胞中表達很強。在正常紅血球、血小板或淋巴細胞上不表達。80H5 單株抗體識別出現在晚幼粒細胞、中幼粒細胞、早幼粒細胞和激活的巨噬細胞上的早期骨髓分化表位，也與粒細胞產生反應。在 1993 年於美國波士頓舉行的 fifth International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens（第 5 屆 HLDA 人類白細胞分化抗原會議）上，將 80H5 單株抗體指定到 CD15 分化集群中 (10, 11)。

準確度

使用全血測定了百分比陽性值。每項檢體皆使用 2 個批次的 CD15-FITC 單株抗體試劑，以 2 台儀器 1 天運行 2 次，共運行了 4 次。使用 Navios 流式細胞分析儀器檢測結果（陽性 %）。根據 CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：評估定量檢測方法的準確度性能）進行分析。

我們的接受標準視各族群所檢測的陽性事件數量而定：

- 若陽性事件數量 < 1,500，則 CV < 15%
- 若陽性事件數量 > 1,500，則 CV < 10%

單核球							
陽性事件數量（平均值）= 1056							
	各操作者間	各台細胞分析儀器間	批內	批間	各次執行間	各次執行內	總計
CV (%)	0.01	0.01	0.04	0.01	0.01	0.03	0.04
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

顆粒性白血球							
陽性事件數量（平均值）= 8446							
	各操作者間	各台細胞分析儀器間	批內	批間	各次執行間	各次執行內	總計
CV (%)	0.01	0.03	0.04	0.01	0.01	0.03	0.05
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

準確性

評估 CD15-FITC 準確性的方式，是比較它與參考試劑用於添加了陽性細胞的一組全血檢體，在 Navios 流式細胞分析儀器上進行化驗時，其結果有何差異。根據測試結果間的差異，測定了測試與參考試劑之間的偏差。如果此偏倚在允許的誤差範圍內或 P 值並未顯示顯著差異 (> 0.05)，則兩種試劑的測試結果視為相當。

所得結果總結於下表：

捐贈者數量 = 25				
陽性目標	平均值差	細胞標準 Δ %	P 值	結果
單核球	-0.21	<5	0.058	PASS
顆粒性白血球	0.00	<5	6.149E-01	PASS

空白檢體的偵測極限與偵測極限

按照 CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2，臨床實驗室測定程序的偵測能力評估）開展了一項試驗。偵測極限 (LOD) 是指可始終被偵測出的最低分析物濃度。所得結果總結於下表：

Positive Target	空白檢體的偵測極限（細胞數/µL）	偵測極限（細胞數/µL）
單核球	1	3
顆粒性白血球	1	3

限制條件

1. 流式細胞分析儀器在下列情況下可能產生錯誤結果：細胞分析儀器未正確校正、螢光洩漏未正確補償、相關區域並未仔細定位。
2. 最好採用帶洗滌步驟的 RBC 溶解方法，因該試劑不能在「無洗滌」溶解方法中取得最佳效果。
3. 按照技術手冊採用相關流程並遵循優良實驗室操作規範，便可得到準確且可重複的結果。
4. 此試劑的結合抗體已經過校正，以提供最佳的特異性訊號/非特異性訊號比率。因此，在每次測試中遵守試劑體積/檢體體積比率很重要。
5. 如果白血球過多，請在 PBS 中稀釋血液，使白血球濃度約為 5 x 10^9 顆/L (12)。
6. 在嚴重腎衰竭、血色素病變等特定疾病狀態中，紅血球溶解可能會變得緩慢、不完全，甚至無法溶解。在這種情況下，建議在染色前使用密度梯度（例如聚蔗糖）分離單核球 (13)。
7. 80H5 (CD15) 等 Lewis x 抗原的 IgM 同型單株抗體，已知可誘導骨髓單核球來源 (14) 的細胞聚集。此類聚集體可被排除在目標圈選範圍外，並導致不準確的 CD15 陽性細胞估算值。
8. 使用抗人單株抗體療法治療患者時，由於治療抗體的部分或完全阻斷，偵測到的特定目標抗原可能會減少或完全偵測不到。
9. CD15-FITC 結果的判讀應結合患者的整體臨床表徵，包括：症狀、臨床病史、其他測試的資料以及其他相關資訊。

請參閱附錄以閱讀舉例和參考文獻。

商標

Beckman Coulter、徽標以及本文述及的貝克曼庫爾特公司產品和服務標記是美國貝克曼庫爾特有限公司在美國和其他國家的商標或註冊商標。

其他資訊

對於患者/使用者/第三方（在歐盟和有相同監管制度（體外診斷醫療裝置法規，2017/746/EU）的國家）；如果在使用中或由於使用而導致嚴重事件，請將情況回報製造商和/或授權代表，以及貴國主管機關。

Summary of Safety and Performance（安全與性能）的摘要請參見 EUDAMED 資料庫：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修訂歷程記錄

修訂版 AC：	發佈日期：2019 年 9 月

修訂	**發行日期**
AW	2022 年 2 月
更新以遵守貝克曼庫爾特公司全球標籤政策以及 IVD-R (EU)2017/746 規定：	
已新增部分	BSI 2797 編號、預期使用者、臨床相關性、濃度、精密度、準確性、空白檢體的偵測極限和偵測極限、其他資訊、修訂記錄。
已新增資訊	請參閱「限制」部分
修辭或印刷更新	請參閱「程序」、「性能」、「限制」、「警告和預防措施」、「存儲和穩定性」等部分。
已移除的部分	臨床應用範例、試劑、實驗室內再現性、線性
已更新部分	預期用途、GHS 危害分類、變質的證據、程序、附錄。

修訂	**發行日期**
AX	4 月 2023
已更新部分	新增哈薩克語
已更新部分	存儲和穩定性

修訂版本	AY
修訂日期	5 月 2024
已更新的譯文	**臨床關聯性**：
已更新部分	修訂歷史

修訂版本	AZ
修訂日期	7 月 2024
已更新部分	修訂歷史

符號釋義

符號術語表請參見網站：beckman.com/techdocs（文件編號 B60062）

	Specificații
Specificitate	CD15
Clonă	80H5
Hibridom	MOPC 315-43 x balb/c
Imunogen	Human granulocytes
Imunoglobulină	IgM
Specie	Șoarece
Purificare	filtrare pe gel
Fluorocrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Raport molar	FITC/Ig: 12-14
Excitare λ	488 nm
Vârful de emisie	525 nm
Soluție tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA și 0,1% NaN_3

IOTest
Anticorp conjugat
CD15-FITC

REF B36298 100 de teste; 2 ml, 20 µl/test

Pentru utilizare în diagnosticarea *in vitro*.

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

Acest anticorp conjugat cu fluorocrom permite identificarea calitativă și non-automată a populațiilor celulare care exprimă antigenul CD15 prezent în probele biologice umane prin citometrie în flux (consultați secțiunea „probe” de mai jos).

PRINCIPIU

Acest test se bazează pe abilitatea anticorpilor monoclonali specifici de a se lega de determinanții antigenici exprimați de leucocite.

Colorarea specifică a leucocitelor este efectuată prin incubarea probei cu reactivul IOTest. Eritrocitele sunt ulterior îndepărtate prin liză, iar leucocitele, care nu sunt afectate de acest proces, sunt analizate prin citometrie în flux.

Citometrul în flux măsoară difuzia luminii și fluorescența celulelor. Acesta face posibilă delimitarea populațiilor de interes în fereastra electronică definită pe o histogramă, care corelează difuzia ortogonală a luminii (Dispersia perpendiculară sau SS – Side Scatter) și difuzia luminii sub un unghi ascuțit (Dispersia pe direcția înainte sau FS – Forward Scatter). Alte histograme care combină doi dintre parametrii diferiți disponibili pe citometru pot fi utilizate ca suporturi în faza de stabilire a porților (gating) în funcție de aplicația aleasă de către utilizator.

Fluorescența celulelor delimitate se analizează pentru distingerea evenimentelor colorate pozitiv de cele necolorate. Rezultatele sunt exprimate ca procentaj de evenimente pozitive în raport cu toate evenimentele obținute de gating.

UTILIZATOR PRECONIZAT

Acest produs este destinat utilizării profesionale în laborator.

RELEVANȚĂ CLINICĂ

CD15-FITC este un anticorp CD15 utilizat pentru a identifica și caracteriza celulele care exprimă antigenul CD15 prin citometrie în flux. Acest produs în sine nu poate și nu este conceput pentru a genera concluzii cu rol de diagnostic.

Atunci când este utilizat în combinație cu alți markeri, acest produs poate fi utilizat pentru una sau mai multe dintre următoarele funcții:

- Pentru a ajuta la obținerea unui diagnostic diferențial pentru pacienții cu anormalități hematologice suspecți de afecțiuni hematologice și la monitorizarea pacienților cu afecțiuni hematologice diagnosticate.
- Pentru a monitoriza procesul de transplant sau rezultatele.
- Pentru a ajuta la obținerea unui prognostic pentru pacienții cu neoplasm hematopoietic.

Consultați următoarele referințe:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

CONCENTRAȚIE

Consultați certificatul de analiză specific lotului la adresa www.beckman.com.

PROBE

Sângele venos trebuie recoltat utilizând eprubete sterile care conțin o sare de EDTA drept anticoagulant.

Se recomandă păstrarea probelor la temperatura camerei (18–25°C). Acestea nu se vor scutura. Se recomandă omogenizarea probelor prin agitare ușoară înainte de recoltarea probei de test.

Proba trebuie analizată în decurs de 24 de ore de la puncția venoasă.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Nu utilizați reactivul după data expirării.
2. Nu congelați.
3. Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei (18–25°C).
4. Reduceți la minimum expunerea la lumină.
5. Evitați contaminarea microbiană a reactivilor. În caz contrar, se pot obține rezultate false.
6. Soluțiile de anticorpi care conțin azidă de sodiu (NaN_3) trebuie manipulate cu atenție. A nu se ingera și a se evita contactul cu pielea, mucoasele și ochii.

În plus, într-un mediu acid, azida de sodiu poate forma acid hidrazoic, un compus potențial periculos. Dacă este necesară eliminarea reactivului, se recomandă ca acesta să fie diluat într-un volum mare de apă înainte de a fi vărsat în sistemul de canalizare pentru a evita acumularea de azidă de sodiu în conductele metalice și pentru a preveni riscul de explozie.

7. Toate probele de sânge trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie manipulate cu grijă (în special: purtarea de mănuși de protecție, halate și ochelari de protecție).
8. Nu pipetați niciodată cu gura și evitați contactul probelor cu pielea, mucoasele și ochii.
9. Eprubetele pentru sânge și materialele de unică folosință utilizate pentru manipulare trebuie eliminate în recipiente ad-hoc destinate incinerării.
10. Reactivii și deșeurile trebuie eliminați în conformitate cu cerințele locale.

CLASIFICAREA RISCURILOR ÎN SISTEMUL GHS

Nu este clasificat ca periculos

SDS Fișa tehnică de securitate este disponibilă la beckmancoulter.com/techdocs

DEPOZITAREA ȘI STABILITATEA

Înainte și după desigilarea fiolei, acest reactiv trebuie păstrat la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C într-un loc ferit de lumină.

Perioada de valabilitate în fiolă închisă în conformitate cu studiul de stabilitate: 639 zile.

Stabilitatea fiolei desigilate: reactivul este stabil timp de 180 (de) zile.

DOVADĂ DE DETERIORARE

Orice modificare a aspectului fizic al reactivilor poate indica degradarea. În acest caz, nu se recomandă utilizarea reactivului.

Pentru informații suplimentare sau dacă s-a primit un produs deteriorat, sunați la Serviciul Clienți Beckman Coulter la 800-742-2345 (SUA sau Canada) sau contactați-vă reprezentantul Beckman Coulter local.

CONȚINUT

Azida de sodiu folosită drept conservant poate forma compuși cu risc de explozie în conductele de drenaj metalice. Consultați buletinul informativ al NIOSH: Explosive Azide Hazard (Azidă cu risc de explozie) (08/16/76).
Pentru a evita posibila acumulare de compuși de azidă, spălați cu apă conductele pentru evacuarea deșeurilor după eliminarea reactivului nediluat. Eliminarea azidei de sodiu trebuie realizată în conformitate cu reglementările locale aplicabile.

MATERIALE NECESARE, DAR NEFURNIZATE CU SETUL:

- Eprubete pentru probe și materiale necesare pentru prelevarea probelor.
- Pipete automate cu vârfuri de unică folosință pentru 20, 100 și 500 µl.
- Eprubete din plastic pentru hemoliză.
- Reactiv de liză a eritrocitelor cu faza de spălare după liză. De exemplu: VersaLyse (ref. A09777).
- Reactiv de fixare a leucocitelor. De exemplu: Soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800).
- Soluție tampon (PBS: 0,01 mol de fosfat de sodiu; 0,145 mol de clorură de sodiu; pH 7,2).
- Centrifugați.
- Agitator automat (tip Vortex).
- Citometru de flux.

PROCEDURA CU REACTIVUL VERSALYSE

1. În fiecare eprubetă de test, adăugați volumul adecvat de 20 µl de anticorpi conjugați IOTest specifici.
2. Adăugați 100 µl de probă de test în fiecare eprubetă. Amestecați cu grijă eprubetele în agitatorul vortex.
3. Incubați timp de 15–20 de minute la temperatura camerei (18–25°C) într-un loc ferit de lumină.
4. Apoi efectuați liza eritrocitelor. Consultați prospectul VersaLyse (ref. A09777) și urmați, de preferat, procedura denumită „cu fixare concomitentă”, care constă în adăugarea a 1 ml de amestec „Fixare și liză” preparat extemporaneu. Amestecați imediat în agitatorul vortex timp de o secundă și incubați timp de 10 minute la temperatura camerei, într-un loc ferit de lumină.
5. Centrifugați timp de 5 minute la 150 x g la temperatura camerei.
6. Îndepărtați supernatantul prin aspirare.
7. Resuspendați peleta de celule utilizând 3 ml de PBS.
8. Repetați pasul 5.
9. Îndepărtați supernatantul prin aspirare și resuspendați peleta de celule utilizând:

- 0,5 ml sau 1 ml de PBS plus 0,1% formaldehidă dacă preparatele trebuie păstrate mai puțin de 24 (de) ore. (O soluție PBS cu 0,1% formaldehidă poate fi obținută prin diluarea unei cantități de 12,5 µl de soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800) la concentrația sa de 10X în 1 ml de PBS).
- 0,5 ml sau 1 ml de PBS fără formaldehidă, dacă preparatele trebuie analizate în decurs de 2 (de) ore.

Observație: În toate cazurile, păstrați preparatele la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C, în locuri ferite de lumină.

VALORI PRECONIZATE

În laboratoarele noastre, probele de sânge integral de la 25 donatori aparent sănătoși au fost tratate utilizându-se reactivul descris mai sus. Rezultatele obținute pentru numărul de evenimente pozitive de interes cu acest reactiv sunt date în tabelul de mai jos:

Ținta pozitivă	Număr	Medie (%)	SD (deviație standard)	CV (%)
Monocite	25	98,49	1,00	1,02
Granulocite	25	99,98	0,02	0,02

Aceste valori au doar caracter exemplificativ. Fiecare laborator trebuie să stabilească propriile valori așteptate de la populația locală de donatori normali.

PERFORMANȚĂ

Datele de performanță se obțin folosindu-se procedeul descris mai sus pe probe de sânge cu o vechime mai mică de 24 de ore recoltate anterior în eprubete sterile cu sare EDTA ca anticoagulant. Analiza se efectuează în decurs de 2 ore de la imunocolorare.

SPECIFICITATE

Antigenul CD15 (Lewis x/Lex) este molecula de lacto-N-(neo)-fucopentoză III. Acest epitop carbohidrat este purtat de ambele glicolipide și glicoproteine exprimate pe membrana celulară. Antigenul CD15 este puternic exprimat de neutrofile, eozinofile, monocite și celule precursoare mieloide normale. Nu este exprimat pe eritrocite normale, trombocite și limfocite. Anticorpul monoclonal 80H5 recunoaște un epitop de diferențiere mieloidă timpurie care se găsește pe metamielocite, mielocite, promielocite și macrofage activate. De asemenea, reacționează cu granulocite. Anticorpul monoclonal 80H5 a fost atribuit clusterului CD15 de diferențiere cu ocazia Fifth International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Al cincilea grup de lucru internațional privind antigenele de diferențiere a leucocitelor umane), organizat la Boston, SUA, în 1993 (10, 11).

PRECIZIE

Valorile procentuale pozitive au fost stabilite folosind sânge integral. Fiecare probă a fost analizată de 4 ori, de două ori pe zi timp de 1 zi, pe 2 instrumente, folosind 2 loturi de reactivi cu anticorp monoclonal CD15-FITC. Măsurătorile (% pozitive) au fost efectuate pe un citometru în flux Navios. Analiza a fost efectuată în conformitate cu metoda CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluarea performanței de precizie a metodelor de măsurare cantitativă).

Criteriile noastre de acceptare depind de numărul de evenimente pozitive măsurate pentru fiecare populație:

- Dacă evenimentul pozitiv < 1500, CV < 15%
- Dacă evenimentul pozitiv > 1500, CV < 10%

Monocite							
Număr de evenimente pozitive (medie) = 1056							
	Inter-operator	Inter-citometru	Intra-lot	Inter-lot	Inter-ciclu	Intra-testare	Total
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
REZULTATE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocite							
Număr de evenimente pozitive (medie) = 8446							
	Inter-operator	Inter-citometru	Intra-lot	Inter-lot	Inter-ciclu	Intra-testare	Total
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
REZULTATE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACURATEȚE

Acuratețea CD15-FITC a fost evaluată prin compararea rezultatelor cu un reactiv de referință ca predicat pe un set de probe de sânge integral analizate cu un citometru în flux Navios. Eroarea sistematică dintre test și reactivul de referință a fost determinată în funcție de diferența dintre rezultatele testului. Dacă eroarea sistematică se încadrează în intervalul de eroare permis sau dacă valoarea p nu indică o diferență semnificativă (> 0,05), rezultatele testului pentru cei doi reactivi sunt considerate ca fiind echivalente.

Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul de mai jos:

Număr de donatori = 25				
Ținta pozitivă	Medie Δ	Criterii celulă Δ%	Valoarea p	REZULTATE
Monocite	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulocite	0,00	<5	6,149E-01	PASS

LIMITA DE BLANC ȘI LIMITA DE DETECȚIE

A fost realizat un studiu în conformitate cu documentul CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluarea capacității de detecție în cazul procedurilor de măsurare din laborator). Limita de detecție (LOD) este cea mai redusă concentrație de analit care poate fi detectată în mod constant. Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul următor:

Positive Target	Limită de blanc (celulă/µl)	Limită de detecție (celulă/µl)
Monocite	1	3
Granulocite	1	3

LIMITĂRI

1. Citometria în flux poate furniza rezultate false dacă citometrul nu a fost aliniat perfect, dacă scurgerile de fluorescență nu au fost compensate corect și dacă regiunile nu au fost poziționate corect.
2. Este de preferat să se utilizeze o tehnică de liză a eritrocitelor (RBC) cu o etapă de spălare, deoarece acest reactiv nu a fost optimizat pentru tehnici de liză „fără spălare”.
3. Se vor obține rezultate corecte și reproductibile dacă procedurile utilizate respectă prospectul tehnic și bunele practici de laborator.
4. Anticorpul conjugat din acest reactiv este calibrat astfel încât să ofere cel mai bun raport semnal specific/semnal nespecific. Prin urmare, este important ca la fiecare test să se respecte raportul volum de reactiv/volum de probă.
5. În cazul unei hiperleucocitoze, diluați sângele în PBS astfel încât să obțineți o valoare de aproximativ 5 x 10^9 leucocite/l (12).
6. În anumite stări patologice, cum ar fi insuficiența renală severă sau hemoglobinopatiile, liza eritrocitelor poate fi lentă, incompletă sau chiar imposibilă. În acest caz, se recomandă izolarea celulelor mononucleare cu ajutorul unui gradient de densitate (de exemplu, Ficoll), înainte de colorare (13).

7. Anticorpii monoclonali, de la cei ai izotipului IgM până la cei ai antigenului Lewis x, precum 80H5 (CD15), sunt cunoscuți ca inductori ai agregării celulelor de origine mielomonocitică (14). Aceste tipuri de agregate pot fi excluse din porțile de interes și pot induce estimări inexacte ale celulelor pozitive CD15.
8. În cazul pacienților tratați cu terapii cu anticorp monoclonal anti-uman, detecția antigenilor specifici țintiți poate fi diminuată sau absentă din cauza blocării parțiale sau complete asigurată de anticorpul terapeutic.
9. Rezultatele CD15-FITC trebuie interpretate în lumina prezentării clinice integrale a pacientului, inclusiv: simptome, istoric clinic, date din teste suplimentare și alte informații corespunzătoare.

Consultați Anexa pentru exemple și referințe.

MĂRCI COMERCIALE

Beckman Coulter, logoul stilizat și mărcile de produse și servicii Beckman Coulter menționate aici sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Beckman Coulter, Inc. în Statele Unite și în alte țări.

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

În cazul unui pacient/utilizator/terț aflat în Uniunea Europeană sau în țări cu un regim de reglementare identic (Regulamentul 2017/746/UE privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro); dacă, în timpul utilizării acestui dispozitiv sau în urma utilizării acestuia, are loc un incident grav, raportați acest incident către producător și/sau reprezentantul său autorizat și către autoritatea națională din țara dvs.

Rezumatul secțiunilor Siguranță și Performanță este disponibil din baza de date EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORICUL REVIZUIRILOR

REVIZIA AC:	Data publicării: Septembrie 2019

REVIZIE	**Data publicării**
AW	Februarie 2022
Se actualizează pentru a respecta politica globală de etichetare Beckman Coulter și cerințele regulamentului IVD-R (UE) 2017/746:	
Secțiuni adăugate	Număr BSI 2797, Utilizator propus, Relevanță clinică, Concentrație, Precizie, Acuratețe, Limita de blanc și limita de detecție, Informații suplimentare, Istoric revizuiri.
Informații adăugate	Consultați secțiunile Limitări
Actualizări referitoare la frazare și tipografice	Consultați secțiunile Procedură, Performanță, Limitări, Avertizări și măsuri de precauție, Depozitare și stabilitate.
Secțiuni eliminate	Exemplu de utilizări clinice, Reactivi, Reproductibilitate intralaborator, Liniaritate
Secțiuni actualizate	Utilizare propusă, Clasificarea riscurilor în sistemul GHS, Dovadă de deteriorare, Procedură, Anexă.

REVIZIE	**Data publicării**
AX	Aprilie 2023
Secțiuni actualizate	A fost adăugată limba kazahă
Secțiuni actualizate	Depozitare și stabilitate

Versiunea revizuită	AY
Data revizuirii	Mai 2024
Au fost actualizate traducerile	**Relevanță clinică:**
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Versiunea revizuită	AZ
Data revizuirii	Iulie 2024
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Cheie simboluri

Glosarul de simboluri este disponibil la beckman.com/techdocs (număr document B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD15
Klon	80H5
Hibridom	MOPC 315-43 x balb/c
Imunogen	Human granulocytes
Imunoglobulin	IgM
Vrsta	Miš
Prečiščevanje	Gelna filtracija
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molarno razmerje	FITC/Ig: 12-14
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisij	525 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA in 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano protitelo CD15-FITC

REF B36298 100 testov; 2 ml, 20 µl/test

Za diagnostično uporabo *in vitro*.

NAMEN UPORABE

To protitelo, konjugirano s fluorokromi, omogoča kvalitativno in neavtomatizirano identifikacijo celičnih populacij, ki izražajo antigen CD15, prisoten v človeških bioloških vzorcih, z uporabo pretočne citometrije (oglejte si poglavje »Vzorci« spodaj).

NAČELO

Ta test temelji na sposobnosti specifičnih monoklonskih protiteles, da se vežejo na antigenske determinante, ki jih izražajo levkociti.

Specifično barvanje levkocitov izvedemo z inkubacijo vzorca z reagentom IOTest. Rdeče krvničke nato odstranimo z lizo, levkocite, na katere ta proces ne vpliva, pa analiziramo s pretočno citometrijo.

Pretočni citometer meri difuzijo svetlobe in fluorescenco celic. Omogoča razmejitev opazovane populacije v elektronskem oknu, opredeljenem v histogramu, ki je povezan z ortogonalno difuzijo svetlobe (stransko sipanje ali SS) in difuzijo svetlobe pri majhnemu kotu (sipanje naprej ali FS). Glede na uporabo, ki jo izbere uporabnik, lahko druge histograme, ki uporabljajo kombinacijo dveh različnih parametrov, ki so na voljo na citometru, uporabimo kot nosilce v fazi uokvirjanja.

Fluorescenco razmejenih celic analiziramo z namenom razlikovanja med pozitivno obarvanimi dogodki in tistimi, ki niso obarvani. Rezultati so izraženi kot odstotek pozitivnih dogodkov glede na vse dogodke, pridobljene z uokviranjem.

PREDVIDENI UPORABNIK

Izdelek je namenjen profesionalni laboratorijski uporabi.

KLINIČNI POMEN

CD15-FITC je protitelo CD15, ki se uporablja za identifikacijo in karakterizacijo celic, ki izražajo antigen CD15 s pomočjo pretočne citometrije. Ta izdelek sam ne more ustvariti in ni namenjen za ustvarjanje kakršnih koli diagnostičnih zaključkov.

Če se izdelek uporablja v kombinaciji z drugimi označevalci, se lahko uporablja pri eni ali več naslednjih funkcij:

- Uporablja se kot pripomoček pri diferencialnem diagnosticiranju hematološko neobičajnih bolnikov, pri katerih obstaja sum hematološke motnje, ali za spremljanje bolnikov z znano hematološko motnjo.
- Za spremljanje procesa ali rezultatov presaditve.
- Za pomoč pri napovedi stanja bolnikov s hematopoetsko neoplazmo.

Oglejte si naslednje reference:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

KONCENTRACIJA

Oglejte si ustrezen certifikat o analizi za izbrano serijo na spletni strani www.beckman.com.

VZORCI

Pri jemanju venske krvi je treba uporabiti sterilne epruvete, ki vsebujejo sol EDTA kot antikoagulant.

Vzorce je treba hraniti pri sobni temperaturi (18–25 °C) in jih ni dovoljeno pretresati. Vzorce je treba homogenizirati z rahlim stresanjem pred odvzemom testnega vzorca.

Vzorce je treba analizirati v 24 urah po venepunkciji.

OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI

1. Ne uporabljajte reagenta po izteku roka uporabnosti.
2. Ne zamrzujte.
3. Pred uporabo počakajte, da se ogrejejo na sobno temperaturo (18–25 °C).
4. Čim manj izpostavljajte svetlobi.
5. Preprečite mikrobno kontaminacijo reagentov, sicer lahko pride do napačnih rezultatov.

6. Z raztopinami protiteles, ki vsebujejo natrijev azid (NaN_3), je treba ravnati previdno. Ne zaužijte in se izogibajte vsakršnemu stiku s kožo, sluznico in očmi.

   Poleg tega lahko natrijev azid v kislem mediju tvori potencialno nevaren vodikov azid. Če ga je treba odstraniti, je reagent priporočljivo razredčiti z veliko količino vode pred izlivanjem v kanalizacijo, da bi se izognili kopičenju natrijevega azida v kovinskih ceveh in preprečili nevarnost eksplozije.
7. Vse vzorce krvi je treba obravnavati kot potencialno kužne in je treba z njimi ravnati previdno (predvsem je treba nositi zaščitne rokavice, halje in očala).
8. Nikoli ne pipetirajte z usti in se izogibajte vsakršnemu stiku vzorcev s kožo, sluznico in očmi.
9. Epruvete za kri in material za enkratno uporabo je treba odstraniti v zabojnike na licu mesta, namenjene sežigu.
10. Reagente in odpadke je treba odstraniti skladno z lokalnimi predpisi.

KLASIFIKACIJA NEVARNOSTI PO GHS

Ni razvrščeno kot nevarno

SDS Varnostni list je na voljo na povezavi beckmancoulter.com/techdocs

SHRANJEVANJE IN OBSTOJNOST

Ta reagent je treba shranjevati pri temperaturi od 2 do 8 °C in zaščiteno pred svetlobo pred odprtjem vial in po njem.

Rok uporabnosti zaprte viale po študiji stabilnosti: 639 dni.

Stabilnost odprte stekleničke: reagent je stabilen 180 dni.

DOKAZ O POSLABŠANJU STANJA

Vsaka sprememba fizičnega videza reagentov lahko kaže na poslabšanje stanja in reagenta ni dovoljeno uporabljati.

Za dodatne informacije ali ob prejemu poškodovanega izdelka pokličite službo za pomoč strankam družbe Beckman Coulter na številko 800-742-2345 (ZDA ali Kanada) ali se obrnite na lokalnega predstavnika podjetja Beckman Coulter.

VSEBINA

Konzervans iz natrijevega azida lahko tvori eksplozivne spojine v kovinskih odvodnih ceveh. Oglejte si NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16. 8. 76) (Nevarnost eksplozivnih azidov).
Da bi se izognili morebitnemu kopičenju azidnih spojin, po odstranjevanju nerazredčenega reagenta sperite odtočne cevi z vodo. Odstranjevanje natrijevega azida mora biti skladno z ustreznimi lokalnimi predpisi.

POTREBEN MATERIAL, KI NI PRILOŽEN V KOMPLETU:

- Epruvete za vzorčenje in material, potreben za vzorčenje.
- Samodejne pipete s konicami za enkratno uporabo za 20, 100 in 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizo.
- Reagent za lizo rdečih krvničk z izpiranjem po lizi. Na primer: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagent za fiksacijo levkocitov. Na primer: fiksirna raztopina IOTest 3 (Ref. A07800).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijev fosfat; 0,145 M natrijev klorid; pH 7,2).
- Centrifugirajte.
- Samodejni stresalnik (za stresanje).
- Pretočni citometer.

POSTOPEK Z REAGENTOM VERSALYSE

1. V vsako testno epruveto za testiranje dodajte ustrezno količino 20 µl specifičnega konjugiranega protitelesa IOTest.
2. V vsako epruveto dodajte 100 µl testnega vzorca. Epruvete nežno stresajte.
3. Inkubirajte ga 15 do 20 minut pri sobni temperaturi (18–25 °C), zaščitenega pred svetlobo.
4. Nato izvedite lizo rdečih celic. Oglejte si brošuro VersaLyse (Ref. A09777) in po možnosti upoštevajte postopek, imenovan »s hkratno fiksacijo«, po katerem je treba dodati 1 ml mešanice »Fix-and-Lyse«, pripravljene sprotno. Takoj stresajte eno sekundo in inkubirajte 10 minut pri sobni temperaturi, zaščiteno pred svetlobo.
5. Centrifugirajte 5 minut pri 150 x g na sobni temperaturi.
6. Supernatant odstranite z aspiracijo.
7. Celično usedlino znova suspendirajte z uporabo 3 ml PBS.
8. Ponovite 5. korak.
9. Supernatant odstranite z aspiracijo in znova suspendirajte celično usedlino z uporabo:

- 0,5 ml ali 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehida, če je pripravke treba hraniti manj kot 24 ur. (0,1-% formaldehid PBS lahko dobimo z redčenjem 12,5 µl fiksirne raztopine IOTest 3 (Ref. A07800) pri njeni 10X koncentraciji v 1 ml PBS).
- 0,5 ml ali 1 ml PBS brez formaldehida, če je pripravke treba analizirati v 2 urah.

Opomba: v vseh primerih pripravke hranite na temperaturi od 2 do 8 °C in zaščitite pred svetlobo.

PRIČAKOVANE VREDNOSTI

V naših laboratorijih smo z zgoraj opisanim reagentom obdelali vzorce polne krvi 25 na videz zdravih darovalcev. Rezultati, pridobljeni s štetjem pozitivnih dogodkov, ki nas zanimajo v zvezi s tem reagentom, so navedeni v spodnjih preglednicah:

Pozitivna tarča	Številka	Povprečje (%)	SD (SO)	CV (%)
Monociti	25	98,49	1,00	1,02
Granulociti	25	99,98	0,02	0,02

Te vrednosti so zgolj reprezentativne. Vsak laboratorij mora določiti lastne pričakovane vrednosti za lokalno populacijo običajnih darovalcev.

USPEŠNOST

Podatke o zmogljivosti pridobimo z zgoraj opisanim postopkom na vzorcih krvi, starih manj kot 24 ur, ki so bili predhodno zbrani v sterilnih epruvetah s soljo EDTA kot antikoagulantom. Analizo se izvede v 2 urah po imunohistokemičnem barvanju.

SPECIFIČNOST

Antigen CD15 (Lewis x/Lex) je molekula lakto-N-(neo) fukopentaoze III. Ta karbohidratni epitop nosijo glikolipidi in glikoproteini, ki so izraženi na celični membrani. Antigen CD15 je močno izražen z nevtrofilci, eozinofilci, monociti in normalnimi mieloidnimi predhodnimi celicami. Ni pa izražen na normalnih eritrocitih, trombocitih ali limfocitih. Monoklonsko protitelo 80H5 prepozna epitop zgodnje mieliodne diferenciacije, ki ga je moč najti na metamielocitih, mielocitih, promielocitih in aktiviranih makrofagih. Reagira tudi z granulociti. Monoklonsko protitelo 80H5 je bilo dodeljeno grozdu diferenciacije CD15 med peto delavnico International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (mednarodno delavnico o antigenih za diferenciacijo človeških levkocitov), ki je potekala v Bostonu v Združenih državah Amerike leta 1993 (10, 11).

NATANČNOST

Odstotke pozitivnih vrednosti smo določili z uporabo polne krvi. Vsak vzorec je bil obravnavan 4-krat, dvakrat dnevno 1 dan na 2 napravah z uporabo 2 serij reagentov z monoklonskimi protitelesi CD15-FITC. Meritve (% pozitivnih) so bile opravljene na pretočnem citometru Navios. Analiza je bila izvedena na podlagi metode CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vrednotenje natančnosti kvantitativnih merilnih metod).

Naša merila sprejemljivosti so odvisna od števila pozitivnih dogodkov, izmerjenih za vsako populacijo:

- Če je pozitiven dogodek < 1.500, je CV < 15 %
- Če je pozitiven dogodek > 1.500, je CV < 10 %

Monociti							
Število pozitivnih dogodkov (povprečje) = 1056							
	Med upravljavci	Med citometri	Znotraj serije	Med serijami	Med postopki	Znotraj postopka	Skupaj
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulociti							
Število pozitivnih dogodkov (povprečje) = 8446							
	Med upravljavci	Med citometri	Znotraj serije	Med serijami	Med postopki	Znotraj postopka	Skupaj
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost CD15-FITC smo ocenili s primerjavo rezultatov z referenčnim reagentom kot reagentom s potrjeno skladnostjo na nizu vzorcev polne krvi, obdelane na pretočnem citometru Navios. Odstopanje med testnim in referenčnim reagentom je bilo določeno na podlagi razlike med rezultati testa. Če je odstopanje znotraj dovoljenega območja napake ali vrednost p ne kaže pomembne razlike (> 0,05), se rezultati testov za oba reagenta štejejo za enakovredne.

Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Število darovalcev = 25				
Pozitivna tarča	Povprečje Δ	Δ % celičnega kriterija	vrednost p	REZULTATI
Monociti	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulociti	0,00	<5	6,149E-01	PASS

MEJA SLEPEGA VZORCA IN MEJA ZAZNAVANJA

Študija je bila izvedena skladno z metodo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zmogljivosti zaznavanja za merilne postopke v kliničnih laboratorijih). Meja zaznavanja (LOD) je najnižja koncentracija analita, ki jo je mogoče dosledno zaznati. Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Positive Target	Meja slepega vzorca (celic/µl)	Meja zaznavanja (celic/µl)
Monociti	1	3
Granulociti	1	3

OMEJITVE

1. S pretočno citometrijo lahko pride do napačnih rezultatov, če citometer ni bil točno nameščen, če puščanje fluorescence ni bilo ustrezno izravnano in če območja niso bila natančno pozicionirana.
2. Priporočljivo je uporabiti tehniko liziranja RBC s korakom pranja, saj ta reagent ni optimiziran za tehnike liziranja »brez pranja«.
3. Točne in ponovljive rezultate se bo doseglo, če se bo uporabilo postopke, ki so skladni s priloženim tehničnim listom in z načeli dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugirano protitelo tega reagenta je umerjeno, tako da zagotavlja najboljše razmerje med specifičnim/nespecifičnim signalnim razmerjem. Zato je pomembno, da pri vsakem testu upoštevamo razmerje med količino reagenta/količino vzorca.
5. V primeru hiperlevkocitoze razredčite kri v PBS, da se tako dobi vrednost približno 5 x 10^9 levkocitov/l (12).

6. Pri nekaterih bolezenskih stanjih, kot je huda ledvična odpoved ali hemoglobinopatije, je lahko liza rdečih krvničk počasna, nepopolna ali celo nemogoča. V tem primeru je priporočljivo izolirati mononuklearne celice z uporabo gradienta gostote (na primer Ficoll) pred barvanjem (13).
7. Znano je, da monoklonska protitelesa izotipa IgM za antigen Lewis x, kot je 80H5 (CD15), inducirajo agregacijo celic mielomonocitnega izvora (14). Takšni agregati so lahko izključeni iz okvirjev zanimanja in povzročijo netočne ocene za CD15 pozitivne celice.
8. Pri bolnikih, ki se zdravijo s terapijo z antihumanimi monoklonskimi protitelesi, je lahko odkrivanje specifičnih ciljnih antigenov zmanjšano ali pa ga sploh ni zaradi delnega ali popolnega blokiranja s strani terapevtskega protitelesa.
9. Rezultate CD15-FITC je treba razlagati v luči celotne klinične slike bolnika, vključno s: simptomi, anamnezo, podatki dodatnih testov in drugimi ustreznimi podatki.

Primere in reference si oglejte v prilogi.

BLAGOVNE ZNAMKE

Beckman Coulter, stiliziran logotip ter znamke izdelkov in storitev podjetja Beckman Coulter, omenjene v tem dokumentu, so blagovne znamke ali registrirane blagovne znamke podjetja Beckman Coulter, Inc. v Združenih državah Amerike in drugih državah.

DRUGI PODATKI

Za bolnike/uporabnike/tretje osebe v Evropski uniji in v državah z enakim regulativnim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskih pripomočkih za in vitro diagnostiko): če med uporabo tega pripomočka ali kot rezultat njegove uporabe pride do resnega incidenta, o tem poročajte proizvajalcu in/ali njegovemu pooblaščenemu predstavniku in svojemu nacionalnemu organu.

Summary of Safety and Performance (Povzetek o varnosti in zmogljivosti) je na voljo v bazi podatkov EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ZGODOVINA REVIZIJ

REVIDIRANA IZDAJA AC:	Datum izdaje: September 2019

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AW	Februar 2022
Posodobitve za skladnost z globalno politiko označevanja Beckman Coulter in v skladu z zahtevami IVD-R (EU) 2017/746:	
Dodana poglavja	Številka BSI 2797, predvideni uporabnik, klinični pomen, koncentracija, točnost, natančnost, meja slepega vzorca in meja zaznavanja, dodatne informacije, zgodovina revizij.
Dodatne informacije	Oglejte si poglavja Omejitve
Izrazne ali tipografske posodobitve	Oglejte si poglavja Postopek, Zmogljivost, Omejitve, Opozorila in previdnostni ukrepi, Shranjevanje in stabilnost.
Odstranjena poglavja	Primer klinične uporabe, reagenti, ponovljivost znotraj laboratorija, linearnost
Posodobljena poglavja	Predvidena uporaba, Klasifikacija nevarnosti po GHS, Dokaz o poslabšanju stanja, Postopek, Priloga.

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AX	April 2023
Posodobljena poglavja	Dodaj kazaščino
Posodobljena poglavja	Shranjevanje in stabilnost

Revidirana različica	AY
Revidiran datum	Maj 2024
Posodobljeni prevodi	**Klinični pomen:**
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Revidirana različica	AZ
Revidiran datum	Julij 2024
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Seznam simbolov

Glosar simbolov je na voljo na beckman.com/techdocs (številka dokumenta B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD15
Klon	80H5
Hibridom	MOPC 315-43 x balb/c
Imunogen	Human granulocytes
Imunoglobulin	IgM
Vrste	Miš
Prečišćavanje	Upotrebite filtraciju
Fluorohrom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molarni odnos	FITC/Ig: 12-14
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisije	525 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Konjugovano antitelo CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 ml, 20 µl/testu

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.

NAMENA

Ovo fluorohromno-konjugovano antitelo omogućava kvalitativnu i neautomatizovanu identifikaciju ćelijskih populacija koje eksprimiraju CD15 antigen prisutnih u humanim biološkim uzorcima pomoću protočne citometrije (pogledati odeljak „Uzorci“ u nastavku).

PRINCIP

Ovaj test se zasniva na sposobnosti određenih monoklonskih antitela da se vežu za antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično bojenje leukocita se obavlja inkubiranjem uzorka sa reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utiče, analiziraju se protočnom citometrijom.

Protočni citometar meri difuziju svetlosti i fluorescenciju ćelija. On omogućava razgraničenje populacije od interesa u okviru elektronskog prozora definisanog na histogramu, što je u korelaciji sa ortogonalnom difuzijom svetlosti (bočno rasejanje ili SS) i difuzijom uskougaone svetlosti (prednje rasejanje ili FS). Drugi histogrami koji kombinuju dva različita parametra koja postoje na citometru mogu se koristiti kao podrška u fazi regulacije, u zavisnosti od primene koju je korisnik odabrao.

Fluorescencija ograničenih ćelija se analizira kako bi se razlikovali pozitivno obojeni događaji od neobojenih događaja. Rezultati su prikazani kao procenat pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobijene regulacijom.

PREDVIĐENI KORISNIK

Ovaj proizvod je namenjen za upotrebu od strane laboratorijskih stručnjaka.

KLINIČKI ZNAČAJ

CD15-FITC predstavlja CD15 antitelo korišćeno za identifikovanje i karakterizaciju ćelija koje eksprimiraju CD15 antigen pomoću protočne citometrije. Ovaj proizvod sam po sebi ne može da se koristi i nije namenjen za donošenje bilo kog dijagnostičkog zaključka.

Kada se koristi u kombinaciji sa drugim markerima, ovaj proizvod može da se koristi kod jedne ili više od sledećih funkcija:

- Kao pomoć u diferencijalnoj dijagnozi hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematološki poremećaj i za nadgledanje pacijenata sa poznatim hematološkim poremećajem.
- Za nadgledanje procesa ili rezultata transplantacije.
- Kao pomoć u prognozi za pacijente koji imaju hematopoetsku neoplazmu.

Pogledajte sledeće reference:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

KONCENTRACIJA

Pogledajte dokument „Certificate of Analysis“ (Sertifikat analize) za određeni lot na veb-sajtu www.beckman.com.

UZORCI

Uzorci iz venske krvi moraju se uzimati sterilnim epruvetama koje sadrže EDTA so kao antikoagulans.

Uzorke treba čuvati na sobnoj temperaturi (18–25°C) i ne tresti. Uzorke treba pre uzimanja uzorka za testiranje homogenizovati blagim mešanjem.

Uzorci se moraju analizirati u roku od 24 sati od venepunkcije.

UPOZORENJE I MERE OPREZA

1. Ne koristite reagense nakon isteka roka trajanja.
2. Ne zamrzavajte.
3. Pre upotrebe sačekajte da se približi sobnoj temperaturi (18–25°C).
4. Izbegavati izloženost svetlosti.
5. Sprečite mikrobsku kontaminaciju reagenasa ili se mogu javiti netačni rezultati.
6. Rastvorima antitela koji sadrže natrijum azid (NaN_3) treba pažljivo rukovati. Ne uzimajte interno i izbegavajte svaki dodir sa kožom, sluzokožom i očima.

Pored toga, u kiseloj sredini, natrijum azid može formirati potencijalno opasnu hidrazoinsku kiselinu. Ako je potrebno da se odloži u otpad, preporučuje se da se reagens razblaži u velikoj zapremini vode pre sipanja u sistem kanalizacije kako bi se izbeglo taloženje natrijum azida u metalnim cevima i sprečila opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno infektivnim i njima se mora pažljivo rukovati (posebno: nošenje zaštitnih rukavica, odeće i zaštitnih naočara).
8. Nikada ne pipetirajte ustima i izbegavajte svaki kontakt uzoraka sa kožom, sluzokožom i očima.
9. Epruvete za uzorak krvi i potrošni materijal koji je korišćen za rukovanje treba odložiti u ad hoc kontejnere predviđene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad treba ukloniti prema lokalnim zahtevima.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno

SDS Dokument „Bezbednosni list“ dostupan je na internet stranici beckmancoulter.com/techdocs

SKLADIŠTENJE I STABILNOST

Ovaj reagens se mora čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C i zaštićen od svetlosti, pre i posle otvaranja bočice.

Ispitivanje roka trajanja zatvorene bočice u odnosu na stabilnost: 639 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dan(a).

DOKAZI POGORŠANJA

Bilo koja promena u fizičkom izgledu reagensa može ukazivati na pogoršanje i reagens ne treba koristiti.

Za dodatne informacije ili ako dobijete oštećen proizvod, pozovite korisnički servis kompanije Beckman Coulter na broj 800-742-2345 (SAD ili Kanada) ili pozovite svog lokalnog predstavnika kompanije Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans sa natrijum azidom može formirati eksplozivna jedinjenja u metalnim odvodnim vodovima. Pogledajte „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (16.8.76.) (Bilten Nacionalnog instituta za bezbednost i zdravlje na radu: Opasnost od eksplozivnih azida).
Da biste sprečili moguće taloženje jedinjenja azida, isperite cevi za otpad vodom nakon odlaganja u otpad nerazblaženog reagensa. Odlaganje u otpad natrijum azida mora biti u skladu sa odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI SE NE ISPORUČUJU UZ KOMPLET:

- Epruvete za uzorkovanje i materijal potreban za uzorkovanje.
- Automatske pipete sa nastavcima za jednokratnu upotrebu za 20 100 µl i 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizu.
- Reagens za liziranje eritrocita sa fazom ispiranja nakon liziranja. Na primer: VersaLyse (referentni broj A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primer: IOTest 3 fiksativni rastvor (referentni broj A07800).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijum-fosfat; 0,145 M natrijum-hlorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska mešalica (vrtložnog tipa).
- Protočni citometar.

POSTUPAK SA VERSALYSE REAGENSOM

1. Dodajte odgovarajuću zapreminu 20 µl specifičnog IOTest konjugovanog antitela u svaku epruvetu za uzorak.
2. Dodajte 100 µl uzorka za testiranje u svaku epruvetu za uzorak. Pažljivo izmešajte epruvete u vrtložnoj mešalici.
3. Inkubirajte 15 do 20 minuta na sobnoj temperaturi (18–25°C), zaštićeno od svetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje crvenih ćelija. Pogledajte VersaLyse (referentni broj A09777) letak i poželjno pratite postupak pod nazivom „sa istovremenom fiksacijom“, koji se sastoji od dodavanja 1 ml nezavisno pripremljene smeše za fiksiranje i liziranje („Fix-and-Lyse“). Odmah izmešajte u vrtložnoj mešalici jednu sekundu i inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi, zaštićeno od svetlosti.
5. Centrifugirajte 5 minuta na 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Ponovo suspendujte talog ćelija u 3 ml PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Aspiracijom uklonite supernatant i ponovo suspendujte talog ćelija u:

- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a plus 0,1% formaldehida ako će se preparati čuvati kraće od ovog broja sati: 24. (PBS sa 0,1% formaldehida može se dobiti razblaživanjem 12,5 µl IOTest 3 rastvora za fiksiranje (referentni broj A07800) u 10X koncentraciji u 1 ml PBS-a).
- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a bez formaldehida ako će se preparati analizirati u roku od ovog broja sati – 2.

Napomena: U svim slučajevima preparate čuvajte na temperaturi između 2°C i 8°C i zaštićene od svetlosti.

OČEKIVANE VREDNOSTI

U našim laboratorijama, uzorci pune krvi 25 očigledno zdravih donora tretirani su pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati dobijeni za broj pozitivnih događaja od interesa sa ovim reagensom navedeni su u tabeli u nastavku:

Pozitivan cilj	Broj	Srednja vrednost (%)	SD	CV (%)
Monociti	25	98,49	1,00	1,02
Granulociti	25	99,98	0,02	0,02

Ove vrednosti treba da služe samo kao reprezentativne vrednosti. Svaka laboratorija treba da uspostavi sopstvene očekivane vrednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o delovanju dobijeni su pomoću prethodno opisanog postupka na manje od 24 sata starim uzorcima krvi koji su prethodno prikupljeni sterilnim epruvetama za uzorke sa EDTA solju kao antikoagulansom. Analiza se vrši u roku od 2 sata od imunobojenja.

SPECIFIČNOST

CD15 antigen (Lewis x/Lex) je lakto-N-(neo) fukopentaozni III molekul. Ovaj ugljeno hidratni epitop nalazi se i u glikolipidima i glikoproteinima, izražen na membrani ćelije. CD15 antigen je jako izražen u neutrofilima, eozinofilima, monocitima i normalnim ćelijama pretečama mijeloida. On nije izražen u normalnim eritrocitima, trombovima ili limfocitima. 80H5 antitelo prepoznaje rani diferencirani mijeloidni epitop koji se nalazi u metamijelocitima, mijelocitima, promijelocitima i aktiviranim makrofagama. On takođe reaguje sa granulocitima. 80H5 monoklonalno antitelo dodeljeno je CD15 grupi za diferencijaciju na petom Međunarodnoj radionici za diferencijaciju ljudskih leukocita u Bostonu, SAD, godine 1993 (10, 11).

PRECIZNOST

Procenat pozitivnih vrednosti utvrđen je pomoću pune krvi. Svaki uzorak je analiziran 4 puta, dva puta dnevno tokom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagenasa monoklonskog antitela CD15-FITC. Merenja (% pozitivnog) su izvršena na Navios protočnom citometru. Analiza je obavljena na osnovu CLSI metoda EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procena preciznosti učinka kvantitativnih metoda merenja).

Naši kriterijumi prihvatljivosti zavise od broja pozitivnih događaja izmerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivan događaj <1.500, CV <15%
- Ako je pozitivan događaj >1.500, CV <10%

Monociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrednost) = 1056							
	Između više operatera	Između više citometara	Unutar jednog lota	Između više lotova	Između više analiziranja	Unutar jednog analiziranja	Ukupno
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrednost) = 8446							
	Između više operatera	Između više citometara	Unutar jednog lota	Između više lotova	Između više analiziranja	Unutar jednog analiziranja	Ukupno
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TAČNOST

Tačnost testa CD15-FITC procenjena je poređenjem rezultata sa referentnim reagensom kao osnovom na kompletu uzoraka pune krvi analiziranim na Navios protočnom citometru. Odstupanje između testa i referentnog reagensa određeno je na osnovu razlike između rezultata testova. Ako je odstupanje u okviru dozvoljenog opsega greške ili p-vrednost ne ukazuje na značajnu razliku (>0,05), rezultati testova za ova dva reagensa se smatraju ekvivalentnim.

Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivan cilj	Srednja vrednost Δ	Δ % ćelijskih kriterijuma	p-vrednost	REZULTATI
Monociti	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulociti	0,00	<5	6,149E-01	PASS

LIMIT SLEPE PROBE I LIMIT DETEKCIJE

Izvršeno je ispitivanje u skladu s protokolom CLSI EP17-A2, „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Procena sposobnosti detekcije za postupke merenja u kliničkoj laboratoriji). Limit detekcije (LoD) je najniža koncentracija analita koja se može dosledno detektovati. Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli:

Positive Target	Limit slepe probe (ćelija/µl)	Limit detekcije (ćelija/µl)
Monociti	1	3
Granulociti	1	3

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti netačne rezultate ako citometar nije pravilno postavljen, ako fluorescentna curenja nisu ispravno kompenzirana ili ako regioni nisu pažljivo postavljeni.
2. Poželjno je koristiti tehniku liziranja RBC sa korakom ispiranja jer ovaj reagens nije optimizovan za tehnike liziranja „bez pranja“.
3. Tačni i ponovljivi rezultati će se dobijati sve dok su korišćeni postupci u skladu sa listom sa tehničkim podacima i postupci kompatibilni sa smernicama dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugovano antitelo ovog reagensa je kalibrisano tako da ponudi najbolji odnos specifičnog i nespecifičnog signala. Prema tome, važno je u svakom testu koristiti utvrđeni odnos zapremine reagensa i zapremine uzorka.

5. U slučaju hiperleukocitoze, razredite krv u PBS-u kako biste dobili vrednost od približno 5 x 10^9 leukocita/l (12).
6. U određenim stanjima bolesti, kao što su teška bubrežna insuficijencija ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak nemoguće. U tom slučaju se pre bojenja preporučuje izoliranje mononuklearnih ćelija upotrebom gradijenta gustine (na primer, fikol) (13).
7. Poznato je da monoklonska antitela IgM izotipa, do Luisovog x antigena poput 80H5 (CD15), izazivaju agregaciju ćelija mijelomonocitnog porekla (14). Takvi agregati se mogu isključiti na prolazima od interesa i izazvati netačne procene CD15-pozitivnih ćelija.
8. Kod pacijenata lečenih terapijama antihumanim monoklonskim antitelima, detekcija specifičnih ciljanih antigena može biti umanjena ili odsutna usled delimične ili potpune blokade od strane terapijskog antitela.
9. Rezultate CD15-FITC testa treba tumačiti u svetlu celokupne kliničke slike pacijenta, uključujući: simptome, kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i druge prikladne informacije.

Za primere i referentne materijale pogledati Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizovani logotip i Beckman Coulter robni i servisni žigovi koji se navode u ovom dokumentu jesu žigovi ili registrovani žigovi kompanije Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim zemljama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta/korisnika/treću stranu u Evropskoj uniji i zemljama sa identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o in vitro dijagnostičkim medicinskim sredstvima); ako je tokom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe došlo do ozbiljnog incidenta, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlašćenom predstavniku i svom nacionalnom organu.

Dokument Summary of Safety and Performance (Sažetak informacija o bezbednosti i učinku) dostupan je u EUDAMED bazi podataka: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORIJA REVIZIJA

REVIZIJA AC:	Datum izdavanja: Septembar, 2019.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AW	Februar 2022.
Ažurirano radi usklađenosti sa smernicama za globalno obeležavanje kompanije Beckman Coulter u skladu sa zahtevima IVD-R (EU)2017/746:	
Dodati odeljci	BSI 2797 broj, Predviđeni korisnik, Klinički značaj, Koncentracija, Preciznost, Tačnost, Limit slepe probe i limit detekcije, Dodatne informacije, Istorija revizija.
Dodate informacije	Pogledati odeljke Ograničenja
Ažuriranje formulacija ili tipografije	Pogledati odeljke Postupak, Učinak, Ograničenja, Upozorenja i mere opreza, Čuvanje i stabilnost.
Uklonjeni odeljci	Primeri kliničkih primena, Reagensi, Intralaboratorijska reproducibilnost, Linearnost
Dopunjeni odeljci	Namena, GHS klasifikacija opasnosti, Dokaz propadanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AX	April 2023
Dopunjeni odeljci	Dodajte kazaški
Dopunjeni odeljci	Skladištenje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Maj 2024
Ažurirani prevodi	**Klinički značaj:**
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Jul 2024
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Ključ za simbole

Rečnik simbola je dostupan na adresi beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Specifikācijas
Specifika	CD15
Klons	80H5
Hibridoma	MOPC 315-43 x balb/c
Imunogēns	Human granulocytes
Imūnglobulīns	IgM
Suga	Pele
Attīrīšana	gelfiltrācijas
Fluorohroms	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molārā attiecība	FITC/Ig: 12-14
λ ierosme	488 nm
Izstarojuma lielākā vērtība	525 nm
Buferšķīdums	PBS pH 7,2 ar 2 mg/ml BSA un 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugētā antiviela CD15-FITC

REF B36298 100 testi; 2 ml, 20 µl uz testu

***In vitro* diagnostikas lietošanai.**

PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

Ar fluorohromu konjugētā antiviela nodrošina tādu šūnu populāciju kvalitatīvo un neautomatizēto noteikšanu, kam ir CD15 antigēna ekspresija un kas ir cilvēka bioloģiskajos paraugos, izmantojot plūsmas citometriju (skatīt tālāk sadaļu „Paraugi").

PRINCIPS

Šī testa pamatā ir specifisku monoklonālu antivielu spēja saistīties ar leikocītu izdalītām antigēnu determinantēm.

Leikocītu specifiskā iekrāsošana tiek veikta, inkubējot paraugu ar IOTest reaģentu. Pēc tam eritrocīti tiek atdalīti lizēšanas procesā, un leikocīti, ko šis process neietekmē, tiek analizēti, izmantojot plūsmas citometriju.

Plūsmas citometrs mēra gaismas difūziju un šūnu fluorescenci. Tādēļ ir iespējama interesējošās populācijas ierobežošana elektroniskajā logā, kas definēts histogrammā, kas korelē ar gaismas ortogonālo difūziju (sānu izkliede jeb SS) un šaurleņķa gaismas difūziju (priekšējā izkliede jeb FS). Kā papildu metodes sinhronizācijas procesā iespējams izmantot citas histogrammas, kurās iespējams kombinēt divus dažādus citometrā pieejamos parametrus atkarībā no lietotāja izvēlētā izmantojuma.

Tiek analizēta atdalīto šūnu fluorescence, lai atšķirtu pozitīvi iekrāsotos notikumus no neiekrāsotajiem. Rezultāti tiek izteikti kā procentuālais lielums no pozitīviem notikumiem attiecībā pret visiem notikumiem, kas iegūti selekcijā.

PAREDZĒTAIS LIETOTĀJS

Šis produkts ir paredzēts profesionālai lietošanai laboratorijā.

KLĪNISKAIS NOZĪMĪGUMS

CD15-FITC ir CD15 antiviela, ko izmanto, lai ar plūsmas citometriju noteiktu un raksturotu šūnas, kas ekspresē CD15 antigēnu. Ar vienu pašu šo izstrādājumu nevar iegūt nekādu diagnostisku secinājumu, un tas nav tam paredzēts.

Izmantojot kopā ar citiem marķieriem, šo izstrādājumu var lietot vienai vai vairākām tālāk norādītajām funkcijām.

- Lai palīdzētu tādu pacientu ar hematoloģiskām patoloģijām diferenciāldiagnostikā, kuriem, iespējams, ir hematoloģiska slimība, un lai uzraudzītu pacientus ar zināmu hematoloģisku slimību.
- Lai uzraudzītu transplantācijas gaitu vai rezultātus.
- Lai palīdzētu noteikt prognozi pacientiem ar asinsrades neoplazmu.

Skatiet tālāk sniegtās atsauces.

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

KONCENTRĀCIJA

Konkrētai partijai atbilstošo analīzes sertifikātu skatiet vietnē www.beckman.com.

PARAUGI

Venozās asinis jāņem, izmantojot sterilas mēģenes, kurās kā antikoagulants ir izmantots EDTA sāls.

Paraugi ir jāuzglabā istabas temperatūrā (18–25 °C), un tos nedrīkst sakratīt. Pirms testa parauga ņemšanas ir jāveic paraugu homogenizācija, viegli saskalojot paraugus.

Paraugu analīze ir jāveic 24 stundu laikā pēc vēnas punkcijas.

BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

1. Neizmantojiet reaģentu pēc derīguma termiņa beigām.
2. Nedrīkst sasaldēt.
3. Pirms izmantošanas ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai (18–25 °C).
4. Minimizējiet ekspozīciju gaismas iedarbībai.
5. Izvairieties no reaģentu bakteriālas kontaminācijas, jo iespējami viltus rezultāti.
6. Strādājot ar antivielu šķīdumiem, kuru sastāvā ir nātrija azīds (NaN_3), jāievēro piesardzība. Neizmantojiet iekšķīgi un nepieļaujiet saskari ar ādu, gļotādu un acīm.

Turklāt skābā vidē nātrija azīds var radīt potenciāli bīstamo hidrazoīdskābi. Ja to nepieciešams izmest, reaģentu ieteicams šķīdināt lielā daudzumā ūdens un izliet to kanalizācijas sistēmā, lai novērstu nātrija azīda uzkrāšanos metāla caurulēs un novērstu sprādziena risku.

7. Visi asins paraugi ir jāuzskata par potenciāli infekcioziem, un ar tiem jārīkojas, ievērojot piesardzību (respektīvi, jāvalkā aizsargcimdi, aizsargtērpi un brilles).
8. Nekādā gadījumā neizmantojiet muti, lai darbotos ar pipeti. Paraugi nekādā gadījumā nedrīkst saskarties ar ādu, gļotādu un acīm.
9. Darbā izmantotās asiņu mēģenes un vienreizlietojamie materiāli ir jāizmet ad hoc konteineros, kas paredzēti sadedzināšanai.
10. Ir jāveic reaģentu un atkritumu utilizācija atbilstoši vietējām prasībām.

ĶĪMISKO VIELU KLASIFICĒŠANAS UN MARĶĒŠANAS VISPĀRĒJI SASKAŅOTĀS SISTĒMAS BĪSTAMĪBAS KLASIFIKĀCIJA

Nav klasificēts kā bīstams

SDS Drošības datu lapa ir pieejama vietnē beckmancoulter.com/techdocs

GLABĀŠANA UN STABILITĀTE

Reaģents ir jāuzglabā 2–8 °C temperatūrā un jāsargā no gaismas pirms un pēc flakona atvēršanas.

Aizvērta flakona glabāšanas laiks saskaņā ar stabilitātes pētījumu: 639 dienas.

Atvērta flakona stabilitāte: reaģents ir stabils 180 dienas.

SADALĪŠANĀS PAZĪMES

Jebkuras reaģentu pazīmju izmaiņas var norādīt, ka reaģents sadalās un to nedrīkst izmantot.

Lai iegūtu papildu informāciju vai arī ja saņemtais izstrādājums ir bojāts, zvaniet Beckman Coulter klientu servisam pa tālruni 800-742-2345 (ASV vai Kanāda) vai sazinieties ar vietējo Beckman Coulter pārstāvi.

SATURS

Nātrija azīda konservants var izveidot sprādzienbīstamus savienojumus metāla notekcaurulēs. Skatīt NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (NIOSH biļetens: Azīdu sprādzienbīstamība) (16.8.76.).
Lai nepieļautu iespējamo azīda savienojumu uzkrāšanos, pēc neatšķaidītā reaģenta izmešanas izskalojiet kanalizācijas caurules ar ūdeni. Nātrija azīda izmešana ir jāveic saskaņā ar atbilstošajiem vietējiem noteikumiem.

NEPIECIEŠAMIE MATERIĀLI, KAS NEIETILPST KOMPLEKTĀ

- Paraugu ņemšanai nepieciešamās mēģenes un materiāli.
- Automātiskās pipetes ar vienreizlietojamiem uzgaļiem, kas paredzētas 20, 100 un 500 µl.
- Plastmasas hemolīzes mēģenes.
- Eritrocītu lizēšanas reaģents ar mazgāšanas fāzi pēc lizēšanas. Piemērs: VersaLyse (ats. A09777).
- Leikocītu fiksācijas reaģents. Piemērs: IOTest 3 fiksatīvais šķīdums (ats. A07800).
- Buferšķīdums (PBS: 0,01 M nātrija fosfāta; 0,145 M nātrija hlorīda; pH 7,2).
- Centrifugējiet.
- Automātisks maisītājs (samaisīšanas tipa).
- Plūsmas citometrs.

PROCEDŪRA AR REAĢENTU VERSALYSE

1. Pievienojiet katrai testa mēģenei atbilstošu daudzumu jeb 20 µl specifiskās IOTest konjugētās antivielas.
2. Pievienojiet 100 µl testa parauga katrai mēģenei. Saudzīgi samaisiet mēģenes.
3. Inkubējiet 15–20 minūtes istabas temperatūrā (18–25 °C), sargājot no gaismas.
4. Pēc tam veiciet eritrocītu lizēšanu. Skatiet VersaLyse (ats. A09777) lietošanas instrukciju, un ir vēlams izmantot procedūru ar nosaukumu „ar vienlaicīgu fiksāciju", kas tiek veikta, pievienojot 1 ml ekstemporāli izgatavota „Fix-and-Lyse" maisījuma. Nekavējoties samaisiet uz vienu sekundi un inkubējiet mēģeni 10 minūtes istabas temperatūrā, sargājot to no gaismas iedarbības.
5. Centrifugējiet 5 minūtes istabas temperatūrā, izmantojot 150 x g.
6. Aspirējot noņemiet virsējo slāni.
7. Atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu ar 3 ml PBS.
8. Atkārtojiet 5. darbību.
9. Aspirējot noņemiet virsējo slāni un atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu, izmantojot:

- 0,5 ml vai 1 ml PBS ar 0,1 % formaldehīda, ja preparātus ir paredzēts uzglabāt mazāk nekā 24 stundas. (0,1 % formaldehīda PBS var iegūt, atšķaidot 12,5 µl IOTest 3 fiksācijas šķīduma (ats. A07800) 10X koncentrācijā ar 1 ml PBS).
- 0,5 ml vai 1 ml PBS bez formaldehīda, ja ir paredzēts analizēt sagataves 2 stundu laikā.

Piezīme. Sagatavotos maisījums vienmēr uzglabājiet 2–8 °C temperatūrā un sargājiet no gaismas.

PAREDZAMĀS VĒRTĪBAS

Mūsu laboratorijās tika apstrādāti 25 acīmredzami veselu donoru pilnasins paraugi, izmantojot iepriekš aprakstīto reaģentu. Ar šo reaģentu iegūtie interesējošo pozitīvo notikumu rezultāti skaitliskā veidā ir sniegti tālāk tabulā.

Pozitīvais mērķis	Numurs	Aritmētiskais vidējais (%)	SN	Variācijas koeficients (%)
Monocīti	25	98,49	1,00	1,02
Granulocīti	25	99,98	0,02	0,02

Šīm vērtībām ir tikai raksturojošs nolūks. Katrai laboratorijai jānosaka savas paredzamās vērtības, kas iegūtas no veseliem vietējās populācijas donoriem.

VEIKTSPĒJA

Veiktspējas dati tiek iegūti, izmantojot iepriekš aprakstīto procedūru mazāk nekā 24 stundu veciem asins paraugiem, kas iepriekš paņemti sterilās mēģenēs ar EDTA sāli kā antikoagulantu. Analīze tiek veikta 2 stundu laikā pēc imūnkrāsošanas metodes izmantošanas.

SPECIFIKA

CD15 antigēns (Lewis x/Lex) ir lakto-N-(neo) fukopentaoāzes III molekula. Šo ogļhidrāta epitopu pārnēsā gan glikolipīdi, gan glikoproteīni, kas izdalās uz šūnas membrānas. CD15 antigēnu spēcīgi izdala neitrofili, eozinofili, monocīti un normālas mieloīdās priekšvēstnešu šūnas. To neizdala normāli eritrocīti, trombocīti un limfocīti. 80H5 monoklonālā antiviela atpazīst agrīno mieloīdās diferencēšanas epitopu, kas ir atrodams metamielocītos, mielocītos, promielocītos un aktivizētos makrofāgos. Tā reaģē arī ar granulocītiem. 80H5 monoklonālā antiviela tika piešķirta CD15 diferenciācijas klasterim pasākumā 5th International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5. starptautiskā darbnīca saistībā ar cilvēku leikocītu diferencēšanas antivielām), kas notika Bostonā, ASV, 1993. gadā (10, 11).

PRECIZITĀTE

Procentuāli pozitīvās vērtības tika noteiktas, izmantojot pilnasinis. Katru paraugu analizēja 4 reizes: divreiz dienā 1 dienu 2 instrumentos, izmantojot 2 partijas CD15-FITC monoklonālu antivielu reaģentu. Mērījumus (% pozitīvs) veica Navios plūsmas citometrā. Analīzi veica, pamatojoties uz CLSI metodi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatīvo mērīšanas metožu precizitātes veiktspējas novērtēšana).

Mūsu pieņemšanas kritēriji ir atkarīgi no katrai populācijai noteikto pozitīvo notikumu skaita.

- Ja pozitīvs notikums < 1500, variācijas koeficients < 15 %
- Ja pozitīvs notikums > 1500, variācijas koeficients < 10 %

Monocīti							
Pozitīvo notikumu skaits (aritmētiskais vidējais) = 1056							
	Starp operatoriem	Starp citometriem	Partijā	Starp partijām	Starp analīzēm	Analīzē	Kopā
Variācijas koeficients (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
REZULTĀTI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocīti							
Pozitīvo notikumu skaits (aritmētiskais vidējais) = 8446							
	Starp operatoriem	Starp citometriem	Partijā	Starp partijām	Starp analīzēm	Analīzē	Kopā
Variācijas koeficients (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
REZULTĀTI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRECIZITĀTE

CD15-FITC precizitāti novērtēja, pilnasins paraugu kopas, kas analizēti Navios plūsmas citometrā, rezultātus salīdzinot ar atsauces reaģentu kā predikātu. Novirzi starp testa un atsauces reaģentu noteica, pamatojoties uz testu rezultātu atšķirību. Ja novirze atbilst pieļaujamajam kļūdas diapazonam vai p vērtība neliecina par nozīmīgu atšķirību (> 0,05), tad abu reaģentu testu rezultāti uzskatāmi par līdzvērtīgiem.

Iegūtie rezultāti ir apkopoti nākamajā tabulā.

Donoru skaits = 25				
Pozitīvais mērķis	Aritmētiskais vidējais Δ	Δ % šūnu kritēriji	p vērtība	REZULTĀTI
Monocīti	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulocīti	0,00	<5	6,149E-01	PASS

TUKŠO PARAUGU ROBEŽVĒRTĪBA UN NOTEIKŠANAS ROBEŽVERTĪBA

Pētījums tika veikts saskaņā ar CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klīniskās laboratorijas mērījumu procedūru noteikšanas spēju izvērtējums). Noteikšanas robežvērtība (NR) ir zemākā analīta koncentrācija, ko iespējams konsekventi noteikt. Iegūtie rezultāti ir apkopoti tālāk tabulā.

Positive Target	Tukšo paraugu robežvērtība (šūnas/µl)	Noteikšanas robežvērtība (šūnas/µl)
Monocīti	1	3
Granulocīti	1	3

IEROBEŽOJUMI

1. Ja citometrs nav novietots precīzi līdzeni, ja nav pareizi kompensētas fluorescences noplūdes un ja reģioni nav uzmanīgi novietoti, plūsmas citometrija var radīt viltus rezultātus.
2. Ir ieteicams izmantot RBC lizēšanas paņēmienu ar mazgāšanas darbību, jo šis reaģents nav optimizēts izmantošanai lizēšanas paņēmienā „bez mazgāšanas".
3. Iegūtie rezultāti ir precīzi un reproducējami, ja visas izmantotās procedūras tiek izpildītas atbilstoši tehniskajai lietošanas instrukcijai un ir saskaņā ar labu laboratorijas praksi.
4. Šī reaģenta konjugētā antiviela ir kalibrēta tā, lai nodrošinātu labāko specifiska signāla/nespecifiska signāla attiecību. Tāpēc ir ļoti svarīgi ievērot reaģenta tilpuma/parauga tilpuma attiecību katrā testā.
5. Hiperleikocitozes gadījumā atšķaidiet asinis ar PBS, lai iegūtā vērtība būtu apmēram 5 x 10^9 leikocīti/l (12).
6. Dažos slimību stāvokļos, piemēram, izteiktas nieru mazspējas vai hemoglobinopātijas gadījumā, eritrocītu lizēšana var būt lēna, nepilnīga vai pat neiespējama. Šajā gadījumā pirms iekrāsošanas ir ieteicams izolēt mononukleārās šūnas, izmantojot blīvuma gradientu (piemēram, Ficoll) (13).

7. Monoklonālās antivielas, sākot no IgM izotopa un beidzot ar Lewis x antigēnu, piemēram, 80H5 (CD15), var ierosināt mielomonocītu izcelsmes šūnu agregāciju (14). Šādus uzkrājumus var izslēgt no interešu loka, un tie var rosināt neprecīzus CD15 pozitīvo šūnu aprēķinus.
8. Pacientiem, ko ārstē ar anti-cilvēka monoklonālas antivielas līdzekļiem, specifisku mērķa antigēnu noteikšana var būt pasliktināta vai tās var nebūt, jo to daļēji vai pilnībā bloķē terapeitiskā antiviela.
9. CD15-FITC rezultāti jāinterpretē, ņemot vērā pacienta kopējo klīnisko prezentāciju, tajā skaitā simptomus, slimības vēsturi, papildu testu rādītājus un citu atbilstošu informāciju.

Pielikumā skatiet piemērus un atsauces.

PREČU ZĪMES

Beckman Coulter, stilizētais logotips un Beckman Coulter preču un pakalpojumu zīmes, kas minētas šeit, ir Beckman Coulter, Inc. preču zīmes vai reģistrētas preču zīmes Amerikas Savienotajās Valstīs un citās valstīs.

PAPILDINFORMĀCIJA

Attiecībā uz pacientiem/lietotājiem/trešajām personām Eiropas Savienībā vai valstīs ar identisku regulatīvo režīmu (Regula (ES) 2017/746 par in vitro diagnostikas medicīniskām ierīcēm); ja ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā rodas nopietns negadījums, informējiet par to ražotāju un/vai tā pilnvaroto pārstāvi, kā arī valsts iestādi.

Summary of Safety and Performance (Drošuma un veiktspējas kopsavilkums) ir pieejams EUDAMED datubāzē: ec.europa.eu/tools/eudamed.

PĀRSKATĪŠANAS VĒSTURE

AC VERSIJA:	Laidiena datums: 2019. gada septembris

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AW	2022. gada februāris
Atjauninājumi atbilst Beckman Coulter vispārējai marķēšanas politikai un IVD-R (ES)2017/746 prasībām:	
Pievienotas iedaļas	BSI 2797 numurs, Paredzētais lietotājs, Klīniskais nozīmīgums, Koncentrācija, Precizitāte, Precizitāte, Tukšo paraugu robežvērtība un noteikšanas robežvērtība, Papildinformācija, Pārskatīšanas vēsture.
Pievienota informācija	Skatīt iedaļas Ierobežojumi.
Formulējuma vai tipogrāfiski atjauninājumi	Skatīt iedaļas Procedūra, Veiktspēja, Ierobežojumi, Brīdinājumi un piesardzības pasākumi, Glabāšana un Stabilitāte.
Izņemtās iedaļas	Klīniskā lietojuma piemērs, reaģenti, reproducējamība laboratorijā, linearitāte.
Atjauninātās sadaļas	Paredzētā lietošana, Ķīmisko vielu klasificēšanas un marķēšanas vispārēji saskaņotās sistēmas bīstamības klasifikācija, Sadalīšanās pazīmes, Procedūra, Pielikums.

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AX	Aprīlis 2023
Atjauninātās sadaļas	Pievienot kazahu valodu
Atjauninātās sadaļas	Glabāšana un stabilitāte

Pārskatītā versija	AY
Pārskatītā izdevuma datums	Maijs 2024
Atjauninātie tulkojumi	**Klīniskais nozīmīgums:**
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Pārskatītā versija	AZ
Pārskatītā izdevuma datums	Jūlijs 2024
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Simbolu skaidrojumi

Simbolu glosārijs ir pieejams vietnē beckman.com/techdocs (dokumenta numurs B60062)

	Специфікації
Специфічність	CD15
Клон	80H5
Гібридома	MOPC 315-43 x balb/c
Імуноген	Human granulocytes
Імуноглобулін	IgM
Вид	Миша
Очищення	гель-фільтрації
Флуорохром	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Молярне співвідношення	FITC/Ig: 12-14
λ-збудження	488 нм
Пік випромінювання	525 нм
Буфер	Розчин ФСБ pH 7,2 плюс бичачий сироватковий альбумін (БСА) 2 мг/мл та 0,1% NaN_3

Кон'юговане антитіло IOTest CD15-FITC

REF B36298 100 тестів; 2 мл, 20 мкл/тест

Для діагностики *in vitro*.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Ці антитіла, кон'юговані з флуорохромом, забезпечують якісну та неавтоматизовану ідентифікацію популяцій клітин, що експресують антиген CD15, присутніх у біологічних пробах людини, за допомогою проточної цитометрії (див. розділ «Проби» нижче).

ПРИНЦИП

Цей тест базується на здатності специфічних моноклональних антитіл зв'язуватися з антигенними детермінантами, які експресуються лейкоцитами.

Специфічне забарвлення лейкоцитів здійснюється через інкубацію проби з реагентом IOTest. Еритроцити далі видаляють за допомогою лізису, а лейкоцити, на які не впливає цей процес, досліджують методом проточної цитометрії.

Проточний цитометр вимірює розсіювання світла та флуоресценцію клітин. Це робить можливим розмежування досліджуваної популяції всередині електронного вікна, що визначається на гістограмі, яка співвідносить ортогональне розсіювання світла (бічне розсіювання або Side Scatter — SS) і вузькокутове розсіювання світла (пряме розсіювання або Forward Scatter — FS). Інші гістограми, що поєднують два різні параметри, доступні на цитометрі, можна використовувати для допомоги на етапі гейтингу залежно від програми, вибраної користувачем.

Флуоресценція обмеженої популяції клітин аналізується, щоб розрізнити події з позитивно забарвленими клітинами й незабарвленими. Результати виражаються як відсоток позитивних подій відносно всіх подій, зареєстрованих за допомогою гейтингу.

ПЕРЕДБАЧУВАНИЙ КОРИСТУВАЧ

Цей продукт призначений для професійного використання в лабораторії.

КЛІНІЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ

CD15-FITC — це антитіло CD15, яке використовується для ідентифікації та характеристики клітин, що експресують антиген CD15, методом проточної цитометрії. Цей виріб за ізольованого використання не може застосовуватись для генерації жодних діагностичних висновків, він не призначений для цього.

Під час використання разом з іншими маркерами цей продукт можна використовувати в одному або декількох з нижченаведених застосувань.

- Як допоміжний засіб під час прогнозування диференціальної діагностики в пацієнтів з відхиленнями в результатах гематологічних досліджень з підозрою на гематологічний розлад і для моніторингу пацієнтів з відомим гематологічним розладом.
- Для моніторингу процесу або результатів трансплантації.
- У якості допоміжного засобу при прогнозуванні подальшого перебігу хвороби у пацієнтів з гематопоетичним новоутворенням.

Див. такі посилання:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

КОНЦЕНТРАЦІЯ

Див. сертифікат аналізу для серії на вебсайті www.beckman.com.

ПРОБИ

Венозну кров потрібно брати в стерильні пробірки, що містять ангикоагулянт — сіль ЕДТА.

Проби слід зберігати за кімнатної температури (18–25°C), і їх не слід струшувати. Перш ніж узяти пробу для тестування, проби потрібно гомогенізувати за допомогою обережного перемішування.

Проби потрібно проаналізувати не пізніше ніж через 24 години після венепункції.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.
2. Не заморожуйте.
3. Доведіть до кімнатної температури (18–25°C) перед використанням.
4. Зведіть до мінімуму вплив світла.
5. Уникайте мікробної контамінації реагентів, інакше можуть бути отримані помилкові результати.

6. Розчини антитіл, які містять азид натрію (NaN_3), треба обробляти обережно. Не приймайте внутрішньо й уникайте будь-якого контакту зі шкірою, слизовими оболонками та очима.

   Крім того, у кислому середовищі азид натрію може утворити потенційно небезпечну азотистоводневу кислоту. Якщо його потрібно утилізувати, рекомендується розвести реагент у великій кількості води перед зливанням у водостічну систему, щоб уникнути накопичення азиду натрію на поверхні металевих труб і запобігти небезпеці вибуху.
7. Усі проби крові слід розглядати як потенційно інфекційні та поводитися з ними обережно (зокрема, використовуючи захисні рукавички, халати й окуляри).
8. У жодному разі не піпетуйте ротом та уникайте потрапляння проб на шкіру, слизові оболонки та в очі.
9. Пробірки для крові та одноразові матеріали, які використовуються для оброблення, слід викидати в спеціальні контейнери, вміст яких призначений для спалювання.
10. Реагенти та відходи потрібно утилізувати відповідно до місцевих вимог.

КЛАСИФІКАЦІЯ НЕБЕЗПЕКИ ЗА СИСТЕМОЮ GHS

Не класифікуються як небезпечні

SDS Паспорт безпеки доступний на сторінці beckmancoulter.com/techdocs

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Цей реагент потрібно зберігати за температури від 2 до 8°C у захищеному від світла місці, як до, так і після відкриття флакона.

Термін придатності вмісту закритого флакону відповідно до дослідження стабільності: 639 день.

Стабільність після відкриття флакона: реагент стабільний 180 діб.

ОЗНАКИ ПСУВАННЯ

Будь-яка зміна зовнішнього вигляду реагентів може вказувати на псування, і реагент не слід використовувати.

Щоб отримати додаткову інформацію або повідомити про отримання пошкодженого продукту, зателефонуйте до Служби обслуговування клієнтів Beckman Coulter за номером 800-742-2345 (США або Канада) чи зверніться до місцевого представника компанії Beckman Coulter.

ЗМІСТ

Консервант азид натрію може утворювати вибухонебезпечні сполуки в металевих зливних трубопроводах. Див. Бюлетень Національного інституту з охорони праці та промислової гігієни (NIOSH) Explosive Azide Hazard (Вибухонебезпечні азиди) (16.8.76).
Щоб уникнути можливого утворення сполук азиду, промийте зливні труби водою відразу після утилізації нерозведеного реагенту. Реагенти, що містять азид натрію, треба утилізувати з дотриманням відповідних місцевих норм.

ПОТРІБНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ У КОМПЛЕКТ

- Пробірки для проб і матеріали, потрібні для забору проб.
- Автоматичні піпетки з одноразовими наконечниками на 20, 100 і 500 мкл.
- Пластикові пробірки для гемолізу.
- Реагент для лізису еритроцитів з етапом промивання після лізису. Наприклад: VersaLyse (Ref. A09777).
- Реагент для фіксації лейкоцитів. Наприклад: розчин для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800).
- Буфер (ФСБ: 0,01 моль фосфату натрію; 0,145 моль хлориду натрію; pH 7,2).
- Центрифугування.
- Автоматичний змішувач (типу вортекс).
- Проточний цитометр.

ПРОЦЕДУРА З РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

1. Додайте відповідний об'єм у кількості 20 мкл специфічних кон'югованих антитіл IOTest у кожну тестову пробірку.
2. Додайте 100 мкл проби для тестування в кожну пробірку. Обережно змішайте вміст пробірок вихровим способом.
3. Витримайте протягом 15–20 хвилин за кімнатної температури (18–25°C) у захищеному від світла місці.
4. Потім виконують лізис еритроцитів. Перегляньте вкладний листок VersaLyse (Ref. A09777) і за можливості дотримуйтеся процедури з одночасною фіксацією, яка полягає в додаванні 1 мл суміші Fix-and-Lyse, приготованої безпосередньо перед використанням. Відразу змішайте вихровим способом упродовж однієї секунди й витримайте протягом 10 хвилин за кімнатної температури в захищеному від світла місці.
5. Центрифугуйте за кімнатної температури протягом 5 хвилин зі швидкістю 150 g.
6. Видаліть надосадову рідину аспіратором.
7. Ресуспендуйте осад клітин у 3 мл ФСБ.
8. Повторіть крок 5.
9. Видаліть надосадову рідину аспіратором і ресуспендуйте осад клітин, використовуючи наведене далі.

- 0,5 мл або 1 мл ФСБ плюс 0,1% формальдегіду, якщо препарати передбачається зберігати менше ніж 24 годин. (Розчин ФСБ, що містить 0,1% формальдегіду, можна отримати за допомогою розведення 12,5 мкл розчину для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800) за його 10-кратної концентрації в 1 мл ФСБ).
- 0,5 мл або 1 мл ФСБ без формальдегіду, якщо препарати будуть аналізувати впродовж наступних 2 годин.

Примітка. У всіх випадках препарати слід зберігати в захищеному від світла місці за температури 2–8°C.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

У наших лабораторіях проби цільної крові 25 практично здорових донорів обробляли з використанням реагенту, описаного вище. Отримані результати підрахунку позитивних подій, які досліджуються, з використанням цього реагенту наведено в таблиці нижче:

Цільова позитивна популяція	Число	Середнє значення (%)	СВ	КВ (%)
Моноцити	25	98,49	1,00	1,02
Гранулоцити	25	99,98	0,02	0,02

Ці значення призначені лише для репрезентативних цілей. Кожна лабораторія має встановити власний діапазон очікуваних значень серед місцевої популяції здорових донорів.

ЕФЕКТИВНІСТЬ

Робочі показники ефективності отримуються з використанням процедури, описаної вище, на пробах крові, які були відібрані в стерильні пробірки із сіллю ЕДТА як антикоагулянтом, а також зберігалися менше ніж 24 години. Аналіз проводиться впродовж 2 годин після імунного фарбування.

СПЕЦИФІЧНІСТЬ

Антиген CD15 (Lewis x / Lex) є молекулою лакто-N-(нео)-фукопентаози III. Цей вуглеводний епітоп переноситься гліколіпідами та глікопротеїнами, що експресуються на клітинній мембрані. Антиген CD15 сильно експресується нейтрофілами, еозинофілами, моноцитами і нормальними мієлоїдними клітинами-попередниками. Він не експресується на нормальних еритроцитах, тромбоцитах або лімфоцитах. Моноклональне антитіло 80H5 визначає епітоп мієлоїдних клітин на ранніх стадіях диференціації, що зустрічається в метамієлоцитах, мієлоцитах, промієлоцитах і активованих макрофагах. Він також реагує з гранулоцитами. Моноклональне антитіло 80H5 було віднесено до кластеру диференціації CD15 під час п'ятого International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Міжнародного семінару з питань антигенів для диференціації лейкоцитів людини), що проходив у Бостоні, США в 1993 році (10,11).

ПРЕЦИЗІЙНІСТЬ

Процент позитивних значень визначали за допомогою цільної крові. Кожну пробу обробляли 4 рази, двічі на добу впродовж 1 доби на 2 приладах, використовуючи 2 серії реагентів моноклональних антитіл CD15-FITC. Вимірювання (% позитивних значень) виконували на проточному цитометрі Navios. Аналіз проводили на основі методу CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оцінювання прецизійності кількісних методів вимірювання).

Наші критерії прийнятності залежать від кількості позитивних подій, виміряних для кожної популяції.

- Якщо кількість позитивних подій < 1500, КВ < 15%
- Якщо кількість позитивних подій > 1500, КВ < 10%

Моноцити							
Кількість позитивних подій (середнє значення) = 1056							
	Між операторами	Між цитометрами	У межах однієї серії	Між серіями	Між серіями вимірювань	У межах однієї серії вимірювань	Усього
КВ (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
РЕЗУЛЬТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Гранулоцити							
Кількість позитивних подій (середнє значення) = 8446							
	Між операторами	Між цитометрами	У межах однієї серії	Між серіями	Між серіями вимірювань	У межах однієї серії вимірювань	Усього
КВ (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
РЕЗУЛЬТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНІСТЬ

Точність CD15-FITC оцінювали через порівняння результатів з еталонним реагентом як контролем якості для набору проб цільної крові на проточному цитометрі Navios. Систематичну помилку між тестовим та еталонним реагентами визначали на основі різниці між результатами тесту. Якщо систематична помилка знаходиться в межах діапазону допустимої похибки або p-значення вказує на відсутність значущої різниці (> 0,05), тоді результати тесту для двох реагентів вважаються еквівалентними.

Отримані результати підсумовано в таблиці, наведеній нижче.

Кількість донорів = 25				
Цільова позитивна популяція	Середня Δ	Критерії Δ % клітин	p-значення	РЕЗУЛЬТАТИ
Моноцити	-0,21	<5	0,058	PASS
Гранулоцити	0,00	<5	6,149E-01	PASS

МЕЖА ХОЛОСТОЇ ПРОБИ Й МЕЖА ВИЯВЛЕННЯ

Дослідження проводилося відповідно до рекомендацій CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оцінювання можливості виявлення для методик клінічних лабораторних вимірювань). Межа виявлення (LOD) — це найнижча концентрація аналіту, яку стабільно можна виявити. Отримані результати підсумовано в наведеній нижче таблиці.

Positive Target	Межа холостої проби (клітин/мкл)	Межа виявлення (клітин/мкл)
Моноцити	1	3
Гранулоцити	1	3

ОБМЕЖЕННЯ

1. Результати проточної цитометрії можуть бути помилковими, якщо вказане нижче не було виконано належним чином: вирівняно цитометр, скомпенсовано витік флуоресценції, здійснено позиціонування ділянок.
2. Бажано використовувати метод лізису еритроцитів з етапом промивання, оскільки цей реагент не оптимізовано для методів лізису «без промивання».
3. Буде отримано точні й відтворювані результати, якщо процедури застосовуються відповідно до технічної інструкції, що додається, і стандартів належної лабораторної практики.
4. Кон'юговані антитіла цього реагенту відкалібровано таким чином, щоб забезпечити краще співвідношення специфічного сигналу та неспецифічного сигналу. Тому важливо дотримуватися співвідношення об'єму реагенту та об'єму проби в кожному тесті.
5. У разі гіперлейкоцитозу кров слід розводити у ФСБ так, щоб отримати концентрацію приблизно 5×10^9 лейкоцитів/л (12).
6. У разі деяких захворювань або станів, як-от тяжка ниркова недостатність або гемоглобінопатії, лізис еритроцитів може бути повільним, неповним або навіть неможливим. У цьому разі рекомендується виділяти мононуклеарні клітини за градієнтом щільності (наприклад, з використанням фіколу) перед фарбуванням (13).
7. Відомо, що моноклональні антитіла ізотипу IgM до антигена x системи Льюїс, наприклад 80H5 (CD15), індукують агрегацію клітин мієломоноцитарного походження (14). Такі агрегати можуть бути виключені з досліджуваного гейта й призвести до неточного підрахунку CD15-позитивних клітин.
8. У пацієнтів, які отримують лікування антилюдськими моноклональними антитілами, виявлення специфічних цільових антигенів може бути зниженим або відсутнім через часткове або повне блокування терапевтичним антитілом.
9. Результати CD15-FITC слід інтерпретувати у світлі загальної клінічної картини пацієнта, включно із симптомами, клінічним анамнезом, даними додаткових тестів та іншою відповідною інформацією.

Див. приклади й посилання в додатку.

ТОРГОВЕЛЬНІ МАРКИ

Beckman Coulter, стилізований логотип, товарні знаки й сервісні марки Beckman Coulter, вказані тут, є торговельними марками або зареєстрованими торговельними марками компанії Beckman Coulter, Inc. у Сполучених Штатах Америки й інших країнах.

ДОДАТКОВА ІНФОРМАЦІЯ

Для пацієнта / користувача / третьої сторони в Європейському Союзі та в країнах з ідентичною системою нормативного регулювання (Регламент 2017/746/ЄС про медичні вироби для діагностики in vitro); якщо під час використання цього пристрою або в результаті його використання стався серйозний інцидент, повідомте про це виробнику й (або) його уповноваженому представнику та місцевому національному органу.

The Summary of Safety and Performance (Огляд безпеки та основних характеристик) доступний у базі даних EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ІСТОРІЯ ЗМІН

РЕДАКЦІЯ AC:	Дата випуску: вересень 2019 р.

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AW	Лютий 2022 р.
Оновлення мають відповідати Глобальній політиці щодо маркування компанії Beckman Coulter і вимогам IVD-R (ЄС)2017/746:	
Додані розділи	«Номер BSI 2797», «Цільовий користувач», «Клінічна значущість», «Концентрація», «Прецизійність», «Точність», «Межа холостої проби й межа виявлення», «Додаткова інформація», «Історія змін».
Додана інформація	Див. розділ «Обмеження»
Оновлення формулювання або типографічні оновлення	Див. розділи «Процедура», «Робочі показники», «Обмеження», «Попередження та застереження», «Зберігання та стабільність».
Видалені розділи	«Приклад клінічного застосування», «Реагенти», «Міжлабораторна відтворюваність», «Лінійність»
Оновлені розділи	«Призначення», «Класифікація небезпек GHS», «Ознаки погіршення характеристик», «Процедура», «Додаток».

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AX	Квітень 2023
Оновлені розділи	Додано казахську мову
Оновлені розділи	Зберігання й стабільність

Переглянута версія	AY
Дата перегляду	Травень 2024
Оновлені переклади	**Клінічна значущість:**
Оновлені розділи	Історія змін

Переглянута версія	AZ
Дата перегляду	Липень 2024
Оновлені розділи	Історія змін

Список символів

Глосарій символів доступний на сайті beckman.com/techdocs (документ № B60062)

	Especificações
Especificidade	CD15
Clone	80H5
Hibridoma	MOPC 315-43 x balb/c
Imunógeno	Human granulocytes
Imunoglobulina	IgM
Espécie	Camundongo
Purificação	Filtração em gel
Fluorocromo	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Razão molar	FITC/Ig: 12-14
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	525 nm
Tampão	PBS com pH de 7,2 mais 2 mg/mL de BSA e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado CD15-FITC

REF B36298 100 testes; 2 mL, 20 µL/teste

Para uso em diagnóstico *in vitro.*

USO PREVISTO

Esse anticorpo conjugado com fluorocromo permite a identificação qualitativa e não automatizada das populações de células que expressam o antígeno CD15 presente em amostras biológicas humanas utilizando a citometria de fluxo (consulte a seção “Amostras” a seguir).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade que os anticorpos monoclonais específicos têm de se ligarem aos determinantes antigênicos expressos por leucócitos.

A coloração específica de leucócitos é realizada incubando-se a amostra com o reagente IOTest. As hemácias são então removidas por lise e os leucócitos, que não são afetados por esse processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citômetro de fluxo mede a difusão da luz e a fluorescência das células. Ele possibilita a delimitação da população de interesse na janela eletrônica definida por um histograma, que correlaciona a difusão ortogonal da luz (dispersão lateral ou SS) e a difusão da luz em ângulo estreito (dispersão frontal ou FS). Outros histogramas que combinam dois dos diferentes parâmetros disponíveis no citômetro podem ser utilizados como auxílio no estágio de delimitação, dependendo da aplicação escolhida pelo usuário.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são expressos como uma porcentagem dos eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos pela delimitação.

USUÁRIO PREVISTO

Este produto destina-se ao uso laboratorial profissional.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD15-FITC é um anticorpo para CD15 usado para identificar e caracterizar, por citometria de fluxo, as células que expressam o antígeno CD15. Este produto por si só não pode e não se destina a originar qualquer conclusão diagnóstica.

Quando usado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser usado com uma ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com anormalidades hematológicas com suspeita de terem uma doença hematológica e para monitorar pacientes com doenças hematológicas conhecidas.
- Para monitorar o processo ou os resultados do transplante.
- Para auxiliar no prognóstico de pacientes que possuem neoplasia hematopoiética.

Consulte as referências a seguir:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AMOSTRAS

Sangue venoso deve ser coletado usando tubos estéreis contendo um sal de EDTA como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas em temperatura ambiente (18-25°C) e não devem ser agitadas. A amostra deve ser homogeneizada por agitação suave antes que a amostra para teste seja retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a coleta.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não use o reagente após o prazo de validade.
2. Não congele.
3. Deixe atingir a temperatura ambiente antes de usar (18-25°C).
4. Minimize a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, pois isso pode gerar falsos resultados.

6. As soluções de anticorpos contendo azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não utilize internamente e evite o contato com a pele, mucosas e olhos.

   Além disso, em um meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazoico potencialmente perigoso. Se precisar descartar essa substância, recomenda-se que o reagente seja diluído em um grande volume de água antes de despejá-lo no sistema de drenagem para evitar o acúmulo de azida sódica nos canos de metal e o risco de explosão.
7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas como potencialmente infecciosas e devem ser manipuladas com cuidado (em particular: uso de luvas, jalecos e óculos de proteção).
8. Nunca coloque a pipeta na boca e evite qualquer contato das amostras com a pele, mucosas e olhos.
9. Os tubos de sangue e o material descartável utilizado para manuseio deve ser descartado em recipientes ad hoc destinados à incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO DO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Folha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido entre 2 e 8°C e protegido da luz, antes e depois do frasco ter sido aberto.

Validade do frasco fechado de acordo com o estudo de estabilidade: 639 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente é estável por 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DETERIORAÇÃO

Qualquer alteração no aspecto físico dos reagentes poderá indicar deterioração e o reagente não deverá ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, entre em contato com o serviço de atendimento ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou entre em contato com o representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em canos de escoamento metálicos. Consulte o Boletim do NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health [Instituto de segurança e saúde ocupacional dos EUA]): Explosive Azide Hazard (Perigos de explosão de azida) (16/8/76).
Para evitar o possível acúmulo de compostos de azida, enxágue os canos de escoamento com água após o descarte do reagente não diluído. O descarte da azida sódica deve ser efetuado de acordo com as normas locais apropriadas.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostra e material necessário para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 20, 100 e 500 µL.
- Tubos plásticos de hemólise.
- Reagente de lise de hemácias com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: Reagente VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: Solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Tampão (PBS: fosfato de sódio a 0,01 M; cloreto de sódio a 0,145 M; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citômetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM O REAGENTE VERSALYSE

1. Adicione o volume apropriado de 20 µL de anticorpo conjugado específico IOTest a cada tubo de teste.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos em temperatura ambiente (18-25°C), protegido da luz.
4. Em seguida, faça a lise das hemácias. Consulte o folheto da VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento chamado “with concomitant fixation (com fixação concomitante)”, que consiste em adicionar 1 mL da mistura de fixação e lise preparada extemporaneamente. Agite em vórtex imediatamente durante um segundo e incube durante 10 minutos em temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue por 5 minutos a 150 x g em temperatura ambiente.
6. Retire o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita a etapa 5.
9. Retire o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular usando:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído, se as preparações forem mantidas por um prazo inferior a 24 horas. (É possível obter uma solução PBS com 0,1% de formaldeído diluindo-se 12,5 µL de Solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na concentração de 10X em 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído, se as preparações forem analisadas dentro de 2 horas.

Nota: Em qualquer dos casos, mantenha as preparações entre 2 e 8°C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Em nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 doadores aparentemente saudáveis foram tratadas usando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos positivos de interesse com esse reagente são fornecidos na tabela a seguir:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP (Desvio padrão)	CV (%)
Monócitos	25	98,49	1,00	1,02
Granulócitos	25	99,98	0,02	0,02

Esses valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores esperados da população local de doadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos usando o procedimento descrito anteriormente em amostras de sangue com menos de 24 horas, coletadas previamente em tubos estéreis com sal de EDTA como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

O antígeno CD15 (Lewis x/Lex) é a molécula lacto-N-(neo) fucopentaose III. Esse epítopo de carboidrato é transportado pelos glicolipídios e pelas glicoproteínas expressos na membrana celular. O antígeno CD15 é expresso fortemente pelos neutrófilos, eosinófilos, monócitos e células precursoras mieloides normais. Ele não é expresso nos eritrócitos, nas plaquetas ou nos linfócitos normais. O anticorpo monoclonal 80H5 reconhece um epítopo de diferenciação mieloide precoce que é encontrado nos metamielócitos, nos mielócitos, nos promielócitos e nos macrófagos ativados. Ele também reage com os granulócitos. O anticorpo monoclonal 80H5 foi atribuído ao agrupamento de diferenciação CD15 durante o quinto International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Workshop internacional sobre antígenos de diferenciação de leucócitos humanos), realizado em Boston, EUA, em 1993 (10, 11).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados usando-se sangue total. Cada amostra foi processada 4 vezes, duas vezes por dia durante 1 dia em 2 instrumentos, usando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD15-FITC. As medições (% de positivos) foram realizadas no citômetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação de desempenho de precisão de métodos de medição quantitativos).

Nossos critérios de aceitação dependem do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Se eventos positivos <1.500, CV <15%
- Se eventos positivos >1.500, CV <10%

Monócitos							
Número de eventos positivos (média) = 1056							
	Entre operadores	Entre citômetros	Dentro do lote	Entre lotes	Entre processamentos	Dentro do processamento	Total
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulócitos							
Número de eventos positivos (média) = 8446							
	Entre operadores	Entre citômetros	Dentro do lote	Entre lotes	Entre processamentos	Dentro do processamento	Total
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD15-FITC foi avaliada comparando-se os resultados com um reagente de referência como o predicado em um conjunto de amostras de sangue total processadas em um citômetro de fluxo Navios. A tendência entre o reagente de teste e o de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados dos testes. Se a tendência estiver dentro da faixa de erro aceitável ou o valor p não indicar diferenças significativas (>0,05), então os resultados dos testes para os dois reagentes são considerados como equivalentes.

Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Número de doadores = 25				
Alvo positivo	Δ média	Critérios de Δ % de células	valor p	RESULTADOS
Monócitos	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulócitos	0,00	<5	6,149E-01	PASS

LIMITE DE BRANCO E LIMITE DE DETECÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com a diretriz EP17-A2 do CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de detecção para procedimentos de medição de laboratório clínico). O Limite de detecção (LOD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detectada consistentemente. Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite de branco (células/µL)	Limite de detecção (células/µL)
Monócitos	1	3
Granulócitos	1	3

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo pode produzir resultados falsos se o citômetro não for alinhado perfeitamente, se os vazamentos de fluorescência não forem corretamente compensados e se as regiões não forem cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível usar uma técnica de lise de RBC com uma etapa de lavagem, já que esse reagente não foi otimizado para técnicas de lise “sem lavagem”.

3. Serão obtidos resultados exatos e reproduzíveis desde que os procedimentos utilizados estejam em conformidade com o folheto técnico e sejam compatíveis com as boas práticas de laboratório.
4. O anticorpo conjugado desse reagente é calibrado para oferecer a melhor razão entre sinal específico e sinal não específico. Por isso, é importante manter a razão entre volume do reagente e volume da amostra em cada teste.
5. No caso de hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (12).
6. Em certos estados da doença, como insuficiência renal grave e hemoglobinopatias, a lise das hemácias pode ser lenta, incompleta ou até mesmo impossível. Nesse caso, recomenda-se isolar as células mononucleadas usando um gradiente de densidade (Ficoll, por exemplo) antes da coloração (13).
7. Os anticorpos monoclonais de isótipo IgM do antígeno Lewis x, como o 80H5 (CD15), são conhecidos por induzirem a agregação de células de origem mielomonocítica (14). Esses agregados podem ser excluídos das delimitações de interesse e induzir estimativas errôneas de células positivas para CD15.
8. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a detecção dos antígenos-alvo específicos pode ser diminuída ou não ocorrer devido ao bloqueio parcial ou total pelo anticorpo terapêutico.
9. Os resultados de CD15-FITC devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, histórico clínico, dados de testes adicionais e outras informações apropriadas.

Consulte o anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logotipo estilizado e as marcas dos produtos e serviços da Beckman Coulter mencionados neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registradas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e em outros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/usuário/terceiro na União Europeia e em países com regime regulatório idêntico (Regulamentação 2017/746/UE sobre In vitro Diagnostic Medical Devices [Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro]), se, durante o uso deste dispositivo ou como resultado de seu uso, ocorrer um incidente grave, relate-o ao fabricante e/ou ao seu representante autorizado e à sua autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível no banco de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO AC:	Data de publicação: setembro de 2019

REVISÃO	**Data de publicação**
AW	Fevereiro de 2022
Atualizações para o cumprimento da Global labelling Policy (Política de rotulagem global) da Beckman Coulter e de acordo com os requisitos da IVD-R (UE)2017/746:	
Seções adicionadas	Número BSI 2797, Usuário previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite de branco e limite de detecção, Informações adicionais, Histórico de revisão.
Informações adicionadas	Consulte as seções: Limitações
Atualizações tipográficas ou de fraseado	Consulte as seções Procedimento, Desempenho, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Seções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Seções atualizadas	Uso previsto, Classificação de perigo do GHS, Evidência de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de publicação**
AX	Abril 2023
Seções atualizadas	Adicionar cazaque
Seções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revisada	AY
Data da revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Versão revisada	AZ
Data da revisão	Julho 2024
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (documento número B60062)

	Specificaties
Specificiteit	CD15
Kloon	80H5
Hybridoom	MOPC 315-43 x balb/c
Immunogeen	Human granulocytes
Immunoglobuline	IgM
Soort	Muis
Purificatie	Gelfiltratie
Fluorochroom	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molaire verhouding	FITC/Ig: 12-14
λ excitatie	488 nm
Emissiepiek	525 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA en 0,1% NaN_3

IOTest

Geconjugeerd antilichaam CD15-FITC

REF B36298 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

BEOOGD GEBRUIK

Met dit fluorochroom-geconjugeerde antilichaam kunnen celpopulaties die het CD15-antigeen tot expressie brengen, kwalitatief en niet-geautomatiseerd worden geïdentificeerd in menselijke biologische monsters met behulp van flowcytometrie (zie het gedeelte 'Monsters' hieronder).

PRINCIPE

Deze test is gebaseerd op het vermogen van specifieke monoklonale antilichamen om zich te binden aan de antigene determinanten die tot expressie worden gebracht door leukocyten.

Specifieke kleuring van de leukocyten wordt uitgevoerd door het monster te incuberen met het IOTest -reagens. De rode cellen worden vervolgens via lysering verwijderd en de leukocyten (die ongevoelig zijn voor dit proces) worden geanalyseerd voor middel van flowcytometrie.

De flowcytometer meet de lichtdiffusie en de fluorescentie van cellen. Het maakt de afbakening van de betrokken populatie mogelijk binnen het elektronische venster gedefinieerd op een histogram, wat de orthogonale verspreiding van licht (zijwaartse verstrooiing of ZV) in verband brengt met de verspreiding van smalhoekig licht (voorwaartse verstrooiing of VV). Andere histogrammen die twee van de verschillende beschikbare parameters op de cytometer combineren, kunnen worden gebruikt als ondersteuning bij de gating-fase, afhankelijk van de door de gebruiker gekozen toepassing.

De fluorescentie van de afgeperkte cellen wordt geanalyseerd om de positief-gekleurde gebeurtenissen te onderscheiden van de niet-gekleurde. De resultaten worden uitgedrukt als een percentage van positieve gebeurtenissen ten opzichte van alle gebeurtenissen verzameld door de gating.

BEOOGDE GEBRUIKER

Dit product is bedoeld voor professioneel gebruik in het laboratorium.

KLINISCHE RELEVANTIE

Het CD15-FITC is een CD15-antilichaam dat wordt gebruikt om door middel van flowcytometrie cellen te identificeren en te karakteriseren die het CD15-antigeen tot expressie brengen. Dit product alleen kan niet worden gebruikt voor en is niet bedoeld voor de totstandbrenging van diagnostische conclusies.

Bij gebruik in combinatie met andere markers kan dit product worden gebruikt voor een of meer van de volgende functies:

- Ter ondersteuning bij de differentiële diagnose van patiënten met hematologische afwijkingen die vermoedelijk een hematologische aandoening hebben en voor het bewaken van patiënten met een bekende hematologische aandoening.
- Ter bewaking van transplantatieproces of -resultaten.
- Ter ondersteuning van de prognose van patiënten met hematopoiëtisch neoplasma.

Zie de volgende referenties:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

CONCENTRATIE

Zie batch-specifiek analysecertificaat op www.beckman.com.

MONSTERS

Veneus bloed moet worden afgenomen met steriele buisjes die EDTA-zout bevatten als anticoagulans.

De monsters moeten op kamertemperatuur (18-25 °C) worden gehouden en mogen niet worden geschud. De monsters moeten gehomogeniseerd worden door licht te schudden voordat het testmonster wordt afgenomen.

De monsters moeten worden geanalyseerd binnen 24 uur van venapunctie.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Gebruik het reagens niet na de uiterste houdbaarheidsdatum.
2. Niet invriezen.
3. Laat het op kamertemperatuur (18-25 °C) komen voor gebruik.
4. Beperk de blootstelling aan licht.

5. Vermijd microbiële verontreiniging van de reagentia, anders kunnen verkeerde resultaten optreden.
6. Antilichaamoplossingen die natriumazide (NaN_3) bevatten moeten voorzichtig gehanteerd worden. Niet innemen en elk contact met huid, slijmvliezen en ogen vermijden.

   In een zuur medium kan natriumazide bovendien de potentieel gevaarlijke waterstofazide vormen. Indien verwijdering nodig is, wordt het aanbevolen om het reagens te verdunnen in een groot volume water voordat het in het afvoersysteem wordt gegoten, om de accumulatie van natriumazide in metalen buizen en explosiegevaar te vermijden.
7. Alle bloedmonsters moeten worden beschouwd als mogelijk besmettelijk en moeten voorzichtig worden gehanteerd (met name: veiligheidshandschoenen, -jas en -bril dragen).
8. Pipetteer nooit met de mond en vermijd elk contact van de monster met huid, slijmvliezen en ogen.
9. Bloedbuisjes en wegwerpmateriaal die gebruikt zijn, moeten verwijderd worden in afvalcontainers bestemd voor verbranding.
10. Reagentia en afval moeten verwijderd worden volgens de plaatselijke voorschriften.

GHS GEVARENCLASSIFICATIE

Niet geclassificeerd als gevaarlijk

SDS Het veiligheidsinformatieblad is beschikbaar op beckmancoulter.com/techdocs

OPSLAG EN STABILITEIT

Dit reagens moet tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht worden bewaard, voor- en nadat het buisje wordt geopend.

Houdbaarheidsdatum van ongeopend buisje volgens stabiliteitsstudie: 639 dagen.

Stabiliteit van geopend buisje: het reagens is stabiel gedurende 180 dagen.

BEWIJS VAN BEDERF

Elke wijziging in de fysieke verschijning van de reagentia kan wijzen op aantasting; het reagens mag dan niet langer gebruikt worden.

Bel voor meer informatie, of als het product beschadigd is, met de klantenservice van Beckman Coulter op 800-742-2345 (VS of Canada) of neem contact op met uw plaatselijke vertegenwoordiger van Beckman Coulter.

INHOUD

Een conserveringsmiddel van natriumazide kan explosieve verbindingen vormen in metalen afvoerleidingen. Zie NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (Explosiegevaar van azide, 16-08-1976).
Om de ophoping van azideverbindingen te vermijden, spoelt u de afvoerbuizen met water na verwijdering van onverdund reagens. Natriumazide moet worden verwijderd volgens de toepasselijke plaatselijke voorschriften.

BENODIGD MATERIAAL DAT NIET IS MEEGELEVERD IN DE KIT:

- Monsterbuisjes en materiaal vereist voor monsterneming.
- Automatische pipetten met wegwerppunten voor 20, 100 en 500 µL.
- Plastic hemolysebuisjes.
- Ontbindingsreagens voor rode cellen met spoelfase na de lysis. Bijvoorbeeld: VersaLyse (ref. A09777).
- Fixatiereagens voor leukocyten. Bijvoorbeeld: IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfaat; 0,145 M natriumchloride; pH 7,2).
- Centrifugeer.
- Automatische schudder (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MET VERSALYSE-REAGENS

1. Voeg het juiste volume 20 µL van specifiek IOTest geconjugeerd antilichaam toe aan elk testbuisje.
2. Voeg 100 µL van het testmonster toe aan elk buisje. Wervel de buisjes voorzichtig.
3. Incubeer 15 tot 20 minuten op kamertemperatuur (18-25 °C), beschermd tegen licht.
4. Lyseer vervolgens de rode cellen. Raadpleeg de VersaLyse-bijsluiter (ref. A09777) en volg bij voorkeur de procedure genaamd 'met gelijktijdige fixatie', die bestaat uit het toevoegen van 1 mL ‘fixeer-en-lyseer’-oplossing die ex tempore wordt bereid. Wervel onmiddellijk gedurende één seconde en incubeer 10 minuten op kamertemperatuur, beschermd tegen licht.
5. Centrifugeer gedurende 5 minuten bij 150 x g op kamertemperatuur.
6. Verwijder het supernatant door opzuiging.
7. Suspendeer de celpellet opnieuw met 3 mL van PBS.
8. Herhaal stap 5.
9. Verwijder het supernatant door opzuiging en suspendeer de celpellet opnieuw met:

- 0,5 mL of 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyde, indien de bereidingen minder dan 24 uur worden bewaard. (Een PBS met 0,1% formaldehyde kan worden verkregen door 12,5 µL IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800) bij de 10X-concentratie te verdunnen in 1 mL PBS).
- 0,5 mL of 1 mL PBS zonder formaldehyde, indien de bereidingen moeten worden geanalyseerd binnen 2 uur.

Opmerking: houd de bereidingen in alle gevallen tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht.

VERWACHTE WAARDEN

In onze laboratoria werden de volbloedmonsters van 25 ogenschijnlijk gezonde donoren behandeld met het hierboven beschreven reagens. De verkregen resultaten voor de telling van de relevante positieve gebeurtenissen voor dit reagens worden in de onderstaande tabel weergegeven:

Positieve target	Nummer	Gemiddeld (%)	SD	VC (%)
Monocyten	25	98,49	1,00	1,02
Granulocyten	25	99,98	0,02	0,02

Deze waarden zijn uitsluitend bedoeld als referentie. Elk laboratorium moet zijn eigen verwachte waarden bepalen op basis van de lokale populatie van normale donoren.

PRESTATIES

Prestatiegegevens worden verkregen met de hierboven beschreven procedure op minder dan 24 uur oude bloedmonsters die eerder zijn verzameld in steriele buisjes met EDTA-zout als anticoagulans. De analyse wordt uitgevoerd binnen 2 uur na immunokleuring.

SPECIFICITEIT

Het CD15-antigeen (Lewis x / Lex) is de lacto-N-(neo) fucopentaose III-molecule. Deze koolhydraatepitoop wordt gedragen door glycolipiden en glycoproteïnen die tot expressie worden gebracht op het celmembraan. CD15-antigeen wordt krachtig tot expressie gebracht door neutrofielen, eosinofielen, monocyten en normale myeloïde precursorcellen. Het wordt niet tot expressie gebracht op normale erythrocyten, bloedplaatjes of lymfocyten. Het 80H5 monoklonale antilichamen herkent een vroege myeloïde differentiatie-epitoop die wordt aangetroffen op metamyelocyten, myelocyten, promyelocyten en geactiveerde macrofagen. Het reageert ook met granulocyten. Het 80H5 monoklonale antilichamen werd toegeschreven aan de CD15-differentiatiecluster tijdens de 5th International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5e internationale workshop over differentiatie-antigenen van humane leukocyten), gehouden in Boston in de Verenigde Staten in 1993 (10, 11).

PRECISIE

De procentuele positieve waarden werden bepaald met behulp van volbloed. Elk monster werd 4 maal getest, tweemaal per dag gedurende 1 dag op 2 instrumenten, waarbij gebruik werd gemaakt van 2 batches CD15-FITC monoklonale antilichaamreagentia. Metingen (% positief) werden uitgevoerd op de Navios-flowcytometer. Analyse werd uitgevoerd op basis van de CLSI-methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluatie van de precisie van kwantitatieve meetmethoden).

Onze acceptatiecriteria zijn afhankelijk van het aantal positieve gebeurtenissen dat voor elke populatie wordt gemeten:

- In het geval van een positieve gebeurtenis <1500, VC <15%
- In het geval van een positieve gebeurtenis >1500, VC <10%

Monocyten							
Aantal positieve gebeurtenissen (gemiddelde) = 1056							
	Tussen gebruikers	Tussen cytometers	Van dezelfde batch	Tussen batches	Tussen runs	Tijdens run	Totaal
VC (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
RESULTATEN	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Granulocyten							
Aantal positieve gebeurtenissen (gemiddelde) = 8446							
	Tussen gebruikers	Tussen cytometers	Van dezelfde batch	Tussen batches	Tussen runs	Tijdens run	Totaal
VC (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
RESULTATEN	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NAUWKEURIGHEID

De nauwkeurigheid van CD15-FITC werd beoordeeld door de resultaten te vergelijken met een referentiereagens als het vergelijkbare hulpmiddel op een reeks volbloedmonsters die op een Navios-flowcytometer werden uitgevoerd. De afwijking tussen test- en referentiereagens werd bepaald op basis van het verschil tussen de testresultaten. Als de afwijking binnen het toegestane foutbereik ligt of de p-waarde geen significant verschil (>0,05) aangeeft, worden de testresultaten voor de twee reagentia als gelijkwaardig beschouwd.

De resultaten worden samengevat in de onderstaande tabel:

Aantal donoren = 25				
Positieve target	Gemiddelde Δ	Δ % Celcriteria	p-waarde	RESULTATEN
Monocyten	-0,21	<5	0,058	PASS
Granulocyten	0,00	<5	6,149E-01	PASS

BLANCOLIMIET EN DETECTIELIMIET

Een studie is uitgevoerd in overeenstemming met CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluatie van detectiecapaciteit voor meetprocedures in klinische laboratoria). Het detectielimiet (LOD) is de laagste concentratie analiet die consistent kan worden gedetecteerd. De verkregen resultaten worden samengevat in de volgende tabel:

Positive Target	Blancolimiet (cel/µL)	Detectielimiet (cel/µL)
Monocyten	1	3
Granulocyten	1	3

BEPERKINGEN

1. Flowcytometrie kan leiden tot verkeerde resultaten indien de cytometer niet perfect is uitgelijnd, indien fluorescentielekken niet juist zijn gecompenseerd en indien de gebieden niet zorgvuldig zijn gepositioneerd.
2. Gebruik bij voorkeur een RBC-lyseertechniek met een wasstap, aangezien dit reagens niet is geoptimaliseerd voor lyseertechnieken zonder wassen.
3. Nauwkeurige en reproduceerbare resultaten worden verkregen zolang de gebruikte procedures in overeenstemming zijn met de technische brochure en compatibel met goede laboratoriumpraktijken.
4. Het geconjugeerde antilichaam van dit reagens wordt gekalibreerd om de beste verhouding van specifiek signaal/niet-specifiek signaal te bieden. Daarom is het belangrijk dat de verhouding van reagensvolume/monstervolume in acht wordt genomen bij elke test.
5. In het geval van een hyperleukocytose verdunt u het bloed in PBS om een waarde van ongeveer 5 x 10^9 leukocyten/L te verkrijgen (12).
6. In sommige stadia van een aandoening, zoals ernstig nierfalen of hemoglobinopathieën, kan de ontbinding van rode cellen traag verlopen, onvolledig of zelfs onmogelijk zijn. In dit geval wordt het aanbevolen om cellen met één kern te isoleren met een dichtheidsgradiënt (bijvoorbeeld Ficoll) voorafgaand aan de kleuring (13).
7. Van monoklonale antilichamen, van het IgM-isotype, voor het Lewis x antigeen zoals 80H5 (CD15) is bekend dat ze aggregatie van cellen van myelo-monocytische oorsprong induceren (14). Zulke aggregaten kunnen worden uitgesloten van relevante gates en veroorzaken onjuiste schattingen van CD15-positieve cellen.
8. Bij patiënten die worden behandeld met anti-humane monoklonale antilichaamtherapieën kan de detectie van de specifieke doelantigenen verminderd of afwezig zijn als gevolg van een gedeeltelijke of volledige blokkering door het therapeutische antilichaam.
9. De CD15-FITC-resultaten moeten worden geïnterpreteerd in het licht van het totale klinische beeld van de patiënt, met onder meer: symptomen, klinische anamnese, gegevens van aanvullende tests en andere relevante informatie.

Zie de bijlage voor voorbeelden en referenties.

Handelsmerken

Beckman Coulter, het gestileerde logo en de merken van Beckman Coulter-producten en -services in dit document zijn handelsmerken of gedeponeerde handelsmerken van Beckman Coulter, Inc. in de Verenigde Staten en andere landen.

AANVULLENDE INFORMATIE

Voor patiënten/gebruikers/derden in de EU en in landen met soortgelijke regelgeving (Verordening 2017/746/EU inzake in-vitro diagnostische medische apparaten); als er zich tijdens of als gevolg van het gebruik van dit apparaat een ernstig incident voordoet, dient u dit te melden bij de fabrikant en/of diens bevoegde vertegenwoordiger en bij uw nationale autoriteiten.

Het overzicht van de veiligheid en prestaties is beschikbaar in de database EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed

REVISIEGESCHIEDENIS

REVISIE AC:	Uitgiftedatum: September 2019

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AW	Februari 2022
Bijgewerkt om te voldoen aan het wereldwijde etiketteringsbeleid van Beckman Coulter en volgens de vereisten van IVD-R (EU)2017/746:	
Toegevoegde paragrafen	BSI 2797-nummer, Beoogde gebruiker, Klinische relevantie, Concentratie, Precisie, Nauwkeurigheid, Blancolimiet en detectiegrens, Aanvullende informatie, Revisiegeschiedenis.
Toegevoegde informatie	Zie paragraaf Beperkingen
Bijgewerkte formulering of typografie	Zie paragrafen Procedure, Prestaties, Beperkingen, Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen, Opslag en Stabiliteit.
Verwijderde paragrafen	Voorbeeld van klinische toepassingen, Reagentia, Reproduceerbaarheid intra-laboratoria, Lineariteit
Bijgewerkte paragrafen	Beoogd gebruik, GHS-gevarenclassificatie, Bewijs van bederf, Procedure, Bijlage.

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AX	April 2023
Bijgewerkte paragrafen	Toevoegen Kazachs
Bijgewerkte paragrafen	Opslag en stabiliteit

Bijgewerkte versie	AY
Herzieningsdatum	Mei 2024
Bijgewerkte vertalingen	**Klinische relevantie:**
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Bijgewerkte versie	AZ
Herzieningsdatum	Juli 2024
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Verklaring van symbolen

Overzicht met verklaring van symbolen is beschikbaar op beckman.com/techdocs (documentnummer B60062)

	Thông số kỹ thuật
Độ đặc hiệu	CD15
Dòng vô tính	80H5
Tế bào lai	MOPC 315-43 x balb/c
Chất sinh miễn dịch	Human granulocytes
Globulin miễn dịch	IgM
Các loài	Chuột
Tinh chế	Tách gel
Chất nhuộm huỳnh quang	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Tỷ lệ mol	FITC/Ig: 12-14
Kích thích λ	488 nM
Đỉnh phát xạ	525 nM
Dung dịch đệm	PBS pH 7,2 cộng với 2 mg/mL BSA và 0,1% NaN_3

Kháng thể cộng hợp IOTest CD15-FITC

REF B36298 100 xét nghiệm; 2 mL, 20 µL/xét nghiệm

Dùng cho chẩn đoán *in vitro*.

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Kháng thể cộng hợp chất nhuộm huỳnh quang này cho phép xác định theo phương thức định tính và không tự động các quần thể tế bào biểu hiện kháng nguyên CD15 có trong mẫu sinh học của người bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy (xem phần "Mẫu" bên dưới).

NGUYÊN TẮC

Xét nghiệm này dựa trên khả năng liên kết của kháng thể đơn dòng đặc hiệu với yếu tố quyết định kháng nguyên biểu hiện bởi bạch cầu.

Nhuộm đặc hiệu bạch cầu bằng cách ủ mẫu với thuốc thử IOTest. Sau đó, loại bỏ tế bào hồng cầu bằng cách ly giải và tế bào bạch cầu không bị ảnh hưởng bởi quá trình này sẽ được phân tích bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy.

Máy đếm tế bào dòng chảy đo mức khuếch tán ánh sáng và phát huỳnh quang của các tế bào. Điều này giúp phân định được quần thể quan tâm trong cửa sổ điện tử được xác định trên biểu đồ, tương quan với sự khuếch tán trực giao ánh sáng (Tán xạ góc bên hay SS) và khuếch tán ánh sáng góc hẹp (Tán xạ góc thẳng hay FS). Có thể dùng các biểu đồ khác (kết hợp hai trong các thông số có sẵn trên máy đếm tế bào) để hỗ trợ trong giai đoạn khoanh vùng tùy thuộc vào ứng dụng mà người dùng chọn.

Huỳnh quang của các tế bào đã phân định được phân tích để phân biệt các sự kiện nhuộm dương tính với các sự kiện không nhuộm. Kết quả được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm số sự kiện dương tính so với tất cả sự kiện thu được từ việc khoanh vùng.

ĐỐI TƯỢNG SỬ DỤNG

Sản phẩm này chỉ dùng cho mục đích chuyên môn trong phòng xét nghiệm.

TÍNH THÍCH HỢP VỀ LÂM SÀNG

CD15-FITC là một kháng thể CD15 dùng để nhận dạng và xác định đặc điểm của các tế bào biểu thị kháng nguyên CD15 bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy. Chỉ riêng sản phẩm này không thể và không nhằm tạo ra bất kỳ kết luận chẩn đoán nào.

Khi kết hợp với các chỉ dấu khác, có thể dùng sản phẩm này trong một hoặc nhiều chức năng sau:

- Để hỗ trợ chẩn đoán phân biệt bệnh nhân có bất thường về máu nghi ngờ bị rối loạn máu và để theo dõi bệnh nhân đã xác định là bị rối loạn máu.
- Để theo dõi quá trình cấy ghép hoặc kết quả.
- Để hỗ trợ tiên lượng những bệnh nhân bị ung thư máu.

Xem tài liệu tham khảo sau đây:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

NỒNG ĐỘ

Xem Giấy chứng nhận phân tích theo lô cụ thể tại www.beckman.com.

MẪU

Phải lấy mẫu máu tĩnh mạch vào ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA.

Phải bảo quản mẫu ở nhiệt độ phòng (18–25°C) và không lắc mẫu. Phải khuấy nhẹ mẫu trước khi lấy mẫu xét nghiệm để mẫu có trạng thái đồng nhất.

Phải phân tích các mẫu trong vòng 24 giờ sau khi lấy từ tĩnh mạch.

CẢNH BÁO VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG NGỪA

1. Không dùng thuốc thử đã hết hạn sử dụng.
2. Không làm đông lạnh.
3. Để dung dịch trở về nhiệt độ phòng (18–25°C) trước khi sử dụng.
4. Giảm thiểu tiếp xúc với ánh sáng.
5. Tránh làm thuốc thử bị nhiễm khuẩn, nếu không, có thể dẫn đến kết quả sai.
6. Phải xử lý cẩn thận dung dịch kháng thể chứa natri azit (NaN_3). Không được uống và tránh mọi tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.

Ngoài ra, trong môi trường axit, natri azit có thể tạo thành axit hydrazoic nguy hiểm. Nếu cần phải thải bỏ, bạn nên pha loãng thuốc thử trong nhiều nước trước khi thải vào hệ thống thoát nước để tránh tích tụ natri azide trong ống kim loại và để tránh nguy cơ nổ.

7. Phải coi tất cả mẫu máu là có nguy cơ lây nhiễm và xử lý cẩn thận (cụ thể: đeo găng tay, mặc áo choàng và đeo kính bảo vệ).
8. Tuyệt đối không dùng pipet bằng miệng và tránh để mẫu tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.
9. Phải bỏ ống máu và vật liệu dùng một lần đã dùng để xử lý trong thùng chứa đặc biệt cho mục đích thiêu hủy.
10. Phải thải bỏ thuốc thử và chất thải theo yêu cầu của địa phương.

PHÂN LOẠI MỐI NGUY HIỂM THEO GHS

Không được phân loại là chất nguy hiểm

SDS Phiếu dữ liệu an toàn có sẵn tại beckmancoulter.com/techdocs

BẢO QUẢN VÀ ĐỘ ỔN ĐỊNH

Phải bảo quản thuốc thử này ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng, trước và sau khi mở ống.

Hạn sử dụng của ống khi chưa mở nắp theo nghiên cứu về độ ổn định: 639 ngày.

Độ ổn định của ống đã mở: thuốc thử ổn định trong 180 ngày.

BẰNG CHỨNG BIẾN CHẤT

Mọi sự biến đổi về vẻ ngoài của thuốc thử có thể là dấu hiệu suy giảm chất lượng và bạn không nên dùng thuốc thử đó.

Để biết thêm thông tin hoặc nếu bạn nhận được sản phẩm bị hỏng, hãy gọi điện cho Dịch vụ khách hàng của Beckman Coulter theo số 8007422345 (Hoa Kỳ hoặc Canada) hoặc liên hệ với Đại diện của Beckman Coulter tại địa phương bạn.

HÀM LƯỢNG

Chất bảo quản natri azit có thể hình thành hợp chất nổ trong ống dẫn bằng kim loại. Xem Thông Báo của Viện quốc gia về an toàn và sức khỏe nghề nghiệp (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Nguy cơ nổ azit) (16/8/76).
Để tránh khả năng tích tụ hợp chất azit, hãy xả sạch các ống thải bằng nước sau khi xử lý vứt bỏ thuốc thử chưa pha loãng. Phải xử lý vứt bỏ natri azit theo đúng quy định sở tại.

VẬT LIỆU CẦN DÙNG (KHÔNG KÈM THEO BỘ THUỐC THỬ):

- Ống lấy mẫu và vật liệu cần dùng để lấy mẫu.
- Pipet tự động có đầu hút dùng một lần để lấy mẫu có thể tích 20, 100 và 500 µL.
- Ống chứa mẫu tan huyết bằng nhựa.
- Thuốc thử ly giải hồng cầu với bước rửa sau khi ly giải. Ví dụ: VersaLyse (Số tham chiếu A09777).
- Thuốc thử cố định Leucocyte. Ví dụ: Dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800).
- Dung dịch đệm (PBS: 0,01 Mol natri photphat; 0,145 Mol natri clorua; pH 7,2).
- Máy ly tâm.
- Máy trộn tự động (loại khuấy).
- Máy đếm tế bào dòng chảy.

QUY TRÌNH VỚI THUỐC THỬ VERSALYSE

1. Thêm 20 µL kháng thể cộng hợp IOTest đặc hiệu phù hợp vào từng ống xét nghiệm.
2. Thêm 100 µL mẫu xét nghiệm vào từng ống. Lắc nhẹ các ống.
3. Ủ trong 15 đến 20 phút ở nhiệt độ phòng (18–25°C), tránh ánh sáng.
4. Sau đó, ly giải hồng cầu. Tham khảo tờ hướng dẫn về VersaLyse (Số tham chiếu A09777) và tốt nhất là làm theo quy trình tên là “có cố định đồng thời”, bao gồm thêm 1 mL hỗn hợp “Cố định và ly giải” được chuẩn bị tùy ứng. Lắc ngay trong một giây và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.
5. Quay ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 150 x g tại nhiệt độ phòng.
6. Hút bỏ dịch nổi.
7. Tái huyền phù viên tế bào bằng 3 mL PBS.
8. Lặp lại bước 5.
9. Hút bỏ dịch nổi và tái huyền phù viên tế bào bằng:

- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS cộng với 0,1% formaldehyde nếu sử dụng chế phẩm trong vòng chưa đến 24 giờ. (Có thể thu được PBS chứa 0,1% formaldehyde bằng cách pha loãng 12,5 µL dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800) ở nồng độ 10X trong 1 mL PBS).
- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS không có formaldehyde, nếu phân tích các chế phẩm trong vòng 2 giờ.

Ghi chú: Trong mọi trường hợp, phải bảo quản chế phẩm ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng.

GIÁ TRỊ DỰ KIẾN

Trong phòng xét nghiệm của chúng tôi, mẫu máu toàn phần của 25 người hiến khỏe mạnh được điều trị bằng thuốc thử mô tả ở trên. Bảng dưới đây trình bày kết quả đếm số lượng sự kiện dương tính quan tâm với thuốc thử này:

Mục tiêu dương tính	Số	Giá trị trung bình (%)	SD	CV (%)
Bạch cầu đơn nhân	25	98,49	1,00	1,02
Bạch cầu hạt	25	99,98	0,02	0,02

Các giá trị sau chỉ có tính chất đại diện. Mỗi phòng xét nghiệm phải thiết lập giá trị dự kiến riêng từ quần thể người hiến bình thường của mình.

HIỆU SUẤT

Dữ liệu hiệu suất thu được bằng cách sử dụng quy trình mô tả ở trên với các mẫu máu được thu thập dưới 24 giờ trong các ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA. Phân tích trong vòng 2 giờ sau khi nhuộm hóa mô miễn dịch.

ĐỘ ĐẶC HIỆU

Kháng nguyên CD15 (Lewis x/Lex) là phân tử lacto-N-(neo) fucopentaose III. Loại yếu tố quyết định kháng nguyên carbohydrate này được vận chuyển bởi cả glycolipid và glycoprotein biểu hiện trên màng tế bào. Kháng nguyên CD15 biểu hiện rõ ràng bởi bạch cầu trung tính, bạch cầu ái toan, bạch cầu đơn nhân và tế bào tiền thân dòng tủy bình thường. Nó không biểu hiện trên hồng cầu, tiểu cầu hoặc tế bào lympho bình thường. Kháng thể đơn dòng 80H5 nhận ra một yếu tố quyết định kháng nguyên biệt hóa dòng tủy sớm được tìm thấy trên các hậu tủy bào, tủy bào, tiền tủy bào và đại thực bào đã hoạt hóa. Nó cũng phản ứng với bạch cầu hạt. Kháng thể đơn dòng 80H5 đã được chỉ định cho cụm biệt hóa CD15 trong International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Hội thảo quốc tế đầu tiên về Kháng nguyên biệt hóa bạch cầu ở người) lần thứ năm được tổ chức tại Boston, Hoa Kỳ năm 1993 (10, 11).

ĐỘ CHỤM

Tỷ lệ phần trăm của các giá trị dương tính được xác định bằng cách sử dụng máu toàn phần. Mỗi mẫu được chạy 4 lần, hai lần một ngày trong 1 ngày trên 2 thiết bị sử dụng 2 lô thuốc thử kháng thể đơn dòng CD15-FITC. Các phép đo (% dương tính) được thực hiện trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Phân tích được tiến hành theo phương pháp EP5-A2 của CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Đánh giá hiệu suất độ chụm của phương pháp đo định lượng).

Tiêu chí chấp nhận của chúng tôi phụ thuộc vào số lượng sự kiện dương tính đo được cho mỗi quần thể:

- Nếu sự kiện dương tính <1.500, CV <15%
- Nếu sự kiện dương tính >1.500, CV <10%

Bạch cầu đơn nhân							
Số sự kiện dương tính (Giá trị trung bình) = 1056							
	Giữa những người thao tác	Giữa các máy đếm tế bào	Trong lô	Giữa các lô	Giữa các lần chạy	Trong lần chạy	Toàn phần
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
KẾT QUẢ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Bạch cầu hạt							
Số sự kiện dương tính (Giá trị trung bình) = 8446							
	Giữa những người thao tác	Giữa các máy đếm tế bào	Trong lô	Giữa các lô	Giữa các lần chạy	Trong lần chạy	Toàn phần
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
KẾT QUẢ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ĐỘ CHÍNH XÁC

Độ chính xác của CD15-FITC được đánh giá bằng cách so sánh kết quả với thuốc thử tham chiếu để khẳng định trên một tập hợp các mẫu máu toàn phần chạy trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Độ lệch giữa xét nghiệm và thuốc thử tham chiếu được xác định dựa trên sự chênh lệch giữa các kết quả xét nghiệm. Nếu độ lệch nằm trong phạm vi sai số cho phép hoặc giá trị p cho thấy không có sự khác biệt đáng kể (> 0,05), thì kết quả xét nghiệm cho hai thuốc thử được coi là tương đương.

Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Số người hiến = 25				
Mục tiêu dương tính	Giá trị trung bình Δ	Tiêu chí tế bào Δ %	giá trị p	KẾT QUẢ
Bạch cầu đơn nhân	-0,21	<5	0,058	PASS
Bạch cầu hạt	0,00	<5	6,149E-01	PASS

GIỚI HẠN TRỐNG VÀ GIỚI HẠN PHÁT HIỆN

Một nghiên cứu đã được thực hiện theo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Đánh giá khả năng phát hiện cho các quy trình đo lường trong phòng xét nghiệm lâm sàng). Giới hạn phát hiện (LOD) là nồng độ thấp nhất của chất phân tích có thể phát hiện một cách nhất quán. Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Positive Target	Giới hạn trống (tế bào/µL)	Giới hạn phát hiện (tế bào/µL)
Bạch cầu đơn nhân	1	3
Bạch cầu hạt	1	3

GIỚI HẠN

1. Phương pháp đếm tế bào dòng chảy có thể cho kết quả sai nếu điều chỉnh máy đếm tế bào không phù hợp, nếu mức bù huỳnh quang rò rỉ không phù hợp và nếu định vị các vùng không cẩn thận.
2. Tốt nhất là sử dụng kỹ thuật ly giải RBC có bước rửa vì thuốc thử này chưa được tối ưu hóa cho các kỹ thuật ly giải "không rửa".
3. Sẽ thu được kết quả chính xác và có thể tái lặp nếu sử dụng quy trình theo tờ hướng dẫn kỹ thuật và phù hợp với biện pháp xét nghiệm hợp lý.

4. Kháng thể cộng hợp của thuốc thử này được hiệu chuẩn để đưa ra tỷ lệ tín hiệu đặc hiệu/tín hiệu không đặc hiệu tốt nhất. Do đó, điều quan trọng là phải tuân thủ tỷ lệ thể tích thuốc thử/thể tích mẫu trong mỗi xét nghiệm.
5. Trong trường hợp tăng bạch cầu, hãy pha loãng máu trong PBS để thu được giá trị xấp xỉ 5 x 10^9 bạch cầu/L (12).
6. Trong một số tình trạng bệnh, chẳng hạn như suy thận nặng hoặc bệnh rối loạn máu, hồng cầu có thể ly giải chậm, ly giải không hoàn toàn, hoặc thậm chí là không thể ly giải. Trong trường hợp này, bạn nên phân lập tế bào đơn nhân bằng phương pháp ly tâm phân lớp theo tỷ trọng (ví dụ: Ficoll) trước khi nhuộm (13).
7. Các nhà khoa học đã biết là kháng thể đơn dòng lớp IgM với kháng nguyên Lewis x như 80H5 (CD15) sẽ hình thành tập hợp tế bào có nguồn gốc dòng đơn cầu tủy (14). Các khoanh vùng quan tâm có thể loại trừ những tập hợp như vậy, từ đó khiến ước tính không chính xác về tế bào dương tính với CD15.
8. Ở những bệnh nhân được điều trị bằng các liệu pháp kháng thể đơn dòng kháng người, khả năng phát hiện các kháng nguyên mục tiêu đặc hiệu có thể giảm đi hoặc không xảy ra do bị kháng thể điều trị chặn một phần hoặc toàn bộ.
9. Phải diễn giải kết quả CD15-FITC dựa trên toàn bộ các dấu hiệu lâm sàng của bệnh nhân, bao gồm: triệu chứng, tiền sử lâm sàng, dữ liệu từ các xét nghiệm khác và thông tin thích hợp khác.

Xem Phụ lục để biết ví dụ và tài liệu tham khảo.

NHÃN HIỆU

Beckman Coulter, logo cách điệu và các nhãn hiệu sản phẩm cũng như dịch vụ của Beckman Coulter nêu trong tài liệu này là nhãn hiệu hoặc nhãn hiệu đã đăng ký của Beckman Coulter, Inc. ở Hoa Kỳ và các quốc gia khác.

THÔNG TIN BỔ SUNG

Đối với bệnh nhân/người dùng/bên thứ ba tại Liên minh Châu Âu và ở các quốc gia có chế độ quản lý giống nhau (Quy định 2017/746/EU về Thiết bị y tế chẩn đoán In vitro); nếu xảy ra sự cố nghiêm trọng trong quá trình sử dụng thiết bị này hoặc do sử dụng thiết bị này, vui lòng báo cáo cho nhà sản xuất và/hoặc đại diện ủy quyền của nhà sản xuất cũng như cơ quan có thẩm quyền tại quốc gia của bạn.

Summary of Safety and Performance (Tóm tắt về an toàn và hiệu suất) có trong cơ sở dữ liệu EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

LỊCH SỬ SỬA ĐỔI

PHIÊN BẢN AC:	Ngày phát hành: Tháng 09 năm 2019

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AW	Tháng 02 năm 2022
Cập nhật để tuân thủ Chính sách ghi nhãn toàn cầu của Beckman Coulter và theo các yêu cầu IVD-R (EU) 2017/746:	
Bổ sung các phần	Số BSI 2797, Đối tượng sử dụng, Tính thích hợp về lâm sàng, Nồng độ, Độ chụm, Độ chính xác, Giới hạn trống và giới hạn phát hiện, Thông tin bổ sung, Lịch sử sửa đổi.
Bổ sung thông tin	Xem các phần Giới hạn
Cập nhật cách diễn đạt hoặc câu chữ	Xem các phần Quy trình, Hiệu suất, Giới hạn, Cảnh báo và Biện pháp phòng ngừa, Bảo quản và Độ ổn định.
Các phần bị xóa	Ví dụ về các ứng dụng lâm sàng, Thuốc thử, Khả năng tái lập trong phòng xét nghiệm, Độ tuyến tính
Các phần cập nhật	Mục đích sử dụng, Phân loại mối nguy hiểm theo GHS, Bằng chứng biến chất, Quy trình, Phụ lục.

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AX	Tháng 4 2023
Các phần cập nhật	Thêm tiếng Kazakh
Các phần cập nhật	Bảo quản và độ ổn định

Phiên bản sửa đổi	AY
Ngày sửa đổi	Tháng 5 2024
Đã cập nhật bản dịch	**Tính thích hợp về lâm sàng:**
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Phiên bản sửa đổi	AZ
Ngày sửa đổi	Tháng 7 2024
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Bảng chú giải các ký hiệu

Danh mục thuật ngữ ký hiệu có sẵn tại beckman.com/techdocs (số tài liệu B60062)

	Сипаттамалары
Ерекшелік	CD15
Клон	80H5
Гибридома	MOPC 315-43 x balb/c
Иммуноген	Human granulocytes
Иммунды глобулин	IgM
Түрлері	Тышқан
Тазарту	Гель-хроматография
Флуорохром	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Молярлық қатынасы	FITC / Ig: 12-14
λ қозу	488 нм
Эмиссияның жоғарғы шегі	525 нм
Буфер	PBS pH 7,2 + 2 мг / мл BSA және 0,1% NaN_3

Конъюгацияланған
IOTest антиденесі
CD15-FITC

REF B36298 100 сынақ; 2 мл, 20 мкл / сынақ

***In vitro* диагностикасында пайдалануға арналған.**

ПАЙДАЛАНУ МАҚСАТЫ

Бұл флуорохроммен конъюгацияланған антидене адамның биологиялық үлгілерінде CD15 антигеннің болуын көрсететін жасуша популяциясын ағын цитометриясы көмегімен сапалы және автоматтандырылмаған анықтауға мүмкіндік береді (төмендегі «Үлгілер» бөлімін қараңыз).

ҚАҒИДА

Бұл сынақ нақты моноклоналды антиденелердің лейкоциттер айқындайтын антигендік детерминанттармен байланысу қабілетіне негізделген.

Лейкоциттердің арнайы бояуы үлгіні IOTest реагентімен инкубациялау арқылы жүзеге асады. Сол кезде эритроциттер лизис арқылы шығарылады, ал осы процесс әсер етпейтін лейкоциттерге ағын цитометриясы арқылы талдау жасалады.

Ағын цитометрі жарық диффузиясы мен жасушалардың флуоресценттенуін өлшейді. Бұл гистограммада анықталған электронды терезеде қызығушылық популяциясын ажыратуға мүмкіндік береді, ол жарықтың ортогональды диффузиясын (бүйірлік шашырау немесе SS) және тар бұрышты жарықтың диффузиясын (тікелей шашырау немесе FS) байланыстырады. Цитометрде қолжетімді екі түрлі параметрді біріктіретін басқа гистограммаларды пайдаланушы таңдаған қолданбаға байланысты гейтинг кезеңінде тірек ретінде пайдалануға болады.

Оң боялған оқиғаларды боялмаған оқиғалардан ажырату үшін шектеулі жасушалардың флуоресценттенуіне талдау жүргізілді. Оның нәтижесі оң оқиғалардың гейтинг арқылы алынған барлық оқиғаларға қатынасының пайыздық көрсеткіші ретінде көрсетіледі.

МАҚСАТТЫ ПАЙДАЛАНУШЫ

Бұл өнім зертханалық жағдайда кәсіби пайдалануға арналған.

КЛИНИКАЛЫҚ МАҢЫЗЫ

CD15-FITC – ағын цитометриясы арқылы CD15 антигенін экспрессиялайтын жасушаларды сәйкестендіру және сипаттау үшін пайдаланылатын CD15 антиденесі. Бұл өнімді жалғыз өзін пайдаланып қандай да бір диагностикалық қорытынды жасау мүмкін емес және жасауға арналмаған.

Басқа маркерлермен бірлесіп пайдаланылғанда, бұл өнімді келесі функциялардың біреуінде немесе бірнешеуінде пайдалануға болады:

- Гематологиялық ауруға күдікті гематологиялық ауытқулары бар емделушілерді дифференциалды диагностикалауға көмектесу және белгілі гематологиялық ауруы бар емделушілерді бақылау үшін.
- Трансплантация процесін немесе нәтижелерін бақылау.
- Гемопоэтикалық жаңа ісігі бар пациенттерге болжау жасауға көмектесу.

Келесі анықтамаларды қараңыз:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Нақты топтама бойынша талдау сертификатын мына сайттан қараңыз www.beckman.com.

ҮЛГІЛЕР

Көктамыр қанын антикоагулянт ретінде EDTA тұзы бар стерильді түтіктердің көмегімен алу керек.

Үлгілерді бөлме температурасында (18–25°C) сақтау керек және оларды шайқауға болмайды. Үлгілерді сынақ үлгісін алмастан бұрын жеңіл араластыру жолымен гомогендеу керек.

Үлгілерді көк тамырды тескен соң 24 сағат ішінде талдау қажет.

ЕСКЕРТУ ЖӘНЕ САҚТЫҚ ШАРАЛАРЫ

1. Жарамдылық мерзімі өткеннен кейін реагентті қолдануға болмайды.
2. Қатыруға болмайды.
3. Оны пайдаланбас бұрын, температурасының бөлме температурасына (18–25°C) жетуін күтіңіз.
4. Жарық әсерін азайтыңыз.

5. Реагенттердің микробтармен ластануына жол бермеңіз немесе жалған нәтижелер орын алуы мүмкін.
6. Құрамында натрий азиды бар антидене ерітінділермен (NaN_3) жұмыс істегенде абай болу керек. Ішке қабылдамаңыз. Теріге, шырышты қабыққа және көзге тиігізбеңіз.

   Оған қоса, қышқылды ортада натрий азиды ықтимал қауіпті азотты сутек қышқылын түзуі мүмкін. Оны жою қажет болған жағдайда реагентті алдымен судың көп мөлшерінде сұйылтып, артынан кәріз жүйесіне төгуге кеңес беріледі. Осылайша, натрий азидының металл құбырларда жиналуын болдырмай, жарылыс қаупінің алдын алуға болады.
7. Қанның барлық үлгілері ықтимал жұқпалы деп есептелуі және сақтықпен өңделуі (атап айтқанда: қорғаныс қолғабын, халат және көзілдірік кию) керек.
8. Ешқашан оны аузыңызға құймаңыз және үлгілерді теріге, шырышты қабыққа және көзге тигізбеңіз.
9. Өңдеу үшін пайдаланылатын қан түтіктері мен бір реттік материалдарды өртеуге арналған арнайы контейнерлерге тастау керек.
10. Реагенттер мен қалдықтар жергілікті талаптарға сәйкес жойылуы тиіс.

GHS ҚАУІПТЕР КЛАССИФИКАЦИЯСЫ

Қауіпті деп жіктелмейді

SDS Қауіпсіздік парағы beckmancoulter.com/techdocs мекенжайы бойынша қолжетімді

САҚТАУ ЖӘНЕ ТҰРАҚТЫЛЫҚ

Құтыны ашпай тұрып және оны ашқаннан кейін, бұл реагентті 2–8°C температурада жарықтан қорғалған жерде сақтау керек.

Тұрақтылық зерттеуіне сәйкес жабық күйіндегі сауыт сөресінің жарамдылық мерзімі: 639 күндер.

Ашық құтының тұрақтылығы: реагент 180 күн бойы тұрақты болады.

ЗАҚЫМДАЛУ БЕЛГІЛЕРІ

Реагенттердің сыртқы түрінің кез келген өзгерісі олардың зақымдалғандығын көрсетуі мүмкін және реагентті пайдаланбаған жөн.

Қосымша ақпарат алу үшін немесе зақымдалған өнімді алған жағдайда 800-742-2345 (АҚШ немесе Канада) арқылы Beckman Coulter тұтынушыларға қызмет көрсету орталығына қоңырау шалыңыз немесе жергілікті Beckman Coulter компаниясының өкіліне хабарласыңыз.

МАЗМҰНЫ

Натрий азиді консерванты металдан жасалған құбыр желілерінде жарылғыш қосылыстар түзуі мүмкін. NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76) (NIOSH бюллетенін қараңыз: азидтердің жарылу қаупі (16.08.1976)).
Азид қосылыстарының ықтимал түзілуін болдырмау үшін сұйылтылмаған реагентті жойғаннан кейін су құбырларын шайыңыз. Натрий азидін жою тиісті жергілікті ережелерге сәйкес жүзеге асырылуы тиіс.

ҚАЖЕТТІ, БІРАҚ ЖИНАҚПЕН БІРГЕ ЖЕТКІЗІЛМЕГЕН МАТЕРИАЛДАР

- Үлгі алу түтіктері және үлгі алу үшін қажетті материал.
- 20, 100 және 500 мкл ерітінділерге арналған бір реттік ұшы бар автоматты тамызғыштар.
- Эритроциттер гемолизіне арналған пластикалық түтіктер.
- Лизистен кейін жуу әдісі пайдаланылатын эритроцит лизисінің реагенті. Мысалы: VersaLyse (Сілт A09777).
- Лейкоцит фиксация реагенті. Мысалы: IOTest 3 бекіту ерітіндісі (A07800 қараңыз).
- Буфер (PBS: 0,01 М натрий фосфаты; 0,145 М натрий хлориді; pH 7,2).
- Центрифугалау
- Автоматты араластырғыш (араластырғыш түрі).
- Ағын цитометрі.

VERSALYSE РЕАГЕНТІ КӨМЕГІМЕН ОРЫНДАЛАТЫН ПРОЦЕДУРА

1. Әр түтікке белгілі бір конъюгацияланған IOTest антиденесінің 20 тиісті мкл көлемін қосыңыз.
2. Әр түтікке сынақ үлгісінің 100 мкл қосыңыз. Түтіктерді абайлап араластырыңыз.
3. Жарықтан қорғалған бөлме температурасында (18–25°C) 15–20 минут инкубациялаңыз.
4. Содан соң қызыл жасушалардың лизисін орындаңыз. VersaLyse (анық. A09777) парақшасын қарап, жоспардан тыс дайындалған 1 мл «Бекіту және еріту» қоспасын қосудан тұратын «ілеспе бекітумен» деп аталатын процедураны орындаңыз. Бір секунд дереу араластырыңыз және жарықтан қорғалған бөлме температурасында 10 минут бойы инкубациялаңыз.
5. 150 x г шамасында 5 минут бойы бөлме температурасында центрифугалаңыз.
6. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастаңыз.
7. 3 мл PBS ерітіндісін пайдаланып, жасуша массасын қайта ерітіңіз.
8. 5-қадамды қайталаңыз.
9. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастап, жасуша массасын төмендегіні қолдану арқылы қайта ерітіңіз:

- Егер препараттар 24 сағаттан аз сақталатын болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне 0,1% формальдегид қосылады. (0,1% формальдегидті PBS ерітіндісі 12,5 мкл IOTest 3 бекіту ерітіндісін (анық. A07800) 10 еселік концентрациясында 1 мл PBS ерітіндісін сұйылту арқылы алуға болады).
- Егер 2 сағат ішінде талдануы керек болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне формальдегид қосылмайды.

Ескертпе: барлық жағдайда препараттарды 2–8°C температурада, күн көзінен алыс жерде сақтау керек.

КҮТІЛЕТІН МӘНДЕР

Біздің зертханаларда 25 тиісті дені сау донорлардан жаңа алынған қан үлгілері жоғарыда сипатталған реагентпен өңделді. Осы реагентпен қызығушылық тудыратын оң оқиғаларды санау үшін алынған нәтижелер төмендегі кестеде келтірілген:

Оңтайлы нысана	Сан	Орташа мән (%)	SD	CV (%)
Моноциттер	25	98,49	1,00	1,02
Гранулоциттер	25	99,98	0,02	0,02

Бұл мәндер тек ұсыну үшін арналған. Әр зертхана қалыпты донорлардың жергілікті популяциясынан күтілетін өзіндік мәндерді белгілеуі керек.

ӨНІМДІЛІК

Өнімділік жөніндегі деректер 24 сағаттық үлгілерді пайдаланып, жоғарыда сипатталған процедура арқылы алынады. Бұл үлгілер алдын ала антикоагулянт ретінде EDTA тұзы арқылы стерильді түтіктерге жиналады. Талдау иммундық бояудан соң 2 сағат ішінде жасалады.

ЕРЕКШЕЛІГІ

CD15 антигені (Льюис x/Lex) лакто-N-(нео) фукопентаозы III молекуласы болып табылады. Бұл көмірсулар эпитопын гликолипидтер де, жасуша мембранасында экспрессияланатын гликопротеидтер де тасымалдайды. CD15 антигені нейтрофилдермен, эозинофилдермен, моноциттермен және қалыпты миелоидты ізашар жасушалармен қатты экспрессияланады. Қалыпты эритроциттерде, тромбоциттерде немесе лимфоциттерде экспрессияланбайды. 80H5 моноклоналды антиденесі метамиелоциттерде, миелоциттерде, промиелоциттерде және белсендірілген макрофагтарда кездесетін ерте миелоидты дифференциация эпитопын таниды. Ол гранулоциттермен де әрекеттеседі. 80H5 моноклоналды антиденесі 1993 жылы USA-тың Бостон қаласында өткен бесінші International Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens («Адам лейкоциттерінің дифференциация антигендері» атты бесінші халықаралық семинар) кезінде CD15 дифференциация кластеріне жатқызылды (10, 11).

ДӘЛДІК

Оң мәндердің пайызы жаңа алынған қанды қолдану арқылы анықталды. Әрбір үлгі CD15-FITC моноклоналды антидене реагентінің 2 топтамасын пайдаланып 2 аспапта 1 күн бойы күніне екі рет 4 рет талданды. Өлшемдер (% оң) Navios ағын цитометрінде жүргізілді. Талдау CLSI EP5-A2 әдісі негізінде жүргізілді: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Сандық өлшеу әдістерінің дәлдік өнімділігін бағалау).

Біздің қабылдау критерийлері әрбір популяция үшін өлшенген оң оқиғалардың санына байланысты:

- Оң оқиға болса <1500, CV <15%
- Оң оқиға болса >1500, CV <10%

Моноциттер							
Оң оқиғалар саны (Орташа мән) = 1056							
	Аралық оператор	Цитометрараралық	Топтама ішілік	Топтама аралық	Жүгіру арасында	Жүгіру ішінде	Жалпы
CV (%)	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,04
НӘТИЖЕЛЕР	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Гранулоциттер							
Оң оқиғалар саны (Орташа мән) = 8446							
	Аралық оператор	Цитометрараралық	Топтама ішілік	Топтама аралық	Жүгіру арасында	Жүгіру ішінде	Жалпы
CV (%)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,03	0,05
НӘТИЖЕЛЕР	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ДҰРЫСТЫҚ

CD15-FITC дұрыстығы Navios ағын цитометрінде өңделген жаңа алынған қан үлгілерінің жинағындағы, предикат ретінде анықтамалық реагентпен нәтижелерді салыстыру арқылы бағаланған. Сынақ пен анықтамалық реагент арасындағы ауытқу, сынақ нәтижелері арасындағы айырмашылық негізінде анықталған. Егер қателік рұқсат етілген қателер ауқымында болса немесе p-мәні айтарлықтай айырмашылықты көрсетпесе (>0,05), онда екі реагенттің сынау нәтижелері баламалы болып саналады.

Алынған нәтижелер келесі кестеде толық көрсетілген:

Донорлар саны = 25				
Оңтайлы нысана	Орташа мән Δ	Δ % Жасуша критерийлері	p-мәні	НӘТИЖЕЛЕР
Моноциттер	-0,21	<5	0,058	PASS
Гранулоциттер	0,00	<5	6,149E-01	PASS

БОС СЫНАМА ШЕГІ ЖӘНЕ АНЫҚТАУ ШЕГІ

Зерттеу CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, клиникалық зертханалық өлшеу процедураларын анықтау мүмкіндігін бағалау) нұсқауына сәйкес жүргізілді. Анықтау шегі (LOD) – бұл рет-ретімен анықтауға болатын аналиттің ең төмен концентрациясы. Алынған нәтижелер келесі кестеде жинақталған:

Positive Target	Бос сынама шегі (жасуша/мкл)	Анықтау шегі (жасуша/мкл)
Моноциттер	1	3
Гранулоциттер	1	3

ШЕКТЕУЛЕР

1. Цитометр дұрыс бапталмаған, флуоресценттенудің ағып кетуі дұрыс өтелмеген және аймақтар мұқият орналастырмаған жағдайда, ағын цитометриясы қате нәтижелер беруі мүмкін.
2. RBC лизис әдісін жуу қадамымен пайдаланған жөн, себебі бұл реагент «жуусыз» лизис әдістері үшін оңтайландырылмаған.

3. Жүргізілген процедуралар техникалық нұсқау брошюрасына сәйкес және тиісті зертханалық тәжірибемен үйлесімді болған жағдайда ғана дұрыс, әрі жаңғыртылуы мүмкін нәтижелерді алуға болады.
4. Осы реагенттің конъюгацияланған антиденесі арнайы сигнал мен арнайы емес сигналдың ең жақсы қатынасын қамтамасыз ететіндей калибрленген. Сондықтан әрбір сынақты жүргізгенде реагент көлемінің үлгі көлеміне қатынасын сақтау маңызды.
5. гиперлейкоцитоз жағдайында шамамен 5 x 10^9 лейкоцит/л (12) мәнін алу үшін PBS ерітіндісінде қанды сұйылтыңыз.
6. Кейбір жіті бүйрек жеткіліксіздігі немесе гемоглобинопатия сияқты аурулар жағдайында, эритроциттер лизисі баяу, толық емес немесе тіпті мүмкін емес болуы мүмкін. Бұл жағдайда бояудан бұрын тығыздық градиентін (мысалы, Ficoll) пайдаланып мононуклеарлы жасушаларды оқшаулап алу ұсынылады (13).
7. 80H5 (CD15) тәрізді Льюис x антигеніне IgM изотипінің моноклоналды антиденелері миеломоноциттік жасушалардың агрегациясын тудыратыны белгілі (14). Мұндай агрегаттар зерттелетін іріктеуден алынып тасталуы мүмкін және CD15 оң жасушалардың дұрыс емес бағалауларын тудыруы мүмкін.
8. Адамға қарсы моноклоналды антиденелер терапиясымен емделген пациенттерде арнайы мақсатты антигендерді анықтау емдік антиденеңің ішінара немесе толық бұғатталуына байланысты төмендеуі немесе болмауы мүмкін.
9. Нәтижелер CD15-FITC пациенттің жалпы клиникалық деректері тұрғысынан түсіндірілуге тиіс, соның ішінде: симптомдар, клиникалық анамнез, қосымша сынақтардың деректері және басқа тиісті ақпарат.

Мысалдар мен анықтамалар алу үшін қосымшаны қараңыз.

САУДА БЕЛГІЛЕРІ

Beckman Coulter, стильденген логотип, сонымен қатар Beckman Coulter өнім мен қызмет көрсету белгілері — бұл АҚШ және басқа елдердегі Beckman Coulter, Inc. сауда белгілері немесе тіркелген сауда белгілері.

ҚОСЫМША АҚПАРАТ

Еуропалық Одақтағы және бірдей реттеу режимі (зертханалық жағдайдағы медициналық диагностикалық құрылғылар туралы 2017/746/ЕО қаулысы) бар елдердегі пациент/пайдаланушы/үшінші тарап үшін; егер осы құрылғыны пайдалану кезінде немесе оны пайдалану нәтижесінде елеулі оқиға орын алса, өндірушіге және/немесе оның уәкілетті өкіліне және ұлттық органыңызға хабарлаңыз.

Қауіпсіздік пен өнімділік бойынша қорытынды мәліметтер EUDAMED дерекқорында қолжетімді: ec.europa.eu/tools/eudamed.

Өзгерту тарихы

Белсенді құрамдас (АС) ҚАЙТА ҚАРАУ:	Шығарылған күні: Қыркүйек 2019

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AW	Ақпан 2022 ж.
Beckman Coulter ғаламдық таңбалау саясатына және IVD-R (ЕО) 2017/746 талаптарына сәйкес жасалған жаңартулар:	
Қосылған бөлімдер	«BSI 2797 нөмірі», «Мақсатты пайдаланушы», «Клиникалық маңызы», «Концентрациясы», «Анықтық», «Дұрыстық», «Бос сынама шегі және анықтау шегі», «Қосымша ақпарат», «Өзгерту тарихы».
Қосылған ақпарат	«Шектеулер» бөлімінен қараңыз
Фразалар және типографиялық жаңартулар	«Процедура», «Өнімділік», «Шектеулер», «Ескерту және сақтық шаралары» «Сақтау және тұрақтылық» бөлімдерін қараңыз.
Жойылған бөлімдер	«Клиникалық қолдану мысалы», «Реагенттер», «Зертханаішілік жаңғыртылу», «Сызықтық»
Жаңартылған бөлімдер	«Пайдалану мақсаты», «GHS қауіптер классификациясы», «Зақымдалу белгілері», «Процедура», «Қосымша».

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AX	Сәуір 2023
Жаңартылған бөлімдер	Қазақ тілін қосу
Жаңартылған бөлімдер	Сақтау және тұрақтылық

Қайта қаралған нұсқасы	AY
Қайта қаралған күні	Мамыр 2024
Жаңартылған аудармалар	**Клиникалық маңызы:**
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Қайта қаралған нұсқасы	AZ
Қайта қаралған күні	Шілде 2024
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Таңбалар пернесі

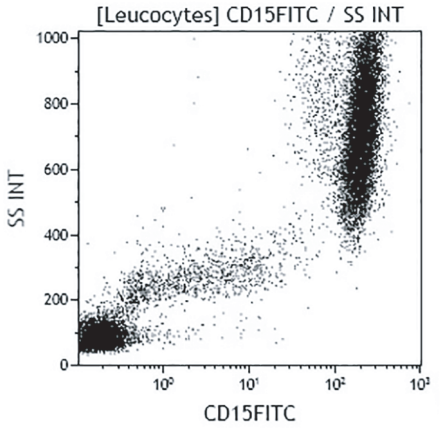
Таңбалар глоссарийі beckman.com/techdocs сайтында (құжат нөмірі: B60062) қолжетімді

APPENDIX

- EXAMPLES

Whole blood samples stained with IOTest CD15-FITC Conjugated Antibody.

Acquisition is performed with a Beckman Coulter Navios flow cytometer equipped with the Navios analysis software.



REFERENCES

1. Xini A, Pistiki A, Lada M, Giamarellos-Bourboulis EJ, Dimopoulos G. "Association of the early absolute CD64-expressing neutrophil count and sepsis outcome.", Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jun.
2. Park SH, You E, Park CJ, Jang S, Cho YU, Yoon CH, Koh KN, Im HJ, Seo JJ. "The Incidence and Immunophenotypic and Genetic Features of JL1 Expressing Cells and the Therapeutic Potential of an Anti-JL1 Antibody in De Novo Pediatric Acute Leukemias." Ann Lab Med. 2019 Jul.
3. F. Lacombe, L. Campos, K. Allou, C. Arnoulet, A. Delabarthe, F. Dumezy, J. Feuillard, F. Geneviève, E. Guérin, J. Guy, H. Jouault, P. Lepelley, M. Maynadié, F. Solly, O. W. Ballon, C. Preudhomme, A. Baruchel, H. Dombret, N. Ifrah, M. C. Béné, Groupe d'Etude Immunologique des Leucémies (GEIL), "Prognostic value of multicenter flow cytometry harmonized assessment of minimal residual disease in acute myeloblastic leukemia." Hematol Oncol. 36, 422–428 (2018).
4. D. R. Sutherland, E. Acton, M. Keeney, B. H. Davis, A. Illingworth, "Use of CD157 in FLAER-based assays for high-sensitivity PNH granulocyte and PNH monocyte detection." Cytometry B Clin Cytom. 86, 44–55 (2014).
5. Kotsakis A, Harasymczuk M, Schilling B, Georgoulias V, Argiris A, Whiteside TL. "Myeloid-derived suppressor cell measurements in fresh and cryopreserved blood samples." J Immunol Methods. 2012 Jul 31.
6. D. Robert Sutherland, Andrea Illingworth, Iuri Marinov, Fernando Ortiz, John Andreasen, Dan Payne, Paul K. Wallace, Michael Keeney. "ICCS/ESCCA Consensus Guidelines to detect GPI-deficient cells in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH) and related Disorders Part 2 – Reagent Selection and Assay Optimization for High-Sensitivity Testing." Cytometry Part B (Clinical Cytometry) February 2018.
7. B. H. Davis, J.T. Holden, M. C. Bene, et al. "2006 Bethesda International Consensus Recommendations on the Flow Cytometric Immunophenotypic Analysis of Hematolymphoid Neoplasia: Medical Indications." Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 72B:S5-S13 (2007).
8. Borowitz MJ, Craig FE, Digiuseppe JA, Illingworth AJ, Rosse W, Sutherland DR, Wittwer CT, Richards SJ; "Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. Clinical Cytometry Society." Cytometry B Clin Cytom. 2010 Jul;78(4):211-30. doi: 10.1002/cyto.b.20525.
9. Larisa Broglie, Irene Helenowski, Lawrence J. Jennings, Kristian Schafernak, Reggie Duerst, Jennifer Schneiderman, William Tse, Morris Kletzel, Sonali Chaudhury. "Comparison of Multiparameter Flow Cytometry Immunophenotypic Analysis and Quantitative RT-PCR for the Detection of Minimal Residual Disease of Core Binding Factor Acute Myeloid Leukemia." American Society for Clinical Pathology, 2016.
10. Ball, E.D., "CD15 cluster workshop report", 1995, Leucocyte Typing V, White Cell Differentiation Antigens. Schlossman, S.F., et al., Eds., Oxford University Press, p. 790-794.
11. Ball, E.D., Persichetti, J., Roscoe, R., Nimgaonkar, M., Winkelstein, A., "Expression of CD15 on CD34+ cells of the bone marrow, peripheral blood, and ombilical cord blood", 1995, Leucocyte Typing V, White Cell Differentiation Antigens. Schlossman, S.F., et al., Eds., Oxford University Press, p. 795-798.
12. H42-A2 Vol.27 No. 16. P30. Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry; Approved Guideline - Second Edition.
13. Ibrahim FF, Ghannam MM, Ali FM., "Effect of dialysis on erythrocyte membrane of chronically hemodialyzed patients"., 2002. Ren Fail., Nov;24(6):779-90.
14. Stöckl, J., Majdic, O., Rosenkranz, A., Fiebiger, E., Kniep, B., Stockinger, H., Knapp, W., "Monoclonal antibodies to the carbohydrate structure Lewis(x) stimulate the adhesive activity of leukocyte integrin CD11b/CD18 (CR3, Mac-1, alpha m beta 2) on human granulocytes", 1993, J Leukoc Biol., 53, 5, 541-549.

IMMUNOTECH SAS 是贝克曼库尔特公司的旗下公司，地址：130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France，电话：+(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda
Alameda Rio Negro, 500, 15 andar, Torre B Alphaville Industrial
CEP 06.454-000 Barueri, São Paulo, Brasil
CNPJ: 42.160.812/0001-44 Telefone: 0800-771-8818

製造販売業者: ベックマン·コールター株式会社
〒135-0063
東京都江東区有明三丁目5 番7号
TOC有明ウエストタワー

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

 IMMUNOTECH SAS A Beckman Coulter Company, 130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France, +(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

BECKMAN COULTER
MADE IN France

CE 2797

IOTest
Conjugated Antibody
Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 tests; 1 mL, 20 µL / test

TABLE OF CONTENTS

English . . . 2
Français (France) (fr-fr) . . . 6
Deutsche (de-de) . . . 10
Italiano (it-it) . . . 15
Español (es-es) . . . 19
Português (Portugal) (pt-pt) . . . 23
Dansk (da-dk) . . . 27
Svenska (sv-se) . . . 31
Norsk (nb-no) . . . 35
Suomi (fi-fi) . . . 39
Ελληνικά (el-gr) . . . 43
日本語 (ja-jp) . . . 48
中文（中国）(zh-cn) . . . 52
Lietuvių (lt-lt) . . . 56
Magyar (hu-hu) . . . 60
Polski (pl-pl) . . . 64
Čeština (cs-cz) . . . 68
Slovák (sk-sk) . . . 72
한국어 (ko-kr) . . . 76
Türkçe (tr-tr) . . . 80
Русский (ru-ru) . . . 84
Eestlane (et-ee) . . . 89
Hrvatski (hr-hr) . . . 93
Български (bg-bg) . . . 97
中文（台灣）(zh-tw) . . . 101
Română (ro-ro) . . . 105
Slovenščina (sl-si) . . . 109
Srpski (sr-rs) . . . 113
Latviešu (lv-lv) . . . 117
Українська (uk-ua) . . . 121
Português (Brasil) (pt-br) . . . 125
Nederlands (nl-nl) . . . 129
Tiếng Việt (vi-vn) . . . 133
Қазақша (kk-kz) . . . 137
APPENDIX . . . 141
REFERENCES . . . 142

© 2024 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

	Specifications
Specificity	TCR γ/δ
Clone	IMMU510
Hybridoma	X63 x balb/c
Immunogen	Soluble γ/δ receptor
Immunoglobulin	IgG1
Species	Mouse
Purification	Affinity chromatography
Fluorochrome	Fluorescein isothiocyanate
Molar ratio	FITC / Ig: 4 - 6.5
λ excitation	488 nm
Emission Peak	525 nm
Buffer	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA and 0.1% NaN_3

IOTest
Conjugated Antibody
Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 tests; 1 mL, 20 µL / test

For *in vitro* diagnostic use.

INTENDED USE

This fluorochrome-conjugated antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the TCR γ/δ antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

PRINCIPLE

This test is based on the ability of specific monoclonal antibodies to bind to the antigenic determinants expressed by leucocytes.

Specific staining of the leucocytes is performed by incubating the sample with the IOTest reagent. The red cells are then removed by lysis and the leucocytes, which are unaffected by this process, are analyzed by flow cytometry.

The flow cytometer measures light diffusion and the fluorescence of cells. It makes possible the delimitation of the population of interest within the electronic window defined on a histogram, which correlates the orthogonal diffusion of light (Side Scatter or SS) and the diffusion of narrow-angle light (Forward Scatter or FS). Other histograms combining two of the different parameters available on the cytometer can be used as supports in the gating stage depending on the application chosen by the user.

The fluorescence of the delimited cells is analyzed in order to distinguish the positively-stained events from the unstained ones. The results are expressed as a percentage of positive events in relation to all the events acquired by the gating.

INTENDED USER

This product is intended for laboratory professional use.

CLINICAL RELEVANCE

The Anti-TCR PAN γ/δ-FITC is a Anti-TCR PAN γ/δ antibody used to identify and characterize cells expressing the TCR γ/δ antigen by flow cytometry. This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.

When used in combination with other markers, this product can be used in one or more of the following functions:

- To aid in the differential diagnosis of hematologically abnormal patients suspected of having hematopoietic neoplasm and to monitor patients with known hematopoietic neoplasm.
- To monitor patients with known autoimmune disease or disorder.

See following references :

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

SAMPLES

Venous blood must be taken using sterile tubes containing an EDTA salt as the anticoagulant.

The samples should be kept at room temperature (18 – 25°C) and not shaken. The samples should be homogenized by gentle agitation prior to taking the test sample.

The samples must be analyzed within 24 hours of venipuncture.

CONCENTRATION

See lot specific Certificate of Analysis at www.beckman.com.

WARNING AND PRECAUTIONS

1. Do not use the reagent beyond the expiry date.
2. Do not freeze.
3. Let it come to room temperature (18 – 25°C) before use.
4. Minimize exposure to light.
5. Avoid microbial contamination of the reagents, or false results may occur.

6. Antibody solutions containing sodium azide (NaN_3) should be handled with care. Do not take internally and avoid all contact with the skin, mucosa and eyes.

   Moreover, in an acid medium, sodium azide can form the potentially dangerous hydrazoic acid. If it needs to be disposed of, it is recommended that the reagent be diluted in a large volume of water before pouring it into the drainage system so as to avoid the accumulation of sodium azide in metal pipes and to prevent the risk of explosion.
7. All blood samples must be considered as potentially infectious and must be handled with care (in particular: the wearing of protective gloves, gowns and goggles).
8. Never pipet by mouth, and avoid all contact of the samples with the skin, mucosa and eyes.
9. Blood tubes and disposable material used for handling should be disposed of in ad hoc containers intended for incineration.
10. Reagents and waste should be eliminated according to local requirements.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

SDS Safety Data Sheet is available at beckmancoulter.com/techdocs

STORAGE AND STABILITY

This reagent must be kept at between 2 and 8°C and protected from light, before and after the vial has been opened.

Closed vial shelf life per stability study: 1095 days.

Stability of opened vial: the reagent is stable for 180 days.

EVIDENCE OF DETERIORATION

Any change in the physical appearance of the reagents may indicate deterioration and the reagent should not be used.

For additional information, or if damaged product is received, call Beckman Coulter Customer Service at 800-742-2345 (USA or Canada) or contact your local Beckman Coulter Representative.

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).
To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

MATERIALS NEEDED BUT NOT SUPPLIED WITH KIT:

- Sampling tubes and material necessary for sampling.
- Automatic pipettes with disposable tips for 20, 100 and 500 µL.
- Plastic haemolysis tubes.
- Red cell lysis reagent with washing stage after lysis. For example: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leucocyte fixation reagent. For example : IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800).
- Isotype control FITC : IOTest reagent (Ref. A07795).
- Buffer (PBS: 0.01 M sodium phosphate; 0.145 M sodium chloride; pH 7.2).
- Centrifuge.
- Automatic agitator (Vortex type).
- Flow cytometer.

PROCEDURE WITH VERSALYSE REAGENT

For each sample analyzed, in addition to the test tube, one control tube can be added in which the cells are mixed in the presence of the isotype control (Ref. A07795).

1. Add 20 µL of specific IOTest conjugated antibody to each test tube and if necessary, 20 µL of the isotype control to each control tube.
2. Add 100 µL of the test sample to each tube. Vortex the tubes gently.
3. Incubate for 15 to 20 minutes at room temperature (18 – 25°C), protected from light.
4. Then perform lysis of the red cells. Refer to VersaLyse (Ref. A09777) leaflet and follow preferably the procedure called “with concomitant fixation”, which consists of adding 1 mL of the “Fix-and-Lyse” mixture prepared extemporaneously. Vortex immediately for one second and incubate for 10 minutes at room temperature, protected from light.
5. Centrifuge for 5 minutes at 150 x g at room temperature.
6. Remove the supernatant by aspiration.
7. Resuspend the cell pellet using 3 mL of PBS.
8. Repeat step 5.
9. Remove the supernatant by aspiration and resuspend the cell pellet using:

- 0.5 mL or 1 mL of PBS plus 0.1% of formaldehyde if the preparations are to be kept less than 24 hours. (A 0.1% formaldehyde PBS can be obtained by diluting 12.5 µL of the IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800) at its 10X concentration in 1 mL of PBS).
- 0.5 mL or 1 mL of PBS without formaldehyde, if the preparations are to be analyzed within 2 hours.

Note: In all cases, keep the preparations between 2 and 8°C and protected from light.

EXPECTED VALUES

In our laboratories, the whole blood samples of 25 apparently healthy donors were treated using the reagent described above and a gating reagent. The results obtained for the count of the positive events of interest with this reagent are given in the table below :

Positive Target	Number	Mean (%)	SD	CV (%)
Lymphocytes CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5.43	3.40	62.54

These values are intended to be representative only. Each laboratory should establish its own expected values from the local population of normal donors.

PERFORMANCE

Performance data are obtained using the procedure described above and a gating reagent on less than 24 hour-old blood samples previously collected in sterile tubes with EDTA salt as anticoagulant. Analysis is performed within 2 hours following immunostaining.

SPECIFICITY

The TCR is a molecular complexe wich comprises two units: a recognition unit, composed of either alpha-beta or gamma delta heterodimer, which are present on the cell surface in a mutually exclusive manner, and, a transducing unit, the CD3 complex, common to alpha-beta and gamma-delta heterodimers, which triggers the T cell when the recognition unit is occupied by the antigen. The recognition unit recognizes foreign antigens and the diversity necessary for this function of recognition is generated by somatic recombination of the TCR genes (11, 12, 13).

There are four TCR gene loci (alpha, beta, gamma and delta). Each of them is composed of several V (variable) segments, coding for about 90 amino acids, very short D (diversity) segments (α and delta loci only), and short J (joining) segments (about 15 amino acids), and one or two C (constant) segments (14, 15). Most of T cells express the alpha/beta TCR (T cell receptor) protein and a small population of T cells expresses the gamma/delta TCR, which usually has a double negative (CD4/CD8) phenotype.

Gamma/delta T-cells are normally the first line of defence at epidermal and epithelial surfaces and they represent 10-12% of lymphocytes in the spleen (16). IMMU 510 recognizes all the gamma/delta T cells regardless the variable genes or junction regions they express as assessed by flow immunofluorescence studies on polyclonal gamma/delta T-cell lines as well as gamma/delta T-cell clones (17, 18, 19, 20, 21).

PRECISION

The percent positive values were determined using Whole Blood. Each sample was run 4 times, twice a day for 1 day on 2 instruments using 2 lots of Anti-TCR PAN γ/δ-FITC Monoclonal Antibody Reagents. Measurements (% positive) were made on Navios flow cytometer. Analysis was conducted based on the CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.

Our acceptance criteria is dependent on the number of positive events measured for each population:

- If positive event <1500, CV <15%
- If positive event >1500, CV <10%

Lymphocytes CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Number of positive events (Mean) = 961							
	Inter-Operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-run	Intra-run	Total
CV (%)	1.02	0.99	2.92	0.78	1.00	2.55	3.18
RESULTS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURACY

The accuracy of Anti-TCR PAN γ/δ-FITC was assessed by comparing the results with a reference reagent as the predicate on a set of whole blood samples run on a Navios flow cytometer. The bias between test and reference reagent was determined based on the difference between test results. If the bias is within the allowable error range or the p-value indicates no significant difference (> 0.05), then test results for the two reagents are considered as equivalent.

The results obtained are summarized in the following table below:

Number of donors = 25				
Positive Target	Mean Δ	Δ % Cell criteria	p-value	RESULTS
Lymphocytes CD3+ TCR PAN γ/δ+	0.082	<3	0.038	PASS

LIMIT OF BLANK AND LIMIT OF DETECTION

A study was conducted in accordance with CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures. The Limit of Detection (LOD) is the lowest concentration of analyte that can be consistently detected. Results obtained are summarized in the following table:

Positive Target	Limit of Blank (cell/µL)	Limit of Detection (cell/µL)
Lymphocytes CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

LIMITATIONS

1. Flow cytometry may produce false results if the cytometer has not been aligned perfectly, if fluorescence leaks have not been correctly compensated for and if the regions have not been carefully positioned.
2. It is preferable to use a RBC lysis technique with a washing step, as this reagent has not been optimized for "no wash" lysis techniques.
3. Accurate and reproducible results will be obtained as long as the procedures used are in accordance with the technical insert leaflet and compatible with good laboratory practices.
4. The conjugated antibody of this reagent is calibrated so as to offer the best specific signal/non-specific signal ratio. Therefore, it is important to adhere to the reagent volume/sample volume ratio in every test.
5. In the case of a hyperleucocytosis, dilute the blood in PBS so as to obtain a value of approximately 5 x 10^9 leucocytes/L (22).

6. In certain disease states, such as severe renal failure or haemoglobinopathies, lysis of red cells may be slow, incomplete or even impossible. In this case, it is recommended to isolate mononucleated cells using a density gradient (Ficoll, for example) prior to staining (23).
7. In patients treated with anti-human monoclonal antibody therapies, detection of the specific targeted antigens may be diminished or absent due to partial or complete blocking by the therapeutic antibody.
8. The Anti-TCR PAN γ/δ-FITC results should be interpreted in light of the total clinical presentation of the patient, including: symptoms, clinical history, data from additional tests, and other appropriate information.

See the Appendix for examples and references.

TRADEMARKS

Beckman Coulter, the stylized logo, and the Beckman Coulter product and service marks mentioned herein are trademarks or registered trademarks of Beckman Coulter, Inc. in the United States and other countries.

ADDITIONAL INFORMATION

For a patient/user/third party in the European Union and in countries with identical regulatory regime (Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices); if, during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorized representative and to your national authority.

The Summary of Safety and Performance is available from the EUDAMED database: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISION HISTORY

REVISION AE:	Release date : October 2019

REVISION	**Release Date**
AW	May 2022
Updates to comply with the Beckman Coulter Global labelling Policy and according to IVD-R (EU)2017/746 requirements:	
Added sections	BSI 2797 Number, Intended User, Clinical Relevance, Concentration, Precision, Accuracy, Limit of blank and limit of detection, Additional Information, Revision History.
Added information	See sections Limitations
Phrasing or typographic updates	See sections Procedure, Performance, Limitations, Warning and Precautions, Storage and Stability.
Removed sections	Example of clinical applications, Reagents, Intra-laboratory reproducibilty, Linearity
Updated sections	Intended Use, GHS Hazard Classification, Evidence of deterioration, Procedure, Appendix.

REVISION	**Release Date**
AX	March 2023
Updated sections	Add Kazakh
Updated sections	Storage and stability

Revised Version	AY
Revised Date	May 2024
Updated Translations	**Clinical relevance :**
Updated sections	Revision History

Revised Version	AZ
Revised Date	July 2024
Updated sections	Revision History

Symbols Key

Glossary of Symbols is available at beckman.com/techdocs (document number B60062)

	Spécifications
Spécificité	TCR γ/δ
Clone	IMMU510
Hybridome	X63 x balb/c
Immunogène	Soluble γ/δ receptor
Immunoglobuline	IgG1
Espèce	Souris
Purification	Chromatographie d'affinité
Fluorochrome	Fluorescein isothiocyanate
Rapport molaire	FITC/Ig : 4 - 6,5
Excitation λ	488 nm
Pic d'émission	525 nm
Solution tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA et 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticorps conjugué Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 tests ; 1 mL, 20 µL/test

Pour un usage diagnostique *in vitro.*

UTILISATION

Cet anticorps conjugué-fluorochrome permet l'identification qualitative non automatisée des populations de cellules exprimant l'antigène TCR γ/δ présent dans les échantillons biologiques humains à l'aide d'une cytométrie en flux (voir la section « Échantillons » ci-dessous).

PRINCIPE

Ce test est fondé sur la capacité d'anticorps monoclonaux spécifiques de se lier à des déterminants antigéniques exprimés par les leucocytes.

Une coloration spécifique des leucocytes est effectuée en incubant l'échantillon avec le réactif IOTest. Les globules rouges sont ensuite supprimés par lyses et les leucocytes, qui ne sont pas affectés par cette procédure, sont analysés par cytométrie en flux.

Le cytomètre en flux mesure la diffusion de la lumière et la fluorescence des cellules. Il rend possible la délimitation de la population d'intérêt au sein de la fenêtre électronique définie sur un histogramme, qui met en corrélation la diffusion orthogonale de la lumière (diffusion latérale ou SS) et la diffusion de la lumière en angle étroit (dispersion avant ou FS). D'autres histogrammes combinant deux des différents paramètres disponibles sur le cytomètre peuvent être utilisés comme supports dans la phase de gating en fonction de l'application choisie par l'utilisateur.

La fluorescence des cellules délimitées est analysée de manière à distinguer les événements colorés positifs de ceux qui ne le sont pas. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'événements positifs par rapport à tous les événements acquis grâce à la méthode de gating.

UTILISATEUR PRÉVU

Ce produit est destiné à un usage professionnel en laboratoire.

PERTINENCE CLINIQUE

Le Anti-TCR PAN γ/δ-FITC est un mélange d'anticorps Anti-TCR PAN γ/δ utilisés pour identifier et caractériser les cellules exprimant l'antigène TCR γ/δ par cytométrie en flux. Ce produit seul ne peut pas et n'est pas destiné à produire une conclusion diagnostique.

Lorsqu'il est utilisé conjointement avec d'autres marqueurs, ce produit peut être utilisé pour l'une ou plusieurs des fonctions suivantes :

- Aider au diagnostic différentiel des patients ayant une hématologie anormale et suspectés d'être atteints d'un néoplasme hématopoïétique et surveiller les patients atteints d'un néoplasme hématopoïétique connu.
- Surveiller les patients atteints d'un trouble ou d'une maladie auto-immune connu.

Voir les références suivantes :

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ÉCHANTILLONS

Le sang veineux doit être prélevé avec des tubes stériles contenant un sel EDTA comme anticoagulant.

Les échantillons doivent être conservés à température ambiante (18–25 °C) et ne doivent pas être agités. Les échantillons doivent être homogénéisés par agitation douce avant de prélever l'échantillon de test.

Les échantillons doivent être analysés dans les 24 heures qui suivent la ponction veineuse.

CONCENTRATION

Voir le certificat d'analyse du lot spécifique sur www.beckman.com.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Ne pas utiliser le réactif au-delà de la date de péremption.
2. Ne pas congeler.
3. Laisser le réactif passer à la température ambiante (18–25 °C) avant de l'utiliser.
4. Minimiser l'exposition à la lumière.
5. Éviter la contamination microbienne des réactifs, ou des résultats erronés peuvent se produire.
6. Les solutions d'anticorps contenant de l'azide de sodium (NaN_3) doivent être manipulées avec précautions. Ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau, les muqueuses et les yeux.

En outre, dans un milieu acide, l'azide de sodium peut former le potentiellement dangereux acide hydrazoïque. S'il doit être éliminé, il est recommandé de diluer le réactif dans un grand volume d'eau avant de le verser dans le système de drainage afin d'éviter l'accumulation d'azide de sodium dans les tubes métalliques et de prévenir le risque d'explosion.

7. Tous les échantillons de sang doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés avec soin (en particulier : port de gants, de blouses et de lunettes de protection).
8. Ne jamais pipetter avec la bouche et éviter tout contact des échantillons avec la peau, les muqueuses et les yeux.
9. Les tubes de prélèvement sanguin et les matériaux jetables utilisés pour la manipulation doivent être éliminés dans des conteneurs appropriés prévus pour incinération.
10. Les réactifs et les déchets doivent être éliminés conformément aux exigences locales.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux

SDS La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVATION ET STABILITÉ

Ce réactif doit être conservé entre 2 et 8 °C, à l'abri de la lumière, avant et après l'ouverture du flacon.

Durée de conservation du flacon fermé selon l'étude de stabilité : 1095 jours.

Stabilité du flacon ouvert : le réactif est stable pendant 180 jours.

PREUVE DE DÉTÉRIORATION

Tout changement de l'apparence physique des réactifs peut indiquer une détérioration et le réactif ne doit pas être utilisé.

Pour plus de renseignements ou si un produit défectueux est livré, appeler le service client de Beckman Coulter au 800-742-2345 (USA ou Canada), ou votre représentant de Beckman Coulter local.

CONTENU

Les agents de conservation à base d'azide de sodium peuvent former des composés explosifs dans les conduites d'évacuation métalliques. Voir le bulletin NIOSH : Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Dangers d'explosion de l'azide).
Pour éviter l'accumulation potentielle des composés d'azide, rincer les tuyaux d'évacuation à l'eau après l'élimination de réactifs non dilués. L'élimination de l'azide de sodium doit se faire conformément aux réglementations locales en vigueur.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI AVEC CE COFFRET:

- Les tubes d'échantillonnage et le matériel nécessaires pour l'échantillonnage.
- Pipettes automatiques aux embouts jetables pour 20, 100 et 500 µL.
- Tubes d'hémolyse en plastique.
- Réactif de lyse des érythrocytes avec étape de lavage post-lyse. Par exemple : VersaLyse (Réf. A09777).
- Réactif de fixation de leucocyte. Par exemple : Solution fixative IOTest 3 (Réf. A07800).
- Contrôle d'isotype FITC : Réactif IOTest (Réf. A07795).
- Tampon (PBS : 0,01 M phosphate de sodium ; 0,145 M chlorure de sodium ; pH 7,2).
- Centrifugeuse.
- Agitateur automatique (type vortex).
- Cytomètre en flux.

PROCÉDURE AVEC RÉACTIF VERSALYSE

Pour chaque échantillon analysé, en plus du tube de test, un tube de contrôle peut être ajouté dans lequel les cellules sont mélangées en présence du contrôle isotypique (Réf. A07795).

1. Ajouter 20 µL d'anticorps conjugué spécifique IOTest à chaque tube de test et si nécessaire,20 µL de contrôle isotypique dans chaque tube de contrôle.
2. Ajouter 100 µL de l'échantillon à tester dans chaque tube. Vortexer doucement les tubes.
3. Incuber pendant 15 à 20 minutes à température ambiante (18–25 °C), à l'abri de la lumière.
4. Puis effectuer la lyse des globules rouges. Consulter la notice VersaLyse (Réf. A09777) et suivre de préférence la procédure appelée « with concomitant fixation » (avec fixation concomitante), qui consiste à ajouter 1 mL du mélange « Fixer et Lyser » préparé à n'importe quel moment. Vortexer immédiatement pendant une seconde et incuber pendant 10 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière.
5. Centrifuger pendant 5 minutes à 150 x g à température ambiante.
6. Retirer le surnageant par aspiration.
7. Remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant 3 mL de PBS.
8. Répéter l'étape 5.
9. Éliminer le liquide surnageant par aspiration et remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant :

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS plus 0,1 % de formaldéhyde si les préparations doivent être conservées moins de 24 heures. (Un PBS à 0,1 % de formaldéhyde peut être obtenu en diluant 12,5 µL de solution de fixation IOTest 3 (Réf. A07800) à 10 fois sa concentration dans 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sans formaldéhyde, si les préparations doivent être analysées dans les 2 heures.

Remarque : dans tous les cas, conserver les préparations entre 2 et 8 °C et à l'abri de la lumière.

VALEURS ATTENDUES

Dans nos laboratoires, les échantillons de sang total de 25 donneurs apparemment sains ont été traités à l'aide du réactif décrit ci-dessus et d'un réactif de gating. Les résultats obtenus pour le compte des évènements positifs d'intérêt pour ce réactif sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Cible positive	Nombre	Moyenne (%)	ET (Écart type)	CV (%)
Lymphocytes CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Ces valeurs sont censées être uniquement représentatives. Chaque laboratoire doit établir ses valeurs attendues à partir d'une population locale de donneurs normaux.

PERFORMANCE

Les données de performance sont obtenues à l'aide de la procédure décrite ci-dessus et d'un réactif de gating sur des échantillons de sang de moins de 24 heures préalablement collectés dans des tubes stériles contenant du sel EDTA comme anticoagulant. L'analyse est effectuée dans les 2 heures suivant l'immunocoloration.

SPÉCIFICITÉ

Le TCR est un complexe moléculaire comprenant deux unités : une unité de reconnaissance, composée soit de l'hétérodimère alpha/bêta soit de l'hétérodimère gamma/delta présents à la surface cellulaire de manière mutuellement exclusive et une unité de transduction, le complexe CD3 commun aux hétérodimères alpha/bêta et gamma/delta, qui déclenche les cellules T lorsque l'unité de reconnaissance est occupée par l'antigène. L'unité de reconnaissance reconnaît les anticorps étrangers et la diversité nécessaire pour cette fonction de reconnaissance est générée par la recombinaison somatique des gènes TCR (11, 12, 13).

Il y a quatre loci génétiques TCR (alpha, bêta, gamma and delta). Chacun est composé de plusieurs segments V (variables), codant pour environ 90 acides aminés, de segments très courts D (diversité) (uniquement sur les loci α et delta), de segments courts J (jonction) (environ 15 acides aminés), et un ou deux segments C (constants) (14, 15). La plupart des cellules T expriment la protéine du TCR (récepteur de la cellule T) alpha/bêta et une petite population de cellules T exprime le TCR gamma/delta, qui a généralement un phénotype négatif double (CD4/CD8).

Les cellules T gamma/delta sont normalement la première ligne de défense au niveau des surfaces épidermiques et épithéliales et elles représentent 10 à 12 % des lymphocytes dans la rate (16). Des études d'immunofluorescence en flux sur des lignées de cellules T gamma/delta polyclonales et des clones de cellules T gamma/delta montrent que l'IMMU 510 reconnaît toutes les cellules T gamma/delta quels que soient les gènes variables et les régions de jonction qu'elles expriment (17, 18, 19, 20, 21).

PRÉCISION

Le pourcentage de valeurs positives a été déterminé à l'aide du sang total. Chaque échantillon a été analysé 4 fois, deux fois par jour pendant 1 jour sur 2 instruments utilisant 2 lots de réactifs d'anticorps monoclonaux Anti-TCR PAN γ/δ-FITC. Les mesures (% positif) ont été effectuées sur un cytomètre en flux Navios. L'analyse a été effectuée avec la méthode CLSI EP5-A2 : Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Évaluation des performances de précision des méthodes de mesure quantitative).

Notre critère d'acceptation est dépendant du nombre d'événements positifs mesurés pour chaque population :

- Si événement positif < 1 500, CV < 15 %
- Si événement positif > 1 500, CV < 10 %

Lymphocytes CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Nombre d'événements positifs (Moyenne) = 961							
	Inter-opérateur	Inter-cytomètre	Intra-lot	Inter-lot	Inter-analyse	Intra-analyse	Total
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
RÉSULTATS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUDE

La précision de Anti-TCR PAN γ/δ-FITC a été évaluée en comparant les résultats avec un réactif de référence comme prédicat sur un ensemble d'échantillons de sang total analysés sur un cytomètre en flux Navios. Le biais entre le réactif de test et le réactif de référence a été déterminé en fonction de la différence entre les résultats du test. Si le biais se trouve dans la plage d'erreurs permise ou si la valeur p n'indique aucune différence significative (> 0,05), les résultats des tests pour les deux réactifs sont considérés comme équivalents.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Nombre de donneurs = 25				
Cible positive	Moyenne Δ	Critères de cellules Δ %	Valeur-p	RÉSULTATS
Lymphocytes CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

LIMITE DU BLANC ET LIMITE DE DÉTECTION

Une étude a été conduite conformément au document CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Évaluation des capacités de détection des procédures de mesures biologiques cliniques). La limite de détection (LOD) est la concentration la plus basse d'analyte qui peut être systématiquement détectée. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Positive Target	Limite du blanc (cellules/µL)	Limite de détection (cellules/µL)
Lymphocytes CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

LIMITES

1. La cytométrie en flux peut produire des résultats erronés si le cytomètre n'a pas été parfaitement aligné, si les fuites de fluorescence n'ont pas été correctement compensées et si les régions n'ont pas été soigneusement positionnées.

2. Il est préférable d'utiliser une technique de lyse des GR comprenant une étape de lavage, comme ce réactif n'a pas été optimisé pour les techniques de lyse « sans lavage ».
3. Des résultats précis et reproductibles seront obtenus tant que les procédures utilisées sont en conformité avec la notice technique et compatibles avec les bonnes pratiques de laboratoire.
4. L'anticorps conjugué de ce réactif est étalonné de manière à offrir le meilleur ratio de signal spécifique/signal non spécifique. Par conséquent, il est important de respecter le ratio de volume de réactif/volume d'échantillon à chaque test.
5. En cas d'hyperleucocytose, diluer le sang dans du PBS de façon à obtenir une valeur d'approximativement 5 x 10^9 leucocytes/L (22).
6. Dans certains états pathologiques, tels qu'une grave insuffisance rénale ou une hémoglobinopathie, la lyse des globules rouges peut être lente, incomplète ou même impossible. Dans ce cas, il est recommandé d'isoler les cellules mononucléées à l'aide d'un gradient de densité (Ficoll, par exemple) avant la coloration (23).
7. Chez les patients traités par thérapie d'anticorps monoclonal anti-humain, la détection d'antigènes ciblés spécifiques peut être diminuée ou absente en raison d'un blocage partiel ou total par l'anticorps thérapeutique.
8. Les résultats de Anti-TCR PAN γ/δ-FITC doivent être interprétés à la lumière du tableau clinique complet du patient, y compris : les symptômes, l'anamnèse, les résultats de tests supplémentaires et toute autre information appropriée.

Voir l'annexe pour des exemples et des références.

MARQUES

Beckman Coulter, le logo stylisé et les marques des produits et des services Beckman Coulter mentionnées ici sont des marques ou des marques déposées de Beckman Coulter, Inc. aux États-Unis et dans d'autres pays.

INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES

Pour un patient/utilisateur/tiers de l'Union européenne et des pays ayant le même régime réglementaire (Règlement 2017/746/UE relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro) ; si, lors de l'utilisation de ce dispositif ou suite à son utilisation, un incident important se produit, veuillez le rapporter au fabricant et/ou à son représentant autorisé et à l'autorité nationale de votre pays.

Le Summary of Safety and Performance (Résumé de sécurité et de performance) est disponible sur la base de données EUDAMED : ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

RÉVISION AE :	Date de publication : octobre 2019

RÉVISION	**Date de publication**
AW	Mai 2022
Mises à jour pour se conformer aux exigences de la politique d'étiquetage générale de Beckman Coulter et aux exigences IVD-R (UE)2017/746 :	
Ajout de sections	Numéro BSI 2797, Utilisateur prévu, Pertinence clinique, Concentration, Exactitude, Précision, Limite du blanc et limite de détection, Informations supplémentaires, Historique de révisions.
Ajout d'informations	Voir les sections Limites
Mises à jour typographiques et de formulations	Voir les sections Procédure, Performance, Limites, Avertissement et précautions, Conservation et stabilité.
Suppression de sections	Exemple d'applications cliniques, réactifs, reproductibilité intra-laboratoire, linéarité
Sections mises à jour	Utilisation, Classification des risques SGH, Preuve de détérioration, Procédure, Annexe.

RÉVISION	**Date de publication**
AX	Mars 2023
Sections mises à jour	Ajouter le kazakh
Sections mises à jour	Conservation et stabilité

Version révisée	AY
Date de révision	Mai 2024
Traductions mises à jour	**Pertinence clinique :**
Sections mises à jour	Historique des révisions

Version révisée	AZ
Date de révision	Juillet 2024
Sections mises à jour	Historique des révisions

Légende des symboles

Un glossaire des symboles est disponible sur beckmancoulter.com/techdocs (document numéro B60062)

	Spezifikationen
Spezifität	TCR γ/δ
Klon	IMMU510
Hybridom	X63 x balb/c
Immunogen	Soluble γ/δ receptor
Immunglobulin	IgG1
Spezies	Maus
Aufreinigung	Affinitätschromatographie
Fluorochrom	Fluorescein isothiocyanate
Molverhältnis	FITC/Ig: 4 - 6,5
λ-Anregung	488 nm
Emissionspeak	525 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA und 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugierter Antikörper Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 Tests; 1 mL, 20 µL/Test

***In-vitro*-Diagnostikum.**

VERWENDUNGSZWECK

Dieser mit einem Fluorochrom konjugierte Antikörper ermöglicht mithilfe der Durchflusszytometrie eine qualitative und nicht automatisierte Identifikation von Zellpopulationen, die das TCR γ/δ-Antigen exprimieren, das in biologischen Proben menschlicher Herkunft vorhanden ist (siehe den Abschnitt „Proben“ unten).

PRINZIP

Dieser Test basiert auf der Fähigkeit bestimmter monoklonaler Antikörper, an die durch Leukozyten exprimierten antigenen Determinanten zu binden.

Die spezifische Färbung der Leukozyten erfolgt durch Inkubation der Probe mit dem IOTest-Reagenz. Die Erythrozyten können dann mittels Lyse entfernt werden. Die von diesem Vorgang unberührten Leukozyten werden mittels Durchflusszytometrie analysiert.

Das Durchflusszytometer misst die Lichtstreuung und die Fluoreszenz der Zellen. Es ermöglicht die Abgrenzung der gewünschten Population innerhalb des auf einem Histogramm definierten elektronischen Fensters, welches die orthogonale Lichtstreuung (Seitwärtsstreuung, SW) und die Streuung des Lichts im flachen Winkel (Vorwärtsstreuung, VW) in Beziehung zueinander setzt. Andere Histogramme, die zwei der auf dem Zytometer verfügbaren Parameter kombinieren, können zur Unterstützung beim Gating eingesetzt werden, je nachdem welche Anwendung der Benutzer ausgewählt hat.

Die Fluoreszenz der einzelnen Zellen wird analysiert, um die positiv angefärbten Ereignisse von den nicht angefärbten zu unterscheiden. Die Ergebnisse werden als Prozentsatz positiver Ereignisse relativ zu allen durch das Gating erfassten Ereignissen angegeben.

VORGESEHENER BENUTZER

Dieses Produkt ist für den Einsatz durch Laborfachkräfte vorgesehen.

KLINISCHE RELEVANZ

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC ist ein Anti-TCR PAN γ/δ-Antikörper zur durchflusszytometrischen Identifikation und Charakterisierung von Zellen, die das TCR γ/δ-Antigen exprimieren. Es ist weder möglich noch vorgesehen, alleine anhand dieses Produkts zu einer diagnostischen Schlussfolgerung zu kommen.

Bei Verwendung in Verbindung mit anderen Markern kann dieses Produkt für einen oder mehrere der folgenden Zwecke eingesetzt werden:

- Als Hilfsmittel zur Differenzialdiagnose von hämatologisch anormalen Patienten mit Verdacht auf ein hämatopoetisches Neoplasma und zur Überwachung von Patienten mit bestätigtem hämatopoetischem Neoplasma.
- Zur Überwachung von Patienten mit bestätigter Autoimmunerkrankung oder -störung.

Siehe die nachstehenden Literaturhinweise:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROBEN

Venöses Blut muss mit sterilen Röhrchen entnommen werden, die ein EDTA-Salz als Antikoagulanz enthalten.

Die Proben bei Raumtemperatur (18–25 °C) aufbewahren und nicht schütteln. Die Proben vor Entnahme der Testprobe durch vorsichtiges Schütteln homogenisieren.

Die Proben müssen innerhalb von 24 Stunden analysiert werden.

KONZENTRATION

Siehe das chargenspezifische Analysezertifikat unter www.beckman.com.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Das Reagenz nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden.
2. Nicht einfrieren.
3. Vor der Verwendung auf Raumtemperatur (18–25 °C) bringen.
4. Vor Licht schützen.
5. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien muss vermieden werden, damit kein falsches Ergebnis erzielt wird.

6. Antikörperlösungen, die Natriumazid (NaN_3) enthalten, vorsichtig handhaben. Nicht einnehmen und Berührungen mit Haut, Schleimhäuten und Augen vermeiden.

   Zudem kann Natriumazid in einem sauren Medium zur Bildung potenziell gefährlicher Stickstoffwasserstoffsäure führen. Zur Entsorgung des Reagenzes wird empfohlen, das Reagenz mit viel Wasser zu verdünnen, bevor es in das Abwassersystem gegossen wird, um einer Ansammlung von Natriumazid in den Metallrohren und dem Risiko einer Explosion vorzubeugen.
7. Blutproben sind als potenziell infektiös zu betrachten und müssen mit Vorsicht gehandhabt werden (insbesondere durch Tragen von Schutzhandschuhen, -kittel und -brille).
8. Niemals mit dem Mund pipettieren und jeglichen Kontakt der Proben mit Haut, Schleimhaut und Augen vermeiden.
9. Blutröhrchen und Einwegmaterial, das zur Handhabung verwendet wird, müssen in dafür vorgesehenen, für die Verbrennung bestimmten Behältern entsorgt werden.
10. Reagenzien und Abfälle sind entsprechend den örtlichen Anforderungen zu entsorgen.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft

SDS Das Sicherheitsdatenblatt ist auf beckmancoulter.com/techdocs verfügbar.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Dieses Reagenz muss vor und nach dem Öffnen des Fläschchens lichtgeschützt zwischen 2 und 8 °C gelagert werden.

Haltbarkeit der geschlossenen Durchstechflasche gemäß Stabilitätsstudie: 1095 Tage.

Stabilität geöffneter Fläschchen: Das Reagenz ist 180 Tage lang stabil.

VERFALLSANZEICHEN

Ein verändertes Aussehen der Reagenzien kann ein Verfallsanzeichen sein. Entsprechende Reagenzien dürfen nicht verwendet werden.

Wenn Sie weitere Informationen wünschen oder falls das Produkt beschädigt bei Ihnen eintrifft, setzen Sie sich (innerhalb der USA und Kanada) unter der Rufnummer 800-742-2345 mit dem Kundendienst von Beckman Coulter bzw. außerhalb dieser Länder mit dem für Sie zuständigen Beckman Coulter-Mitarbeiter in Verbindung.

INHALT

Natriumazid als Konservierungsmittel kann in metallischen Abflussleitungen explosive Verbindungen bilden. Siehe NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (NIOSH-Bulletin: Gefahr durch explosive Azide).
Um eine mögliche Akkumulation von Azidverbindungen zu vermeiden, die Abwasserrohre nach der Entsorgung von unverdünntem Reagenz mit Wasser spülen. Natriumazid muss entsprechend den örtlichen behördlichen Vorschriften entsorgt werden.

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT IM KIT ENTHALTENE ARTIKEL:

- Probenahmeröhrchen und für die Probenahme benötigte Materialien.
- Automatische Pipetten mit Einwegspritzen für 20, 100 und 500 µL.
- Hämolyseröhrchen aus Kunststoff.
- Reagenz zur Lyse der Erythrozyten mit Waschstufe nach der Lyse. Beispiel: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagenz zur Leukozytenfixierung. Beispiel: IOTest 3-Fixierungslösung (Ref. A07800).
- Isotypkontrolle FITC: IOTest-Reagenz (Ref. A07795).
- Puffer (PBS: 0,01 M Natriumphosphat; 0,145 M Natriumchlorid; pH 7,2).
- Zentrifuge.
- Automatisches Mischgerät (Typ Vortex-Mischer).
- Durchflusszytometer.

VERFAHREN MIT VERSALYSE-REAGENZ

Für jede analysierte Probe kann zusätzlich zum Teströhrchen noch ein Kontrollröhrchen verwendet werden, in dem die Zellen in Gegenwart der Isotypkontrolle (Ref. A07795) gemischt werden.

1. 20 µL des spezifischen konjugierten IOTest-Antikörpers in jedes Teströhrchen und bei Bedarf 20 µL der Isotypkontrolle in jedes Kontrollröhrchen geben.
2. 100 µL der Testprobe in jedes Röhrchen geben. Die Röhrchen sachte mittels Vortex-Mischer mischen.
3. Bei Raumtemperatur (18–25 °C) 15 bis 20 Minuten lang lichtgeschützt inkubieren.
4. Im Anschluss die Erythrozyten lysieren. Das Merkblatt für VersaLyse (Ref. A09777) beachten und vorzugsweise das Verfahren mit dem Titel „with concomitant fixation“ (mit gleichzeitiger Fixierung) befolgen, das eine Zugabe von 1 mL des spontan zubereiteten „Fix-and-Lyse“(Fixierung und Lyse)-Gemisches vorsieht. Sofort eine Sekunde lang auf dem Vortex-Mischer mischen und 10 Minuten lang lichtgeschützt bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Bei 150 x g 5 Minuten lang bei Raumtemperatur zentrifugieren.
6. Den Überstand absaugen.
7. Das Zellpellet in 3 mL PBS resuspendieren.
8. Schritt 5 wiederholen.
9. Den Überstand absaugen und das Zellpellet resuspendieren mit:

- 0,5 mL oder 1 mL PBS plus 0,1 % Formaldehyd, wenn die Präparate weniger als 24 Stunden aufbewahrt werden sollen. (Ein 0,1%iges Formaldehyd-PBS-Gemisch kann hergestellt werden, indem 12,5 µL der IOTest 3-Fixierlösung (Ref. A07800) bei 10-facher Konzentration in 1 mL PBS verdünnt werden.)
- 0,5 mL oder 1 mL PBS ohne Formaldehyd, wenn die Präparate innerhalb von weniger als 2 Stunden analysiert werden sollen.

Hinweis: Die Präparate in jedem Fall zwischen 2 und 8 °C und vor Licht geschützt aufbewahren.

ERWARTETE WERTE

In unseren Laboren wurden die Vollblutproben von 25 scheinbar gesunden Spendern unter Verwendung des oben beschriebenen Reagenzes und eines Gating-Reagenzes behandelt. Die Ergebnisse für die Anzahl der positiven Ereignisse von Interesse, die mit diesem Reagenz erzielt wurden, sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt:

Positives Ziel	Nummer	Mittelwert (%)	SD	VK (%)
Lymphozyten CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Die Werte dienen nur zu Veranschaulichungszwecken. Jedes Labor muss anhand der örtlichen Population normaler Spender eigene erwartete Werte festlegen.

LEISTUNG

Leistungsdaten werden unter Anwendung des oben beschriebenen Verfahrens und eines Gating-Reagenzes mit weniger als 24 Stunden alten Blutproben ermittelt, die zuvor in sterile Röhrchen mit EDTA-Salz als Antikoagulanz entnommen wurden. Die Analyse erfolgt innerhalb von 2 Stunden nach der Immunfärbung.

SPEZIFITÄT

Der TCR ist ein Molekülkomplex aus zwei Einheiten: einer Erkennungseinheit aus Alpha-Beta- oder Gamma-Delta-Heterodimern an der Zelloberfläche, die sich gegenseitig ausschließen sowie einer Umformeinheit, dem CD3-Komplex, der für Alpha-Beta- und Gamma-Delta-Heterodimer gleich ist, und die T-Zellen „triggert“, wenn die Erkennungseinheit durch das Antigen besetzt ist. Diese Erkennungseinheit erkennt fremde Antigene, und die Diversität, die für diese Erkennungsfunktion notwendig ist, wird durch somatische Rekombination der TCR-Gene generiert (11, 12, 13).

Es gibt vier TCR-Genloci (Alpha, Beta, Gamma und Delta). Jeder davon besteht aus mehreren variablen V-Segmenten, Kodierungen für circa 90 Aminosäuren, sehr kurze D-Segmente (Diversitätssegmente) (nur α- und Delta-Loci), kurze J-Segmente (verbindende Segmente) (circa 15 Aminosäuren) und ein oder zwei C-Segmente (konstante Segmente) (14, 15). Die meisten T-Zellen exprimieren das Alpha-/Beta-TCR (T-Zell-Rezeptor)-Protein, und eine kleine Population an T-Zellen exprimiert den Gamma-/Delta-TCR, der in der Regel einen doppelten negativen Phänotypen besitzt (CD4/CD8).

Gamma-/Delta-T-Zellen sind in der Regel die erste Verteidigungslinie auf epidermalen und epithelialen Oberflächen und repräsentieren 10–12 % der Lymphozyten in der Milz (16). IMMU 510 erkennt alle Gamma-/Delta-T-Zellen, unabhängig von den variablen Genen oder Verbindungsstellen, die sie exprimieren, wie in Durchfluss-Immunfluoreszenzstudien zu polyklonalen Gamma-Delta-T-Zelllinien und Gamma-Delta-T-Zellklonen festgestellt wurde (17, 18, 19, 20, 21).

PRÄZISION

Die prozentualen positiven Werte wurden unter Verwendung von Vollblut bestimmt. Jede Probe wurde zweimal täglich 1 Tag lang unter Verwendung von 2 Chargen der Reagenzien mit dem monoklonalen Antikörper Anti-TCR PAN γ/δ-FITC 4 Mal auf 2 Instrumenten analysiert. Messungen (% positiv) wurden mit dem Navios-Durchflusszytometer vorgenommen. Die Analyse folgte den Vorgaben der CLSI-Methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Beurteilung der Präzisionsleistung von quantitativen Messmethoden).

Unsere Akzeptanzkriterien sind abhängig von der Anzahl an positiven Ereignissen, die für jede Population gemessen werden:

- Wenn positives Ereignis < 1 500, VK < 15 %
- Wenn positives Ereignis > 1 500, VK < 10 %

Lymphozyten CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Anzahl der positiven Ereignisse (Mittelwert) = 961							
	Zwischen Bedienern	Zwischen Durchflusszytometern	Innerhalb einer Charge	Zwischen Chargen	Zwischen Läufen	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
VK (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
ERGEBNISSE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit von Anti-TCR PAN γ/δ-FITC wurde anhand eines Vergleichs der Ergebnisse mit einem Referenzreagenz als Prädikat für einen Satz aus Vollblutproben bewertet, die auf einem Navios-Durchflusszytometer analysiert wurden. Die Abweichung zwischen Test- und Referenzreagenz wurde auf der Grundlage der Differenz zwischen Testergebnissen bestimmt. Sollte die Abweichung innerhalb des zulässigen Fehlerbereichs liegen oder der p-Wert keine signifikante Differenz (> 0,05) nahelegen, gelten die Testergebnisse für die beiden Reagenzien als gleichwertig.

Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Anzahl der Spender = 25				
Positives Ziel	Mittelwert Δ	Δ % Zellkriterien	p-Wert	ERGEBNISSE
Lymphozyten CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

GRENZWERT FÜR LEERWERT UND NACHWEISGRENZE

Es wurde eine Studie gemäß CLSI-Dokument EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluierung des Detektionsvermögens von klinischen Labormessverfahren), durchgeführt. Die Nachweisgrenze (LOD) ist die niedrigste Konzentration des Analyten, die durchweg nachgewiesen werden kann. Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Positive Target	Grenzwert für Leerwert (Zelle/µL)	Nachweisgrenze (Zelle/µL)
Lymphozyten CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Die Durchflusszytometrie kann falsche Ergebnisse liefern, wenn das Zytometer nicht perfekt ausgerichtet wurde, wenn Fluoreszenzlecks nicht korrekt kompensiert wurden und wenn die Bereiche nicht sorgfältig positioniert wurden.
2. Vorzugsweise sollte eine ERY-Lysetechnik mit einem Waschschritt angewandt werden, da dieses Reagenz nicht für Lysetechniken ohne Waschen optimiert wurde.
3. Genaue und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, sofern die verwendeten Verfahren der technischen Packungsbeilage entsprechen und mit der guten Laborpraxis kompatibel sind.
4. Der konjugierte Antikörper dieses Reagenzes ist so kalibriert, dass er das beste Verhältnis von spezifischem zu unspezifischem Signal bietet. Daher ist es wichtig, das Verhältnis Reagenzvolumen/Probenvolumen bei jedem Test einzuhalten.
5. Im Falle einer Hyperleukozytose das Blut in PBS verdünnen, um einen Wert von ungefähr 5 x 10^9 Leukozyten/L zu erhalten(22).
6. Bei bestimmten Krankheitszuständen, beispielsweise einem schweren Nierenversagen oder Hämoglobinopathien, kann die Lyse der Erythrozyten möglicherweise nur langsam oder unvollständig erfolgen oder sogar unmöglich sein. In diesem Fall empfiehlt es sich, vor dem Färben einkernige Zellen mittels eines Dichtegradienten (beispielsweise Ficoll) zu isolieren (23).
7. Bei Patienten, die sich Therapien mit anti-humanen monoklonalen Antikörpern unterziehen, kann das Nachweisvermögen für die spezifischen anvisierten Antigene aufgrund einer teilweisen oder vollständigen Blockierung durch die therapeutischen Antikörper vermindert sein oder gänzlich ausbleiben.
8. Die Ergebnisse für Anti-TCR PAN γ/δ-FITC müssen unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde für den Patienten interpretiert werden, einschließlich Symptomen, klinischer Vorgeschichte, Daten zusätzlicher Tests sowie sonstiger relevanter Informationen.

Beispiele und Literaturhinweise siehe Anhang.

MARKEN

Beckman Coulter, das stilisierte Logo und die in diesem Dokument erwähnten Beckman Coulter-Produkt- und Dienstleistungsmarken sind in den USA und anderen Ländern Marken oder eingetragene Marken von Beckman Coulter, Inc.

WEITERE INFORMATIONEN

Für einen Patienten/Benutzer/Dritten in der Europäischen Union und in Ländern mit identischer Regulierungspraxis (Verordnung 2017/746/EU über In-vitro-Diagnostika) gilt Folgendes: Sollte es im Rahmen der Verwendung dieses Produktes oder infolge der Verwendung dieses Produktes zu einem schwerwiegenden Zwischenfall gekommen sein, ist dieser dem Hersteller und/oder dessen Bevollmächtigten sowie der nationalen Behörde zu melden.

Die „Summary of Safety and Performance“ (Bericht über Sicherheit und Leistung) kann aus der EUDAMED-Datenbank abgerufen werden: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSVERLAUF

REVISION AE:	Freigabedatum: Oktober 2019

REVISION	**Freigabedatum**
AW	Mai 2022
Aktualisierungen vorgenommen, um den Vorgaben der globalen Etikettierungsrichtlinie von Beckman Coulter und den Vorgaben nach IVD-R (EU) 2017/746 zu entsprechen:	
Abschnitte hinzugefügt	Nummer nach BSI 2797; Vorgesehener Benutzer; Klinische Anwendung; Konzentration; Präzision; Genauigkeit; Grenzwert für Leerwert und Nachweisgrenze; Weitere Informationen; Revisionsübersicht.
Informationen hinzugefügt	Siehe Abschnitt Einschränkungen
Formulierung oder Typografie aktualisiert	Siehe die Abschnitte Verfahren; Leistung; Einschränkungen; Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen; Lagerung und Stabilität.
Abschnitte gestrichen	Beispiel für klinische Anwendungen; Reagenzien; Reproduzierbarkeit innerhalb des Labors; Linearität
Aktualisierte Abschnitte	Verwendungszweck; GHS-Gefahrstoffklassifizierung; Verfallsanzeichen; Verfahren; Anhang.

REVISION	**Freigabedatum**
AX	März 2023
Aktualisierte Abschnitte	Kasachisch hinzufügen
Aktualisierte Abschnitte	Lagerung und Stabilität

Überarbeitete Version	AY
Überarbeitungsdatum	Mai 2024
Aktualisierte Übersetzungen	**Klinische Relevanz:**
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Überarbeitete Version	AZ
Überarbeitungsdatum	Juli 2024
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Liste der Symbole

Das Glossar der Symbole ist auf beckman.com/techdocs (Dokumentnummer B60062) verfügbar.

	Specifiche
Specificità	TCR γ/δ
Clone	IMMU510
Ibridoma	X63 x balb/c
Immunogeno	Soluble γ/δ receptor
Immunoglobulina	IgG1
Specie	Topo
Purificazione	Cromatografia di affinità
Fluorocromo	Fluorescein isothiocyanate
Rapporto molare	FITC / Ig: 4 - 6,5
Eccitazione λ	488 nm
Picco di emissione	525 nm
Tampone	PBS pH 7,2 più 2 mg/mL di BSA e NaN_3 0,1%

IOTest

Anticorpo coniugato Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 test, 1 mL, 20 µL/test

Per uso diagnostico *in vitro.*

USO PREVISTO

Questo anticorpo coniugato con fluorocromo consente l'identificazione qualitativa e non automatizzata di popolazioni cellulari che esprimono l'antigene TCR γ/δ presente nei campioni biologici umani mediante citometria a flusso (vedere la sezione "Campioni" di seguito).

PRINCIPIO

Questo test si basa sulla capacità di specifici anticorpi monoclonali di legarsi ai determinanti antigenici espressi dai leucociti.

La colorazione specifica dei leucociti viene eseguita incubando il campione con il reagente IOTest. Gli eritrociti vengono quindi rimossi tramite lisi e i leucociti, non interessati da questo processo, vengono analizzati tramite citometria a flusso.

Il citometro a flusso misura la diffusione di luce e la fluorescenza delle cellule. Ciò consente la delimitazione della popolazione di interesse con la finestra elettronica definita in un istogramma, che correla la diffusione ortogonale della luce (scattering laterale o SS) e la diffusione della luce ad angolo stretto (scattering frontale o FS). Altri istogrammi che combinano due dei diversi parametri disponibili sul citometro possono essere usati come supporti nella fase di determinazione del gate in base alle applicazioni scelte dall'utente.

La fluorescenza delle cellule delimitate viene analizzata per distinguere gli eventi colorati in modo positivo e quelli non colorati. I risultati sono espressi come percentuale di eventi positivi in relazione a tutti gli eventi acquisiti mediante determinazione del gate.

UTENTE PREVISTO

Questo prodotto è destinato all'uso professionale in laboratorio.

RILEVANZA CLINICA

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC è un anticorpo Anti-TCR PAN γ/δ utilizzato per identificare e caratterizzare le cellule che esprimono l'antigene TCR γ/δ mediante citometria a flusso. Questo prodotto da solo non può e non intende generare alcuna conclusione diagnostica.

Se impiegato in combinazione con altri marcatori, questo prodotto può essere utilizzato con una o più delle seguenti funzioni:

- Come supporto nella diagnosi differenziale di pazienti con anomalie ematologiche e sospetta neoplasia ematopoietica e nel monitoraggio di pazienti con neoplasia ematopoietica nota.
- Per monitorare i pazienti con malattie o disturbi autoimmuni noti.

Vedere i riferimenti seguenti:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

CAMPIONI

I campioni di sangue venoso devono essere prelevati utilizzando provette sterili contenenti un sale EDTA come anticoagulante.

I campioni devono essere conservati a temperatura ambiente (18-25 °C) e non devono essere agitati. I campioni devono essere omogeneizzati agitandoli con delicatezza prima di prelevare il campione per il test.

I campioni devono essere analizzati entro 24 ore dalla venipuntura.

CONCENTRAZIONE

Vedere il Certificato di analisi specifico del lotto sul sito www.beckman.com.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza.
2. Non congelare.
3. Prima dell'uso, portare a temperatura ambiente (18-25 °C).
4. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce.
5. Evitare la contaminazione microbica dei reagenti, poiché potrebbe falsare i risultati.
6. Le soluzioni di anticorpi che contengono sodio azide (NaN_3) devono essere maneggiate con cura. Non ingerire ed evitare qualsiasi contatto con cute, mucose e occhi.

Inoltre, in un mezzo acido, il sodio azide può formare acido idrazoico, che è potenzialmente pericoloso. Per lo smaltimento, si consiglia di diluire il reagente in un grande volume di acqua prima di versarlo nell'impianto di scarico, in modo da evitare l'accumulo di sodio azide nelle tubazioni metalliche ed evitare il rischio di esplosione.

7. Tutti i campioni di sangue devono essere considerati potenzialmente infetti e devono essere maneggiati con cura (in particolare, indossando guanti, camici e occhiali protettivi).
8. Non pipettare mai usando la bocca ed evitare il contatto dei campioni con la pelle, le mucose e gli occhi.
9. Le provette per il sangue e i materiali monouso usati per la manipolazione devono essere smaltiti in appositi contenitori destinati all'inceneritore.
10. I reagenti e i rifiuti devono essere smaltiti conformemente alla normative locali.

CLASSIFICAZIONE DEI PERICOLI GHS

Classificato come non pericoloso

SDS La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile all'indirizzo beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Questo reagente deve essere mantenuto a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce, prima e dopo l'apertura della fiala.

Durata di conservazione della fiala chiusa secondo studi di stabilità: 1095 giorni.

Stabilità di una fiala aperta: il reagente è stabile per 180 giorni.

INDICI DI DETERIORAMENTO

Qualsiasi cambiamento dell'aspetto fisico dei reagenti può indicare un deterioramento. In tale caso, non utilizzare il reagente.

Per ulteriori informazioni, o nel caso in cui il prodotto ricevuto risulti danneggiato, rivolgersi all'assistenza clienti Beckman Coulter al numero 800-742-2345 (USA o Canada) o mettersi in contatto con il rappresentante locale Beckman Coulter.

SOMMARIO

Il conservante sodio azide può formare composti esplosivi nelle tubazioni metalliche di scarico. Vedere il bollettino NIOSH: Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Bollettino dell'Istituto Nazionale per la Sicurezza e la Salute sul Lavoro: Rischio di esplosione del sodio azide).
Per evitare il possibile accumulo di azidi, lavare i tubi di scarico con acqua dopo lo smaltimento del reagente puro. Il sodio azide deve essere eliminato conformemente alle normative locali applicabili.

COMPONENTI NECESSARI MA NON FORNITI CON IL KIT:

- Provette per campioni e materiale necessario per il campionamento.
- Pipette automatiche con punte monouso per 20, 100 e 500 µL.
- Provette per emolisi in plastica.
- Reagente per lisi degli eritrociti con fase di lavaggio successiva alla lisi. Ad esempio: VersaLyse (Rif. A09777).
- Reagente di fissaggio dei leucociti. Ad esempio: Soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800).
- Controllo di isotipo FITC: reagente IOTest (Rif. A07795).
- Tampone (PBS: 0,01 M di fosfato di sodio, 0,145 M di cloruro di sodio, pH 7,2).
- Centrifugare.
- Agitatore automatico (tipo Vortex).
- Citometro a flusso.

PROCEDURA CON REAGENTE VERSALYSE

Per ogni campione analizzato, oltre alla provetta del test, si può aggiungere una provetta di controllo in cui miscelare le cellule in presenza di controllo di isotipo (Rif. A07795).

1. Aggiungere 20 µL di anticorpo coniugato IOTest specifico in ogni provetta del test e, se necessario, 20 µL di controllo di isotipo in ogni provetta di controllo.
2. Aggiungere 100 µL di campione del test in ogni provetta. Agitare delicatamente le provette con Vortex.
3. Incubare a temperatura ambiente (18-25 °C) per 15-20 minuti, al riparo dalla luce.
4. Quindi eseguire la lisi degli eritrociti. Consultare il foglietto illustrativo di VersaLyse (Rif. A09777) e seguire preferibilmente la procedura denominata "with concomitant fixation" (con fissazione concomitante), che consiste nell'aggiungere 1 mL della miscela fissante e lisante preparata estemporaneamente. Miscelare immediatamente con Vortex per un secondo e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente, al riparo dalla luce.
5. Centrifugare per 5 minuti a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Rimuovere il surnatante mediante aspirazione.
7. Risospendere il pellet cellulare utilizzando 3 mL di PBS.
8. Ripetere il passaggio 5.
9. Eliminare il surnatante tramite aspirazione e risospendere il pellet cellulare tramite:

- 0,5 mL o 1 mL di PBS più 0,1% di formaldeide, se i preparati devono essere conservati per meno di 24 ore. È possibile ottenere PBS con formaldeide allo 0,1% diluendo 12,5 µL di soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800) alla sua concentrazione di 10X in 1 mL di PBS.
- 0,5 mL o 1 mL di PBS senza formaldeide, se i preparati devono essere analizzati entro 2 ore.

Nota: in tutti i casi, mantenere i preparati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce.

VALORI ATTESI

Nei nostri laboratori, i campioni di sangue intero di donatori apparentemente sani 25 sono stati trattati utilizzando il reagente descritto sopra e un reagente di gating. I risultati ottenuti dal conteggio degli eventi di interesse positivi a questo reagente sono riportati nella tabella di seguito:

Target positivo	Numero	Media (%)	SD	CV (%)
Linfociti CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Tali valori sono forniti unicamente a scopo indicativo. Ogni laboratorio deve definire i propri valori attesi a partire dalla popolazione locale di donatori normali.

PRESTAZIONI

I dati delle prestazioni si ottengono usando la procedura descritta in precedenza e un reagente di gating su campioni di sangue raccolti da meno di 24 ore in provette sterili con anticoagulante sale di EDTA. L'analisi viene eseguita entro 2 ore dall'immunocolorazione.

SPECIFICITÀ

Il TCR è un complesso molecolare che comprende due unità: un'unità di identificazione, composta da un eterodimero alfa-beta o gamma-delta, presenti sulla superficie cellulare in modo da escludersi reciprocamente, e un'unità di trasduzione, il complesso CD3, comune agli eterodimeri alfa-beta e gamma-delta, il quale stimola le cellule T quando l'unità di identificazione è occupata dall'antigene. L'unità di riconoscimento riconosce antigeni esterni e la diversità necessaria per tale funzione di riconoscimento è generata mediante ricombinazione somatica dei geni TCR (11, 12, 13).

Vi sono quattro siti del gene TCR (alfa, beta, gamma e delta) Ognuno di questi è composto da svariati segmenti V (variabili, variable), codificati per circa 90 aminoacidi, segmenti D (diversità, diversity) molto corti (solo siti alfa e delta), corti segmenti J (unione, joining) (circa 15 aminoacidi) e uno o due segmenti C (costanti, constant) (14, 15). La maggior parte delle cellule T esprime la proteina alfa/beta TCR (recettore delle cellule T, T cell receptor) e una piccola popolazione delle cellule T esprime il TCR gamma/delta, il quale solitamente vanta un fenotipo doppio negativo (CD4/CD8).

Normalmente le cellule T gamma/delta costituiscono la prima linea di difesa a livello di superficie epidermica ed epiteliale e inoltre rappresentano il 10–12% dei linfociti nella milza (16). L'IMMU 510 riconosce tutte le cellule T gamma-delta, indipendentemente dai geni variabili o dalle regioni di congiunzione che esprimono in base alla valutazione degli studi di immunofluorescenza sulle linee policlonali delle cellule T gamma-delta e sui cloni delle cellule T gamma-delta (17, 18, 19, 20, 21).

PRECISIONE

I valori percentuali positivi sono stati determinati utilizzando sangue intero. Ogni campione è stato analizzato 4 volte, due volte al giorno per 1 giorno su 2 strumenti utilizzando 2 lotti di reagenti per anticorpi monoclonali Anti-TCR PAN γ/δ-FITC. Le misurazioni (% positive) sono state eseguite sul citometro a flusso Navios. L'analisi è stata condotta secondo il metodo EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Valutazione delle prestazioni di precisione dei metodi di misurazione quantitativa).

I nostri criteri di accettazione dipendono dal numero di eventi positivi misurati per ogni popolazione:

- Se evento positivo < 1.500, CV < 15%
- Se evento positivo > 1.500, CV < 10%

Linfociti CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Numero di eventi positivi (media) = 961							
	Inter-operatore	Inter-citometro	Intra-lotto	Inter-lotto	Inter-analisi	Intra-analisi	Totale
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
RISULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURATEZZA

L'accuratezza di Anti-TCR PAN γ/δ-FITC è stata valutata confrontando i risultati con un reagente di riferimento come predicato su una serie di campioni di sangue intero eseguiti su un citometro a flusso Navios. La distorsione tra il test e il reagente di riferimento è stata determinata in base alla differenza tra i risultati dei test. Se la distorsione rientra nell'intervallo di errore consentito o il valore p indica che non vi è una differenza significativa (> 0,05), allora i risultati dei test per i due reagenti sono considerati equivalenti.

I risultati ottenuti sono riepilogati nella tabella seguente:

Numero di donatori = 25				
Target positivo	Δ medio	Criteri cellulari Δ %	Valore p	RISULTATI
Linfociti CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

LIMITE DEL BIANCO E LIMITE DI RILEVAZIONE

È stato effettuato uno studio in conformità al documento EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Valutazione delle capacità di rilevamento delle procedure di misurazione del laboratorio clinico). Il limite di rilevazione (LoD) è la più bassa concentrazione di analita che può essere costantemente rilevata. I risultati ottenuti sono riepilogati nella seguente tabella:

Positive Target	Limite del bianco (cellula/µL)	Limite di rilevazione (cellula/µL)
Linfociti CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

LIMITAZIONI

1. La citometria a flusso può produrre falsi risultati se il citometro non viene allineato perfettamente, le perdite di fluorescenza non vengono correttamente compensate e le regioni non vengono posizionate attentamente.
2. È preferibile utilizzare una tecnica di lisi RBC con una fase di lavaggio, in quanto il reagente non è stato ottimizzato per tecniche di lisi "senza lavaggio".
3. Seguendo le procedure descritte nel foglietto illustrativo con le informazioni tecniche, compatibili con le buone pratiche di laboratorio, è possibile ottenere risultati accurati e riproducibili.

4. L'anticorpo coniugato di questo reagente è calibrato in modo da offrire un rapporto segnale specifico/segnale non specifico ottimale. Di conseguenza, è importante rispettare il rapporto fra volume di reagente e volume di campione in tutti i test.
5. In caso di iperleucocitosi, diluire il sangue in PBS in modo da ottenere un valore di circa 5 x 10^9 leucociti/L (22).
6. In alcuni stati patologici, come insufficienza renale grave o emoglobinopatie, la lisi degli eritrociti può risultare lenta, incompleta o persino impossibile. In questo caso, è consigliabile isolare le cellule mononucleate usando un gradiente di densità (ad esempio, Ficoll) prima della colorazione (23).
7. In pazienti trattati con terapie a base di anticorpi monoclonali anti-umani, il rilevamento di antigeni specifici può essere minore o assente a causa del blocco parziale o completo da parte dell'anticorpo terapeutico.
8. I risultati Anti-TCR PAN γ/δ-FITC devono essere interpretati alla luce del quadro clinico completo del paziente che comprende: sintomatologia, anamnesi clinica, risultati di altri test e altre informazioni appropriate.

Per esempi e riferimenti, vedere l'appendice.

MARCHI COMMERCIALI

Beckman Coulter, il logo stilizzato ed i marchi commerciali dei prodotti e servizi di Beckman Coulter menzionati qui, sono marchi commerciali o marchi commerciali registrati di Beckman Coulter, Inc., negli Stati Uniti e in altri paesi.

INFORMAZIONI AGGIUNTIVE

Per un paziente/utente/terza parte nell'Unione Europea e in paesi con identico regime normativo (Regolamento 2017/746/UE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro): se, durante l'utilizzo di questo dispositivo o in seguito al suo utilizzo, si fosse verificato un incidente grave, si prega di segnalarlo al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e all'autorità nazionale competente.

Il Summary of Safety and Performance (Sintesi relativa alla sicurezza e alle prestazioni) è disponibile nel database EUDAMED all'indirizzo: ec.europa.eu/tools/eudamed.

CRONOLOGIA REVISIONI

REVISIONE AE:	Data di pubblicazione: Ottobre 2019

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AW	Maggio 2022
Aggiornamenti conformi alla politica sull'etichettatura globale di Beckman Coulter e ai requisiti IVD-R (UE)2017/746:	
Sezioni aggiunte	Numero BSI 2797, Utente previsto, Rilevanza clinica, Concentrazione, Precisione, Accuratezza, Limite del bianco e limite di rilevazione, Informazioni aggiuntive, Cronologia revisioni.
Aggiunta di informazioni	Vedere le sezioni Limitazioni
Aggiornamenti testuali o tipografici	Vedere le sezioni Procedura, Prestazioni, Limitazioni, Avvertenze e precauzioni, Conservazione e stabilità.
Sezioni rimosse	Esempio di applicazioni cliniche, Reagenti, Riproducibilità intra-laboratorio, Linearità
Sezioni aggiornate	Uso previsto, Classificazione pericoli GHS, Indici di deterioramento, Procedura, Appendice.

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AX	Marzo 2023
Sezioni aggiornate	Aggiungere la lingua kazaka
Sezioni aggiornate	Conservazione e stabilità

Versione revisionata	AY
Data di revisione	Maggio 2024
Traduzioni aggiornate	**Rilevanza clinica:**
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Versione revisionata	AZ
Data di revisione	Luglio 2024
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Legenda dei simboli

Il Glossario dei simboli è disponibile all'indirizzo beckman.com/techdocs (documento numero B60062)

	Especificaciones
Especificidad	TCR γ/δ
Clon	IMMU510
Hibridoma	X63 x balb/c
Inmunógeno	Soluble γ/δ receptor
Inmunoglobulina	IgG1
Especie	Ratón
Purificación	Cromatografía de afinidad
Fluorocromo	Fluorescein isothiocyanate
Proporción molar	FITC / Ig: 4 - 6,5
Excitación λ	488 nm
Pico de emisión	525 nm
Tampón	PBS pH 7,2 más 2 mg/mL BSA y 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticuerpo conjugado Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 pruebas; 1 mL, 20 µL/prueba

Para uso diagnóstico *in vitro.*

USO PREVISTO

Este anticuerpo conjugado con un fluorocromo permite la identificación cualitativa y no automatizada de poblaciones de células que expresan el antígeno TCR γ/δ presente en muestras biológicas humanas mediante citometría de flujo (véase la sección «Muestras» más adelante).

PRINCIPIO

Esta prueba se basa en la capacidad de anticuerpos monoclonales específicos para unirse a los determinantes antigénicos expresados por leucocitos.

La tinción específica de los leucocitos se realiza incubando la muestra con el reactivo IOTest. A continuación, se eliminan los eritrocitos mediante lisis y los leucocitos, que no se ven afectados por este proceso, se analizan mediante citometría de flujo.

El citómetro de flujo mide la dispersión de la luz y la fluorescencia de las células. Permite acotar la población de interés dentro de una ventana electrónica, definida en un histograma que correlaciona la dispersión lateral de luz (Side Scatter o SS) con la dispersión frontal de la luz (Forward Scatter o FS). Se pueden utilizar otros histogramas que combinen dos de los distintos parámetros disponibles en el citómetro como apoyo para la fase de selección en función de la aplicación utilizada por el usuario.

La fluorescencia de las células acotadas se analiza para distinguir los eventos con tinción positiva de los eventos sin teñir. Los resultados se expresan como un porcentaje de eventos positivos en relación con todos los eventos adquiridos mediante la selección.

USUARIO PREVISTO

Este producto está diseñado para su uso en un laboratorio profesional.

IMPORTANCIA CLÍNICA

El reactivo Anti-TCR PAN γ/δ-FITC es un anticuerpo frente a Anti-TCR PAN γ/δ utilizado para identificar y caracterizar células que expresan el antígeno TCR γ/δ mediante citometría de flujo. Este producto por sí solo no puede y no está diseñado para generar una conclusión diagnóstica.

Cuando se usa en combinación con otros marcadores, este producto puede utilizarse en una o más de las siguientes funciones:

- Ayudar al diagnóstico diferencial de pacientes con anomalías hematológicas en los que se sospecha la presencia de una neoplasia hematopoyética y realizar el seguimiento de pacientes con una neoplasia hematopoyética conocida.
- Realizar el seguimiento de pacientes con un trastorno o enfermedad autoinmune conocida.

Consulte las siguientes referencias:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MUESTRAS

La sangre venosa debe recogerse en tubos de muestra estériles que contengan una sal de EDTA como anticoagulante.

Las muestras deben mantenerse a temperatura ambiente (18-25 °C) y no agitarse. Antes de tomar la muestra de prueba, es necesario homogeneizarla mediante una agitación suave.

Las muestras deben analizarse en el plazo de 24 horas tras la venopunción.

CONCENTRACIÓN

Consulte el certificado de análisis específico del lote en www.beckman.com.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. No use el reactivo después de la fecha de caducidad.
2. No lo congele.
3. Déjelo a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su utilización.
4. Minimice el tiempo de exposición a la luz.
5. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, ya que esto puede provocar resultados falsos.

6. Las soluciones de anticuerpo que contienen azida sódica (NaN_3) deben manipularse con precaución. No ingerir y evitar todo contacto con la piel, la mucosa y los ojos.

   Asimismo, en un medio ácido, la azida sódica puede formar ácido hidrazoico potencialmente peligroso. Cuando se vaya a desechar, se recomienda diluir el reactivo en abundante agua antes de verterlo en el sistema de drenaje para evitar la acumulación de azida sódica en tubos metálicos y el riesgo de explosión.
7. Todas las muestras sanguíneas deben considerarse posiblemente infecciosas y deben manipularse con cuidado (en especial, hay que llevar guantes, bata y gafas de protección).
8. No pipetee nunca con la boca y evite todo contacto de las muestras con la piel, las mucosas y los ojos.
9. Los tubos para sangre y el material desechable utilizados para la manipulación deben eliminarse en recipientes especiales previstos para la incineración.
10. Los reactivos y los desechos deben eliminarse de acuerdo con los requisitos locales.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico

SDS La ficha de datos de seguridad está disponible en beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Este reactivo debe conservarse entre 2 y 8 °C en un lugar protegido de la luz, antes y después de abrir el vial.

Vida útil del vial cerrado según estudio de estabilidad: 1095 días.

Estabilidad del vial abierto: el reactivo es estable durante 180 días.

SIGNOS DE DETERIORO

Cualquier cambio en el aspecto físico de los reactivos puede indicar un deterioro, por lo que no debe utilizarse el reactivo.

Para obtener información adicional o si el producto está dañado, llame al servicio de atención al cliente de Beckman Coulter en el 800-742-2345 (EE. UU. o Canadá) o póngase en contacto con su representante local de Beckman Coulter.

CONTENIDO

El conservante de azida sódica puede formar compuestos explosivos en las tuberías metálicas del desagüe. Véase el NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Boletín de NIOSH: Peligro de explosión con la azida) (16/8/76).
Para evitar la posible acumulación de compuestos de azida, limpie con agua los tubos de desagüe tras la eliminación del reactivo sin diluir. Para desechar la azida sódica deben seguirse las normativas locales adecuadas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS CON EL KIT:

- Tubos y material de muestras necesarios para el muestreo.
- Pipetas automáticas para puntas desechables de 20, 100 y 500 µL.
- Tubos de hemólisis de plástico.
- Reactivo de lisis de glóbulos rojos con estado de lavado después de la lisis. Por ejemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reactivo de fijación de leucocitos. Por ejemplo: Solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800).
- Control de isotipo FITC: Reactivo IOTest (Ref. A07795).
- Tampón (PBS: 0,01 M de fosfato de sodio; 0,145 M de cloruro sódico; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de flujo.

PROCEDIMIENTO CON EL REACTIVO VERSALYSE

Para cada muestra analizada, además del tubo de ensayo, se puede añadir un tubo de control en el que se mezclan las células en presencia de los controles de isotipo (Ref. A07795).

1. Añadir 20 µL de anticuerpos conjugados específicos IOTest a cada tubo de muestra problema y, si es necesario, 20 µL del control de isotipo a cada tubo de control.
2. Añadir 100 µL de la muestra problema a cada tubo. Mezclar suavemente los tubos en el Vórtex.
3. Incube entre 15 y 20 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C) y protegido de la luz.
4. A continuación, lleve a cabo la lisis de los eritrocitos. Consulte la ficha técnica VersaLyse (Ref. A09777) y siga preferiblemente el procedimiento denominado «with conconmitant fixation» (con fijación concomitante), que consiste en añadir 1 mL de la mezcla «Fijar y lisar» preparada extemporáneamente. Agite inmediatamente con vórtex durante un segundo e incube durante 10 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Elimine el sobrenadante mediante aspiración.
7. Vuelva a suspender el sedimento celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita el paso 5.
9. Retire el sobrenadante mediante aspiración y vuelva a suspender el sedimento celular con:

- 0,5 mL o 1 mL de PBS más el 0,1 % de formaldehído si las preparaciones deben conservarse menos de 24 horas. (Se puede obtener un 0,1 % de PBS de formaldehído mediante la dilución de 12,5 µL de la solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800) a su concentración de 10x en 1 mL de PBS).

- 0,5 mL o 1 mL de PBS sin formaldehído si las preparaciones deben analizarse en un plazo de 2 horas.

Nota: En todos los casos, mantenga las preparaciones protegidas de la luz entre 2 y 8 °C.

VALORES ESPERADOS

Se trataron en nuestros laboratorios las muestras de sangre total de 25 donantes aparentemente sanos utilizando el reactivo descrito anteriormente y un reactivo de activación. Los resultados obtenidos del recuento de eventos de interés positivos con este reactivo se proporcionan en la siguiente tabla:

Objetivo positivo	Cantidad	Media (%)	DE	CV (%)
Linfocitos CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Estos valores tienen carácter meramente ilustrativo. Cada laboratorio deberá establecer sus valores esperados según la población local de donantes normales.

RENDIMIENTO

Los datos de rendimiento se obtuvieron utilizando el procedimiento descrito anteriormente y un reactivo de activación en muestras de sangre con menos de 24 horas desde su extracción en tubos estériles con sal de EDTA como anticoagulante. El análisis se realizó en el plazo de 2 horas desde su inmunotinción.

ESPECIFICIDAD

El TCR es un complejo molecular compuesto por dos unidades: por un lado, una unidad de reconocimiento, compuesta de heterodímeros alfa beta o gamma delta, que se hallan en la superficie celular de un modo mutuamente excluyente, y por otro, una unidad de transducción, el complejo CD3, común a los heterodímeros alfa beta o gamma delta, que activa la célula T cuando la unidad de reconocimiento se ve ocupada por el antígeno. La unidad de reconocimiento reconoce los antígenos extraños y la diversidad necesaria para esta función de reconocimiento se produce a través de la recombinación somática de los genes del TCR (11, 12, 13).

Hay cuatro locus de genes del TCR (alfa, beta, gamma y delta). Cada uno de ellos está formado por varios segmentos V (variable), que codifican unos 90 aminoácidos, segmentos muy cortos D (diversidad) (solamente los locus α y delta), segmentos cortos J (unión) (unos 15 aminoácidos) y uno o dos segmentos C (constantes) (14, 15). La mayoría de las células T expresan la proteína del TCR alfa/beta (receptor de la célula T) y una pequeña población de células T expresa el TCR gamma/delta, que suele tener un doble fenotipo negativo (CD4/CD8).

Las células T gamma/delta suelen ser la primera línea de defensa en las superficies de la epidermis y el epitelio y representan entre el 10 y el 12 % de los linfocitos en el bazo (16). IMMU 510 reconoce todas las células T gamma/delta, independientemente de los genes variables o de las regiones de intersección que expresan cuando son analizadas con estudios de inmunofluorescencia de flujo sobre estirpes de células T gamma/delta policlonales y clones de células T gamma/delta (17, 18, 19, 20, 21).

PRECISIÓN

Los valores porcentuales positivos se determinaron utilizando sangre total. Cada muestra se procesó 4 veces, dos veces al día durante 1 día en 2 instrumentos utilizando 2 lotes de reactivos de anticuerpo monoclonal Anti-TCR PAN γ/δ-FITC. Las mediciones (% de positivos) se realizaron en un citómetro de flujo Navios. El análisis se realizó según el método EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluación del rendimiento de la precisión de los métodos de medición cuantitativos).

Nuestro criterio de aceptación depende del número de eventos positivos determinado en cada población:

- Si el número de eventos positivos es < 1500, CV < 15 %
- Si el número de eventos positivos es > 1500, CV < 10 %

Linfocitos CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Número de eventos positivos (media) = 961							
	Entre operadores	Entre citómetros	Intralote	Entre lotes	Entre análisis	Intraanálisis	Total
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUD

La exactitud de Anti-TCR PAN γ/δ-FITC se evaluó comparando los resultados con un reactivo de referencia como valor previsto en un conjunto de muestras de sangre total procesadas en un citómetro de flujo Navios. El sesgo entre la muestra problema y el reactivo de referencia se determinó en función de la diferencia entre los resultados de la prueba. Si el sesgo está dentro del intervalo de error permitido o el valor p indica una diferencia no significativa (> 0,05), entonces los resultados de la prueba de los dos reactivos se consideran equivalentes.

Los resultados obtenidos se resumen en la tabla que se muestra a continuación:

Número de donantes = 25				
Objetivo positivo	Δ medio	Criterios de Δ % de células	Valor p	RESULTADOS
Linfocitos CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

LÍMITE DE BLANCO Y LÍMITE DE DETECCIÓN

Se realizó un estudio conforme a la norma EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluación de la capacidad de detección para procedimientos de medición en laboratorios clínicos). El límite de detección (LD) es la concentración de analito más baja que se puede detectar sistemáticamente. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla siguiente:

Positive Target	Límite de Blanco (células/µL)	Límite de Detección (células/µL)
Linfocitos CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

LIMITACIONES

1. La citometría de flujo puede producir resultados falsos si el citómetro no se ha alineado a la perfección, si las fugas de fluorescencia no se han compensado correctamente y si las regiones no se han colocado con atención.
2. Es preferible utilizar una técnica de lisis de ERIT con un paso de lavado, ya que este reactivo no se ha optimizado para técnicas de lisis «sin lavado».
3. Se obtendrán resultados exactos y reproducibles siempre que los procedimientos utilizados sean conformes al folleto técnico y compatibles con las prácticas correctas de laboratorio.
4. El anticuerpo conjugado de este reactivo se calibra para ofrecer la mejor relación de señal específica/señal no específica. Por lo tanto, es importante cumplir la relación de volumen del reactivo/volumen de la muestra en cada prueba.
5. En caso de hiperleucocitosis, diluya la sangre en PBS para obtener un valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucocitos/L (22).
6. En algunos estados de la enfermedad, como el fallo renal grave o las hemoglobinopatías, la lisis de los eritrocitos puede ser lenta, incompleta o incluso imposible. En este caso, se recomienda aislar las células mononucleares por gradiente de densidad (por ejemplo, Ficoll) antes de la tinción (23).
7. En pacientes tratados con terapias con anticuerpos monoclonales anti-humanos, la detección de los antígenos diana específicos puede estar disminuida o ausente debido al bloqueo parcial o completo por el anticuerpo terapéutico.
8. Los resultados de Anti-TCR PAN γ/δ-FITC deben interpretarse a la luz del cuadro clínico total del paciente, incluidos: síntomas, historial clínico, datos de pruebas adicionales y demás información pertinente.

Consulte el anexo para ver ejemplos y referencias.

MARCAS COMERCIALES

Beckman Coulter, el logotipo estilizado y las marcas de productos y servicios de Beckman Coulter aquí mencionadas son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de Beckman Coulter, Inc. en Estados Unidos y otros países.

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para pacientes/usuarios/terceros de la Unión Europea y países con el mismo régimen normativo (Reglamento 2017/746/UE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro); si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produjese un incidente grave, informe al fabricante y/o a su representante autorizado y a la autoridad nacional.

El Summary of Safety and Performance (Resumen de seguridad y rendimiento) está disponible en la base de datos EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIAL DE REVISIONES

REVISIÓN AE:	Fecha de publicación: Octubre de 2019

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AW	Mayo de 2022
Actualizaciones para cumplir con la política de etiquetado global de Beckman Coulter y conforme a los requisitos del Reglamento (UE)2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro:	
Se han añadido secciones	Número BSI 2797, Usuario previsto, Rendimiento clínico, Concentración, Precisión, Exactitud, Límite de blanco y límite de detección, Información adicional, Historial de revisiones.
Información añadida	Véase la sección Limitaciones
Actualizaciones de redacción y tipográficas	Véanse las secciones Procedimiento, Rendimiento, Limitaciones, Advertencias y precauciones, Conservación y Estabilidad.
Se han eliminado secciones	Ejemplo de aplicaciones clínicas, Reactivos, Reproducibilidad intralaboratorio, Linealidad
Se han actualizado las secciones	Uso previsto, Clasificación de material peligroso según el SGA, Signos de deterioro, Procedimiento, Anexo.

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AX	Marzo 2023
Se han actualizado las secciones	Añadir kazajo
Se han actualizado las secciones	Conservación y Estabilidad

Versión revisada	AY
Fecha de revisión	Mayo 2024
Traducciones actualizadas	**Relevancia clínica:**
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Versión revisada	AZ
Fecha de revisión	Julio 2024
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Lista de símbolos

El glosario de símbolos está disponible en beckman.com/techdocs (número de documento B60062)

	Especificações
Especificidade	TCR γ/δ
Clone	IMMU510
Hibridoma	X63 x balb/c
Imunogénio	Soluble γ/δ receptor
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Rato
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	Fluorescein isothiocyanate
Razão molar	FITC/Ig: 4 - 6,5
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	525 nm
Tampão	PBS com pH 7,2 mais 2 mg/mL de ASB e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 testes; 1 mL, 20 µL/teste

Para fins de diagnóstico *in vitro.*

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Este anticorpo conjugado com fluorocromos permite a identificação qualitativa e não automatizada de populações de células que expressam o antigénio TCR γ/δ presente em amostras biológicas humanas utilizando citometria de fluxo (consulte a secção «Amostras» abaixo).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade de os anticorpos monoclonais específicos se ligarem aos determinantes antigénicos expressados por leucócitos.

A coloração específica dos leucócitos é realizada incubando a amostra com o reagente IOTest. Em seguida, os glóbulos vermelhos são removidos por lise e os leucócitos, que não são afetados por este processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citómetro de fluxo mede a difusão de luz e a fluorescência das células. Permite delimitar a população de interesse dentro da janela eletrónica definida num histograma que correlaciona a difusão ortogonal de luz (dispersão lateral ou DL) e a difusão de luz em ângulos estreitos (dispersão frontal ou DF). É possível utilizar outros histogramas que combinam dois dos vários parâmetros disponíveis no citómetro como suporte na fase de delimitação, consoante a aplicação escolhida pelo utilizador.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são apresentados como uma percentagem de eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos por meio da delimitação.

UTILIZADOR PREVISTO

Este produto destina-se a ser utilizado por profissionais de laboratório.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O Anti-TCR PAN γ/δ-FITC é um anticorpo Anti-TCR PAN γ/δ utilizado para identificar e caracterizar células que expressam o antigénio TCR γ/δ por citometria de fluxo. Este produto, por si só, não pode e não se destina a gerar qualquer conclusão de diagnóstico.

Quando utilizado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser utilizado numa ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com alterações hematológicas, suspeitos de padecerem de neoplasia hematopoiética, e para monitorizar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.
- Para monitorizar pacientes com disfunção ou doença autoimune conhecida.

Consulte as seguintes referências:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

AMOSTRAS

O sangue venoso deve ser recolhido utilizando tubos estéreis que contenham um sal de AEDT como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas à temperatura ambiente (18–25 °C) e não devem ser agitadas. As amostras devem ser homogeneizadas, agitando-as levemente, antes de a amostra de teste ser retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a punção venosa.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o Certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não utilize o reagente depois da data de validade.
2. Não congele.
3. Aguarde que fique à temperatura ambiente (18–25 °C) antes da utilização.
4. Evite a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, caso contrário, poderão ocorrer falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos que contêm azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não ingira e evite qualquer contacto com a pele, as mucosas e os olhos.

Adicionalmente, num meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazóico potencialmente perigoso. Se a sua eliminação for necessária, é recomendável que o reagente seja diluído num grande volume de água antes de ser vertido no sistema de drenagem, para evitar a acumulação de azida sódica em tubos metálicos e prevenir o risco de explosão.

7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas potencialmente infeciosas e manuseadas com cuidado (em especial, devem ser usados óculos, batas e luvas de proteção).
8. Nunca pipete com a boca e evite qualquer contacto das amostras com a pele, as mucosas e os olhos.
9. Os tubos de sangue e os materiais descartáveis utilizados para manuseamento devem ser eliminados em recipientes específicos destinados a incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Ficha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido a uma temperatura entre 2 e 8 °C e protegido da luz, antes e após a abertura do frasco.

Vida útil em frasco fechado para estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente permanece estável durante 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DEGRADAÇÃO

Uma alteração no aspeto físico dos reagentes poderá indicar deterioração, pelo que o reagente não deve ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, contacte a assistência ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou contacte o seu representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em sistemas de canalizações metálicas. Consulte o boletim do NIOSH: Explosive Azide Hazards (Perigos de explosão da azida) (16-8-76).
Para evitar a possível acumulação de compostos de azida, enxague as condutas de resíduos com água após a eliminação do reagente não diluído. A eliminação de azida sódica deve ser efetuada de acordo com os regulamentos locais adequados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostras e materiais necessários para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 20, 100 e 500 µL.
- Tubos de plástico para hemólise.
- Reagente de lise de glóbulos vermelhos com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controlo de isotipo FITC de : reagente IOTest (Ref. A07795).
- Tampão (PBS: 0,01 M de fosfato de sódio; 0,145 M de cloreto de sódio; pH 7,2).
- Centrifugue.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM REAGENTE VERSALYSE

Além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controlo a cada amostra analisada, no qual as células são misturadas na presença do controlo de isotipo (Ref. A07795).

1. Adicione 20 µL de anticorpo conjugado com IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 20 µL dos controlos de isotipo a cada tubo de controlo.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos à temperatura ambiente (18–25 °C), protegido da luz.
4. Em seguida, realize a lise dos glóbulos vermelhos. Consulte o folheto VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento denominado «with concomitant fixation» (com fixação concomitante) que consiste em adicionar 1 mL da mistura de «Fixação e lise» preparada extemporaneamente. Agite imediatamente em vórtex durante um segundo e incube durante 10 minutos à temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g à temperatura ambiente.
6. Remova o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular com 3 mL de PBS.
8. Repita o passo 5.
9. Remova o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular com o seguinte:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído se as preparações se destinarem a ser mantidas por menos de 24 horas. (É possível obter PBS com 0,1% de formaldeído diluindo 12,5 µL de solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na respetiva concentração de 10X em 1 mL de SSTF).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído se as preparações se destinarem a ser analisadas no prazo de 2 horas.

Nota: Mantenha sempre as preparações entre 2 e 8 °C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Nos nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 dadores aparentemente saudáveis foram tratadas utilizando o reagente anteriormente descrito e um reagente de delimitação. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos de interesse positivos com este reagente são fornecidos na tabela abaixo:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP	CV (%)
Linfócitos CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Estes valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores esperados a partir da população local de dadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos utilizando o procedimento descrito acima, assim como um reagente de delimitação, em amostras de sangue colhidas há menos de 24 horas em tubos de amostra estéreis com sal de AEDT como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

O TCR é um complexo molecular que engloba duas unidades: uma unidade de reconhecimento, composta por heterodímeros alfa-beta ou gama-delta, presentes na superfície celular num modo mutualmente exclusivo e uma unidade de transdução, o complexo CD3, comum aos heterodímeros alfa-beta e gama-delta, que ativa a célula T quando a unidade de reconhecimento é ocupada pelo antigénio. A unidade de reconhecimento reconhece antigénios estranhos e a diversidade necessária para esta função de reconhecimento é gerada através de recombinação somática dos genes TCR (11, 12, 13).

Existem quatro loci do gene TCR (alfa, beta, gama e delta). Cada um destes é composto por vários segmentos V (variável), codificação para cerca de 90 aminácidos, segmentos D (diversidade) muito curtos (apenas loci α e delta) e segmentos J (junção) curtos (cerca de 15 aminoácidos) e um ou dois segmentos C (constantes) (14, 15). A maioria das células T expressa a proteína TCR (recetor celular T) alfa/beta e uma pequena população de células T expressa a TCR gama/delta que normalmente possui um fenótipo duplamente negativo (CD4/CD8).

As células T gama/delta são normalmente a primeira linha de defesa nas superfícies epidérmica e epitelial e representam 10–12% dos linfócitos no baço (16). O IMMU 510 reconhece todas as células T gama/delta, independentemente dos genes variáveis ou das regiões de junção que expressam, conforme avaliado pelos estudos por imunofluorescência de fluxo realizados em linhas de células T gama/delta policlonais e clones de células T gama/delta (17, 18, 19, 20, 21).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados utilizando sangue total. Cada amostra foi executada quatro vezes, duas vezes ao dia, durante um dia, em dois instrumentos, utilizando dois lotes de reagentes de anticorpos monoclonais Anti-TCR PAN γ/δ-FITC. As medições (% de positivos) foram realizadas no citómetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação do desempenho de precisão dos métodos de medição quantitativos).

Os nossos critérios de aceitação estão dependentes do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Em caso de eventos positivos <1500, CV <15%
- Em caso de eventos positivos >1500, CV <10%

Linfócitos CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Número de eventos positivos (média) = 961							
	Interoperador	Intercitómetro	Intralote	Interlote	Interprocessamento	Intraprocessamento	Total
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do Anti-TCR PAN γ/δ-FITC foi avaliada através da comparação dos resultados com um reagente de referência, como o equivalente num conjunto de amostras de sangue total executadas num citómetro de fluxo Navios. A tendência entre o teste e o reagente de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados do teste. Se a tendência se encontrar dentro do intervalo de erro permitido ou o valor p não indicar uma diferença significativa (>0,05), os resultados do teste de ambos os reagentes são considerados equivalentes.

Os resultados obtidos encontram-se resumidos na tabela abaixo:

Número de dadores = 25				
Alvo positivo	Δ médio	Critérios celulares de % Δ	Valor p	RESULTADOS
Linfócitos CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

LIMITE DO BRANCO E LIMITE DE DETEÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com o CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de deteção para procedimentos de medição em laboratórios clínicos). O Limite de deteção (LD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detetada consistentemente. Os resultados obtidos são resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite do branco (célula/µL)	Limite de deteção (célula/µL)
Linfócitos CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo poderá produzir falsos resultados se o citómetro não tiver sido perfeitamente alinhado, se as fugas de fluorescência não tiverem sido compensadas corretamente e se as regiões não tiverem sido cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível utilizar uma técnica de lise de RBC com um passo de lavagem, uma vez que este reagente não foi otimizado para técnicas de lise «sem lavagem».

3. Serão obtidos resultados exatos e reprodutíveis desde que os procedimentos utilizados estejam de acordo com o folheto técnico e cumpram as boas práticas laboratoriais.
4. O anticorpo conjugado deste reagente é calibrado para proporcionar a melhor relação entre sinal específico/sinal não específico. Por conseguinte, é importante respeitar a relação entre volume do reagente/volume da amostra em todos os testes.
5. No caso de uma hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (22).
6. Em determinados estados de doença, como insuficiência renal grave ou hemoglobinopatias, a lise de glóbulos vermelhos poderá ser lenta, incompleta ou até impossível. Neste caso, recomenda-se isolar células mononucleadas utilizando um gradiente de densidade (por exemplo, Ficoll) antes da coloração (23).
7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a deteção dos antigénios específicos visados pode ser reduzida ou inexistente devido ao bloqueio parcial ou total causado pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de Anti-TCR PAN γ/δ-FITC devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo sintomas, historial clínico, dados de testes adicionais e outras informações relevantes.

Consulte o Anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logótipo estilizado e as marcas de produtos e serviços da Beckman Coulter mencionadas neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e noutros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/utilizador/terceiro na União Europeia e em países com um regime regulamentar idêntico (Regulamento 2017/746/UE relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico in vitro): se, durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, ocorrer um incidente grave, comunique-o ao fabricante e/ou ao respetivo representante autorizado e à autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível a partir da base de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÕES

REVISÃO AE:	Data de lançamento: Outubro de 2019

REVISÃO	**Data de lançamento**
AW	Maio de 2022
Atualizações no sentido de cumprir a política de rotulagem da Beckman Coulter Global e os requisitos do regulamento IVD-R (UE)2017/746:	
Secções adicionadas	Número BSI 2797, Utilizador previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite do branco e limite de deteção, Informações adicionais, Histórico de revisões.
Informações adicionadas	Consulte as secções Limitações
Atualizações à fraseologia ou tipografia	Consulte as secções Procedimento, Realização, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Secções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Secções atualizadas	Utilização prevista, Classificação de perigo GHS, Indícios de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de lançamento**
AX	Março 2023
Secções atualizadas	Adicionar cazaque
Secções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revista	AY
Data de revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Versão revista	AZ
Data de revisão	Julho 2024
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (número do documento B60062)

	Specifikationer
Specificitet	TCR γ/δ
Klon	IMMU510
Hybridom	X63 x balb/c
Immunogen	Soluble γ/δ receptor
Immunoglobulin	IgG1
Arter	Mus
Oprensning	Affinitets-kromatografi
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate
Molarforhold	FITC/Ig: 4 - 6,5
λ-magnetisering	488 nm
Emissionsspids	525 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA og 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugeret antistof
Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 tests; 1 mL, 20 µL/test

Til *in vitro* diagnostisk brug.

TILSIGTET BRUG

Dette fluorokromkonjugerede antistof muliggør, ved hjælp af flowcytometri, kvalitativ og ikke-automatiseret identifikation af cellepopulationer, der udtrykker TCR γ/δ-antigenet, som findes i humane biologiske prøver (se afsnittet ”Prøver” forneden).

PRINCIP

Denne test er baseret på specifikke monoklonale antistoffers evne til at binde sig til de antigene determinanter, der udtrykkes af leukocytter.

Den specifikke farvning af leukocytterne udføres ved inkubation af prøven med IOTest-reagenset. Erytrocytterne fjernes derefter med lysering, og leukocytterne, som ikke påvirkes af denne proces, analyseres ved flowcytometri.

Flowcytometeret måler lysets diffusion og cellernes fluorescens. Dette gør det muligt at afgrænse interessepopulationen inden for det elektroniske vindue, der defineres på et histogram, som korrelerer den ortogonale diffusion af lys (Side Scatter (sidespredning) eller SS) og diffusionen af lys med en snæver vinkel (Forward Scatter (forlæns spredning) eller FS). Andre histogrammer, der kombinerer to af de forskellige parametre, der er til rådighed på cytometret, kan benyttes som støtte under gating-trinnet, afhængig af den af brugeren valgte applikation.

De afgrænsede cellers fluorescens analyseres med henblik på at kunne skelne de positive farvningshændelser fra de ufarvede. Resultaterne udtrykkes som en procentdel af positive hændelser i relation til alle de hændelser, som erhverves ved gatingen.

TILSIGTET BRUGER

Dette produkt er beregnet til professionel brug i laboratoriet.

KLINISK RELEVANS

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC er et Anti-TCR PAN γ/δ-antistof, der anvendes til at identificere og karakterisere celler, der udtrykker TCR γ/δ-antigenet ved flowcytometri. Dette produkt, anvendt alene, kan ikke og er ikke beregnet til at generere nogen diagnostisk konklusion.

Anvendt i kombination med andre markører kan dette produkt benyttes i en eller flere af følgende funktioner:

- Til hjælp ved differentialdiagnosticering af hæmatologisk unormale patienter ved formodning om hæmatopoietisk neoplasme, samt til overvågning af patienter med kendt hæmatopoietisk neoplasme.
- Til overvågning af patienter med kendte autoimmune sygdomme eller lidelser.

Se følgende referencer:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PRØVER

Prøver af venøst blod skal udtages i sterile prøverør, der indeholder et EDTA-salt som antikoagulant.

Prøverne skal opbevares ved stuetemperatur (18-25 °C) og må ikke rystes. Prøverne skal homogeniseres ved forsigtig omrysten før udtagning af analyseprøven.

Prøverne skal behandles inden for 24 timer efter venepunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analysecertifikat på www.beckman.com.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Brug ikke reagenset efter udløbsdatoen.
2. Må ikke nedfryses.
3. Bring det til stuetemperatur (18-25 °C) før brug.
4. Minimér eksponering for lys.
5. Undgå mikrobiel kontaminering reagenserne, idet det kan føre til fejlagtige resultater.
6. Antistofopløsninger, der indeholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsigtighed. Må ikke indtages, og undgå enhver kontakt med hud, slimhinder og øjne.

I syremedier kan natriumazid desuden danne den potentielt farlige hydrogenazid. Hvis det skal bortskaffes, anbefales det, at reagenset fortyndes i en stor mængde vand, inden det hældes i kloakken, for at undgå ophobning af natriumazid i metalrør og dermed forebygge risikoen for eksplosioner.

7. Alle blodprøver skal anses som potentielt smittefarlige og skal behandles forsigtigt (husk især at bruge beskyttelseshandsker, forklæde og beskyttelsesbriller).
8. Sug aldrig med munden, og undgå at prøverne kommer i kontakt med hud, slimhinde og øjne.
9. Blodprøvetagningsrør og engangsmateriale, der bruges i forbindelse med håndteringen, skal bortskaffes i ad hoc-beholdere, der er beregnet til bortskaffelse.
10. Reagenser og affald skal bortskaffes i henhold til gældende lokale krav.

GHS FAREKLASSIFIKATION

Ikke klassificeret som farlig

SDS Sikkerhedsdatablad er tilgængelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Dette reagens skal opbevares ved mellem 2 og 8 °C og beskyttes mod lys før og efter, at hætteglasset er åbnet.

Stabilitet i lukket hætteglas: 1095 dage.

Stabilitet i åbent hætteglas: Reagenset er stabilt i 180 dage.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Ændringer i den måde, reagenset ser ud på, kan være tegn på forringelse, og reagenset må ikke anvendes.

Ring til Beckman Coulters kundeservice på 800-742-2345 (USA eller Canada), eller kontakt den lokale Beckman Coulter-repræsentant for at få flere oplysninger, eller hvis du modtager et beskadiget produkt.

INDHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive forbindelser i drænledninger af metal. Se NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (Fare for eksplosiv azid). For at undgå en eventuel akkumulering af azidforbindelser, skylles afløbsrør med vand efter bortskaffelse af ufortyndet reagens. Natriumazid skal bortskaffes i overensstemmelse med relevante lokale forskrifter.

PÅKRÆVEDE MATERIALER, SOM IKKE LEVERES MED SÆT:

- Prøvetagningsrør og materiale, der er påkrævet til prøvetagning.
- Automatiske pipetter med engangsspidser til 20, 100 og 500 µL.
- Plasthæmolyserør.
- Reagens til lysering af erytrocytter med vaskefase efter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens til leukocytfiksering. For eksempel: IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800).
- IsotypekontrolFITC: IOTest-reagens (ref. A07795).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumphosphat; 0,145 M natriumchlorid; pH 7,2).
- Centrifuge
- Automatisk omrører (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MED VERSALYSE-REAGENS

Der kan tilføjes et kontrolrør for hvert prøverør, der analyseres, hvormed cellerne blandes under isotype-kontrollerne (ref. A07795).

1. Tilføj 20 µL specifikt IOTest-konjugeret antistof til hvert prøverør og, om nødvendigt, 20 µL negativ kontrol til hvert kontrolprøverør.
2. Tilføj 100 µL af prøven til hvert prøverør. Vortex rørene forsigtigt.
3. Inkubér i 15 til 20 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C), beskyttet mod lys.
4. Udfør derefter analyse af de røde celler. Se brochure fra VersaLyse (ref. A09777) og følg den foretrukne procedure kaldet “med sideløbende fiksering”, som består i at tilsætte 1 mL af blandingen “Fix-and-Lyse”, der fremstilles samtidig. Vortex øjeblikkeligt i et sekund, og inkubér i 10 minutter ved stuetemperatur, beskyttet imod lys.
5. Centrifugér i 5 minutter ved 150 x g ved stuetemperatur.
6. Fjern supernatanten via aspiration.
7. Resuspender cellepelleten med 3 mL PBS.
8. Gentag trin 5.
9. Fjern supernatanten vha. aspiration, og resuspender cellepelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyd, hvis præparaterne skal opbevares mindre end 24 timer. (En formaldehyd-PBS på 0,1% kan opnås ved fortynding af 12,5 µL af IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800) ved dets 10X koncentration i 1 mL af PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uden formaldehyd, hvis præparaterne skal analyseres inden for 2 timer.

Bemærk: Præparaterne skal under alle omstændigheder beskyttes mod lys og opbevares ved 2-8 °C.

FORVENTEDE VÆRDIER

I vores laboratorier blev fuldblodsprøver fra 25 umiddelbart raske donorer behandlet med det ovenfor beskrevne reagens og et gating-reagens. De opnåede resultater for optælling af relevante positive hændelser med dette reagens er angivet i nedenstående tabel:

Positivt mål	Antal	Middelværdi (%)	SD	CV (%)
Lymfocytter CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Disse værdier er beregnet til kun at være repræsentative. Hvert laboratorium bør fastlægge deres egne forventede værdier fra den lokale population af raske donorer.

YDEEVNE

Præstationsdata opnås, når proceduren beskrevet foroven og et gating-reagens anvendes på mindre end 24 timer gamle blodprøver, tidligere indsamlet i sterile prøverør med EDTA-salt som antikoagulant. Analyse skal udføres senest 2 timer efter immunfarvning.

SPECIFICITET

TCR er et molekylært kompleks, der består af to enheder: en genkendelsesenhed, der består af enten alfa-beta- eller gamma-delta-heterodimer, og som findes på celleoverfladen under gensidigt udelukkende omstændigheder, samt en omformningsenhed, CD3-komplekset, som er almindeligt forekommende i alfa-beta- og gamma-delta-heterodimer, og som udløser T-cellen, når genkendelsesenheden okkuperes af antigenet. Genkendelsesenheden genkender fremmede antigener, og den diversitet, der er nødvendig for genkendelsesfunktionen, genereres vha. somatisk genkombinering af TCR-generne (11, 12, 13).

Der findes fire TCR-genloci (alfa, beta, gamma og delta). Hvert af disse består af flere V-segmenter (variable), kodning til cirka 90 aminosyrer, meget korte D-segmenter (diversitet) (kun α- og delta-loci) korte J-segmenter (forbindelse) (cirka 15 aminosyrer) samt en eller to C-segmenter (konstant) (14, 15). De fleste af T-cellerne udtrykker alfa/beta- TCR-proteinet (T-cellereceptor), og en lille population af T-celler udtrykker gamma/delta-TCR, hvilket normalt har en dobbelt negativ fænotype (CD4/CD8).

Gamma/delta-T-celler er normalt det første forsvarsværn på epidermal- og epitheloverflader, og de udgør 10-12% af lymfocytterne i milten (16). IMMU 510 genkender alle gamma/delta-T-cellerne, uanset hvilke variable gener eller forbindelsesområder de udtrykker, i overensstemmelse med vurderingen i flowimmunofluorescensstudier på polyklonale gamma/delta-T-cellelinjer samt gamma/delta-T-cellekloner (17, 18, 19, 20, 21).

PRÆCISION

De procentvise positive værdier blev bestemt ved anvendelse af fuldblod. Hver prøve blev kørt 4 gange, to gange dagligt i 1 dag, på 2 instrumenter med Anti-TCR PAN γ/δ-FITC monoklonale antistofreagenser fra 2 lot. Målingerne (% positive) blev foretaget på Navios-flowcytometer. Analysen blev udført i henhold til CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering af kvantitative målemetoders præcisionsevne).

Vores acceptkriterier afhænger af antallet af positive hændelser målt for hver population:

- Hvis positiv hændelse < 1500, CV < 15%
- Hvis positiv hændelse > 1500, CV < 10%

Lymfocytter CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Antal positive hændelser (middelværdi) = 961							
	Inter-operatør	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-kørsel	Intra-kørsel	I alt
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØJAGTIGHED

Nøjagtigheden af Anti-TCR PAN γ/δ-FITC blev vurderet ved sammenligning af resultaterne med et referencereagens som prædikat på et sæt fuldblodsprøver kørt på et Navios-flowcytometer. Bias mellem test- og referencereagens blev bestemt på basis af forskellen mellem testresultaterne. Hvis bias er inden for den tilladte fejlmargin, eller hvis p-værdien ikke indikerer nogen signifikant forskel (> 0,05), anses testresultaterne for de to reagenser for at være ækvivalente.

De opnåede resultater opsummeres i nedenstående tabel:

Antal donorer = 25				
Positivt mål	Middelværdi Δ	Δ % cellekriterie	p-værdi	RESULTATER
Lymfocytter CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

GRÆNSE FOR BLANK OG DETEKTIONSGRÆNSE

En undersøgelse blev gennemført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering af detektionsevne for kliniske laboratoriemåleprocedurer). Detektionsgrænsen (LOD) er den laveste koncentration af analyt, der kan detekteres konsekvent. De opnåede resultater er opsummeret i nedenstående tabel:

Positive Target	Grænse for blank (celle/µL)	Detektionsgrænse (celle/µL)
Lymfocytter CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

BEGRÆNSNINGER

1. Flowcytometri kan give forkerte resultater, hvis cytometeret ikke er perfekt justeret, hvis der ikke er blevet kompenseret korrekt for fluorescenslækager, eller hvis områderne ikke er blevet placeret omhyggeligt.
2. Det anbefales at anvende en RBC-lyseringsteknik med et vasketrin, da dette reagens ikke er blevet optimeret til ”no wash”-lyseringsteknikker.
3. Der genereres nøjagtige og reproducerbare resultater, så længe de anvendte procedurer er i overensstemmelse med de tekniske anvisninger på indlæsgssedlen og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerede antistof for dette reagens kalibreres for at kunne tilbyde det bedste specifikke forhold mellem signal/ikke-specifikt signal. Det er derfor vigtigt at overholde forholdet mellem reagensvolumen og prøvevolumen i hver enkelt test.
5. I tilfælde af en hyperleukocytose skal blodet fortyndes i PBS for at opnå en værdi på ca. 5×10^9 leukocytter/L (22).
6. I visse sygdomstilstande, f.eks. alvorligt nyresvigt eller hæmoglobinopatier, kan lysering af røde celler være langsom, ufuldstændig eller endog umulig. I dette tilfælde anbefales det at isolere enkernede celler ved hjælp af en densitetsgradient (f.eks. Ficoll) forud for farvningen (23).

7. Hos patienter behandlet med anti-humane monoklonale antistofterapier, kan påvisning af de respektive specifikke antigener være formindsket eller fraværende, på grund af delvis eller fuldstændig blokering af det terapeutiske antistof.
8. Anti-TCR PAN γ/δ-FITC-resultaterne bør fortolkes i lyset af patientens samlede kliniske præsentation, herunder symptomer, sygehistorie, data fra andre tests samt anden relevant information.

Se Tillæg for eksempler og referencer.

VAREMÆRKER

Beckman Coulter, det stiliserede logo og de Beckman Coulter produkt- og servicemærker, der er omtalt heri, er varemærker eller registrerede varemærker tilhørende Beckman Coulter, Inc. i USA og andre lande.

YDERLIGERE OPLYSNINGER

For en patient/bruger/tredjepart i Den Europæiske Union og i lande med identisk lovgivningsmæssig reguleringsordning (forordning 2017/746/EU om medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik); hvis der er sket en alvorlig hændelse under brugen af dette apparat eller som et resultat af dens anvendelse, skal du rapportere den til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og til din nationale myndighed.

Summary of Safety and Performance (Sammenfatning af Sikkerhed og Ydeevne) er tilgængeligt fra EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVISION AE:	Frigivelsesdato: Oktober 2019

REVISION	**Udgivelsesdato**
AW	Maj 2022
Opdateringer for at sikre overholdelse af Beckman Coulters globale mærkningspolitik og overensstemmelse med IVD-R (EU)2017/746:	
Tilføjede afsnit	BSI 2797-nummer, Tilsigtet bruger, Klinisk relevans, Koncentration, Præcision, Nøjagtighed, Grænse for blank og detektionsgrænse, Yderligere oplysninger, Revisionshistorik.
Tilføjet information	Se afsnittet Begrænsninger
Opdatering af formulering eller typografi	Se afsnittene Procedure, Præstation, Begrænsninger, Advarsel og forholdsregler, Opbevaring og Holdbarhed.
Fjernede afsnit	Eksempel på klinisk anvendelse, Reagenser, Intra-laboratorie reproducerbarhed, Linearitet
Opdaterede afsnit	Tilsigtet brug, GHS-fareklassifikation, Tegn på forringelse, Procedure, Tillæg.

REVISION	**Udgivelsesdato**
AX	Marts 2023
Opdaterede afsnit	Kasakhisk er blevet tilføjet
Opdaterede afsnit	Opbevaring og holdbarhed

Revideret version	AY
Revisionsdato	Maj 2024
Opdaterede oversættelser	**Klinisk relevans:**
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Revideret version	AZ
Revisionsdato	Juli 2024
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Symbolnøgle

En ordliste over symboler findes på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Specifikationer
Specificitet	TCR γ/δ
Klon	IMMU510
Hybridom	X63 x balb/c
Immunogen	Soluble γ/δ receptor
Immunglobulin	IgG1
Arter	Mus
Rening	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate
Molförhållande	FITC/Ig: 4 - 6,5
λ excitering	488 nm
Emissionstopp	525 nm
Buffert	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA och 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugerad antikropp Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 tester, 1 mL, 20 µL/test

För *in vitro* diagnostiskt bruk.

AVSEDD ANVÄNDNING

Denna fluorokromkonjugerade antikropp möjliggör kvalitativ och ej automatiserad identifiering av cellpopulationer som uttrycker TCR γ/δ-antigenet som förekommer i humana biologiska prover med användning av flödescytometri (se avsnittet ”Prov” nedan).

PRINCIP

Detta test är baserat på förmågan hos specifika monoklonala antikroppar att bindas till de antigena determinanter som uttrycks av leukocyter.

Specifik färgning av leukocyterna utförs genom att inkubera provet med IOTest-reagenset. De röda cellerna avlägsnas sedan via lysering och leukocyterna, som inte påverkas av denna process, analyseras med flödescytometri.

Flödescytometern mäter ljusdiffusion och fluorescens av celler. Det möjliggör avgränsningen av populationen av intresse i det elektroniska fönstret definierat i ett histogram, som korrelerar den rätvinkliga ljusspridningen (sidospridning eller SS) och spridningen av snävt ljus (framåtspridning eller FS). Andra histogram som kombinerar två av de tillgängliga parametrarna på cytometern, kan användas som stöd i gating-skedet beroende på tillämpningen som användaren har valt.

Fluorescensen av de begränsade cellerna analyseras för att skilja ut positivt färgade händelser från ofärgade händelser. Resultaten uttrycks som en procentandel av positiva händelser i relation till alla händelser som samlats in med hjälp av gating.

AVSEDD ANVÄNDARE

Denna produkt är avsedd för yrkesmässig laboratorieanvändning.

KLINISK RELEVANS

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC är en Anti-TCR PAN γ/δ-antikropp som används för att identifiera och egenskapsbestämma celler som uttrycker TCR γ/δ-antigenen med hjälp av flödescytometri. Denna produkt kan inte och är inte avsedd för att ta fram en diagnostisk slutsats.

Vid användning i kombination med andra markörer kan denna produkt användas i en eller flera av följande funktioner:

- Som hjälp vid differentialdiagnostisering av hematologiskt onormala patienter som misstänks ha en hematopoetisk tumör eller för övervakning av patienter med känd hematopoetisk tumör.
- För övervakning av patienter med känd autoimmun sjukdom eller störning.

Se följande referenser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROV

Venblod måste tas i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant.

Proverna bör förvaras i rumstemperatur (18–25 °C) och inte skakas. Prover bör vara homogeniserade genom försiktig omrörning innan provet tas.

Proverna måste analyseras inom 24 timmar efter venpunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analyscertifikat på www.beckman.com.

VARNING OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Använd inte reagenset efter utgångsdatumet.
2. Får ej frysas.
3. Låt den komma till rumstemperatur (18–25 °C) före användning.
4. Minimera exponering för ljus.
5. Undvik mikrobiell kontaminering av reagens. Det kan leda till felaktiga resultat.
6. Antikroppslösningar som innehåller natriumazid (NaN_3) bör hanteras med försiktighet. Inta inte internt och undvik all kontakt med hud, slemhinnor och ögon.

I syramedium kan natriumazid dessutom bilda potentiellt farlig hydrazinsyra. Om reagensen måste kasseras rekommenderar vi att den späds ut med en stor volym vatten innan den hälls ut i avloppssystemet för att undvika explosionsrisk och att natriumazid ackumuleras i metallrören.

7. Alla blodprover måste betraktas som potentiellt smittsamma och ska hanteras med försiktighet (i synnerhet vad gäller användande av skyddshandskar, rockar och skyddsglasögon).
8. Pipettera aldrig med munnen och se till att proverna inte kommer i kontakt med hud, slemhinnor och ögon.
9. Blodprovsrör och engångsmaterial som används för hantering ska kasseras i särskilda behållare avsedda för förbränning.
10. Reagens och avfall ska kasseras i enlighet med lokala krav.

RISKKLASSIFICERING ENLIGT GHS

Ej klassat som farligt

SDS Säkerhetsdatablad finns tillgängligt på beckmancoulter.com/techdocs

FÖRVARING OCH STABILITET

Detta reagens måste hållas mellan 2 och 8 °C och skyddas mot ljus, före och efter att ampullen öppnats.

Hållbarhet för sluten ampull per stabilitetsstudie: 1095 dagar.

Stabilitet i öppen ampull: reagenset är stabilt i 180 dagar.

TECKEN PÅ FÖRSÄMRING

Alla förändringar i reagensens fysiska utseende kan indikera försämring och att reagenset inte ska användas.

För mer information eller om en skadad produkt tas emot, ring Beckman Coulter kundtjänst på 800-742-2345 (USA eller Kanada) eller kontakta din lokala Beckman Coulter-representant.

INNEHÅLL

Konserveringsmedlet natriumazid kan bilda explosiva föreningar i avloppsledningar av metall. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (76-8-16) (Bulletin från den amerikanska motsvarigheten till arbetsmiljöverket: Fara för azidexplosion).
För att undvika risken för ansamling av azidföreningar ska avloppsrören spolas igenom med vatten efter att outspädda reagenser har kasserats. Kassering av natriumazid måste ske i enlighet med tillämpliga lokala regler.

MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE FÖLJER MED KITET:

- Provrör och nödvändigt material för provtagning.
- Automatiska pipetter med engångsspetsar för 20, 100 och 500 µL.
- Hemolysrör av plast.
- Lyseringsreagens för röda blodceller med tvätt efter lyseringen. Till exempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens för leukocytfixering. Till exempel: IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800).
- Isotyp-kontroll FITC: IOTest-reagens (ref. A07795).
- Buffert (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Centrifugera.
- Automatisk omrörare (Vortex-typ).
- Flödescytometer.

PROCEDUR MED VERSALYSE-REAGENS

För varje analyserat prov kan förutom provröret ett kontrollprovrör läggas till i vilket cellerna blandas i närvaro av isotypkontrollerna (ref. A07795).

1. Tillsätt 20 µL av specifik IOTest-konjugerad antikropp till varje provrör och vid behov 20 µL av isotypkontroll till varje kontrollprovrör.
2. Tillsätt 100 µL av testprovet i varje provrör. Vortexblanda provrören försiktigt.
3. Inkubera i 15 till 20 minuter vid rumstemperatur (18–25 °C) och skyddat mot ljus.
4. Utför sedan lysering av de röda blodkropparna. Se bladet VersaLyse (ref. A09777) och följ företrädesvis proceduren som benämns ”med samtidig fixering”, som består av att tillsätta 1 mL av ”Fixera-och-lysera”-blandningen som beretts strax innan. Vortexblanda omedelbart i en sekund och inkubera i 10 minuter vid rumstemperatur och skyddat mot ljus.
5. Centrifugera i 5 minuter vid 150 x g vid rumstemperatur.
6. Avlägsna ytskiktet genom aspiration.
7. Återsuspendera cellpelleten med 3 mL PBS.
8. Upprepa steg 5.
9. Avlägsna ytskiktet genom aspiration och återsuspendera cellpelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL av PBS plus 0,1 % formaldehyd om preparaten är avsedda att förvaras mindre än 24 timmar. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan erhållas genom spädning av 12,5 µL av IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800) i dess 10X-koncentration i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS utan formaldehyd, om preparaten är avsedda att analyseras inom 2 timmar.

Anmärkning: Behåll i samtliga fall beredningarna vid 2 till 8 °C och skyddade från ljus.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

I våra laboratorier behandlades helblodsproverna för 25 till synes friska donatorer med reagensen som beskrivs ovan samt en gating-reagens. Erhållna resultat för antalet positiva händelser av intresse med denna reagens anges i tabellen nedan:

Positivt mål	Nummer	Medelvärde (%)	SD	CV (%)
Lymfocyter CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Dessa värden är endast avsedda att vara representativa. Varje laboratorium ska fastställa sina egna förväntade värden utifrån den lokala populationen med normala donatorer.

PRESTANDA

Data om prestanda erhålls via proceduren som beskrivs ovan samt en gating-reagens på blodprover som är mindre än 24 timmar gamla och som tidigare har samlats in i sterila rör med EDTA-salt som antikoagulant. Analys utförs inom 2 timmar efter immunfärgning.

SPECIFICITET

TCR är ett molekylkomplex bestående av två enheter: en igenkänningsenhet, som utgörs av antingen en alfa-beta- eller gamma-delta-heterodimer, vilka förekommer på cellytan på ett ömsesidigt uteslutande sätt, och en transducing-enhet, CD3-komplexet, som är gemensam för alfa-beta- och gamma-delta-heterodimerer, och som triggar T-cellen när igenkänningsenheten binder till antigenet. Igenkänningsenheten igenkänner främmande antigener och den mångfald som krävs för denna igenkänningsfunktion skapas genom somatisk rekombination av TCR-generna (11, 12, 13).

Det finns fyra TCR-genlokus (alfa, beta, gamma och delta). Vart och ett av dem består av flera V (variabla) segment, som kodar för cirka 90 aminosyror, mycket korta D (diversity)-segment (endast α- och deltalokus), och korta J (joining)-segment (omkring 15 aminosyror) samt ett eller två C (constant)-segment (14, 15). Flertalet T-celler uttrycker alfa/beta TCR (T-cellreceptor)-proteinet och en liten population av T-celler uttrycker gamma/delta-TCR, som vanligtvis har en dubbel negativ (CD4/CD8) fenotyp.

Gamma/delta-T-celler är normalt den första försvarslinjen på epidermala och epiteliala ytor och de utgör 10–12 % av lymfocyterna i mjälten (16). IMMU 510 igenkänner alla gamma-delta-T-celler, oberoende av vilka variabla gener eller junctionregioner de uttrycker, vilket visats genom studier med flödesimmunofluorescens på polyklonala gamma/delta-T-cellinjer och gamma/delta-T-cellkloner (17, 18, 19, 20, 21).

PRECISION

De positiva procentuella värdena bestämdes med helblod. Varje prov kördes 4 gånger, två gånger om dagen under 1 dag på 2 instrument med 2 loter Anti-TCR PAN γ/δ-FITC monoklonala antikroppsreagens. Mätningar (% positiva) utfördes på Navios flödescytometer. Analys utfördes baserat på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Utvärdering av precisionsprestanda för kvantitativa mätmetoder).

Våra acceptanskriterier beror på antalet positiva händelser som uppmäts för varje population:

- Om positiv händelse < 1 500, CV < 15 %
- Om positiv händelse > 1 500, CV < 10 %

Lymfocyter CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Antal positiva händelse (medelvärde) = 961							
	Mellan operatörer	Mellan cytometrar	Inom lot	Mellan loter	Mellan körningar	Inom körning	Totalt
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
RESULTAT	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NOGGRANNHET

Noggrannheten hos Anti-TCR PAN γ/δ-FITC bedömdes genom att jämföra resultaten med en referensreagens som predikat på en uppsättning helblodsprov körda på en Navios flödescytometer. Bias mellan test- och referensreagens bestämdes baserat på skillnaden mellan testresultat. Om bias ligger inom tillåtet felintervall eller p-värdet anger att det inte finns någon signifikant skillnad (> 0,05), så anses testresultaten för de två reagenserna vara likvärdiga.

Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell nedan:

Antal donatorer = 25				
Positivt mål	Medelvärde Δ	Δ % cellkriterier	p-värde	RESULTAT
Lymfocyter CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

BLANKGRÄNS OCH DETEKTIONSGRÄNS

En studie genomfördes i enlighet med CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Utvärdering av detekteringsförmåga för kliniska laboratoriemätningsprocedurer). Detektionsgräns (LoD) är den lägsta analytkoncentrationen som konsekvent kan detekteras. Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell:

Positive Target	Blankgräns (cell/µL)	Detektionsgräns (cell/µL)
Lymfocyter CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

BEGRÄNSNINGAR

1. Flödescytometri kan ge falska resultat om cytometern inte har justerats perfekt, om fluorescensläckor inte har kompenserats korrekt och om regionerna inte har placerats noggrant.
2. Det är bäst att använda en RBC-lyseringsteknik med ett tvättsteg, eftersom denna reagens inte optimerats för lyseringstekniker ”utan tvätt”.
3. Noggranna och reproducerbara resultat kommer att erhållas så länge de förfaranden som används är i enlighet med den tekniska bipacksedeln och förenliga med god laboratoriepraxis.
4. Den konjugerade antikroppen för detta reagens är kalibrerad för att erbjuda det bästa specifik signal/icke-specifik signal-förhållandet. Därför är det viktigt att följa reagensvolym/provvolym-förhållandet i varje test.
5. Vid hyperleukocytos, späd blodet i PBS för att erhålla ett värde på cirka 5 x 10^9 leukocyter/L (22).

6. Vid vissa sjukdomstillstånd, såsom vid mycket svår njursvikt eller hemoglobinopatier, kan lysering av röda celler vara långsam, ofullständig eller till och med omöjlig. I detta fall är det rekommenderat att isolera mononukleära celler med användning av en densitetsgradient (till exempel Ficoll) innan färgningen (23).
7. Hos patienter som behandlas med anti-human monoklonala antikroppar kan detektering av de specifika eftersökta antigenerna minska eller utebli på grund av delvis eller fullständig blockering från behandlingens antikropp.
8. Resultat för Anti-TCR PAN γ/δ-FITC bör tolkas med tanke på patientens totala kliniska bild, inklusive: symptom, anamnes, information från övriga test och annan lämplig information.

Se bilagan för exempel och referenser.

VARUMÄRKEN

Beckman Coulter, den stiliserade logotypen och Beckman Coulters produkt- och tjänstmärken som nämns häri är varumärken eller registrerade varumärken som tillhör Beckman Coulter, Inc. i USA eller andra länder.

YTTERLIGARE INFORMATION

För en patient/användare/tredje part inom EU och i länder med identiskt regelsystem (förordning 2017/746/EU om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik); om, vid användning av denna enhet eller som ett resultat av dess användning, en allvarlig incident inträffat ska den rapporteras till tillverkaren och/eller till dess auktoriserade representant och till den nationella myndigheten.

Summary of Safety and Performance (Sammanfattning av säkerhet och prestanda) finns tillgänglig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVIDERING AE:	Publiceringsdatum: Oktober 2019

REVISION	**Publiceringsdatum**
AW	Maj 2022
Uppdateringar för att uppfylla Beckman Coulter globala etiketteringspolicy och kraven i IVD-R (EU)2017/746:	
Tillagda avsnitt	BSI 2797 Nummer, Avsedd användare, Klinisk relevans, Koncentration, Precision, Noggrannhet, Blankgräns och detektionsgräns, Ytterligare information, Revisionshistorik.
Tillagd information	Se avsnittet Begränsningar
Ordval eller typografiska uppdateringar	Se avsnitten Procedur, Prestanda, Begränsningar, Varningar och försiktighetsåtgärder, Förvaring och stabilitet.
Borttagna avsnitt	Exempel på kliniska tillämpningar, Reagens, Reproducerbarhet inom laboratorium, Linearitet
Uppdaterade avsnitt	Avsedd användning, Faroklassificering enligt GHS, Tecken på försämring, Procedur, Bilaga.

REVISION	**Publiceringsdatum**
AX	Mars 2023
Uppdaterade avsnitt	Lägg till kazakiska
Uppdaterade avsnitt	Förvaring och hållbarhet

Reviderad version	AY
Datum för revidering	Maj 2024
Uppdaterade översättningar	**Klinisk relevans:**
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Reviderad version	AZ
Datum för revidering	Juli 2024
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Teckenförklaring för symboler

Ordlista för symboler finns på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Spesifikasjoner
Spesifisitet	TCR γ/δ
Klon	IMMU510
Hybridom	X63 x balb/c
Immunogen	Soluble γ/δ receptor
Immunoglobulin	IgG1
Art	Mus
Rensing	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate
Molart forhold	FITC/Ig: 4 - 6,5
λ-eksitasjon	488 nm
Strålingstopp	525 nm
Buffer	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/mL BSA og 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugert antistoff Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 tester; 1 mL, 20 µL/test

For *in vitro*-diagnose.

TILTENKT BRUK

Dette fluorokromkonjugerte antistoffet muliggjør kvalitativ og ikke-automatisert identifisering av cellepopulasjoner som uttrykker TCR γ/δ-antigenet som finnes i humane biologiske prøver, ved hjelp av flowcytometri (se avsnittet «Prøver» nedenfor).

PRINSIPP

Denne testen er basert på evnen spesifikke monoklonale antistoffer har til å binde seg til antigendeterminantene uttrykt av leukocytter.

Spesifikk farging av leukocyttene utføres ved inkubering av prøven med IOTest-reagenset. De røde cellene fjernes deretter ved lysering, og leukocyttene, som er uberørt av denne prosessen, analyseres ved flowcytometri.

Flytcytometeret måler lysdiffusjon og cellenes fluorescens. Det gjør det mulig å avgrense populasjonen som skal undersøkes innenfor det elektroniske vinduet som er definert på et histogram, og som korrelerer den ortogonale lysspredningen (sidespredning eller SS) og spredningen av trangvinklet lys (foroverpredning eller FS). Andre histogrammer som kombinerer to av de ulike parametrene på cytometeret kan brukes som støtte ved gatingstadiet, avhengig av programmet som velges av brukeren.

Fluorescensen i de avgrensede cellene analyseres for å skille de positivt fargede hendelsene fra de ufargede. Resultatene er uttrykt som en prosentandel positive hendelser i forhold til alle hendelser innhentet ved gatingen.

TILTENKT BRUKER

Dette produktet skal brukes av profesjonelle brukere på laboratorier.

KLINISK RELEVANS

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC er et Anti-TCR PAN γ/δ-antistoff som brukes til å identifisere og beskrive celler som uttrykker TCR γ/δ-antigenet ved flowcytometri. Dette produktet skal ikke brukes som eneste grunnlag for diagnostiske konklusjoner.

Når dette produktet brukes i kombinasjon med andre markører, kan det brukes i én eller flere av følgende funksjoner:

- For å bistå ved differensialdiagnostisering av hematologisk unormale pasienter med mistenkt hematopoietisk neoplasi og følge opp pasienter med kjent hematopoietisk neoplasi.
- Overvåke pasienter med kjent autoimmun sykdom eller lidelse.

Se følgende referanser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PRØVER

Veneblod må tas ved bruk av sterile rør som inneholder EDTA-salt som antikoagulant.

Prøvene skal oppbevares i romtemperatur (18–25 °C) og ikke ristes. Prøvene skal homogeniseres ved forsiktig risting før du tar testprøven.

Prøvene må analyseres innen 24 timer etter venepunksjon.

KONSENTRASJON

Se lot-spesifikt analysesertifikat på www.beckman.com.

ADVARSEL OG FORHOLDSREGLER

1. Reagenset må ikke brukes etter utløpsdatoen.
2. Må ikke fryses.
3. La det nå romtemperatur (18–25 °C) før bruk.
4. Bør ikke utsettes for lys.
5. Unngå mikrobiell kontaminering av reagensene, ellers kan det gi feil resultater.
6. Antistoffløsninger som inneholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsiktighet. Ikke til innvortes bruk. Unngå all kontakt med hud, slimhinner og øyne.

Videre kan natriumazid i et syremedium danne potensielt farlig hydrogenazid. Hvis reagenset må kasseres, anbefales det at det fortynnes i store mengder vann før det tømmes i avløpssystemet, slik at man unngår opphopning av natriumazid i metallrør, og for å hindre eksplosjonsfare.

7. Alle blodprøver må betraktes som potensielt smittefarlige og må håndteres med forsiktighet (gjelder spesielt: bruk av vernehansker, laboratoriefrakk og vernebriller).
8. Pipetter aldri med munnen, og unngå at prøvene kommer i kontakt med huden, slimhinnene og øynene.
9. Blodprøverør og engangsmateriale som brukes til håndtering, skal kastes i beholdere beregnet for forbrenning.
10. Reagenser og avfall skal kastes i henhold til lokale krav.

GHS-FAREKLASSIFISERING

Ikke klassifisert som farlig

SDS Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPPBEVARING OG STABILITET

Dette reagenset må oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttes mot lys før og etter at flasken er åpnet.

Holdbarhet i lukket flaske ifølge stabilitetsstudie: 1095 dager.

Stabilitet for åpnet flaske: reagenset er stabilt i 180 dager.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Endringer i reagensenes fysiske utseende kan være tegn på redusert kvalitet, og slike reagenser skal ikke brukes.

For ytterligere informasjon eller hvis produktet mottas skadet, kan Beckman Coulter kundeservice 800-742-2345 (USA og Canada) eller den lokale Beckman Coulter-representanten kontaktes.

INNHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive blandinger i metalliske avløpsrør. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Fare for eksplosive azider) (16.8.76). For å unngå mulig opphopning av azidforbindelser må avløpsrør skylles med vann etter avhending av ufortynnet reagens. Avfallshåndtering av natriumazid må skje i samsvar med relevante lokale forskrifter.

NØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE FØLGER MED SETTET:

- Prøvetakingsrør og materiale nødvendig for prøvetaking.
- Automatiske pipetter med engangsspisser til 20, 100 og 500 µL.
- Hemolyserør av plast.
- Rød cellelyseringsreagens med vasketrinn etter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Leukocytt-fikseringsreagens. For eksempel: IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800).
- -isotypekontroll FITC: IOTest-reagens (ref. A07795).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Sentrifuger.
- Automatisk omrører (vortekstype).
- Flytcytometer.

PROSEDYRE MED VERSALYSE-REAGENS

For hver prøve som analyseres, kan det i tillegg til testrøret legges til ett kontrollrør hvor cellene er blandet med tilstedeværelse av isotypekontrollen (ref. A07795).

1. Tilsett 20 µL spesifikt IOTest-konjugert antistoff i hvert testrør og ved behov 20 µL av isotypekontrollen i hvert kontrollrør.
2. Tilsett 100 µL av testprøven i hvert rør. Vorteks rørene forsiktig.
3. Inkuber i 15 til 20 minutter ved romtemperatur (18–25 °C), beskyttet mot lys.
4. Utfør deretter lysering av de røde blodcellene. Les brosjyren VersaLyse (ref. A09777), og prøv å følge prosedyren kalt «with concomitant fixation» (med samtidig fiksering) som består av å tilsette 1 mL av «fikserings- og lyseringsblandingen» som klargjøres prompte. Bland på vorteksmikser umiddelbart i ett sekund, og inkuber i 10 minutter ved romtemperatur, beskyttet mot lys.
5. Sentrifugeres i 5 minutter ved 150 x g ved romtemperatur.
6. Fjern supernatanten ved aspirasjon.
7. Resuspender cellepelleten i 3 mL PBS.
8. Gjenta trinn 5.
9. Fjern supernatanten ved aspirasjon, og resuspender cellepelleten ved hjelp av:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS pluss 0,1 % formaldehyd hvis preparatene skal oppbevares i mindre enn 24 timer. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan oppnås ved å fortynne 12,5 µL IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800) ved 10X konsentrasjon i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uten formaldehyd hvis preparatene skal analyseres innen 2 timer.

Merk: I alle tilfeller skal preparatene oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttet mot lys.

FORVENTEDE VERDIER

I våre laboratorier ble fullblodsprøvene fra 25 tilsynelatende friske donorer behandlet med reagenset beskrevet over samt et gatingreagens. Resultatene som ble oppnådd for telling av de aktuelle positive hendelsene med dette reagenset, er angitt i tabellen nedenfor:

Positivt mål	Nummer	Gjennomsnitt (%)	SD	VK (%)
Lymfocytter CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Disse verdiene er bare representative. Hvert enkelt laboratorium bør fastsette egne forventede verdier ut fra den lokale populasjon av normaldonorer.

YTELSE

Ytelsesdata er fremskaffet ved bruk av prosedyren som er beskrevet ovenfor samt et gatingreagens på mindre enn 24 timer gamle blodprøver som tidligere er samlet i sterile rør med EDTA-salt som antikoagulant. Analysen utføres innen 2 timer etter immunfarging.

SPESIFISITET

TCR er et molekylært kompleks som består av to enheter, en gjenkjenningsenhet, bestående av enten alfa-beta- eller gamma-delta-heterodimer, som er til stede på celleoverflaten på en gjensidig utelukkende måte samt en overførende enhet, CD3-komplekset, som er felles for alfa-beta- og gamma-delta-heterodimere, som trigger T-cellen når gjenkjennelsesenheten er okkupert av antigenet. Gjenkjennelsesenheten gjenkjenner fremmede antigener, og mangfoldet som er nødvendig for denne funksjonen for gjenkjennelse genereres av somatisk rekombinasjon av TCR-gener (11, 12, 13).

Det finnes fire TCR-genloci (alfa, beta, gamma og delta). Hvert av dem er sammensatt av flere V- (variable) segmenter, som koder for omtrent 90 aminosyrer, meget korte D (diversitet)-segmenter (kun α- og delta-loci), og korte J (delta)-segmenter (15 aminosyrer), og en eller to C- (konstante) segmenter (14, 15). De fleste T-celler uttrykker alfa/beta-TCR (T-cellereseptorprotein) og en liten populasjon av T-celler som uttrykker gamma/delta-TCR, som vanligvis har en dobbelt negativ (CD4/CD8)-fenotype.

Gamma/delta-T-cellene er vanligvis første forsvarslinje på epidermale og epitele overflater og representerer 10–12 % av lymfocytter i milten (16). IMMU 510 gjenkjenner alle gamma/delta T-celler uavhengig av de variable genene eller krysningsregionene de uttrykker, som vurdert av flowimmunfluorescens-studier på polyklonale gamma/delta T-cellelinjer samt gamma/delta T-celle kloner (17, 18, 19, 20, 21).

PRESISJON

Prosentvise positive verdier ble bestemt ved bruk av fullblod. Hver prøve ble analysert 4 ganger, to ganger per dag på 1 dag på 2 instrumenter ved bruk av 2 loter Anti-TCR PAN γ/δ-FITC monoklonale antistoff-reagenser. Målinger (% positive) ble utført på Navios-flytcytometer. Analyse ble utført basert på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering av presisjonsytelse for kvantitative målingsmetoder).

Våre godkjenningskriterier er avhengige av antall positive hendelser som måles for hver populasjon:

- Hvis positiv hendelse < 1 500, VK < 15 %
- Hvis positiv hendelse > 1 500, VK < 10 %

Lymfocytter CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Antall positive hendelser (gjennomsnitt) = 961							
	Mellom operatører	Mellom cytometere	Innenfor samme lot	Mellom loter	Mellom kjøringer	Innenfor samme kjøring	Total
VK (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØYAKTIGHET

Nøyaktigheten til Anti-TCR PAN γ/δ-FITC ble vurdert ved å sammenligne resultatene med et referansereagens som predikat på et sett med fullblodsprøver analysert på et Navios-flytcytometer. Skjevheten mellom testen og referansereagenset ble bestemt basert på differansen mellom testresultatene. Hvis skjevheten er innenfor det tillatte feilområdet eller p-verdien indikerer ingen signifikant forskjell (> 0,05), anses testresultatene for de to reagensene som ekvivalente.

De oppnådde resultatene er oppsummert i den følgende tabellen:

Antall donorer = 25				
Positivt mål	Gjennomsnittlig Δ	Δ % cellekriterier	p-verdi	RESULTATER
Lymfocytter CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

GRENSE FOR BLANKPRØVE OG DETEKSJONSGRENSE

En studie ble gjennomført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering av deteksjonsevne for måleprosedyrer på kliniske laboratorier). Deteksjonsgrensen (LOD) er den laveste analyttkonsentrasjonen som kan detekteres konsekvent. Resultatene som ble oppnådd, er oppsummert i tabellen nedenfor:

Positive Target	Grense for blankprøve (celle/µL)	Deteksjonsgrense (celle/µL)
Lymfocytter CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

BEGRENSNINGER

1. Flowcytometri kan gi falske resultater hvis cytometeret ikke har blitt justert nøyaktig, hvis fluorescenslekkasjer ikke er kompensert riktig, og hvis regionene ikke er nøye plassert.
2. Det er best å bruke en RBC-lyseringsteknikk med et vasketrinn, ettersom dette reagenset ikke er optimert for lyseringsteknikker uten vask.
3. Nøyaktige og reproduserbare resultater vil oppnås så lenge de anvendte prosedyrene er i samsvar med det tekniske pakningsvedlegget og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerte antistoffet til dette reagenset er kalibrert for å oppnå best mulig forhold mellom spesifikt signal og ikke-spesifikt signal. Derfor er det viktig å overholde forholdet mellom reagensvolum og prøvevolum i hver test.
5. Ved hyperleukocytose fortynnes blodet i PBS for å oppnå en verdi på omtrent 5 x 10^9 leukocytter/L (22).

6. Ved visse sykdomstilstander, for eksempel alvorlig nyresvikt eller hemoglobinopatier, kan lyseringen av røde celler være langsom, ufullstendig eller til og med umulig. I dette tilfellet anbefales det å isolere mononukleærerte celler ved hjelp av en densitetsgradient (for eksempel Ficoll) før farging (23).
7. Hos pasienter som behandles med antihumane, monoklonale antistoffbehandlinger, kan deteksjon av bestemte målantigener reduseres eller være fraværende på grunn av delvis eller fullstendig blokkering av det terapeutiske antistoffet.
8. Anti-TCR PAN γ/δ-FITC-resultatene skal tolkes i lys av den totale kliniske vurderingen av pasienten, inkludert: symptomer, klinisk historie, data fra flere tester og annen aktuell informasjon.

Se vedlegget for eksempler og referanser.

VAREMERKER

Beckman Coulter, den stiliserte logoen og vare- og servicemerkene til Beckman Coulter som er omtalt her, er varemerker eller registrerte varemerker som tilhører Beckman Coulter, Inc. i USA og andre land.

TILLEGGSINFORMASJON

For pasient/bruker/tredjepart i EU og land med identisk regelverk (EUs forordning nr. 2017/746 om in vitro-diagnostisk medisinsk utstyr); hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av dette utstyret, eller som et resultat av bruken, skal dette rapporteres til produsenten og/eller den autoriserte representanten samt til nasjonal myndighet.

Summary of Safety and Performance (Sammendrag av sikkerhet og ytelse) er tilgjengelig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISJONSHISTORIE

REVISJON AE:	Utgivelsesdato: Oktober 2019

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AW	Mai 2022
Oppdateringer skal overholde de globale merkingsreglene til Beckman Coulter og være i samsvar med krav iht. IVD-R (EU)2017/746:	
Innsatte avsnitt	BSI 2797-nummer, Tiltenkt bruker, Klinisk relevans, Konsentrasjon, Presisjon, Nøyaktighet, Grense for blankprøve og deteksjonsgrense, Tilleggsinformasjon, Revisjonshistorie.
Innsatt informasjon	Se avsnittet Begrensninger
Oppdatering av formulering eller typografi	Se avsnittene Prosedyre, Ytelse, Begrensninger, Advarsler og forholdsregler, Oppbevaring og stabilitet.
Fjernede avsnitt	Eksempel på kliniske bruksområder, Reagenser, Reproduserbarhet innenfor samme laboratorium, Linearitet
Oppdaterte avsnitt	Tiltenkt bruk, GHS-fareklassifisering, Tegn på nedbryting, Prosedyre, Vedlegg.

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AX	mars 2023
Oppdaterte avsnitt	Lagt til kasakhisk
Oppdaterte avsnitt	Oppbevaring og stabilitet

Revidert versjon	AY
Revisjonsdato	mai 2024
Oppdatert oversettelser	**Klinisk relevans:**
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Revidert versjon	AZ
Revisjonsdato	juli 2024
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Symbolforklaring

Symbolordliste er tilgjengelig på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Tekniset tiedot
Spesifisyys	TCR γ/δ
Klooni	IMMU510
Hybridooma	X63 x balb/c
Immunogeeni	Soluble γ/δ receptor
Immunoglobuliini	IgG1
Lajit	Hiiri
Puhdistus	Affiniteettikromatografia
Fluorokromi	Fluorescein isothiocyanate
Moolisuhde	FITC/Ig: 4 - 6,5
λ-viritys	488 nm
Säteilyhuippu	525 nm
Puskuri	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA:ta ja 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugoitunut vasta-aine Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 testiä; 1 ml, 20 µl / testi

Diagnostiseen *in vitro* -käyttöön.

KÄYTTÖTARKOITUS

Tämän fluorokromikonjugoidun vasta-aineen avulla voidaan kvalitatiivisesti ja muilla kuin automaattisilla tavoilla tunnistaa solupopulaatioita, jotka ilmentävät ihmisen biologisissa näytteissä esiintyvää TCR γ/δ-antigeeniä virtaussytometriaa käyttämällä (katso jäljempää kohta Näytteet).

PERIAATE

Testi perustuu tiettyjen monoklonaalisten vasta-aineiden kykyyn sitoutua leukosyyttien ilmentämiin antigeenideterminantteihin.

Leukosyyttien spesifinen värjäys tehdään inkuboimalla näyte IOTest-reagenssilla. Punasolut poistetaan sen jälkeen lyysaamalla, ja leukosyytit, joihin tämä prosessi ei vaikuta, analysoidaan virtaussytometrialla.

Virtaussytometri mittaa valonhajontaa ja solujen fluoresenssia. Sen avulla on mahdollista rajata kiinnostuksen kohteena olevan populaatio pylväskaavioon määritetyssä elektronisessa ikkunassa, jossa ortogonaalinen valonhajonta (sivusironta eli SS) vastaa kapean kulman valonhajontaa (eteenpäinsironta eli FS). Muita sytometrin kahta eri parametria yhdistäviä pylväskaavioita voidaan käyttää rajaamisvaiheen tukena käyttäjän valitseman sovelluksen mukaan.

Rajattujen solujen fluoresenssi analysoidaan, jotta positiivisesti värjäytyneet tapahtumat voidaan erottaa värjäytymättömistä tapahtumista. Tulokset ilmaistaan positiivisten tapahtumien prosenttimääränä suhteessa kaikkiin rajauksella kerättyihin tapahtumiin.

AIOTTU KÄYTTÄJÄ

Tämä tuote on tarkoitettu ammattimaiseen laboratoriokäyttöön.

KLIININEN RELEVANSSI

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC on Anti-TCR PAN γ/δ-vasta-aine, jota käytetään TCR γ/δ-antigeeniä ilmentävien solujen tunnistamiseen ja määrittämiseen virtaussytometriassa. Tämä tuote yksinään ei voi eikä sen ole tarkoitus tuottaa mitään diagnostisia johtopäätöksiä.

Kun sitä käytetään yhdessä muiden merkkiaineiden kanssa, tuotetta voidaan käyttää yhteen tai useaan seuraavista toiminnoista:

- Erotusdiagnostiikan tueksi hematologisesti poikkeavilla potilailla, joilla epäillään olevan hematopoieettisia kasvaimia, ja sellaisten potilaiden seurantaan, joilla tiedetään olevan hematopoieettisia kasvaimia.
- Sellaisten potilaiden seurantaan, joilla tiedetään olevan autoimmuunisairaus tai -häiriö.

Katso seuraavat viitteet:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

NÄYTTEET

Laskimoverinäytteet on otettava käyttäen steriilejä putkia, joissa on antikoagulanttina EDTA-suolaa.

Näytteet on säilytettävä huoneenlämmössä (18–25 °C), eikä niitä saa ravistaa. Näytteet on homogenoitava sekoittamalla hellävaraisesti ennen testinäytteen ottamista.

Näytteet on analysoitava 24 tunnin sisällä laskimopunktiosta.

PITOISUUS

Katso eräkohtainen analyysitodistus osoitteesta www.beckman.com.

VAROITUS JA VAROTOIMET

1. Älä käytä reagenssia viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
2. Ei saa jäätyä.
3. Anna sen lämmetä huoneenlämpöiseksi (18–25 °C) ennen käyttöä.
4. Minimoi altistuminen valolle.
5. Vältä reagenssien mikrobikontaminaatiota, muutoin vaarana ovat virheelliset tulokset.
6. Natriumatsidia (NaN_3) sisältäviä vasta-aineliuoksia tulee käsitellä varoen. Sitä ei saa niellä, ja sen joutumista iholle, limakalvoille ja silmiin on vältettävä.

Lisäksi happamassa liuoksessa natriumatsidi voi muodostaa mahdollisesti vaarallista hydratsoehappoa. Jos reagenssi on hävitettävä, se on suositeltavaa laimentaa suureen vesimäärään ennen sen kaatamista viemäriin, jotta natriumatsidia ei pääse kertymään metalliputkiin ja vältetään räjähdysvaara.

7. Kaikkia verinäytteitä on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina, ja niitä on käsiteltävä varovaisesti (erityisesti on muistettava suojakäsineiden, -pukujen ja -lasien käyttö).
8. Älä koskaan pipetoi suulla ja vältä näytteiden kaikkea kosketusta ihoon, limakalvoihin ja silmiin.
9. Veriputket ja käsittelyyn käytetyt kertakäyttöiset materiaalit on hävitettävä poltettaviksi tarkoitetuissa ad hoc -astioissa.
10. Reagenssit ja jätteet on hävitettävä paikallisten vaatimusten mukaisesti.

GHS-VAARALUOKITUS

Ei luokiteltu vaaralliseksi

SDS Käyttöturvallisuustiedote on saatavana osoitteessa beckmancoulter.com/techdocs

SÄILYTYS JA STABILITEETTI

Tätä reagensseja on säilytettävä 2–8 °C:n lämpötilassa ja suojattava valolta ennen ampullin avaamista ja sen jälkeen.

Suljetun ampullin säilyvyysaika stabiliteettitutkimuksen mukaan: 1095 päivää.

Avatun ampullin stabiliteetti: reagenssi on stabiili 180 päivän ajan.

MERKIT PILAANTUMISESTA

Mahdolliset muutokset reagenssin fyysisessä ulkonäössä voivat viitata huonontumiseen, eikä reagenssia saa tällöin käyttää.

Jos tarvitset lisätietoja tai jos sait vahingoittuneen tuotteen, soita Beckman Coulter -asiakaspalveluun numeroon 800 742 2345 (USA ja Kanada) tai ota yhteyttä Beckman Coulterin paikalliseen edustajaan.

SISÄLTÖ

Natriumatsidi-säilöntäaine saattaa muodostaa räjähtäviä yhdisteitä metallisissa viemäriputkissa. Katso NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.08.1976). Huuhtele viemäriputket vedellä laimentamattoman reagenssin poiston jälkeen mahdollisen atsidiyhdisteiden kerääntymisen estämiseksi. Hävitä natriumatsidi asianmukaisten paikallismääräysten mukaisesti.

TARVITTAVAT MATERIAALIT, JOITA EI TOIMITETA SARJAN MUKANA:

- Näytteenottoon tarvittavat näytteenottoputket ja materiaalit.
- Automaattiset pipetit, joissa kertakäyttökärjet 20, 100 ja 500 µl.
- Muoviset hemolyysiputket.
- Punasolujen lyysireagenssi ja pesuvaihe lyysin jälkeen. Esimerkiksi: VersaLyse (viite A09777).
- Leukosyyttien kiinnitysreagenssi. Esimerkiksi: IOTest 3 -fiksatiiviliuos (viite A07800).
- Isotyyppinen kontrolli FITC: IOTest-reagenssi (viite A07795).
- Puskuri (PBS: 0,01 M natriumfosfaattia, 0,145 M natriumkloridia, pH 7,2).
- Sentrifugi.
- Automaattinen sekoitin (Vortex-/pyörretyyppinen).
- Virtaussytometri.

VERSALYSE-REAGENSSIN MENETTELY

Jokaiselle analysoidulle näytteelle voidaan lisätä testiputken lisäksi yksi kontrolliputki, jossa solut sekoitetaan käyttämällä isotyyppistä kontrollia (ref. A07795).

1. Lisää 20 µl spesifisiä IOTest-konjugoituja vasta-aineita jokaiseen testiputkeen ja tarvittaessa 20 µl isotyyppistä kontrollia jokaiseen kontrolliputkeen.
2. Lisää 100 µl testinäytettä kuhunkin putkeen. Sekoita putkia vorteksilla varovaisesti.
3. Inkuboi 15–20 minuuttia huoneenlämmössä (18–25 °C), valolta suojattuna.
4. Tee sitten punasolujen lyysaus. Tutustu VersaLyse (viite A09777) -selosteeseen ja noudata mieluiten menettelyä, jonka nimessä on maininta ”rinnakkaiskiinnityksen kanssa” ja johon sisältyy ohje lisätä 1 ml kiinnitys- ja lyysiseosta, joka on valmistettu kyseistä tapausta varten. Sekoita välittömästi vorteksilla yhden sekunnin ajan ja inkuboi 10 minuuttia huoneenlämmössä, valolta suojattuna.
5. Sentrifugoi 150 x g 5 minuutin ajan huoneenlämmössä.
6. Poista supernatantti aspiroimalla.
7. Suspendoi solupelletti uudelleen käyttämällä 3 ml PBS:ää.
8. Toista vaihe 5.
9. Poista supernatantti aspiroimalla ja suspendoi solupelletti käyttämällä:

- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää plus 0,1 % formaldehydiä, jos valmisteet aiotaan säilyttää alle 24 tuntia. (0,1 % formaldehydiä sisältävä PBS saadaan laimentamalla 12,5 µl IOTest 3 -fiksatiiviliuosta (viite A07800) sen 10-kertaisella pitoisuudella 1 ml:aan PBS:ää).
- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää ilman formaldehydiä, jos valmisteet tullaan analysoimaan 2 tunnin sisällä.

Huomautus: Pidä valmisteet kaikissa tapauksissa 2–8 °C:n lämpötilassa ja valolta suojattuna.

ODOTETUT ARVOT

Laboratorioissamme 25 ilmeisesti terveiden luovuttajien kokoverinäytteet käsiteltiin edellä kuvatulla reagenssilla ja rajausreagenssilla. Seuraavassa taulukossa esitetään tällä reagenssilla saadut tulokset, kun kiinnostuksen kohteena olleet positiiviset tapahtumat laskettiin:

Positiivinen kohde	Lukumäärä	Keskiarvo (%)	SD	CV (%)
Lymfosyytit CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Nämä arvot on tarkoitettu vain esimerkeiksi. Jokaisen laboratorion tulee luoda omat odotetut arvonsa paikallisen normaalien luovuttajien populaation mukaan.

SUORITUSKYKY

Suorituskykytiedot saadaan edellä kuvatulla menetelmällä ja rajausreagenssilla käyttämällä alle 24 tunnin ikäisiä näytteitä, jotka on aiemmin kerätty steriileihin putkiin, joissa antikoagulanttina on EDTA-suola. Analyysi suoritetaan 2 tunnin kuluessa immunovärjäyksestä.

SPESIFISYYS

TCR on molekyylikompleksi, joka muodostuu kahdesta yksiköstä: tunnistinyksiköstä, joka koostuu joko alfa-beeta- tai gamma-delta-heterodimeeristä, jota on solun pinnalla toisensa poissulkevalla tavalla, ja transduktioyksiköstä eli CD3-kompleksista, joka on yhteinen alfa-beeta- ja gamma-delta-heterodimeereille ja laukaisee/aktivoi T-solun, kun antigeeni on sitoutunut tunnistinyksikköön. Tunnistusyksikkö tunnistaa vierasantigeenit, ja tämän tunnistustoiminnon edellyttämä diversiteetti syntyy TCR-geenien somaattisesta rekombinaatiosta (11, 12, 13).

TCR-geenilokuksia on neljä (alfa, beeta, gamma ja delta). Kukin niistä koostuu useista V (eng. sanasta variable eli vaihteleva) -segmenteistä, jotka koodaavat noin 90 aminohappoa, erittäin lyhyistä D (engl. sanasta diversity eli diversiteetti/monipuolisuus) -segmenteistä (vain α- ja delta-lokukset) ja lyhyistä J (engl. sanasta joining eli liittävä/yhdistävä) -segmenteistä (noin 15 aminohappoa) ja yhdestä tai kahdesta C (engl. sanasta constant eli pysyvä) -segmenteistä (14, 15). Useimmat T-solut ilmentävät alfa-/beeta-TCR (T-solureseptori) -proteiinia, ja pieni T-solujen populaatio ilmentää gamma-/delta-TCR:ää, jolla on tavallisesti kaksoisnegatiivinen (CD4/CD8) fenotyyppi.

Gamma/delta-T-solut ovat yleensä ensimmäinen puolustuslinja epidermaalisilla ja epiteelisillä pinnoilla, ja ne edustavat 10–12 prosenttia pernan lymfosyyteistä (16). IMMU 510 tunnistaa kaikki gamma/delta-T-solut huolimatta vaihtelevista geeneistä tai yhdyskohdista, joita ne ilmentävät virtausimmunofluoresenssitutkimuksissa, joissa määritetään polyklonaalisia gamma/delta-T-solulinjoja sekä gamma/delta-T-soluklooneja (17, 18, 19, 20, 21).

TARKKUUS

Prosentuaaliset positiiviset arvot määritettiin käyttämällä kokoverta. Jokainen näyte käsiteltiin 4 kertaa, kahdesti päivässä päivänä 1 2 laitteessa käyttämällä 2 erää Anti-TCR PAN γ/δ-FITC monoklonaalisia vasta-ainereagensseja. Mittaukset (% positiivisia) tehtiin Navios-virtaussytometrillä. Analyysi tehtiin perustuen CLSI-menetelmään EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivisten mittausmenetelmien tarkkuussuorituskyvyn arviointi).

Hyväksyntäkriteerimme on riippuvainen kussakin populaatiossa mitattujen positiivisten tapahtumien määrästä:

- Jos tapahtuma on positiivinen < 1 500, CV < 15 %
- Jos tapahtuma on positiivinen > 1 500, CV < 10 %

Lymfosyytit CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Positiivisten näytteiden lukumäärä (keskiarvo) = 961							
	Käyttäjien välinen	Sytometrin sisäinen	Erän sisäinen	Erien välinen	Ajojen välinen	Ajon sisäinen	Yhteensä
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
TULOKSET	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ULKOINEN TARKKUUS

Kohteen Anti-TCR PAN γ/δ-FITC tarkkuus arvioitiin vertaamalla tuloksia viitereagenssiin, joka toimi Navios-virtaussytometrillä käsitellyn kokoverinäytesarjan predikaattina. Testireagenssin ja vertailureagenssin välinen poikkeama määritettiin testitulosten välisen eron perusteella. Jos poikkeama on sallitun virhealueen rajoissa tai p-arvo ei osoita merkityksellistä eroa (> 0,05), näiden kahden reagenssin testituloksia pidetään vastaavina.

Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Luovuttajien määrä = 25				
Positiivinen kohde	Keskiarvo Δ	Δ % -solukriteeri	p-arvo	TULOKSET
Lymfosyytit CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

NOLLAMITTAUKSEN YLÄRAJA JA MITTAUKSEN ALARAJA

Tutkimus tehtiin CLSI EP17-A2:n mukaisesti, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Detektiokyvyn arviointi kliinisissä laboratoriomittausmenettelyissä). Mittauksen alaraja (LoD) on analyytin alhaisin pitoisuus, joka voidaan havaita johdonmukaisesti. Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Positive Target	Nollamittauksen yläraja (solu/µl)	Mittauksen alaraja (solu/µl)
Lymfosyytit CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

RAJOITUKSET

1. Virtaussytometrialla saadut tulokset voivat olla virheellisiä, jos sytometri on kohdistettu epätarkasti, jos fluoresenssivuotoja ei ole kompensoitu oikein ja jos alueita ei ole sijoitettu tarkasti.
2. On suositeltavaa käyttää punasolujen lyysaukseen pesuvaiheen sisältävää tekniikkaa, koska tätä reagenssia ei ole optimoitu lyysaustekniikoille, joihin ei sisälly pesua.
3. Tulokset oivat tarkkoja ja toistettavissa, kunhan käytetyt menetelmät ovat teknisen selosteen mukaisia ja noudattavat hyviä laboratoriokäytäntöjä.
4. Tämän reagenssin konjugoitu vasta-aine kalibroidaan siten, että saadaan paras spesifisen signaalin ja epäspesifisen signaalin suhde. Siksi on tärkeää noudattaa reagenssin tilavuuden / näytteen suhdetta jokaisessa testissä.
5. Jos kyseessä on hyperleukosytoosi, laimenna veri PBS:ään siten, että saat arvoksi noin 5 x 10^9 leukosyyttiä/l (22).

6. Tietyissä sairaustiloissa, kuten vaikeassa munuaisten vajaatoiminnassa tai hemoglobinopatioissa, punasolujen hajoaminen voi olla hidasta, epätäydellistä tai jopa mahdotonta. Tässä tapauksessa yksitumaiset solut on suositeltavaa eristää käyttämällä tiheysgradienttia (esimerkiksi Ficoll) ennen värjäystä (23).
7. Potilailla, joita on hoidettu muun kuin ihmisen monoklonaalisilla vasta-aineilla, kohdeantigeenin havaitseminen voi heikentyä tai estyä osittain tai kokonaan hoidossa käytetyn vasta-aineen vaikutuksesta.
8. Anti-TCR PAN γ/δ-FITC-tulosten tulkinnassa on otettava huomioon potilaan kaikki kliiniset tiedot, mukaan lukien oireet, kliininen historia, lisätestien tiedot ja muut asianmukaiset tiedot.

Katso esimerkkejä ja viitteitä liitteestä.

TAVARAMERKIT

Beckman Coulter, tyylitelty logo ja tässä mainitut Beckman Coulter -tuotteiden ja palveluiden merkit ovat Beckman Coulter, Inc:in tavaramerkkejä tai rekisteröityjä tavaramerkkejä Yhdysvalloissa ja muissa maissa.

LISÄTIETOJA

Potilaalle / käyttäjälle / kolmannelle osapuolelle Euroopan unionin alueella ja maissa, joissa on samanlainen sääntelyjärjestelmä (in vitro -diagnostiikkaan tarkoitettuja lääkinnällisiä laitteita koskeva asetus 2017/746/EU): jos tämän laitteen käytön aikana tai sen käytön seurauksena on tapahtunut vakava tapahtuma, ilmoita siitä valmistajalle ja/tai valmistajan valtuutetulle edustajalle sekä kansalliselle viranomaiselle.

Turvallisuutta ja suorituskykyä koskeva yhteenveto on saatavilla EUDAMED-tietokannasta osoitteesta ec.europa.eu/tools/eudamed.

TARKISTUSHISTORIA

VERSIO AE:	Julkaisupäivä: Lokakuu 2019

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AW	Toukokuu 2022
Päivitetty noudattamaan Beckman Coulterin maailmanlaajuista merkintämenettelyä ja IVD-R (EU)2017/746 -standardin vaatimuksia:	
Lisätyt osat	BSI 2797 -numero, Käyttötarkoituksen mukainen käyttäjä, Kliininen relevanssi, Pitoisuus, Tarkkuus, Ulkoinen tarkkuus, Nollamittauksen yläraja ja mittauksen alaraja, Lisätietoja, Tarkistushistoria.
Lisätyt tiedot	Katso kohta Rajoitukset
Sanamuodot tai typografiset päivitykset	Katso kohdat Menettely, Suorituskyky, Rajoitukset, Varoitus ja varotoimet, Säilytys ja stabiliteetti.
Poistetut osat	Esimerkki kliinisistä käyttötarkoituksista, Reagenssit, Laboratorionsisäinen toistettavuus, Lineaarisuus
Päivitetyt osat	Käyttötarkoitus, GHS-vaaraluokitus, Merkit pilaantumisesta, Menettely, Liite.

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AX	Maaliskuu 2023
Päivitetyt osat	Lisää kazakki
Päivitetyt osat	Säilytys ja stabiliteetti

Tarkistettu versio	AY
Tarkistuksen päivämäärä	Toukokuu 2024
Päivitetyt käännökset	**Kliininen merkitys:**
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Tarkistettu versio	AZ
Tarkistuksen päivämäärä	Heinäkuu 2024
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Symboliluettelo

Symbolisanasto on saatavana osoitteessa beckman.com/techdocs (asiakirjan numero B60062)

	Προδιαγραφές
Ειδικότητα	TCR γ/δ
Κλώνος	IMMU510
Υβρίδωμα	X63 x balb/c
Ανοσογόνο	Soluble γ/δ receptor
Ανοσοσφαιρίνη	IgG1
Είδος	Μυς
Κάθαρση	Χρωματογραφία συγγένειας
Φθορόχρωμα	Fluorescein isothiocyanate
Γραμμομοριακή αναλογία	FITC/Ig: 4 - 6,5
διέγερση λ	488 nm
Μέγιστη τιμή εκπομπών	525 nm
Ρυθμιστικό Διάλυμα	PBS pH 7,2 συν 2 mg/mL BSA και 0,1% NaN_3

IOTest

Συζευγμένο αντίσωμα Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 δοκιμασίες: 1 mL, 20 µL/εξέταση

Για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Αυτό το συζευγμένο με φθοροχρώματα αντίσωμα επιτρέπει την ποιοτική και μη αυτοματοποιημένη ταυτοποίηση των κυτταρικών πληθυσμών που εκφράζουν το αντιγόνο TCR γ/δ που απαντάται σε ανθρώπινα βιολογικά δείγματα, με χρήση κυτταρομετρίας ροής (δείτε την παρακάτω ενότητα «Δείγματα»).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Αυτή η εξέταση βασίζεται στην ικανότητα συγκεκριμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων να δεσμεύονται στους αντιγονικούς καθοριστές που εκφράζονται από τα λευκοκύτταρα.

Η ειδική χρώση των λευκοκυττάρων πραγματοποιείται μέσω της επώασης του δείγματος με το αντιδραστήριο IOTest. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια αφαιρούνται στη συνέχεια με λύση και τα λευκοκύτταρα, τα οποία δεν επηρεάζονται από αυτήν τη διαδικασία, αναλύονται με κυτταρομετρία ροής.

Το κυτταρόμετρο ροής μετρά τη διάχυση φωτός και τον φθορισμό των κυττάρων. Καθιστά δυνατή την οριοθέτηση του πληθυσμού ενδιαφέροντος εντός του ηλεκτρονικού παραθύρου που ορίζεται σε ένα ιστόγραμμα, το οποίο συσχετίζει την ορθογώνια διάχυση φωτός (πλάγια σκέδαση ή SS) και τη διάχυση φωτός κλειστής γωνίας (πρόσθια σκέδαση ή FS). Άλλα ιστογράμματα που συνδυάζουν δύο από τις διαθέσιμες διαφορετικές παραμέτρους του κυτταρόμετρου μπορούν να χρησιμοποιηθούν υποστηρικτικά κατά το στάδιο της οριοθέτησης, ανάλογα με την εφαρμογή που επιλέγει ο χρήστης.

Ο φθορισμός των οριοθετημένων κυττάρων αναλύεται προκειμένου να είναι δυνατή η διάκριση μεταξύ των θετικά σημασμένων συμβάντων και των μη σημασμένων συμβάντων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ποσοστό των θετικών συμβάντων σε σχέση με το σύνολο των συμβάντων που ελήφθησαν από την οριοθέτηση.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΟΣ ΧΡΗΣΤΗΣ

Αυτό το προϊόν προορίζεται για επαγγελματική εργαστηριακή χρήση.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΝΑΦΕΙΑ

Το Anti-TCR PAN γ/δ-FITC είναι ένα αντίσωμα Anti-TCR PAN γ/δ που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό κυττάρων που εκφράζουν το αντιγόνο TCR γ/δ με κυτταρομετρία ροής. Αυτό το προϊόν από μόνο του δεν μπορεί να παράγει οποιοδήποτε διαγνωστικό συμπέρασμα και δεν προορίζεται για αυτήν τη χρήση.

Όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλους δείκτες, αυτό το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μία ή περισσότερες από τις ακόλουθες λειτουργίες:

- Ως βοήθημα στη διαφορική διάγνωση μη φυσιολογικών αιματολογικά ασθενών με υποψία αιμοποιητικής νεοπλασίας και για την παρακολούθηση ασθενών με γνωστή αιμοποιητική νεοπλασία.
- Για την παρακολούθηση ασθενών με γνωστή αυτοάνοση νόσο ή διαταραχή.

Δείτε τις ακόλουθες παραπομπές:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Τα δείγματα φλεβικού αίματος πρέπει να διατηρούνται σε αποστειρωμένα σωληνάρια που περιέχουν άλας EDTA ως αντιπηκτικό.

Τα δείγματα θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) και δεν θα πρέπει να ανακινούνται. Πριν από τη λήψη του δείγματος προς εξέταση, τα δείγματα πρέπει να ομογενοποιούνται με ήπια ανάδευση.

Τα δείγματα πρέπει να αναλύονται εντός 24 ωρών από τη φλεβοκέντηση.

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ

Δείτε το ειδικό για την παρτίδα πιστοποιητικό ανάλυσης στη διεύθυνση www.beckman.com.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

1. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης.
2. Μην καταψύχετε.
3. Αφήστε το να περιέλθει σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) πριν από τη χρήση.

4. Ελαχιστοποιήστε την έκθεση στο φως.
5. Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διαφορετικά ενδέχεται να προκύψουν ψευδή αποτελέσματα.
6. Να χειρίζεστε τα διαλύματα αντισωμάτων που περιέχουν αζίδιο του νατρίου (NaN_3) με προσοχή. Μην εισπνέετε και αποφεύγετε κάθε επαφή με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.

   Επιπλέον, σε όξινο μέσο, το αζίδιο του νατρίου μπορεί να σχηματίσει ένα δυνητικά επικίνδυνο υδραζωτικό οξύ. Αν χρειαστεί να απορριφθεί, συνιστάται η αραίωση του αντιδραστηρίου με μεγάλη ποσότητα νερού πριν από την έκχυση στο αποχετευτικό σύστημα, προκειμένου να αποφευχθεί η συσσώρευση αζιδίου του νατρίου στις μεταλλικές σωληνώσεις και να αποτραπεί ο κίνδυνος έκρηξης.
7. Πρέπει να θεωρείτε όλα τα δείγματα αίματος δυνητικά μολυσματικά και να τα χειρίζεστε με προσοχή (ειδικότερα: να φοράτε προστατευτικά γάντια, ποδιές και γυαλιά).
8. Μην χρησιμοποιείτε ποτέ πιπέτα με το στόμα και αποφεύγετε κάθε επαφή των δειγμάτων με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.
9. Τα σωληνάρια αίματος και το υλικό μίας χρήσης που χρησιμοποιούνται για τον χειρισμό πρέπει να απορρίπτονται σε ειδικά δοχεία που προορίζονται για αποτέφρωση.
10. Τα αντιδραστήρια και τα απόβλητα πρέπει να απομακρύνονται σύμφωνα με τις τοπικές απαιτήσεις.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ GHS

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο

SDS Το δελτίο δεδομένων ασφάλειας διατίθεται στη διεύθυνση beckmancoulter.com/techdocs

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Πρέπει να φυλάσσετε αυτό το αντιδραστήριο σε θερμοκρασία 2 έως 8 °C και να το προστατεύετε από το φως πριν και μετά το άνοιγμα του φιαλιδίου.

Διάρκεια ζωής κλειστού φιαλιδίου ανά μελέτη σταθερότητας: 1095 ημέρες.

Σταθερότητα ανοιχτού φιαλιδίου: το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό για 180 ημέρες.

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ

Οποιαδήποτε μεταβολή στην εμφάνιση των αντιδραστηρίων είναι πιθανό να υποδεικνύει αλλοίωση και το αντιδραστήριο δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται.

Για επιπλέον πληροφορίες ή σε περίπτωση παραλαβής ελαττωματικού προϊόντος, επικοινωνήστε με την υπηρεσία εξυπηρέτησης πελατών της Beckman Coulter στο 800-742-2345 (για ΗΠΑ και Καναδά) ή με τον τοπικό αντιπρόσωπο της Beckman Coulter.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Το συντηρητικό αζιδίου του νατρίου μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικές ενώσεις στους μεταλλικούς αποχετευτικούς αγωγούς. Δείτε το ενημερωτικό δελτίο του NIOSH: Explosive Azide Hazard (Κίνδυνος έκρηξης αζιδίου) (16/8/76)
Για να αποφύγετε την ενδεχόμενη συσσώρευση ενώσεων αζιδίου, να εκπλένετε τους σωλήνες αποβλήτων με νερό μετά την απόρριψη μη αραιωμένου αντιδραστηρίου. Η απόρριψη του αζιδίου του νατρίου πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους αντίστοιχους τοπικούς κανονισμούς.

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ KIT:

- Σωλήνες δειγματοληψίας και υλικό που είναι απαραίτητο για τη δειγματοληψία.
- Αυτόματες πιπέτες με ρύγχη μιας χρήσης για 20, 100 και 500 µL.
- Πλαστικά σωληνάρια αιμόλυσης.
- Αντιδραστήριο λύσης ερυθροκυττάρων με στάδιο πλύσης μετά τη λύση. Για παράδειγμα: VersaLyse (Ref. A09777).
- Αντιδραστήριο μονιμοποίησης λευκοκυττάρων. Για παράδειγμα: Διάλυμα μονιμοποίησης IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ισοτυπικός μάρτυρας FITC: Αντιδραστήριο IOTest (Ref. A07795).
- Ρυθμιστικό διάλυμα (PBS: 0,01 M φωσφορικό νάτριο, 0,145 M χλωριούχο νάτριο, pH 7,2).
- Φυγόκεντρος.
- Αυτόματος αναδευτήρας (τύπου περιδίνησης).
- Κυτταρόμετρο ροής.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ VERSALYSE

Για κάθε δείγμα που αναλύεται, εκτός του σωληναρίου εξέτασης, μπορεί να προστεθεί ένα σωληνάριο μάρτυρα μέσα στο οποίο αναμειγνύονται τα κύτταρα παρουσία του ισοτυπικού μάρτυρα (Ref. A07795).

1. Προσθέστε 20 µL ειδικού συζευγμένου αντισώματος IOTest σε κάθε δοκιμαστικό σωληνάριο και, εάν απαιτείται, 20 µL του ισοτυπικού μάρτυρα σε κάθε σωληνάριο μάρτυρα.
2. Προσθέστε 100 µL του αναλυόμενου δείγματος σε κάθε σωληνάριο. Περιδινήστε απαλά τα σωληνάρια.
3. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) για 15 έως 20 λεπτά, προστατεύοντας από το φως.
4. Στη συνέχεια, πραγματοποιήστε λύση των ερυθροκυττάρων. Ανατρέξτε στο φύλλο οδηγιών του VersaLyse (Ref. A09777) και ακολουθήστε κατά προτίμηση τη διαδικασία «με ταυτόχρονη μονιμοποίηση», που περιλαμβάνει την προσθήκη 1 mL μείγματος «μονιμοποίησης και λύσης», το οποίο παρασκευάστηκε πρόχειρα. Περιδινήστε αμέσως επί ένα δευτερόλεπτο και επωάστε επί 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, προστατεύοντας από το φως.
5. Φυγοκεντρήστε για 5 λεπτά στα 150 x g σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση.
7. Πραγματοποιήστε επαναιώρηση του κυτταρικού ιζήματος με 3 mL PBS.
8. Επαναλάβετε το βήμα 5.

9. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση και επαναιωρήστε το κυτταρικό ίζημα με:

- 0,5 mL ή 1 mL PBS συν 0,1% φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να φυλαχθούν για λιγότερο από 24 ώρες. (Μπορείτε να παρασκευάσετε διάλυμα 0,1% φορμαλδεΰδης/PBS με αραίωση 12,5 µL του μονιμοποιητικού διαλύματος IOTest 3 (Ref. A07800) 10πλάσιας συγκέντρωσης σε 1 mL PBS).
- 0,5 mL ή 1 mL PBS χωρίς φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να αναλυθούν εντός 2 ωρών.

Σημείωση: Σε κάθε περίπτωση, φυλάσσετε τα παρασκευάσματα προστατευμένα από το φως, σε θερμοκρασία μεταξύ 2 και 8 °C.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Στα εργαστήριά μας, τα δείγματα ολικού αίματος από 25 φαινομενικά υγιείς δότες υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με χρήση του αντιδραστηρίου που περιγράφεται παραπάνω και ενός αντιδραστηρίου καθορισμού (gating). Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν για την καταμέτρηση των θετικών συμβάντων ενδιαφέροντος με αυτό το αντιδραστήριο παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

Θετικός στόχος	Αριθμός	Μέση τιμή (%)	SD	CV (%)
Λεμφοκύτταρα CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Οι τιμές αυτές παρέχονται αποκλειστικά για ενδεικτικούς σκοπούς. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να ορίσει τις δικές του αναμενόμενες τιμές βάσει του τοπικού πληθυσμού των φυσιολογικών δοτών.

ΑΠΟΔΟΣΗ

Τα δεδομένα απόδοσης λαμβάνονται με τη χρήση της διαδικασίας που περιγράφηκε παραπάνω και ενός αντιδραστηρίου καθορισμού (gating) σε δείγματα αίματος με διάρκεια ζωής μικρότερη των 24 ωρών που συλλέχθηκαν προηγουμένως σε αποστειρωμένα σωληνάρια με άλας EDTA ως αντιπηκτικό. Η ανάλυση εκτελείται εντός 2 ωρών από την ανοσοχρώση.

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Ο TCR είναι ένα μοριακό σύμπλεγμα που αποτελείται από δύο μονάδες: μία μονάδα αναγνώρισης, αποτελούμενη από ένα ετεροδιμερές είτε α/β είτε γ/δ, τα οποία βρίσκονται στην κυτταρική επιφάνεια κατά αμοιβαία αποκλειστικό τρόπο, και μία μονάδα διαβίβασης, το σύμπλεγμα CD3, το οποίο απαντά τόσο στα ετεροδιμερή α/β όσο και στα γ/δ και ενεργοποιεί το Τ κύτταρο όταν η μονάδα αναγνώρισης καταληφθεί από το αντίγονο. Η μονάδα αναγνώρισης αναγνωρίζει τα ξένα αντιγόνα. Η ποικιλότητα που απαιτείται για αυτήν τη λειτουργία αναγνώρισης επιτυγχάνεται μέσω σωματικού ανασυνδυασμού των γονιδίων TCR (11, 12, 13).

Υπάρχουν τέσσερις γενετικοί τόποι TCR (α, β, γ και δ). Καθένας από αυτούς αποτελείται από πολλά τμήματα V (variable, μεταβλητά), τα οποία κωδικοποιούν περίπου 90 αμινοξέα, από πολύ μικρά τμήματα D (diversity, ποικιλότητα) μόνο στους γενετικούς τόπους α και δ, μικρά τμήματα J (joining, συνδετικά) των 15 αμινοξέων περίπου, και ένα ή δύο τμήματα C (constant, σταθερά) (14, 15). Τα περισσότερα Τ κύτταρα εκφράζουν την πρωτεΐνη TCR (T cell receptor, υποδοχέας κυττάρων Τ) α/β, ενώ ένας μικρός πληθυσμός Τ κυττάρων εκφράζει τον TCR γ/δ, που έχει συνήθως διπλά αρνητικό φαινότυπο (CD4/CD8).

Τα Τ κύτταρα γ/δ αποτελούν κανονικά την πρώτη γραμμή άμυνας στις επιδερμικές και επιθηλιακές επιφάνειες, και αποτελούν το 10–12% των λεμφοκυττάρων στον σπλήνα (16). Το IMMU 510 αναγνωρίζει όλα τα Τ κύτταρα γ/δ, ανεξαρτήτως των μεταβλητών γονιδίων ή των συνδετικών περιοχών που εκφράζουν, σύμφωνα με μελέτες ανοσοφθορισμού ροής σε πολυκλωνικές σειρές Τ κυττάρων γ/δ και σε κλώνους Τ κυττάρων γ/δ (17, 18, 19, 20, 21).

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Οι ποσοστιαίες θετικές τιμές προσδιορίστηκαν με χρήση ολικού αίματος. Κάθε δείγμα αναλύθηκε 4 φορές, δύο φορές την ημέρα για 1 ημέρα σε 2 όργανα με χρήση 2 παρτίδων αντιδραστηρίων μονοκλωνικού αντισώματος Anti-TCR PAN γ/δ-FITC. Οι μετρήσεις (% θετικές) πραγματοποιήθηκαν σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με βάση τη μέθοδο CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Αξιολόγηση της απόδοσης ακρίβειας για μεθόδους ποσοτικής μέτρησης).

Τα κριτήρια έγκρισης εξαρτώνται από τον αριθμό των θετικών συμβάντων που μετρώνται για κάθε πληθυσμό:

- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος <1.500, <15% CV
- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος >1.500, <10% CV

Λεμφοκύτταρα CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Αριθμός θετικών συμβάντων (μέσος όρος) = 961							
	Μεταξύ χειριστών	Μεταξύ κυτταρόμετρων	Εντός παρτίδας	Μεταξύ παρτίδων	Μεταξύ αναλύσεων	Εντός ανάλυσης	Σύνολο
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ακρίβεια του Anti-TCR PAN γ/δ-FITC αξιολογήθηκε μέσω σύγκρισης των αποτελεσμάτων με ένα αντιδραστήριο αναφοράς, ως μέσο πρόγνωσης, σε ένα σύνολο δειγμάτων ολικού αίματος που αναλύθηκαν σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Το συστηματικό σφάλμα μεταξύ εξέτασης και αντιδραστηρίου αναφοράς προσδιορίστηκε με βάση τη διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων εξέτασης. Εάν το συστηματικό σφάλμα βρίσκεται εντός του επιτρεπόμενου εύρους σφαλμάτων ή η τιμή p δεν υποδεικνύει καμία σημαντική διαφορά (> 0,05), τα αποτελέσματα εξετάσεων για τα δύο αντιδραστήρια θεωρούνται ισοδύναμα.

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον πίνακα που ακολουθεί:

Αριθμός δοτών = 25				
Θετικός στόχος	Μέση τιμή Δ	Κριτήρια κυττάρων Δ %	Τιμή p	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
Λεμφοκύτταρα CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

ΟΡΙΟ ΤΥΦΛΟΥ ΚΑΙ ΟΡΙΟ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

Διεξήχθη μια μελέτη με βάση τις οδηγίες του CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Αξιολόγηση της ικανότητας ανίχνευσης για διαδικασίες μέτρησης κλινικών εργαστηρίων). Το όριο ανίχνευσης (OA) είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση αναλυόμενης ουσίας που μπορεί να ανιχνευτεί σταθερά. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Positive Target	Όριο τυφλού (κύτταρο/μL)	Όριο ανίχνευσης (κύτταρο/μL)
Λεμφοκύτταρα CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Η κυτταρομετρία ροής ενδέχεται να παράγει ψευδή αποτελέσματα αν το κυτταρόμετρο δεν είναι σωστά ευθυγραμμισμένο, αν οι διαρροές φθορισμού δεν έχουν αντισταθμιστεί σωστά και αν οι περιοχές δεν έχουν τοποθετηθεί προσεκτικά.
2. Η τεχνική λύσης RBC είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται με ένα βήμα πλύσης, καθώς το συγκεκριμένο αντιδραστήριο δεν έχει βελτιστοποιηθεί για τεχνικές λύσης «χωρίς πλύση».
3. Ακριβή και επαναλήψιμα αποτελέσματα προκύπτουν στο μέτρο που οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι σύμφωνες με το ένθετο τεχνικών οδηγιών και συμβατές με τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές.
4. Το συζευγμένο αντίσωμα αυτού του αντιδραστηρίου είναι βαθμονομημένο ώστε να προσφέρει την καλύτερη αναλογία ειδικής σήμανσης/μη ειδικής σήμανσης. Γι' αυτό είναι σημαντικό να τηρείτε την αναλογία όγκου αντιδραστηρίου/όγκου δείγματος σε κάθε εξέταση.
5. Σε περίπτωση υπερλευκοκυττάρωσης, αραιώστε το αίμα σε PBS ώστε να επιτευχθεί τιμή περίπου 5 x 10^9 λευκοκύτταρα/L (22).
6. Σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις, όπως η σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια ή οι αιμοσφαιρινοπάθειες, η λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων ενδέχεται να είναι αργή, ατελής ή και ανέφικτη. Σε αυτήν την περίπτωση, συνιστάται η απομόνωση των μονοπύρηνων κυττάρων με διαβάθμιση πυκνότητας (για παράδειγμα Ficoll) πριν από τη χρώση (23).
7. Σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπείες με αντι-ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα, η ανίχνευση των ειδικών στοχευόμενων αντιγόνων ενδέχεται να είναι μειωμένη ή να απουσιάζει λόγω μερικού ή πλήρους αποκλεισμού από το θεραπευτικό αντίσωμα.
8. Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων Anti-TCR PAN γ/δ-FITC θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η συνολική κλινική εικόνα του ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων των συμπτωμάτων, του κλινικού ιστορικού, των δεδομένων πρόσθετων εξετάσεων και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Δείτε το Παράρτημα για παραδείγματα και παραπομπές.

ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ

Η επωνυμία Beckman Coulter, το τυποποιημένο λογότυπο και τα σήματα προϊόντων και υπηρεσιών της Beckman Coulter που αναφέρονται στο παρόν είναι εμπορικά σήματα ή σήματα κατατεθέντα της Beckman Coulter, Inc. στις Ηνωμένες Πολιτείες και σε άλλες χώρες.

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Για ασθενή/χρήστη/τρίτους στην Ευρωπαϊκή Ένωση και σε χώρες με όμοιο ρυθμιστικό καθεστώς (Οδηγία 2017/746/ΕΕ σχετικά με τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα), εάν, κατά τη χρήση αυτής της συσκευής ή ως αποτέλεσμα της χρήσης της, προκύψει σοβαρό περιστατικό, πρέπει να το αναφέρετε στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στις εθνικές αρχές της χώρας στην οποία κατοικείτε.

Το Summary of Safety and Performance (Σύνοψη ασφάλειας και απόδοσης) είναι διαθέσιμο στη βάση δεδομένων EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΕΩΝ

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ AE:	Ημερομηνία έκδοσης: Οκτώβριος 2019

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AW	2022. május
Ενημερώσεις για την επίτευξη συμμόρφωσης με την παγκόσμια πολιτική σήμανσης της Beckman Coulter και σύμφωνα με τις απαιτήσεις IVD-R (ΕΕ)2017/746:	
Προσθήκη ενοτήτων	Αριθμός BSI 2797, προβλεπόμενος χρήστης, κλινική συνάφεια, συγκέντρωση, πιστότητα, ακρίβεια, όριο τυφλού και όριο ανίχνευσης, πρόσθετες πληροφορίες, ιστορικό αναθεωρήσεων.
Προσθήκη πληροφοριών	Δείτε τις ενότητες «Περιορισμοί»
Εκφραστικές ή τυπογραφικές ενημερώσεις	Δείτε τις ενότητες «Διαδικασία», «Απόδοση», «Περιορισμοί», «Προειδοποίηση και προφυλάξεις», «Αποθήκευση και σταθερότητα».
Αφαίρεση ενοτήτων	Παράδειγμα κλινικών εφαρμογών, αντιδραστήρια, διεργαστηριακή επαναληψιμότητα, γραμμικότητα
Ενημερωμένες ενότητες	Προβλεπόμενη χρήση, Ταξινόμηση επικινδυνότητας κατά GHS, Ενδείξεις αλλοίωσης, Διαδικασία, Παράρτημα.

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AX	Μάρτιος 2023
Ενημερωμένες ενότητες	Προσθήκη Καζακικών
Ενημερωμένες ενότητες	Φύλαξη και σταθερότητα

Αναθεωρημένη έκδοση	AY
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Μάιος 2024
Ενημέρωση μεταφράσεων	**Κλινική συνάφεια:**
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθεωρημένη έκδοση	AZ
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Ιούλιος 2024
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Υπόμνημα συμβόλων

Το γλωσσάριο συμβόλων είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση beckman.com/techdocs (αριθμός εγγράφου B60062)

	仕様
特異性	TCR γ/δ
クローン	IMMU510
ハイブリドーマ	X63 x balb/c
免疫原	Soluble γ/δ receptor
免疫グロブリン	IgG1
動物種	マウス
精製	アフィニティークロマトグラフィー
蛍光色素	Fluorescein isothiocyanate
モル比	FITC / Ig： 4 - 6.5
λ励起	488 nm
発光のピーク	525 nm
緩衝化剤	PBS(pH 7.2) + 2 mg/mL BSAおよび0.1% NaN_3

IOTest

コンジュゲート抗体
Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 テスト50回、1 mL, 20 µL/テスト

体外診断用。

用途

この蛍光色素結合抗体混合物により、フローサイトメトリーを用いてヒト生物検体に存在するTCR γ/δ抗原を発現する細胞集団の定性的かつ非自動での同定が可能になります（以下の「検体」の項を参照）。

原理

このテストは、白血球が発現する抗原決定因子に対する特異的モノクローナル抗体の結合能に基づいています。

白血球の特異的染色は、検体をIOTest試薬とインキュベートすることによって行います。次に、赤血球を溶解によって除去し、このプロセスの影響を受けない白血球をフローサイトメトリーによって分析します。

フローサイトメーターは、細胞の光拡散および蛍光を測定します。これにより、直角散乱光（側方散乱、SS）および鋭角散乱光（前方散乱、FS）と相関するヒストグラム上で規定した電子枠内で対象集団の限界設定が可能になります。ユーザーが選択したアプリケーションに依存して、サイトメーターで利用可能な種々のパラメーターの2つを組み合わせたその他のヒストグラムが、ゲーティング段階の補助として利用できます。

陽性染色イベントと未染色イベントを鑑別するために、区分した細胞の蛍光を測定します。結果は、ゲーティングで得られた全イベントに対する陽性イベントの比率として表します。

対象ユーザー

本製品は、検査室での専門的な使用を目的としています。

臨床的妥当性

Anti-TCR PAN γ/δ-FITCは、TCR γ/δ抗原を発現する細胞をフローサイトメトリーで同定および特性評価するために使用するAnti-TCR PAN γ/δ抗体です。この製品だけで、診断の結論を下すことはできず、そのように意図されていません。

本製品は、他のマーカーと組み合わせて使用する場合、次の機能の1つまたは複数で使用できます。

- 造血系新生物が疑われる血液学的に異常な患者の鑑別診断を補助し、既知の造血系新生物を有する患者をモニタリングするため。
- 既知の自己免疫疾患または障害のある患者をモニタリングするため。

以下の参考文献を参照してください。

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

検体

静脈血は、抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブを用いて採取しなければなりません。

検体は室温（18～25°C）で保管し、揺らさないようにする必要があります。検体は、テスト検体を採取する前に、穏やかな撹拌によって均質化する必要があります。

この検体は、静脈穿刺から24時間以内に分析する必要があります。

濃度

www.beckman.comでロット固有の分析証明書を参照してください。

警告および注意

1. 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
2. 凍結しないでください。
3. 使用前に室温（18～25°C）にしてください。
4. 露光をできるだけ避けてください。
5. 試薬の微生物汚染を避けてください。誤った結果の原因となる場合があります。

6. アジ化ナトリウム（NaN_3）を含む抗体溶液は慎重に扱う必要があります。体内に摂取してはならず、皮膚、粘膜および眼との接触はすべて避けてください。

   また、酸性媒体では、アジ化ナトリウムから潜在的危険性のあるアジ化水素酸が生成されることがあります。アジ化ナトリウムを含む試薬を廃棄する必要がある場合、金属製のパイプにアジ化ナトリウムが蓄積しないように、また爆発の危険性を防ぐために、試薬を多量の水で希釈してから排水システムに廃棄することを推奨します。
7. すべての血液検体は感染性の可能性があるとみなして慎重に取り扱う必要があります（特に保護手袋、実験着、ゴーグルの着用）。
8. 絶対に口でピペットを吸わないでください。また、皮膚、粘膜、目に検体が接触しないようにしてください。
9. 使用済みの採血管およびディスポーザブル製品は、焼却用の専用容器に入れて廃棄してください。
10. 試薬や廃棄物は地方自治体の要件に従って廃棄してください。

GHSハザード分類

危険有害物質には分類されない

SDS　安全性データシートは、beckmancoulter.com/techdocsで入手できます。

保管および安定性

この試薬は、バイアル開封の前後に2～8℃で保管し、遮光する必要があります。

各安定性試験におけるクローズドバイアルの保存期間：1095日間

開封後のバイアル：試薬は180日間安定しています。

変質や劣化の兆候

試薬の物理的な外観の変化は劣化の徴候である場合があり、その試薬を使用してはなりません。

追加情報に関して、または損傷している製品をお受け取りになった場合、ベックマン・コールターのカスタマーサービス800-742-2345（米国またはカナダ）にお電話をくださるか、最寄りの代理店に連絡してください。

内容

保存剤のアジ化ナトリウムは、金属製排水管内で爆発性化合物を生成するおそれがあります。 NIOSH Bulletinを参照してください: アジド爆発危険性（76/8/16）
アジド化合物が蓄積する可能性を回避するため、未希釈の試薬を廃棄した後は排水管を水で洗い流します。アジ化ナトリウムは地方自治体の規定に従い適切に廃棄してください。

ご用意いただくもの:

- サンプリングに必要なサンプリングチューブと材料。
- 使い捨てチップ付き自動ピペット（100および500 µL用）。20
- プラスチックの溶血チューブ。
- 溶血処理後に洗浄操作した赤血球溶血試薬。例：VersaLyse（製品番号A09777）。
- 白血球固定試薬。例：IOTest 3固定液（製品番号A07800）。
- アイソタイプ対照FITC：IOTest試薬（製品番号A07795）。
- 緩衝化剤（PBS：0.01 Mリン酸ナトリウム、0.145 M塩化ナトリウム、pH 7.2）。
- 遠心機
- 自動アジテーター（ボルテックスタイプ）。
- フローサイトメーター

VERSALYSE試薬による手順

測定する各検体について、テストチューブのほか、アイソタイプ対照存在下で細胞を混合した対照チューブ1本を追加することができます（製品番号A07795）。

1. 各テストチューブに20 µLの特異的IOTest結合抗体を加え、必要に応じて20 µLのアイソタイプ対照を各対照チューブに加えます。
2. 各チューブに100 µLのテスト検体を添加します。チューブを穏やかに攪拌します。
3. 遮光した状態で、室温（18～25°C）で15～20分間インキュベートします。
4. 次に、赤血球の溶解を行います。VersaLyse(製品番号A09777)のリーフレットを参照し、できれば「同時固定」と呼ばれる手順に従います。この手順では、その場で調製した「固定/溶解」混合液1 mLを加えます。直ちに1秒間撹拌し、室温、遮光下で10分間インキュベートします。
5. 室温で5分間遠心分離（150 x g）します。
6. 吸引により上清を除去します。
7. 3 mLのPBSを用いて細胞ペレットを懸濁します。
8. ステップ5を繰り返します。
9. 吸引により上清を除去し、以下により細胞ペレットを再懸濁します。

- 調製液の保存期間が24時間未満の場合、ホルムアルデヒド0.1％を含むPBS 0.5 mLまたは1 mL。（0.1%ホルムアルデヒドを含むPBSは、12.5 µLの10倍濃度のIOTest 3固定液（製品番号A07800）を1 mLのPBSに希釈して作製できます）。
- 調製液を2時間以内に分析する場合、ホルムアルデヒドを含まないPBS 0.5 mLまたは1 mL。

注記：いかなる場合でも、調製液は2～8°Cに保ち、遮光してください。

期待値

弊社検査室では、上記の試薬とゲーティング試薬を用いて見かけ上健常なドナー25名の全血検体を処理しました。本試薬による陽性イベント数測定で得た結果を以下の表に示します。

陽性標的細胞	番号	平均（%）	SD	CV（%）
リンパ球CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5.43	3.40	62.54

これらの値は、代表的な値であることのみを意図しています。各検査室は、正常なドナーの現地の集団から独自の期待値を確立してください。

性能

性能データは、以前に抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブに採取した24時間未満の血液検体を対象に、上述の手順とゲーティング試薬を用いて取得します。分析は、免疫染色後2時間以内に行います。

特異性

TCRは、相互に排他的に細胞表面に存在するαβまたはγδヘテロダイマーのいずれかで構成される認識ユニット、および認識ユニットに抗原が結合したときにT細胞をトリガーする伝達ユニットであるCD3複合体（αβおよびγδヘテロダイマーに共通）の2つの単位から構成される分子複合体です。この認識ユニットは外来抗原を認識し、この認識機能に必要な多様性は、TCR遺伝子の体細胞遺伝子組換えによって生じます（11、12、13）。

4つのTCR遺伝子座（α、β、γ、δ）があります。各セグメントは複数のV（可変）セグメントで構成され、約90アミノ酸の非常に短いD（多様性）セグメント（αおよびδ遺伝子座のみ）、短いJ（結合）セグメント（約15アミノ酸）、および1つまたは2つのC（一定）セグメントをコードしています（14、15）。T細胞のほとんどはα/β　TCR（T細胞受容体）タンパク質を発現し、少数のT細胞が、通常二重陰性（CD4/CD8）表現型をもつγ/δ TCRを発現します。

一般的に、γ/δT細胞は、表皮および上皮表面における防御の最前線であり、脾臓のリンパ球の10～12%を占めています（16）。IMMU 510は、発現する可変遺伝子かジャンクション領域かに関係なく、発現している（ポリクローナルγ/δT細胞株およびγ/δT細胞クローンのフロー免疫蛍光テストによる評価による）すべてのγ/δT細胞を認識します（17、18、19、20、21）。

精密性

陽性値の割合は、全血を使用して決定しました。各検体について、2つの装置で各4回を1日に2回、2ロットのAnti-TCR PAN γ/δ-FITCモノクローナル抗体試薬を使用して測定しました。測定（%陽性）はNaviosフローサイトメーターで行いました。分析は、CLSI法EP5-A2：Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（定量測定法の精度性能の評価）に基づいて行いました。

当社の判定基準は、各集団について測定された陽性イベントの数によって異なります。

- 陽性イベント< 1,500の場合、CV< 15%
- 陽性イベント> 1,500の場合、CV< 10%

リンパ球CD3+ TCR PAN γ/δ+							
陽性イベント数（平均）= 961							
	オペレータ間	血球計算器間	ロット内	ロット間	測定間	測定内	総計
CV（%）	1.02	0.99	2.92	0.78	1.00	2.55	3.18
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

正確性

Anti-TCR PAN γ/δ-FITCの正確度は、一連の全血検体についてNaviosフローサイトメーターで測定した規準としての参照試薬と、結果を比較して評価しました。テスト試薬と参照試薬との間のバイアスは、テスト結果の差に基づいて決定しました。バイアスが許容誤差範囲内にある場合、またはp値が有意差を示さない場合（> 0.05）、2つの試薬のテスト結果は同等と見なされます。

得られた結果を、下表にまとめます。

ドナー数 = 25				
陽性標的細胞	平均Δ	Δ % 細胞基準	p値	結果
リンパ球CD3+ TCR PAN γ/δ+	0.082	<3	0.038	PASS

ブランク上限と検出限界

試験は、CLSI EP17-A2、Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（臨床検査室測定手順の検出能力の評価）に基づいて実施されました。検出限界（LoD）とは、一貫して検出可能な分析物の最小濃度です。取得した結果は、下表に表示されています。

Positive Target	ブランク上限（細胞/µL）	検出限界（細胞/µL）
リンパ球CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

制限事項

1. フローサイトメトリーは、血球計数器が完全に配列されていない場合、蛍光リークが正しく相殺されていない場合、および領域が慎重に配置されていない場合、誤った結果を示す可能性があります。
2. この試薬は「洗浄なし」溶解手法用に最適化されていないため、洗浄ステップでRBC溶解法を使用することをお勧めします。
3. 取扱説明書および対応する検査室の実施基準に従って作業する限り、正確かつ再現性のある結果が得られます。
4. この試薬の結合抗体は、特異的シグナル/非特異的シグナル比が最適となるようにキャリブレーションされています。そのため、各テストでは、試薬量/検体量比を順守することが重要です。
5. 白血球増加症の場合、白血球数がおよそ5 x 10^9個/Lとなるよう、血液をPBSで希釈してください（22）。

6. 重度の腎不全やヘモグロビン異常など、特定の疾患状態では、赤血球の溶解が遅くなったり、不完全になったり、あるいは溶解できないことさえあります。この場合、染色する前に密度勾配（Ficollなど）を使用して単核細胞を分離することを推奨します（23）。
7. 抗ヒトモノクローナル抗体療法で治療を受けた患者では、治療用抗体による部分的または完全な遮断により、特定の標的抗原の検出が減少または消失する場合があります。
8. Anti-TCR PAN γ/δ-FITCの結果は、患者の総合的な臨床像、例えば諸症状、病歴、他のテストデータ、その他の該当情報などを踏まえて解釈する必要があります。

附録にある例および参考文献を参照してください。

商標

ここに記載されているBeckman Coulter、ロゴマーク、ならびにベックマン・コールターの製品およびサービスマークは、ベックマン・コールターの米国およびその他の国における商標と登録商標です。

その他

欧州連合、および規制制度が欧州連合と同一の国の患者/ユーザー/第三者（体外診断医療機器規制2017/746/EU）については、本機器の使用中または使用の結果、重大な事故が発生した場合、製造元および/または認定代理店ならびに所管の行政機関に報告してください。

「安全性および性能の概要」はEUDAMEDデータベース：ec.europa.eu/tools/eudamedより入手できます。

改訂履歴

改訂番号 AE：	発売日：2019年10月

改訂	**発行日**
AW	2022年5月
ベックマン・コールターのグローバルラベリングポリシーおよびIVD-R（EU）2017/746の要件に準拠するための更新：	
セクションの追加	BSI 2797番号、対象ユーザー、臨床関連性、濃度、精度、正確度、ブランク上限および検出限界、その他、改訂履歴。
情報を追加	「制限事項」のセクションを参照してください
言い回しまたはタイプミスの更新	「手順」、「性能」、「制限」、「警告および注意」、「保管および安定性」のセクションを参照してください。
セクションの削除	臨床応用の例、試薬、検査室内再現性、直線性
セクションの更新	用途、GHSハザード分類、変質や劣化の兆候、手順、附録。

改訂	**発行日**
AX	3月 2023
セクションの更新	カザフ語を追加
セクションの更新	コントロールの調製

改訂版	AY
改訂日	5月 2024
更新された翻訳	**臨床的妥当性：**
セクションの更新	保管および安定性

改訂版	AZ
改訂日	7月 2024
セクションの更新	保管および安定性

記号凡例

記号一覧は、beckman.com/techdocsで入手できます（文書番号B60062）

	规格
特异性	TCR γ/δ
克隆	IMMU510
杂交瘤	X63 x balb/c
免疫原	Soluble γ/δ receptor
免疫球蛋白	IgG1
种类	小鼠
纯化	亲和层析色谱法
荧光染料	Fluorescein isothiocyanate
摩尔比率	FITC/Ig： 4 - 6.5
λ 激励	488 nm
辐射峰值	525 nm
缓冲液	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 和 0.1% NaN_3

IOTest

结合抗体
Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 次检测；1 mL, 20 µL/测试

供体外诊断使用。

预期用途

此种荧光染料结合抗体可通过流式细胞术对人体生物样本中存在的 TCR γ/δ 抗原表达细胞群进行定性和非自动化鉴别（参阅下文“样本”部分）。

原理

该测试以特异性单克隆抗体能够与白细胞表达的抗原决定簇相结合这一特性为基础。

将样本与 IOTest 试剂一起培育，以便进行白细胞的特异性染色。然后通过裂解去除红细胞，再使用流式细胞术分析不受裂解过程影响的白细胞。

流式细胞仪可测定细胞的光漫射和荧光。这样可以限定直方图上定义的电子窗口内的感兴趣群体，直方图可以关联光的正交漫射（侧向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。细胞仪上可用的结合两个不同参数的其他直方图可以用于支持设门阶段，具体取决于用户所选的应用。

为了区分阳性染色事件和未染色事件，我们对划定细胞的荧光进行了分析。结果表示为阳性事件相对于设门获得的所有事件的百分比。

预期用户

本产品的预期用户为实验室专业人员。

临床意义

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC 是一种 Anti-TCR PAN γ/δ 抗体，用于通过流式细胞术鉴定和表征表达 TCR γ/δ 抗原的细胞。单独使用此产品不能产生任何诊断结论，这也并非其预期用途。

与其他标志物结合使用时，本产品可用于以下一种或多种用途：

- 对疑似有造血系统肿瘤的血液学异常患者进行辅助鉴别诊断，并对已知患有造血系统肿瘤的患者进行监测。
- 监测已知患有自身免疫性疾病的患者。

参阅以下参考文献：

1；2；3；4；5；6；7；8；9；10

样本

必须使用含有 EDTA 盐作为抗凝血剂的无菌试管采集静脉血。

样本应保存在室温 (18-25°C) 条件下，并注意避免摇动。在吸取测试样本之前，应通过轻轻搅动使样本均质化。

样本必须在静脉采血后的 24 小时内分析。

浓度

请参阅 www.beckman.com 上的特定批次分析证书。

警告和注意事项

1. 请勿使用已过失效日期的试剂。
2. 切勿冷冻。
3. 使用前使其达到室温 (18–25°C)。
4. 尽量减少曝光。
5. 避免试剂受到微生物污染，否则可能出现错误结果。
6. 应小心处理含有叠氮化钠 (NaN_3) 的抗体溶液。请勿内服，并避免接触皮肤、粘膜和眼睛。

   此外，在中度酸性条件下，叠氮化钠可形成具有潜在危害的叠氮酸。若需要对其进行处置，建议您在将试剂倒入排污系统前用大量清水将其稀释，以避免叠氮化钠在金属管中累积并预防爆炸。
7. 所有血样都必须被视为具有潜在传染性，并且必须小心处理（具体地讲：穿戴防护手套、防护服和护目镜）。
8. 不得通过嘴巴移液，并避免样本以任何方式接触皮肤、黏膜和眼睛。

9. 用于处理的血液试管和一次性材料应丢弃于专门用于焚化的容器中。
10. 应根据当地要求处置试剂和废物。

GHS 危险等级分类

未被归为危险品

SDS 化学品安全技术说明书发布在 beckmancoulter.com/techdocs 上

存储和稳定性

在开瓶前后，必须将此试剂保存在 2-8°C 环境下，并注意避免光照。

根据稳定性研究的开封前保质期：1095 天。

已开瓶试剂的稳定性：试剂可稳定保存 180 天。

变质的迹象

试剂物理外观的任何变化都可能表明试剂变质，此时不应使用试剂。

有关其他信息，或者如果收到受损产品，请致电贝克曼库尔特公司客服：800-742-2345（美国或加拿大），或联系您当地的贝克曼库尔特代表。

目录

叠氮化钠防腐剂可在金属下水管道中形成易爆化合物。 请参阅 NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76)（美国国家职业安全与卫生研究所公报：易爆的叠氮化物危险品 [76/8/16]）。
为避免可能产生的叠氮化合物堆积，请在丢弃未经稀释的试剂后用水冲洗排污管。对叠氮化钠的丢弃必须符合当地的相关规定。

试剂盒中未提供的必需材料：

- 采样所需的采样管和材料。
- 可吸取 20100 和 500 µL 试剂的带有一次性吸头的自动移液器。
- 塑料溶血管。
- 红细胞溶解试剂在溶解后清洗。例如：VersaLyse（REF A09777）。
- 白细胞固定剂。例如：IOTest 3 固定剂（REF A07800）。
- 同型质控品 FITC：IOTest 试剂（REF A07795）。
- 缓冲液（PBS：0.01 M 磷酸钠；0.145 M 氯化钠；pH 7.2）。
- 离心处理。
- 自动搅动器（旋涡型）。
- 流式细胞仪。

VERSALYSE 试剂的使用程序

对于分析的每种样本，除使用分析测试试管外，还可增加一个质控品试管，以在其中混合细胞与同型质控品（REF A07795）。

1. 将 20 µL 特异性 IOTest 结合抗体添加到每个分析测试试管中，并视需要将 20 µL 同型质控品添加到每个质控品试管中。
2. 添加 100 µL 测试样本到每个试管中。轻轻摇动试管。
3. 在室温 (18–25°C) 下避光孵育 15-20 分钟。
4. 然后进行红细胞裂解。请参阅 VersaLyse（REF A09777）说明书，最好按照名为“同时固定”的程序实施：加入 1 mL 临时配制的“固定-裂解”混合液。立即摇动 1 秒，并在室温条件下培育 10 分钟，注意避光。
5. 在室温下以 150 x g 离心处理 5 分钟。
6. 通过吸样去除上层清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新悬浮细胞微粒。
8. 重复第 5 步。
9. 通过吸样去除上层清液并使用以下溶液重新悬浮细胞微粒：

- 0.5 mL 或 1 mL PBS 与 0.1% 甲醛，若备品的保存时间低于 24 小时。（可通过在 1 mL PBS 中稀释 10 倍浓度的 12.5 µL IOTest 3 固定剂 [REF A07800] 获取含 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 0.5 mL 或 1 mL PBS，无甲醛，若制剂将在 2 小时内分析。

注释：任何情况下，制备试剂均需在 2-8°C 下避光保存。

预计值

我们在实验室中采用上述试剂和门控试剂处理了 25 名表观健康供体的全血样本。使用该试剂进行阳性目标颗粒计数得到的结果如下表所示：

阳性目标	数量	平均值 (%)	标准差	CV (%)
淋巴细胞CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5.43	3.40	62.54

这些值仅供参考。各实验室应通过当地正常供体群体确定自己的预期值。

性能

使用上文描述的程序和门控试剂，通过分析之前采集在无菌试管（含有 EDTA 盐作为抗凝血剂）中未达 24 小时的血液样本获得了性能数据。在免疫染色后的 2 小时内进行分析。

特异性

TCR 是由两个单元组成的分子复合物：一个识别单元，包含 α-β 或 γ-δ 异源二聚体，其以相互排斥的方式存在于细胞表面；以及一个转导单元 CD3 复合物，其由 α-β 或 γ-δ 异源二聚体共用，可在识别单元被抗原占据时触发 T 细胞。识别单元可识别外来抗原，这种识别功能所需的多样性是通过 TCR 基因（11、12、13）的体细胞重组产生的。

TCR 基因有四个基因座（α、β、γ 和 δ）。每个基因座包含若干 V（可变）片段（约 90 个氨基酸的编码）、非常短的 D（多样性）片段（仅 α 和 δ 基因座）、短 J（连接）片段（约 15 个氨基酸）以及一两个 C（常量）片段（14、15）。大多数 T 细胞表达 α/β TCR（T 细胞受体）蛋白，少数 T 细胞表达 γ/δ TCR，后者通常具有双阴性 (CD4/CD8) 表型。

γ/δ T 细胞通常是表皮和上皮表面的第一道防线，它们代表了脾脏中 10-12% 的淋巴细胞 (16)。通过对多克隆 γ/δ T 细胞系以及 γ/δ T 细胞克隆体（17、18、19、20、21）进行流式免疫荧光法研究评估，IMMU 510 可识别所有 γ/δ T 细胞，而且无需考虑其表达的可变基因或连接区域。

精度

阳性百分比值用全血测定。每份样本使用 2 个批次的 Anti-TCR PAN γ/δ-FITC 单克隆抗体试剂，在 2 台仪器上运行 4 次，每天 2 次，持续 1 天。使用 Navios 流式细胞仪进行测量（阳性 %）。分析基于 CLSI 方法 EP5-A2：Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（定量测量方法精度性能评估）。

我们的接受限取决于针对每个群体所测得的阳性颗粒数：

- 如果阳性颗粒数 < 1,500，则 CV < 15%
- 如果阳性颗粒数 > 1,500，则 CV < 10%

淋巴细胞CD3+ TCR PAN γ/δ+							
阳性颗粒数（平均值）= 961							
	操作人员间	细胞仪间	批次内	批次间	运行间	运行内	总数
CV (%)	1.02	0.99	2.92	0.78	1.00	2.55	3.18
结果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

准确性

评估 Anti-TCR PAN γ/δ-FITC 的准确性的方法为：将其与参考试剂分别应用于一组全血样本，然后用 Navios 流式细胞仪进行检测，之后比较结果。该测试与参考试剂之间的偏差根据测试结果的差异而确定。如果偏差在允许的错误范围内，或者 p 值没有显著差异 (> 0.05)，则认为这两种试剂的测试结果是等效的。

所得结果如下表所示：

献血人次 = 25				
阳性目标	平均值 Δ	Δ % 细胞标准	p 值	结果
淋巴细胞CD3+ TCR PAN γ/δ+	0.082	<3	0.038	PASS

空白检测限和检测限

研究人员根据 CLSI EP17-A2 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2 临床实验室测量程序检测能力的评估）进行了一项研究。检测限 (LOD) 指可被一致检出的最低分析物浓度。所得结果如下表所示：

Positive Target	空白检测限（个细胞/µL）	检测限（个细胞/µL）
淋巴细胞CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

限制

1. 若流式细胞术未完全校准、荧光泄漏未得到正确补偿或未在该区域谨慎定位，则流式细胞术可能会产生错误结果。
2. 最好使用包含洗涤步骤的 RBC 裂解技术，因为该试剂未针对“无洗涤”裂解技术进行优化。
3. 只要所使用的程序符合技术插页说明书并遵守实验室管理规范，就可以获得准确和可重现的结果。
4. 校准该试剂的结合抗体，以提供最佳的特异性信号/非特异性信号比率。因此，在每次测试中都务必遵从此试剂体积/样本体积比率。
5. 如果白细胞过多，请在 PBS 中稀释血液，使白细胞浓度降低到约 5 x 10^9 个/L (22)。
6. 在严重肾衰竭、血红蛋白病等特定疾病状态中，红细胞裂解会变得缓慢、不完全，甚至无法实现。在这种情况下，建议在染色前通过密度梯度（例如聚蔗糖）隔离单核细胞 (23)。
7. 接受抗人单克隆抗体治疗的患者可能会因治疗抗体的部分或完全阻断而难以或无法检测特定的靶抗原。
8. 在判读 Anti-TCR PAN γ/δ-FITC 结果时，需参照患者的整体临床表现，包括：症状、临床病史、其他检查数据和其他适用的信息。

请参阅附录中的示例和参考文献。

商标

Beckman Coulter、标志以及文中提及的贝克曼库尔特产品和服务标记均是美国贝克曼库尔特有限公司在美国和其他国家/地区的商标或注册商标。

其他信息

对于欧盟及具有相同监管制度的国家/地区的患者/用户/第三方（Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices [有关体外诊断医疗装置的法规 2017/746/EU]）：如果在使用本装置期间或由于使用本装置而发生严重事件，请向制造商和/或其授权代表以及当地国家主管部门报告。

Summary of Safety and Performance（安全和性能摘要）提供在 EUDAMED 数据库中：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修订历史

修订版本 AE：	发布日期：2019 年 10 月

修订	发布日期
AW	2022 年 5 月
更新文档以符合贝克曼库尔特公司全球标签政策和 IVD-R (EU)2017/746 的要求：	
新增章节	BSI 2797 编号、预期用户、临床意义、浓度、精度、准确性、空白检测限和检测限、其他信息、修订记录。
添加了信息	参阅“限制”章节
更新了措辞或版面	参阅程序、性能、限制、警告和注意事项、储存和稳定性章节。
删除了几个章节	临床应用示例、试剂、实验室内重复性、线性度
更新后章节	预期用途、GHS 危险等级分类、变质的迹象、程序、附录。

修订	发布日期
AX	3 月 2023
更新后章节	添加哈萨克语
更新后章节	储存及稳定性

修订版本	AY
修订日期	5 月 2024
更新的翻译	**临床意义**：
更新后章节	修订历史

修订版本	AZ
修订日期	7 月 2024
更新后章节	修订历史

符号注解

符号词汇表发布于 beckman.com/techdocs（文档编号 B60062）

	Specifikacijos
Specifiškumas	TCR γ/δ
Klonas	IMMU510
Hibridoma	X63 x balb/c
Imunogenas	Soluble γ/δ receptor
Imunoglobulinas	IgG1
Rūšis	Pelė
Išgryninimas	Gimininguмo chromatografija
Fluorochromas	Fluorescein isothiocyanate
Molinis santykis	FITC/Ig: 4 - 6,5
λ žadinimas	488 nm
Spinduliuotės smailė	525 nm
Buferinis tirpalas	7,2 pH fosfato buferinis tirpalas plius 2 mg/ml GSA ir 0,1 % NaN_3

„IOTest“
Konjuguotas antikūnas Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 tyrimų; 1 ml, 20 µl vienam tyrimui

Diagnostikai *in vitro*.

NAUDOJIMO PASKIRTIS

Naudojant šį su fluorochromu konjuguotą antikūną, srauto citometrijos būdu galima kokybiškai ir neautomatizuotu būdu identifikuoti ląstelių populiacijas, išreiškiančias TCR γ/δ antigeną, esantį žmogaus biologiniuose mėginiuose (žr. paskesnį skyrių „Mėginiai“).

PRINCIPAS

Šis tyrimas pagrįstas specifinių monokloninių antikūnų gebėjimu jungtis prie antigenų determinantų, kuriuos ekspresuoja leukocitai.

Specifinis leukocitų dažymo procesas atliekamas mėginį inkubuojant reagentu „IOTest“. Tada lizuojant pašalinami eritrocitai ir srauto citometrijos būdu analizuojami leukocitai, kurie per šį etapą nepaveikiami.

Srauto citometru matuojama ląstelių šviesos sklaida ir fluorescencija. Šiuo būdu galima tiriamąją populiaciją apriboti histogramoje apibrėžtu elektroniniu langu, kuris koreliuoja su šviesos sklaida stačiu kampu (šonine sklaida arba ŠS) ir šviesos sklaida smailu kampu (priekine sklaida arba FS). Kitos citometre įdiegtos histogramos, kuriose derinami du skirtingi parametrai, gali būti naudojamos kaip papildoma priemonė nustatant atrankos intervalus, žiūrint, kokį naudojimo būdą pasirinko naudotojas.

Analizuojant apribotų ląstelių fluorescenciją, teigiamai nudažyti įvykiai atskiriami nuo neigiamai nudažytų. Rezultatai išreiškiami kaip teigiamų įvykių procentinė dalis visų įvykių, gautų nustačius atrankos intervalą, atžvilgiu.

NUMATOMAS NAUDOTOJAS

Šis gaminys skirtas naudoti specialistams laboratorijose.

KLINIKINĖ SVARBA

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC yra Anti-TCR PAN γ/δ antikūnas, naudojamas TCR γ/δ antigeną ekspresuojančioms ląstelėms identifikuoti ir charakterizuoti srauto citometrijos būdu. Naudojant vien šį gaminį negalima padaryti jokios diagnostinės išvados ir jis nėra tam skirtas.

Kartu su kitais žymenimis naudojamas šis gaminys gali būti naudojamas vienu ar keliais iš toliau nurodytų tikslų.

- Hematologiškai nenormalių pacientų, kuriems įtariama kraujodaros sistemos neoplazma, diferencinei diagnozei palengvinti ir pacientams, kuriems jau nustatyta kraujodaros sistemos neoplazma, stebėti.
- Pacientams, kuriems nustatyta autoimuninė liga arba sutrikimas, stebėti.

Žr. šias nuorodas:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MĖGINIAI

Veninio kraujo mėginius reikia imti į sterilius mėgintuvėlius su EDTA druska kaip antikoaguliantu.

Mėginius reikia laikyti kambario temperatūroje (18–25 °C) ir nekratyti. Prieš paimant tiriamąjį mėginį reikia atsargiai sujudinti mėginus, kad jie taptų vienalyčiai.

Mėginiai turi būti išanalizuoti per 24 valandas po venų punkcijos.

KONCENTRACIJA

Žr. konkrečios partijos analizės sertifikatą, pateikiamą interneto svetainėje www.beckman.com.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. Reagento nenaudoti pasibaigus galiojimo laikui.
2. Neužšaldyti.
3. Prieš naudojant reikia leisti sušilti iki kambario temperatūros (18–25 °C).
4. Laikykite kuo mažiau apšviestoje vietoje.
5. Saugokite, kad reagentai nebūtų užteršti mikrobais, nes antraip gali būti gaunami klaidingi rezultatai.

6. Su antikūnų tirpalais, kurių sudėtyje yra natrio azido (NaN_3), reikia elgtis atsargiai. Nevartokite į vidų ir saugokitės, kad nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.

   Be to, rūgščioje terpėje natrio azidas gali išskirti potencialiai pavojingą hidrazo rūgštį. Jei jį reikia pašalinti, prieš pilant į nutekėjimo sistemą, reagentą rekomenduojama praskiesti dideliu vandens kiekiu, kad būtų išvengta natrio azido kaupimosi metaliniuose vamzdžiuose ir išvengta sprogimo pavojaus.
7. Visi kraujo mėginiai turi būti laikomi potencialiai užkrečiamais ir su jais turi būti elgiamasi atsargiai (itin svarbu dėvėti apsaugines pirštines, apsiaustus ir akinius).
8. Jokiu būdu nesiurbkite burna ir saugokitės, kad mėginių nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.
9. Panaudoti kraujo mėgintuvėliai ir vienkartinės medžiagos turėtų būti išmetami į sudeginamas ad hoc talpyklas.
10. Reagentai ir atliekos turi būti šalinami pagal vietinius reikalavimus.

GHS PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Neklasifikuojama kaip pavojinga

SDS Saugos duomenų lapą galima gauti interneto svetainėje beckmancoulter.com/techdocs

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Prieš atidarant ir atidarius buteliuką reagentas turi būti laikomas 2–8 °C temperatūroje ir saugomas nuo šviesos.

Uždaryto buteliuko tinkamumo naudoti laikas pagal stabilumo tyrimą: 1095 d.

Atidaryto buteliuko stabilumas: reagentas lieka stabilus 180 d.

KOKYBĖS PABLOGĖJIMO POŽYMIAI

Bet koks reagentų fizinės išvaizdos pokytis gali reikšti pablogėjusias gaminio savybes, todėl tokio reagento naudoti negalima.

Prireikus papildomos informacijos arba gavę sugadintą gaminį skambinkite į „Beckman Coulter“ klientų aptarnavimo skyrių telefonu 800-742-2345 (JAV arba Kanadoje) arba susisiekite su vietiniu „Beckman Coulter“ atstovu.

TURINYS

Natrio azido konservantas metalo vamzdynuose gali sudaryti sprogiuosius junginius. Žr. „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (Nacionalinio darbų saugos ir sveikatos instituto biuletenį: sprogstamojo azido pavojus) (76-8-16).
Norėdami išvengti galimo azido junginių susikaupimo, išpylę į kanalizacijos sistemą neatskiesto reagento, vandeniu praplaukite nutekamuosius vamzdžius. Natrio azidas turi būti šalinamas pagal taikomų vietos reglamentų reikalavimus.

REIKALINGOS, BET SU RINKINIU NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS

- Mėginiams imti reikalingi mėginių ėmimo mėgintuvėliai ir medžiagos.
- Automatinės pipetės su vienkartiniais antgaliais, skirtos 20, 100 ir 500 µl tūrio mėginiams.
- Plastikiniai hemolizės mėgintuvėliai.
- Raudonųjų kraujo kūnelių lizavimo reagentas su plovimo etapu baigus lizuoti. Pavyzdys: „VersaLyse“ (kat. nr. A09777).
- Leukocitų fiksavimo reagentas. Pavyzdys: fiksavimo tirpalas „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800).
- Izotipų kontrolinė medžiaga FITC: „IOTest“ reagentas (kat. Nr. A07795).
- Buferinis tirpalas (fosfato buferinis tirpalas: 0,01 M natrio fosfato; 0,145 M natrio chlorido; pH 7,2).
- Nucentrifuguokite.
- Automatinis maišytuvas (sūkurinio tipo).
- Srauto citometras.

PROCEDŪRA NAUDOJANT REAGENTĄ „VERSALYSE“

Analizuojant kiekvieną mėginį, be tiriamojo mėgintuvėlio galima naudoti vieną kontrolinį mėgintuvėlį, kuriame ląstelės sumaišytos su izotipine kontroline medžiaga (kat. Nr. A07795).

1. Į kiekvieną tiriamąjį mėgintuvėlį įpilkite po 20 µl specifinio su „IOTest“ konjuguoto antikūno ir prireikus į kiekvieną kontrolinį mėgintuvėlį įpilkite po 20 µl kiekvieno izotipo kontrolinės medžiagos.
2. Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite po 100 µl tiriamojo mėginio. Mėgintuvėlius atsargiai išmaišykite sūkuriniu būdu.
3. 15–20 minučių inkubuokite kambario temperatūroje (18–25 °C), saugodami nuo šviesos.
4. Tai padarę sulizuokite eritrocitus. Žr. „VersaLyse“ (kat. Nr. A09777) informacinį lapelį; rekomenduojama laikytis procedūros, vadinamos „su vienalaikiu fiksavimu“, kurios metu įpilama 1 ml prieš pat naudojant paruošto fiksavimo ir lizavimo mišinio. Tuojau pat vieną sekundę maišykite sūkuriniu būdu ir 10 minučių inkubuokite kambario temperatūroje, saugodami nuo šviesos.
5. 5 minutes centrifuguokite veikiant 150 x g jėgai kambario temperatūroje.
6. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą.
7. Iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami 3 ml fosfato buferinį tirpalą.
8. Pakartokite 5 veiksmą.
9. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą ir iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami toliau nurodytas medžiagas.

- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo ir 0,1 % formaldehido, jeigu preparatai bus laikomi mažiau nei 24 val. (0,1 % formaldehido fosfato buferinio tirpalo galima gauti 12,5 µl 10X koncentracijos fiksavimo tirpalo „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800) atskiedus 1 ml fosfato buferinio tirpalo.)
- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo be formaldehido, jeigu preparatai bus analizuojami per 2 val.

Pastaba. Visais atvejais preparatus laikykite 2–8 °C temperatūroje ir saugodami nuo šviesos.

TIKĖTINOS VERTĖS

Mūsų laboratorijose 25 tariamai sveikų donorų viso kraujo mėginiai buvo apdoroti pirmiau aprašytu ir strobavimo reagentais. Toliau pateiktoje lentelėje nurodyti dominančių teigiamų įvykių skaičiaus rezultatai, gauti naudojant šį reagentą.

Teigiamas taikinys	Skaičius	Vidurkis (%)	SN	VK (%)
Limfocitai CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Šios vertės tėra reprezentacinės. Kiekviena laboratorija turi iš vietinės normalių donorų populiacijos nustatyti savo numatomas vertes.

VEIKIMAS

Veikimo duomenys gauti, pirmiau aprašytą procedūrą ir strobavimo reagentą naudojant su trumpiau nei 24 val. laikytais kraujo mėginiais, kurie pirmiau surinkti steriliuose mėgintuvėliuose su antikoaguliantu EDTA druska. Analizė atliekama ne vėliau kaip 2 val. po imunodažymo.

SPECIFIŠKUMAS

TCR yra molekulių kompleksas, sudarytas iš dviejų vienetų: atpažinimo vieneto, sudaryto iš alfa-beta arba gama-delta heterodimero, kurie yra ląstelių paviršiuje (vienoje ląstelėje negali būti abiejų skirtingų heterodimerų), ir perduodančiojo vieneto (CD3 komplekso), susijungusio su alfa-beta ir gama-delta heterodimerais, kuris suaktyvina T ląstelę, kai atpažinimo vienete yra antigenas. Atpažinimo vienete atpažįstami svetimi antigenai; šios atpažinimo funkcijos veiklai reikalinga įvairovė sukuriama TCR genų somatinės rekombinacijos būdu (11, 12, 13).

Yra keturi TCR genų lokusai (alfa, beta, gama ir delta). Kiekvienas jų sudarytas iš keleto V (kaičiųjų) segmentų, koduojančių maždaug 90 aminorūgščių, labai trumpo D (įvairovės) segmento (tik α ir delta lokusai), trumpų J (jungiamųjų) segmentų (maždaug 15 aminorūgščių) ir vieno arba dviejų C (pastoviųjų) segmentų (14, 15). Daugumoje T ląstelių ekspresuojamas alfa/beta TCR (T ląstelių receptorių) baltymas, o nedidelėje T ląstelių dalyje ekspresuojamas gama/delta TCR, dažniausiai turintis dvigubą neigiamą (CD4/CD8) fenotipą.

Gama/delta T ląstelės dažniausiai yra pirmoji epidermio ir epitelio paviršių gynybos linija, blužnyje jos sudaro 10–12 % visų limfocitų (16). Imunofluorescencijos būdu tiriant polikloninių gama/delta T ląstelių linijas ir gama/delta T ląstelių klonus nustatyta, kad gama/delta T ląstelės yra IMMU 510 atpažįstamos nepriklausomai nuo jose ekspresuojamų skirtingų genų arba jungčių regionų (17, 18, 19, 20, 21).

GLAUDUMAS

Procentinės teigiamosios vertės nustatytos naudojant visą kraują. Kiekvienas mėginys buvo analizuojamas 4 kartus: 1 dieną, po du kartus, naudojant 2 prietaisus ir 2 Anti-TCR PAN γ/δ-FITC monokloninių antikūnų reagentų partijas. Matavimai (% teigiamų) buvo atlikti srauto citometru „Navios“. Analizė atlikta pagal CLSI metodą EP5-A2: „Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods“ (Kiekybinių matavimo metodų glaudumo veikimo vertinimas).

Mūsų priėmimo kriterijai priklauso nuo kiekvienoje populiacijoje nustatyto teigiamų įvykių skaičiaus:

- jeigu teigiamų įvykių < 1 500, VK < 15 %
- Jeigu teigiamų įvykių > 1 500, VK < 10 %

Limfocitai CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Teigiamų įvykių skaičius (vidurkis) = 961							
	Skirtingų operatorių	Skirtingų citometrų	Tos pačios partijos	Skirtingų partijų	Skirtingų analizių	Tos pačios analizės	Iš viso
VK (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
REZULTATAI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TIKSLUMAS

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC tikslumas vertintas palyginant rezultatus su etaloniniu reagentu kaip patvirtinamąja priemone, srauto citometru „Navios“ analizuojant viso kraujo mėginių rinkinį. Bandomojo ir etaloninio reagentų paklaida nustatyta pagal tyrimo rezultatų skirtumą. Jeigu paklaida neviršija leidžiamojo paklaidų diapazono arba p reikšmė nerodo reikšmingo skirtumo (> 0,05), abiejų reagentų tyrimo rezultatai laikomi lygiaverčiais.

Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Donorų skaičius = 25				
Teigiamas taikinys	Vidurkis Δ	Δ % ląstelių kriterijai	p reikšmė	REZULTATAI
Limfocitai CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

RUOŠINIO RIBA IR APTIKIMO RIBA

Pagal CLSI EP17-A2 dokumentą „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Klinikinių laboratorinių matavimų procedūrų aptikimo pajėgumų vertinimas) atliktas mokslinis tyrimas. Aptikimo riba (LOD) yra mažiausioji analitės koncentracija, kurią galima nuolat aptikti. Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Positive Target	Ruošinio riba (ląst./µl)	Aptikimo riba (ląst./µl)
Limfocitai CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

RIBOJIMAI

1. Atliekant srauto citometriją klaidingi rezultatai gali būti gauti tuo atveju, jei citometras nebuvo tiksliai sureguliuotas, fluorescencijos nuotėkiai nebuvo tinkamai kompensuoti ar regionai nebuvo kruopščiai išdėstyti.
2. Pageidautina taikant RBC lizavimo metodą atlikti plovimo etapą, nes šis reagentas nėra optimizuotas lizavimo „be plovimo“ metodikoms.
3. Tikslūs ir atkuriami rezultatai bus gaunami tol, kol naudojamos procedūros atitiks techniniame lapelyje pateiktą informaciją ir bus atliekamos laikantis geros laboratorijos praktikos.

4. Šio reagento konjuguotas antikūnas sukalibruotas taip, kad būtų gaunamas geriausias specifinio ir nespecifinio signalų santykis. Dėl šios priežasties atliekant kiekvieną tyrimą svarbu tiksliai laikytis nurodyto reagento ir mėginio tūrių santykio.
5. Hiperleukocitozės atveju kraują atskieskite fosfato buferiniu tirpalu, kad gautumėte maždaug 5 x 10^9 leukocitų/l koncentraciją (22).
6. Sergant kai kuriomis ligomis, pavyzdžiui, sunkiu inkstų nepakankamumu arba hemoglobinopatijomis, eritrocitai gali būti lėtai arba nevisiškai sulizuojami arba jų visai neįmanoma lizuoti. Tokiu atveju rekomenduojama prieš dažant atskirti vienbranduoles ląsteles tankio gradiento būdu (pavyzdžiui, Ficollo) (23).
7. Jeigu pacientams atliekama žmogaus monokloninių antikūnų terapija, specifiniai tiksliniai antigenai gali būti aptinkami prasčiau arba visai neaptinkami dėl dalinio arba visiško terapinio antikūno blokavimo.
8. Anti-TCR PAN γ/δ-FITC rezultatai turi būti interpretuojami remiantis bendra paciento klinikine būkle, atsižvelgiant į: simptomus, klinikinę anamnezę, papildomų tyrimų duomenis ir kitą atitinkamą informaciją.

Pavyzdžiai ir nuorodos pateikti priede.

PREKIŲ ŽENKLAI

„Beckman Coulter“, stilizuotas logotipas ir kiti šiame dokumente nurodyti „Beckman Coulter“ gaminių ir prekių ženklai yra „Beckman Coulter, Inc.“ prekių ženklai arba registruotieji prekių ženklai Jungtinėse Amerikos Valstijose ir kitose šalyse.

PAPILDOMA INFORMACIJA

Pacientams / naudotojams / trečiosioms šalims Europos Sąjungoje ir šalyse, kuriose galioja identiški reguliaciniai reikalavimai (Reglamentas (ES) 2017/746 dėl in vitro diagnostikos medicinos priemonių): jeigu naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko sunkus incidentas, apie jį praneškite gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui ir savo šalies nacionalinei institucijai.

„Summary of Safety and Performance“ (Saugos ir veikimo suvestinė) pateikiama EUDAMED interneto svetainėje ec.europa.eu/tools/eudamed.

PERŽIŪRŲ ISTORIJA

PERŽIŪRA AE:	Leidimo data: 2019 m. spalis

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AW	2022 m. gegužė
Atnaujinta pagal „Beckman Coulter“ visuotinių ženklinimo taisyklių ir IVD-R (ES)2017/746 reikalavimus.	
Pridėti skyriai	BSI 2797 numeris, „Numatomas naudotojas“, „Klinikinė svarba“, „Koncentracija“, „Glaudumas“, „Tikslumas“, „Ruošinio riba ir aptikimo riba“, „Papildoma informacija“, „Peržiūrų istorija“.
Pridėta informacija	Žr. skyrių „Ribojimai“
Frazavimo arba tipografiniai atnaujinimai	Žr. skyrius „Procedūra“, „Veikimas“, „Ribojimai“, „Įspėjimai ir atsargumo priemonės“, „Laikymas ir stabilumas“.
Pašalinti skyriai	„Klinikinio naudojimo pavyzdys“, „Reagentai“, „Laboratorijos vidaus atkartojamumas“, „Tiesiškumas“
Atnaujinti skyriai	„Paskirtis“, „Visuotiniai suderintos sistemos (GHS) pavojingumo klasifikacija“, „Kokybės pablogėjimo požymiai“, „Procedūra“, priedas.

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AX	Kovas 2023
Atnaujinti skyriai	Pridėta kazachų kalba
Atnaujinti skyriai	Laikymas ir stabilumas

Peržiūrėta versija	AY
Peržiūros data	Gegužė 2024
Atnaujintas vertimas	**Klinikinė svarba:**
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Peržiūrėta versija	AZ
Peržiūros data	Liepa 2024
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Simbolių sutartiniai ženklai

Simbolių terminų žodynas pateikiamas interneto svetainėje beckman.com/techdocs (dokumento numeris B60062).

	Specifikációk
Specificitás	TCR γ/δ
Klón	IMMU510
Hibridóma	X63 x balb/c
Immunogén	Soluble γ/δ receptor
Immunglobulin	IgG1
Faj	Egér
Tisztítás	Affinitás kromatográfia
Fluorokróm	Fluorescein isothiocyanate
Moláris arány	FITC / Ig: 4 - 6,5
λ gerjesztés	488 nm
Kibocsátási csúcs	525 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plusz 2 mg/mL BSA és 0,1% NaN_3

IOTest

Konjugált antitest
Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 teszt; 1 mL, 20 µL/teszt

***In vitro* diagnosztikai használatra.**

RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

Ez a fluorokrómmal konjugált antitest lehetővé teszi a humán biológiai mintákban a(z) TCR γ/δ antigént expresszáló sejtpopulációk áramlási citometriával végzett kvalitatív és nem automatizált azonosítását (lásd a „Minták” című alábbi fejezet).

MŰKÖDÉSI ELV

A vizsgálat azon alapul, hogy a specifikus monoklonális antitestek képesek-e kötődni a leukociták által expresszált antigén-determinánsokhoz.

A leukociták specifikus festése a mintának az IOTest reagenssel való inkubálásával történik. Az eritrocitákat ezután lízissel eltávolítják, és a leukocitákat, amelyekre nincs hatással ez a művelet, analizálni lehet áramlási citometriával.

Az áramlási citométer a sejtek fényszórását és fluoreszcenciáját méri. Ez lehetővé teszi a vizsgált populáció elhatárolását egy olyan elektronikus ablakon belül, amelyet a derékszögben szórt fény (oldalszóródás vagy SS) és a hegyes szögben szórt fény (előreszóródás vagy FS) intenzitását összehasonlító hisztogramon határoztak meg. Más, a citométer által mértek közül két paramétert kombináló hisztogramok használhatók kiegészítésként a kapuzási fázisban, a felhasználó által választott alkalmazástól függően.

Az elkülönített sejtek fluoreszcenciáját a rendszer elemzi a pozitívan festődött események megkülönböztetésére a nem festődöttektől. Az eredmények kifejezése a pozitív események százalékos arányaként történik a kapuzás által regisztrált összes eseményhez képest.

CÉLFELHASZNÁLÓ

Ez a termék laboratóriumi szakemberek általi használatra készült.

KLINIKAI JELENTŐSÉG

A Anti-TCR PAN γ/δ-FITC egy Anti-TCR PAN γ/δ antitest, amely a(z) TCR γ/δ antigént expresszáló sejtek áramlási citometriás azonosítására és jellemzésére szolgál. Ez a termék önmagában nem képes arra, hogy bármilyen diagnosztikai következtetést generáljon, és ez nem is célja.

Más markerekkel kombinált használata esetén ez a termék az alábbiak közül egy vagy több célra használható:

- Segít azon rendellenes vérképű betegek differenciáldiagnózisában, akiknél hemopoetikus neoplasia gyanítható, valamint segít az ismerten hemopoetikus neoplasiaval rendelkező betegek monitorozásában.
- Ismert autoimmun betegséggel vagy rendellenességgel rendelkező páciensek monitorozására.

Lásd a következő hivatkozásokat:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MINTÁK

A vénás vért steril, alvadásgátlóként EDTA sóját tartalmazó csövekbe kell gyűjteni.

A mintákat szobahőmérsékleten (18–25 °C között) kell tárolni, és nem szabad felrázni. A tesztminta vétele előtt a mintákat homogenizálni kell óvatos rázással.

A minták elemzését a vénaszúráshoz képest 24 órán belül el kell végezni.

KONCENTRÁCIÓ

Lásd: www.beckman.com, tételspecifikus analitikai bizonylat.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

1. Ne használja a reagenst a lejárati időn túl.
2. Fagyasztani tilos.
3. Használat előtt hagyja felmelegedni szobahőmérsékletre (18–25 °C).
4. Minimalizálja a fényexpozíciót.
5. Kerülje el a reagensek mikrobiális kontaminációját, ebben az esetben hamis eredményeket kaphat.
6. A nátrium-azidot (NaN_3) tartalmazó antitestoldatokat körültekintően kell kezelni. A terméket nem szabad lenyelni, és nem érintkezhet bőrrel, nyálkahártyával vagy a szemmel.

Sőt, savas közegben a nátrium-azid potenciálisan robbanékony nitrogén-hidrogénsavat képez. Ha ártalmatlanítani kell, javasolt a reagenst nagy mennyiségű vízzel hígítani a szennyvízcsatornába öntés előtt, hogy ne halmozódhasson fel nátrium-azid a fémcsövekben, és ne keletkezzen robbanásveszély.

7. Minden vérmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és óvatosan kell kezelni (azaz védőkesztyűt, köpenyt és szemüveget viselve).
8. Soha ne pipettázzon szájjal, és a minták soha ne érintkezzenek szemmel, bőrrel vagy nyálkahártyával!
9. A vércsöveket és a kezeléshez használt, egyszer használatos anyagokat olyan ad hoc tartóedényben kell kidobni, amely égetésre szolgál.
10. A reagenseket és a hulladékot a helyi követelmények szerint kell ártalmatlanítani.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Nincs veszélyes anyagként besorolva

SDS A biztonsági adatlap megtalálható a következő weboldalon: beckmancoulter.com/techdocs

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A reagenst a fiola kibontása előtt és után is 2 és 8 °C között, fénytől védve kell tárolni.

A lezárt fiola eltarthatósági ideje a stabilitási vizsgálat alapján: 1095 nap.

A felbontott fiola stabilitása: a reagens 180 napig stabil.

A MINŐSÉGROMLÁS JELEI

A reagensek fizikai megjelenésének bármilyen megváltozása megromlásra utalhat, és a reagenst nem szabad felhasználni.

További információkért, illetve sérült termék kézhezvétele esetén hívja a Beckman Coulter ügyfélszolgálatát a 800-742-2345-es számon (az Amerikai Egyesült Államokban és Kanadában), vagy lépjen kapcsolatba a Beckman Coulter területileg illetékes képviselőjével.

A CSOMAG TARTALMA

A nátrium-azid tartósítószer robbanékony vegyületeket képezhet a fém lefolyócsövekben. Lásd az alábbi NIOSH-közleményt: Explosive Azide Hazard (Robbanékony azidokkal kapcsolatos veszélyek) (76. 8. 16.).
Az azidvegyületek esetleges felhalmozódásának elkerülése érdekében a hígítatlan reagens szennyvízlefolyóba történő kiöntése után a szennyvízvezetéket vízzel át kell öblíteni. A nátrium-azid ártalmatlanítását a vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell végezni.

SZÜKSÉGES, DE A KÉSZLETTEL NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK:

- Mintacsövek és a mintavételhez használt anyagok.
- Automata pipetták eldobható hegyekkel 20, 100 és 500 µL-hez.
- Műanyag hemolíziscsövek.
- Vörösvértesteket lizáló reagens, a lízis után mosási fázissal. Például: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leukocitafixáló reagens. Például: IOTest 3 fixálóoldat (Ref. A07800).
- Izotípus-kontroll FITC: IOTest reagens (Ref. A07795).
- Puffer (PBS: 0,01 M nátrium-foszfát; 0,145 M nátrium-klorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automata keverő (vortex típusú).
- Áramlási citométer.

ELJÁRÁS VERSALYSE REAGENS ESETÉN

Mindegyik analizált minta esetében a vizsgált mintacsövön kívül a vizsgálatot ki lehet egészíteni egy kontrollmintacsővel is, amelyben a sejtek az izotípus-kontroll jelenlétében vannak összekeverve (Ref. A07795).

1. Adjon mindegyik mintacsőhöz 20 µL specifikus IOTest konjugált antitestet, és szükség esetén mindegyik kontrollmintacsőhöz 20 µL izotípuskontrollt.
2. Adjon 100 µL tesztmintát mindegyik mintacsőhöz. Óvatosan vortexelje a mintacsöveket.
3. Inkubálja 15–20 percig szobahőmérsékleten (18–25 °C), fénytől védett helyen.
4. Ezután végezze el a vörösvértestek lízisét. Kövesse a VersaLyse (Ref. A09777) füzet utasításait és lehetőség szerint a „konkomittáns fixációval” nevű eljárást alkalmazza, amelynek során 1 mL, akkor és ott elkészített „Fix-and-Lyse” keveréket kell hozzáadni a mintához. Azonnal vortexelje egy másodpercig, majd inkubálja 10 percig szobahőmérsékleten, fénytől védve.
5. Centrifugálja 5 percig szobahőmérsékleten, 150 x g-vel.
6. Felszívás segítségével távolítsa el a felülúszót.
7. Reszuszpendálja a sejtpelletet 3 mL PBS-ben.
8. Ismételje meg az 5. lépést.
9. Felszívással távolítsa el a felülúszót, és reszuszpendálja a sejtpelletet az alábbi reagenssel:

- 0,1% formaldehidet tartalmazó 0,5 mL vagy 1 mL PBS, ha a készítményt kevesebb mint 24 óráig fogják tárolni. (0,1% formaldehidet tartalmazó PBS készítéséhez hígítson 12,5 µL IOTest 3 fixálóoldatot (Ref. A07800) a 10X koncentrációra 1 mL PBS-ben.)
- 0,5 mL vagy 1 mL PBS formaldehid nélkül, ha a preparátum elemzése 2 órán belül fog történni.

Megjegyzés: A készítményeket fénytől védve, 2 és 8 °C között kell tárolni.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

A laboratóriumainkban 25, látszólag egészséges donor teljesvér-mintáit kezeltük a fent ismertetett reagenssel és egy kapuzási reagenssel. Az ezzel a reagenssel kapott vizsgált pozitív események számítási eredményeit az alábbi táblázat tartalmazza:

Pozitív cél	Szám	Átlag (%)	SD	CV (%)
Limfociták CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Ezek az értékek csak tájékoztatásul szolgálnak. Az egyes laboratóriumoknak meg kell határozniuk a saját várt értékeiket a helyi egészséges donorok populációjából.

TELJESÍTMÉNY

A teljesítményadatokat a fent leírt eljárás és egy kapuzási reagens segítségével lehet megkapni az alvadásgátlóként EDTA-sót tartalmazó steril csövekbe levett vérmintákból a vérvételt követő kevesebb mint 24 órán belül. Az analízist az immunfestést követő 2 órán belül kell elvégezni.

SPECIFICITÁS

A TCR egy molekulakomplex, amely két részből áll: egy felismerő egységből, amely a sejtfelszínen található, és kizárólagosan vagy az alfa/béta, vagy a gamma/delta heterodimerekből áll, valamint egy továbbító egységből, azaz a CD3 komplexből, amely mind az alfa/béta, mind a gamma/delta heterodimerek jelenléte esetén egyforma, és kiváltja a T-sejt válaszát, ha antigén kötődik a felismerő egységhez. A felismerő egység felismeri az idegen antigéneket; a felismerési funkcióhoz szükséges diverzitást a TCR-gének szomatikus rekombinációja hozza létre (11, 12, 13).

Négy TCR-gént tartalmazó lókusz van (alfa, béta, gamma és delta). Ezek mindegyike tartalmaz több V (variábilis) szakaszt, amelyek körülbelül 90 aminosavat kódolnak, nagyon rövid D (diverzitási) szakaszokat (csak az α és a delta lókuszok), rövid J (csatlakozási) szakaszokat (15 aminosavnyi hosszúságú), és egy vagy két C (állandó) szakaszt. (14, 15). A legtöbb T-sejt az alfa/béta TCR (T-sejt-receptor) fehérjét expresszálja, és egy kis részük expresszálja a gamma/delta TCR-t; ezek a sejtek általában kétszeresen negatív (CD4/CD8) fenotípusúak.

A gamma/delta T-sejtek képezik az első védelmi vonalat az epidermális és epiteliális felületeken, és ezek teszik ki a lépben található limfociták 10–12%-át (16). Az IMMU 510 az összes gamma/delta T-sejtet felismeri, függetlenül attól, hogy milyen variábilis és a csatlakozási génszakaszokat expresszál; ezt poliklonális gamma/delta T-sejtvonalakon és gamma/delta T-sejtklónokon végzett áramlási immunfluoreszcenciás vizsgálatokkal mutattak ki (17, 18, 19, 20, 21).

PRECIZITÁS

A százalékos pozitív értékeket teljes vér felhasználásával határozták meg. Minden egyes mintát 4-szer futtattak, naponta kétszer 1 napig, 2 berendezésen, a Anti-TCR PAN γ/δ-FITC monoklonális antitest reagensek 2 gyártási tételének felhasználásával. A méréseket (pozitív %) Navios áramlási citométerrel végezték. Az analízist a CLSI által jóváhagyott EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (A kvantitatív mérési módszerek precizitási teljesítményének értékelése) módszer alapján végezték.

Az elfogadhatósági kritériumaink az egyes populációknál mért pozitív események számától függ:

- Ha a pozitív esemény < 1500, CV < 15%
- Ha a pozitív esemény > 1500, CV < 10%

Limfociták CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Pozitív események száma (átlag) = 961							
	Felhasználók közötti	Citométerek közötti	Egy gyártási tételen belüli	Eltérő gyártási tételek közötti	Futtatások közötti	Egy futtatáson belüli	Összes
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
EREDMÉNYEK	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PONTOSSÁG

A Anti-TCR PAN γ/δ-FITC pontosságát úgy mérték fel, hogy összevetették az eredményeket egy referenciareagenssel egy sor Navios áramlási citométeren futtatott teljesvér-minta esetében. A teszt- és referenciareagens közötti torzítást a teszteredmények közötti különbségek alapján határozták meg. Ha a torzítás a megengedhető hibatartományon belül maradt, vagy ha a p-érték nem jelzett szignifikáns különbséget (> 0,05), akkor a két reagenssel kapott teszteredményeket egyenértékűnek tekintették.

Az eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Donorok száma = 25				
Pozitív cél	Átlag Δ	Δ % sejt kritériumok	p-érték	EREDMÉNYEK
Limfociták CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

VAK HATÁRÉRTÉK ÉS KIMUTATHATÓSÁGI HATÁRÉRTÉK

Vizsgálatot végeztek a CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (A klinikai laboratóriumi mérési eljárások kimutatási képességének értékelése) útmutatónak megfelelően. Kimutathatósági határérték (LOD) – a vizsgált anyag következetesen kimutatható legalacsonyabb koncentrációja. A kapott eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Positive Target	Vak határérték (sejt/µL)	Kimutathatósági határérték (sejt/µL)
Limfociták CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

KORLÁTOZÁSOK

1. Az áramlási citometria hamis eredményeket adhat, ha a citométert nem igazítják tökéletesen, ha nem kompenzálják megfelelően a fluoreszcenciaszivárgást és ha a régiókat nem pozicionálják elég gondosan.

2. Érdemes egy mosási lépést is tartalmazó vörösvértest lizáló módszert alkalmazni, mivel ezt a reagenst nem optimalizálták „mosás nélküli” lizáló módszerekhez.
3. Pontos és megismételhető eredmények születnek, amennyiben az eljárásokat a műszaki tájékoztató szerint és a helyes laboratóriumi gyakorlattal összhangban végzik el.
4. A reagens konjugált antitestjét úgy kalibrálták, hogy a legjobb specifikus jel/nem specifikus jel arányt produkálja. Ezért fontos, hogy minden tesztnél betartsa a reagenstérfogat/mintatérfogat arányt.
5. Emelkedett leukocitaszám esetén hígítsa a vért annyi PBS hozzáadásával, hogy a fehérvérsejtek koncentrációja körülbelül 5 x 10^9 leukocita/L legyen (22).
6. Bizonyos betegségek, például súlyos veseelégtelenség vagy hemoglobinopátiák esetében előfordulhat, hogy a vörösvértestek lízise lassú, részleges, vagy akár lehetetlen. Ilyenkor javasolt a festés előtt a mononukleáris sejtek elkülönítése egy sűrűséggradiens alapján működő eljárással (ilyen például a Ficoll) (23).
7. A humán antigén elleni monoklonális antitest terápiában részesülő betegek esetében a specifikus célantigén kimutatásának mértéke csökkenhet vagy sikertelen lehet az alkalmazott terápiás antitest által okozott részleges vagy teljes gátlás miatt.
8. Az Anti-TCR PAN γ/δ-FITC eredményeket a beteg teljes klinikai képének fényében kell értelmezni, figyelembe véve a tüneteket, a kórtörténetet, más tesztek eredményeit és egyéb releváns adatokat.

A példákért és az irodalomjegyzékért lásd a Függeléket.

VÉDJEGYEK

A Beckman Coulter, a stilizált logó, valamint az itt említett Beckman Coulter termék- és szolgáltatásjegyek a Beckman Coulter, Inc. védjegyei vagy bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és más országokban.

TOVÁBBI INFORMÁCIÓK

Az Európai Unióban, illetve az EU-val azonos szabályozási rendszerrel (lásd: az EU 2017/746 rendelete az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökről) rendelkező országokban élő beteg/felhasználó/harmadik fél esetében: ha a jelen eszköz használata során vagy használata eredményeként súlyos váratlan esemény történik, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy hivatalos területi képviselőjének, valamint az illetékes nemzeti hatóságnak.

A Summary of Safety and Performance (A biztonság és a teljesítmény összefoglalása) című dokumentum elérhető az EUDAMED adatbázisban: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ÁTDOLGOZÁSOK

AE ÁTDOLGOZÁS:	Kiadás dátuma: 2019. október

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AW	2022. május
A Beckman Coulter globális címkézési szabályzatának megfelelő, valamint az IVD-R (EU) 2017/746 követelmények szerinti frissítések:	
Hozzáadott szakaszok	BSI 2797 szám, Célfelhasználó, Klinikai jelentőség, Koncentráció, Precizitás, Pontosság, Vak határérték és kimutathatósági határérték, További információk, Átdolgozások.
Új információk	Lásd a Korlátozások című részeket
Megfogalmazási vagy tipográfiai frissítések	Lásd az Eljárás, Teljesítmény, Korlátozások, Figyelmeztetések és óvintézkedések, Tárolás és stabilitás című részeket.
Eltávolított szakaszok	Példa klinikai alkalmazásra, Reagensek, Laboratóriumon belüli reprodukálhatóság, Linearitás
Frissített szakaszok	Rendeltetésszerű használat, GHS szerinti veszélyességi besorolás, A minőségromlás jelei, Eljárás, Függelék.

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AX	március 2023
Frissített szakaszok	Kazak nyelv hozzáadása
Frissített szakaszok	Tárolás és stabilitás

Átdolgozott verzió	AY
Átdolgozás dátuma	Május 2024
Frissített fordítások	**Klinikai jelentőség:**
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Átdolgozott verzió	AZ
Átdolgozás dátuma	július 2024
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Szimbólumok listája

A szimbólumok jegyzéke elérhető a következő weboldalon: beckman.com/techdocs (dokumentumszám: B60062)

	Specyfikacje
Swoistość	TCR γ/δ
Klon	IMMU510
Hybrydoma	X63 x balb/c
Immunogen	Soluble γ/δ receptor
Immunoglobulina	IgG1
Gatunek	Mysz
Oczyszczanie	Chromatografia powinowactwa
Fluorochrom	Fluorescein isothiocyanate
Stosunek molowy	FITC / Ig: 4 - 6,5
Wzbudzenie λ	488 nm
Pik emisji	525 nm
Bufor	PBS o pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Przeciwciało skoniugowane Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 testów; 1 mL, 20 µL / test

Do użytku diagnostycznego *in vitro*.

PRZEZNACZENIE

To przeciwciało skoniugowane z fluorochromem umożliwia jakościową i niezautomatyzowaną identyfikację populacji komórek wykazujących ekspresję antygenu TCR γ/δ obecnego w ludzkich próbkach biologicznych metodą cytometrii przepływowej (zobacz część „Próbki" poniżej).

ZASADA DZIAŁANIA

Ten test jest oparty na zdolności swoistych przeciwciał monoklonalnych do wiązania się z determinantami antygenowymi ekspresjonowanymi przez lekukocyty.

Barwienie swoiste leukocytów jest wykonywane poprzez inkubację próbki z odczynnikiem IOTest. Krwinki czerwone są następnie usuwane poprzez lizę, a leukocyty, na które ta liza nie wpływa, są analizowane metodą cytometrii przepływowej.

Cytometr przepływowy mierzy rozpraszanie światła i fluorescencję komórek. Umożliwia to odgraniczenie populacji zainteresowania w elektronicznym oknie zdefiniowanym na histogramie, który koreluje ortogonalne rozpraszanie światła (rozpraszanie boczne — Side Scatter, w skrócie SS) i rozpraszanie światła pod wąskim kątem (rozpraszanie do przodu, Forward Scatter, w skrócie FS). Na etapie bramkowania, w zależności od zastosowania wybranego przez użytkownika, można używać innych histogramów łączących dwa z różnych parametrów dostępnych w cytometrze.

Fluorescencja odgraniczonych komórek jest analizowana w celu odróżnienia zdarzeń barwionych dodatnio od zdarzeń nieulegających barwieniu. Wyniki są wyrażane jako odsetek zdarzeń dodatnich względem wszystkich zdarzeń zarejestrowanych poprzez bramkowanie.

UŻYTKOWNIK DOCELOWY

Produkt jest przeznaczony do profesjonalnego użytku w laboratoriach.

ZNACZENIE KLINICZNE

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC to przeciwciało Anti-TCR PAN γ/δ służące do identyfikowania i charakteryzowania komórek wykazujących ekspresję antygenu TCR γ/δ za pomocą cytometrii przepływowej. Ten produkt nie może samodzielnie generować i nie jest przeznaczony do generowania jakichkolwiek wniosków diagnostycznych.

W połączeniu z innymi markerami produkt ten może służyć do jednego lub kilku z następujących zastosowań:

- Do wspomagania diagnostyki różnicowej pacjentów z nieprawidłowym obrazem hematologicznym i podejrzeniem nowotworu układu krwiotwórczego oraz do monitorowania pacjentów ze stwierdzonym nowotworem układu krwiotwórczego.
- Do monitorowania stanu pacjentów z rozpoznaną chorobą lub zaburzeniem autoimmunologicznym.

Zobacz poniższe piśmiennictwo:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PRÓBKI

Krew żylną należy pobierać do sterylnych probówek zawierających antykoagulant w postaci soli EDTA.

Próbki należy przechowywać w temperaturze pokojowej (18–25°C), bez wytrząsania. Przed pobraniem próbki do testu należy uzyskać jednorodną mieszaninę poprzez delikatne mieszanie.

Próbki muszą zostać zbadane w ciągu 24 godzin od pobrania krwi żylnej przez nakłucie.

STĘŻENIE

Zobacz świadectwo analizy właściwe dla serii pod adresem www.beckman.com.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Nie używać odczynników po upływie daty ważności.
2. Nie zamrażać.
3. Przed użyciem odczekać, aż osiągnie temperaturę pokojową (18–25°C).
4. Maksymalnie ograniczyć narażenie na działanie światła.
5. Nie dopuścić do skażenia mikrobiologicznego odczynników, gdyż może to spowodować uzyskanie fałszywych wyników.

6. Z roztworami przeciwciał zawierającymi azydek sodu (NaN_3) należy postępować ostrożnie. Nie spożywać i nie dopuszczać do kontaktu ze skórą, błoną śluzową oraz oczami.

   Ponadto w środowisku kwaśnym azydek sodu może tworzyć potencjalnie niebezpieczny kwas azotowodorowy. W przypadku konieczności usunięcia zalecane jest rozcieńczenie odczynnika w dużej objętości wody przed wlaniem go do kanalizacji, aby uniknąć gromadzenia się azydku sodu w metalowych rurach i uniknąć ryzyka wybuchu.
7. Wszystkie próbki krwi należy uważać za potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi ostrożnie (w szczególności nosić ochronne rękawice, fartuchy i okulary).
8. Nigdy nie wolno pipetować ustami. Nie dopuszczać do kontaktu próbek ze skórą, błonami śluzowymi i oczami.
9. Probówki przeznaczone na krew i materiały jednorazowego użytku używane podczas procedury należy usuwać do pojemników ad hoc przeznaczonych do spalenia.
10. Odczynniki i odpady należy usuwać zgodnie z wymogami lokalnymi.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Produkt nie został sklasyfikowany jako niebezpieczny

SDS Karta charakterystyki jest dostępna pod adresem beckmancoulter.com/techdocs

MAGAZYNOWANIE I STABILNOŚĆ

Ten odczynnik musi być przechowywany w temperaturze 2–8°C z zapewnieniem ochrony przed światłem, zarówno przed otwarciem fiolki jak i po jej otwarciu.

W oparciu o wyniki badania stabilności dopuszczalny okres przechowywania w zamkniętej fiolce ustalono na: 1095 dni.

Stabilność otwartej fiolki: odczynnik zachowuje stabilność przez 180 dni.

OZNAKA POGORSZENIA WŁAŚCIWOŚCI

Wszelkie zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników mogą wskazywać na pogorszenie właściwości — odczynników takich nie należy używać.

W celu otrzymania dodatkowych informacji lub w przypadku otrzymania uszkodzonego produktu należy skontaktować się z działem obsługi klienta firmy Beckman Coulter pod numerem telefonu 800-742-2345 (USA lub Kanada) lub z miejscowym przedstawicielem firmy Beckman Coulter.

ZAWARTOŚĆ

Środek konserwujący, azydek sodu, może tworzyć związki wybuchowe w metalowych rurach kanalizacyjnych. Patrz NIOSH Bulletin (Biuletyn instytutu NIOSH): Explosive Azide Hazard (Niebezpieczeństwo wybuchu azydku) (16.8.76).
Po usunięciu nierozcieńczonego odczynnika należy przepłukać rury ściekowe wodą, aby uniknąć gromadzenia się azydków. Azydek sodu musi być usuwany zgodnie z odpowiednimi przepisami lokalnymi.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE Z ZESTAWEM:

- Probówki do pobierania próbek i materiały wymagane do pobierania próbek.
- Pipety automatyczne z jednorazowymi końcówkami na 20, 100 i 500 µL.
- Probówki z tworzywa sztucznego przeznaczone do hemolizy.
- Odczynnik do lizy erytrocytów, z etapem przemywania po etapie lizy. Przykład: VersaLyse (nr ref. A09777).
- Odczynnik do utrwalania limfocytów. Przykład: Roztwór utrwalający IOTest 3 (nr ref. A07800).
- Kontrola izotypowa FITC: Odczynnik IOTest (nr ref. A07795).
- Bufor (PBS: 0,01 M fosforan sodu; 0,145 M chlorek sodu; pH 7,2).
- Wirówka.
- Mieszadło automatyczne (typu worteks).
- Cytometr przepływowy.

PROCEDURA Z ODCZYNNIKIEM VERSALYSE

Do każdej badanej próbki, dodatkowo oprócz probówki testowej, można dodać jedną probówkę kontrolną, w której komórki są mieszane w obecności kontroli izotypowej (nr ref. A07795).

1. Dodać po 20 µL swoistego przeciwciała skoniugowanego IOTest do każdej probówki testowej i, w razie potrzeby, po 20 µL kontroli izotypowej do każdej probówki kontrolnej.
2. Do każdej probówki dodać 100 µL próbki testowej. Łagodnie worteksować probówki.
3. Inkubować przez 15–20 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C), chroniąc przed światłem.
4. Następnie przeprowadzić lizę krwinek czerwonych. Zapoznać się z ulotką VersaLyse (nr ref. A09777). Preferowane jest postępowanie zgodnie z procedurą „z towarzyszącym utrwalaniem”, która polega na dodaniu 1 mL przygotowanej wcześniej mieszaniny do utrwalania i lizy (Fix-and-Lyse). Bezzwłocznie worteksować przez jedną sekundę i inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej, chroniąc przed światłem.
5. Wirować przez 5 minut przy 150 x g w temperaturze pokojowej.
6. Usunąć supernatant poprzez zasysanie.
7. Zawiesić osad komórkowy w 3 mL PBS.
8. Powtórzyć etap 5.
9. Usunąć supernatant poprzez zasysanie i ponownie zawiesić osad komórkowy w:

- 0,5 mL lub 1 mL PBS oraz 0,1% formaldehydu, jeśli preparaty mają być przechowywane przez mniej niż 24 godz. (0,1% roztwór formaldehydu w PBS można uzyskać, rozcieńczając 12,5 µL roztworu utrwalającego IOTest 3 (nr ref. A07800) stężonego 10X w 1 mL PBS).

- 0,5 mL lub 1 mL PBS bez formaldehydu, jeśli preparaty zostaną poddane analizie w ciągu 2 godz.

Uwaga: Niezależnie od sytuacji preparaty należy przechowywać w temperaturze 2–8°C, chroniąc je przed światłem.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

W naszych laboratoriach próbki krwi pełnej pobrane od 25 dawców niewykazujących objawów chorobowych poddano obróbce z użyciem opisanego powyżej odczynnika i odczynnika bramkującego. Uzyskane wyniki w zakresie liczby pozytywnych zdarzeń będących przedmiotem zainteresowania w przypadku tego odczynnika podano w tabeli poniżej:

Dodatnie docelowe komórki	Liczba	Średnia (%)	SD	WZ (%)
Limfocyty CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Wartości te są przeznaczone wyłącznie do celów poglądowych. Każde laboratorium powinno ustalić własne wartości oczekiwane z użyciem próbek reprezentatywnych dla lokalnej populacji zdrowych dawców.

WYDAJNOŚĆ

Dane dotyczące skuteczności uzyskano przy użyciu procedury opisanej powyżej i odczynnika bramkującego na próbkach krwi sprzed mniej niż 24 godzin, uprzednio pobranych do jałowych probówek z solą EDTA jako antykoagulantem. Badanie jest przeprowadzane w ciągu 2 godzin od barwienia immunologicznego.

SWOISTOŚĆ

TCR jest kompleksem molekularnym, który obejmuje dwie jednostki: jednostkę rozpoznawczą złożoną z heterodimeru alfa-beta lub gamma-delta, które są obecne na powierzchni komórki w sposób wzajemnie wykluczający się, a także z jednostki transdukującej — kompleksu CD3 wspólnego dla heterodimerów alfa-beta lub gamma-delta — która aktywuje komórkę T, gdy jednostka rozpoznawcza jest zajęta przez antygen. Jednostka rozpoznawcza rozpoznaje obce antygeny, a zmienność niezbędną dla funkcji rozpoznawania zapewnia somatyczna rekombinacja genów TCR (11, 12, 13).

Istnieją cztery loci genu TCR (alfa, beta, gamma oraz delta). Każde z nich obejmuje kilka segmentów zmiennych (V, ang Variable) kodujących około 90 aminokwasów, bardzo krótkie segmenty D (ang. Diversity) (tylko loci α oraz delta), krótkie segmenty J (ang. Joining) (około 15 aminokwasów), a także jeden lub dwa segmenty C (ang. Constant) (14, 15). Większość komórek T wykazuje ekspresję białka receptora TCR (receptor komórki T) alfa/beta, a niewielka populacja wykazuje ekspresję TCR gamma/delta, które zwykle ma podwójnie ujemny (CD4/CD8) fenotyp.

Komórki T gamma/delta są zwykle pierwszą linią obrony na powierzchniach naskórkowych i nabłonkowych oraz stanowią 10–12% limfocytów w śledzionie (16). IMMU 510 rozpoznaje wszystkie komórki T gamma/delta bez względu na geny V (ang. Variable) i regiony J (ang. Joining), których ekspresja w nich zachodzi, a do ustalenia tego wykorzystano badania metodą immunofluoroscencji przepływowej wykonywane na liniach komórek T gamma/delta oraz klonach komórek T gamma/delta (17, 18, 19, 20, 21).

PRECYZJA

Odsetek wartości dodatnich określono przy użyciu krwi pełnej. Każdą próbkę oznaczano 4 razy, dwa razy na dobę przez 1 dzień na 2 analizatorach przy użyciu 2 serii odczynnika przeciwciała monoklonalnego Anti-TCR PAN γ/δ-FITC. Pomiary (% dodatnich) przeprowadzono na cytometrze przepływowym Navios. Badanie przeprowadzono na podstawie metody EP5-A2 CLSI: Ocena wydajności precyzji metody pomiarów ilościowych.

Nasze kryteria akceptacji są uzależnione od liczby zdarzeń dodatnich zmierzonych w każdej populacji:

- Jeśli zdarzenie dodatnie < 1500, WZ < 15%
- Jeśli zdarzenie dodatnie > 1500, WZ < 10%

Limfocyty CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Liczba zdarzeń dodatnich (średnia) = 961							
	Między operatorami	Między cytometrami	W ramach serii	Między seriami	Między oznaczeniami	W ramach analizy	Łącznie
WZ (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
WYNIKI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOKŁADNOŚĆ

Dokładność odczynnika Anti-TCR PAN γ/δ-FITC oceniono porównując wyniki z odczynnikiem referencyjnym jako wyrobem predykatowym na zestawie próbek krwi pełnej oznaczanych na cytometrze przepływowym Navios. Odchylenie między odczynnikiem testowym i referencyjnym określono na podstawie różnicy wyników testu. Jeżeli odchylenie leży w obrębie dopuszczalnego zakresu błędu lub wartość p wskazuje brak istotnej różnicy (> 0,05), wyniki testu dla dwóch odczynników są uznawane za równoważne.

W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Liczba dawców = 25				
Dodatnie docelowe komórki	Średnia Δ	Kryteria Δ % komórki	Wartość p	WYNIKI
Limfocyty CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

GRANICA PRÓBY ŚLEPEJ I GRANICA WYKRYWALNOŚCI

Przeprowadzono badanie zgodnie z dokumentem CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zdolności wykrywania dla procedur pomiarowych w laboratoriach medycznych). Granica wykrywalności (LOD) to najniższe stężenie analitu, które może być powtarzalnie wykrywane. W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Positive Target	Granica próby ślepej (l. komórek/µL)	Granica wykrywalności (l. komórek/µL)
Limfocyty CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

ORGANICZENIA

1. Wyniki cytometrii przepływowej mogą być zafałszowane, jeśli osiowanie cytometru nie było dokładne, przepuszczona fluorescencja nie została prawidłowo skompensowana, a regiony nie zostały starannie upozycjonowane.
2. Preferowane jest stosowanie techniki lizy RBC z etapem przemywania, ponieważ odczynnik ten nie został zoptymalizowany dla technik lizy „bez przemywania".
3. Uzyskane wyniki będą dokładne i odtwarzalne pod warunkiem, że stosowane będą procedury zgodne z informacjami zawartymi w ulotce z danymi technicznymi oraz z dobrymi praktykami laboratoryjnymi.
4. Skoniugowane przeciwciało zawarte w tym odczynniku zostało skalibrowane tak, aby zapewniać najlepszy stosunek sygnału swoistego do nieswoistego. Dlatego ważne jest przestrzeganie stosunku objętości odczynnika do objętości próbki w każdym teście.
5. W przypadku hiperleukocytozy należy rozcieńczyć krew w PBS, aby uzyskać wartość w przybliżeniu 5 x 10^9 leukocytów/L (22).
6. W niektórych stanach chorobowych, takich jak ciężka niewydolność nerek lub hemoglobinopatie, liza krwinek czerwonych może być powolna, niepełna lub nawet niemożliwa. W takich przypadkach przed barwieniem zalecane jest wyizolowanie komórek jednojądrzastych na gradiencie gęstości (na przykład Ficoll) (23).
7. U pacjentów poddawanych terapii anty-ludzkimi przeciwciałami monoklonalnymi, wykrywanie swoistych antygenów docelowych może być osłabione lub niemożliwe z powodu częściowego lub całkowitego zablokowania przez przeciwciało terapeutyczne.
8. Wyniki oznaczenia Anti-TCR PAN γ/δ-FITC należy interpretować w świetle ogólnego obrazu klinicznego pacjenta, w tym objawów, historii klinicznej, danych z dodatkowych testów oraz innych właściwych informacji.

Przykłady i piśmiennictwo można znaleźć w załączniku.

ZNAKI TOWAROWE

Beckman Coulter, stylizowane logo oraz wymienione w tym dokumencie znaki produktów i usług firmy Beckman Coulter są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Beckman Coulter, Inc. w Stanach Zjednoczonych i innych krajach.

DODATKOWE INFORMACJE

Dotyczy pacjentów/użytkowników/stron trzecich w Unii Europejskiej i w krajach o identycznym systemie regulacyjnym (rozporządzenie 2017/746/UE w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro) — jeśli podczas lub w wyniku korzystania z tego wyrobu wystąpi poważny incydent, należy zgłosić go producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz odpowiedniemu organowi krajowemu.

Dokument The Summary of Safety and Performance (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania) jest dostępne w bazie danych EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIA ZMIAN

WERSJA AE:	Data wydania: październik 2019 r.

WERSJA	**Data wydania**
AW	Maj 2022 r.
Aktualizacje w celu zapewnienia zgodności z globalnymi zasadami oznakowania firmy Beckman Coulter i według wymogów rozporządzenia IVD-R (UE)2017/746:	
Dodano części	Numer BSI 2797, Użytkownik docelowy, Znaczenie kliniczne, Stężenie, Precyzja, Dokładność, Granica próby ślepej i granica wykrywalności, Informacje dodatkowe, Historia zmian.
Dodano informacje	Zobacz części Ograniczenia
Aktualizacje wyrażeń lub typograficzne	Zobacz części Procedura, Wydajność, Ograniczenia, Ostrzeżenia i środki ostrożności, Magazynowanie i stabilność.
Usunięte części	Przykłady zastosowań klinicznych, Odczynniki, Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna, Liniowość
Zaktualizowane części	Przeznaczenie, Klasyfikacja zagrożeń wg GHS, Dowód pogorszenia jakości, Procedura, Załącznik.

WERSJA	**Data wydania**
AX	Marzec 2023
Zaktualizowane części	Dodano język kazachski
Zaktualizowane części	Przechowywanie i stabilność

Wersja zmieniona	AY
Data zmiany	Maj 2024
Zaktualizowano tłumaczenia	**Znaczenie kliniczne:**
Zaktualizowane części	Historia zmian

Wersja zmieniona	AZ
Data zmiany	Lipiec 2024
Zaktualizowane części	Historia zmian

Legenda symboli

Słowniczek symboli jest dostępny pod adresem beckman.com/techdocs (numer dokumentu B60062)

	Specifikace
Specificita	TCR γ/δ
Klon	IMMU510
Hybridom	X63 x balb/c
Imunogen	Soluble γ/δ receptor
Imunoglobulin	IgG1
Druhy	Myš
Purifikace	Afinitní chromatografie
Fluorochrom	Fluorescein isothiocyanate
Molární poměr	FITC/Ig: 4 - 6,5
Excitace λ	488 nm
Emisní vrchol	525 nm
Pufr	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugovaná protilátka Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 testů; 1 ml, 20 µl/test

Pro diagnostické účely *in vitro*.

URČENÉ POUŽITÍ

Tato protilátka konjugovaná s fluorochromem umožňuje kvalitativní a neautomatizovanou identifikaci buněčných populací exprimujících antigen TCR γ/δ v lidských biologických vzorcích (viz část „Vzorky“ níže) pomocí průtokové cytometrie.

PRINCIP

Tento test je založen na schopnosti monoklonálních protilátek specificky se vázat na antigenní determinanty exprimované na leukocytech.

Specifické značení leukocytů se provádí inkubováním vzorku s reagencií IOTest. Červené krvinky jsou poté odstraněny provedením lýzy a bílé krvinky, jež tímto procesem nejsou ovlivněny, jsou analyzovány na průtokovém cytometru.

Průtokový cytometr měří difúzi světla a fluorescenci buněk. Umožňuje oddělit zkoumanou populaci v rámci elektronického okna definovaného na histogramu, který je v korelaci s ortogonální difúzí světla (kolmý rozptyl) a s difúzí světla v úzkém úhlu (přímý rozptyl). Jako podporu ve fázi gatování lze, v závislosti na aplikaci zvolené uživatelem, použít další histogramy s kombinací dvou různých parametrů, které jsou v cytometru k dispozici.

Fluorescence oddělených buněk je analyzována s cílem odlišit pozitivně obarvené události od neobarvených. Výsledky jsou vyjádřeny jako procentní podíl pozitivních událostí ze všech událostí zjištěných gatováním.

ZAMÝŠLENÝ UŽIVATEL

Tento produkt je určen pro profesionální laboratorní použití.

KLINICKÁ VÝZNAMNOST

Produkt Anti-TCR PAN γ/δ-FITC je protilátka Anti-TCR PAN γ/δ používaná k identifikaci a charakterizaci buněk exprimujících antigen TCR γ/δ pomocí průtokové cytometrie. Tento produkt samotný nelze použít ke stanovení jakéhokoliv diagnostického závěru, ani není k tomuto účelu určen.

Při použití v kombinaci s dalšími markery lze tento produkt použít k jedné nebo více z následujících funkcí:

- Jako pomůcka pro diferenciální diagnostiku pacientů s hematologickými abnormalitami, u kterých je podezření na hematopoetickou neoplazii, a k monitorování pacientů se známou hematopoetickou neoplazií.
- K monitorování pacientů se známým autoimunitním onemocněním či autoimunitní poruchou.

Viz následující odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

VZORKY

Vzorky žilní krve musejí být odebrány do sterilních zkumavek obsahujících sůl EDTA jako antikoagulační činidlo.

Vzorky by měly být uchovávány při laboratorní teplotě (18–25 °C) a neměly by se protřepávat. Vzorek by měl být před odebráním vzorku k testování homogenizován mírným promícháním.

Vzorky je nutné analyzovat do 24 hodin od venepunkce.

KONCENTRACE

Viz certifikát o analýze specifický pro šarži na www.beckman.com.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagencii nepoužívejte po datu exspirace.
2. Nezmrazujte.
3. Před použitím nechte vytemperovat na laboratorní teplotu (18–25 °C).
4. Minimalizujte expozici světlu.
5. Zabraňte mikrobiologické kontaminaci reagencií, jinak mohou být výsledky chybné.
6. S roztoky protilátek obsahujícími azid sodný (NaN_3) je třeba manipulovat opatrně. Neužívejte vnitřně a zabraňte veškerému kontaktu s pokožkou, sliznicemi a očima.

V kyselém prostředí může azid sodný navíc vytvářet potenciálně nebezpečnou kyselinu azidovodíkovou. Při likvidaci se doporučuje před vylitím do odpadu reagencii zředit velkým objemem vody, aby nedocházelo k hromadění nebezpečného azidu sodného v kovovém potrubí a předešlo se tak riziku exploze.

7. Všechny vzorky krve je nutno považovat za potenciálně infekční a je nutné manipulovat s nimi opatrně (zvláště: používat ochranné rukavice, pláště a brýle).
8. Nikdy nepipetujte ústy a zabraňte tomu, aby se vzorky dostaly do kontaktu s kůží, sliznicí ani očima.
9. Zkumavky s krví a jednorázový materiál určený pro manipulaci je třeba likvidovat v kontejnerech ad hoc určených ke spálení.
10. Reagencie a odpad by měly být odstraňovány v souladu s místními požadavky.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Není klasifikované jako nebezpečné

SDS Bezpečnostní list je k dispozici na internetové adrese beckmancoulter.com/techdocs.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Před otevřením lahvičky a po jejím otevření musí být tato reagencie uchovávána při teplotě mezi 2 a 8 °C a chráněna před světlem.

Doba použitelnosti uzavřené lahvičky podle studie stability: 1095 dnů/dní.

Stabilita již jednou otevřené lahvičky: reagencie je stabilní po dobu 180 dní.

ZNÁMKY ZHORŠENÍ KVALITY

Jakákoli změna fyzického vzhledu reagencií může znamenat jejich znehodnocení a taková reagencie by se neměla používat.

Pokud potřebujete další informace nebo jste obdrželi poškozený produkt, zavolejte na telefonní číslo zákaznické služby společnosti Beckman Coulter 800-742-2345 (USA nebo Kanada) nebo se obraťte na místního zástupce společnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervační látka azid sodný může v kovovém odpadním potrubí vytvářet výbušné sloučeniny. Viz buletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečí výbušných azidů) (16.8.76).
Po vypuštění neředěné reagencie propláchněte odpadní potrubí vodou, aby se v něm nehromadily azidové sloučeniny. Likvidace azidu sodného musí být prováděna podle příslušných místních předpisů.

MATERIÁLY POTŘEBNÉ, ALE NEDODANÉ SE SOUPRAVOU:

- Zkumavky na odběr vzorků a materiál potřebný k odběru vzorků.
- Automatické pipety s jednorázovými špičkami pro 20, 100 a 500 µl.
- Plastové zkumavky na hemolýzu.
- Reagencie pro lýzu červených krvinek s fází promývání po lýze. Například: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagencie pro fixaci leukocytů. Například: Fixační roztok IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotypová kontrola FITC: Reagencie IOTest (ref. A07795).
- Pufr (PBS: 0,01 M fosforečnan sodný; 0,145 M chlorid sodný; pH 7,2).
- Odstředivka.
- Automatické míchadlo (typu vortex).
- Průtokový cytometr.

POSTUP S REAGENCIÍ VERSALYSE

Pro každý analyzovaný vzorek lze kromě testovací zkumavky přidat jednu kontrolní zkumavku, v níž jsou buňky promíchány v přítomnosti izotypové kontroly (ref. A07795).

1. Do každé z testovacích zkumavek přidejte 20 µl konjugované protilátky specifické pro IOTest a podle potřeby do každé ze zkumavek kontroly přidejte 20 µl kontroly izotypu.
2. Do každé zkumavky přidejte 100 µl testovaného vzorku. Zkumavky jemně promíchejte na vortexové míchačce.
3. Provádějte inkubaci po dobu 15 až 20 minut při laboratorní teplotě (18–25 °C), chraňte před světlem.
4. Poté lyzujte červené krvinky. Postupujte dle brožury VersaLyse (ref. A09777) a řiďte se, pokud možno, postupem nazvaným „s průvodní fixací“, který spočívá v přidání 1 ml fixační a lyzační směsi připravené bezprostředně před použitím. Ihned vortexujte po dobu jedné sekundy a inkubujte po dobu 10 minut při laboratorní teplotě, přičemž chraňte před světlem.
5. Odstřeďujte 5 minut při 150 x g při laboratorní teplotě.
6. Supernatant odsajte.
7. Resuspendujte buněčnou peletu pomocí 3 ml PBS.
8. Opakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte buněčnou peletu pomocí:

- 0,5 ml nebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, pokud mají být preparáty uchovány po dobu kratší než 24 hodin. (PBS s 0,1 % formaldehydu lze získat zředěním 12,5 µl fixačního roztoku IOTest 3 (ref. A07800) o koncentraci 10x v 1 ml PBS.)
- 0,5 ml nebo 1 ml PBS bez formaldehydu, pokud mají být preparáty analyzovány do 2 hodin.

Poznámka: Ve všech případech uchovávejte preparáty při teplotě mezi 2 a 8 °C a chraňte je před světlem.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratořích byly vzorky plné krve (25) zjevně zdravých dárců zpracovány za použití výše popsané reagencie a gatovací reagencie. Získané výsledné počty cílových pozitivních událostí s touto reagencií jsou uvedeny v následující tabulce:

Pozitivní nosič	Počet	Průměr (%)	SD (směrodatná odchylka)	VK (%)
Lymfocyty CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Tyto hodnoty by měly být pouze reprezentativní. Každá laboratoř si musí stanovit vlastní očekávané hodnoty na základě místní populace normálních dárců.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Data o výkonu se získávají výše popsaným postupem a pomocí gatovací reagencie na vzorcích krve starých méně než 24 hodin, které byly odebrány do sterilních zkumavek se solí EDTA jakožto antikoagulačním činidlem. Analýza se provádí do 2 hodin od imunobarvení.

SPECIFICITA

TCR je molekulární komplex sestávající ze dvou jednotek: rozpoznávací jednotky, složené buď z heterodimeru alfa-beta, nebo z heterodimeru gama-delta, jejichž přítomnost se na buněčném povrchu vzájemně vylučuje, a převodní jednotky, komplexu CD3, společného pro heterodimery alfa-beta i gama-delta, který aktivuje buňky T, když je rozpoznávací jednotka obsazena antigenem. Rozpoznávací jednotka rozezná cizorodé antigeny, přičemž diverzita, jež je nezbytná pro tuto rozpoznávací funkci, je generována somatickou rekombinací genů T buněčného receptoru (11, 12, 13).

Existují čtyři gene loci T buněčného receptoru (TCR, T-cell receptor) (alfa, beta, gama a delta). Každá z těchto pozic se skládá z několika segmentů V (variabilních), které kódují přibližně 90 aminokyselin, velmi krátkých D (diverzita) segmentů (pouze v pozici α a delta) a krátkých spojovacích J (joining) segmentů (asi 15 aminokyselin) a jednoho nebo dvou konstantních C (constant) segmentů (14, 15). Většina T buněk tvoří protein alfa/beta TCR (T buněčný receptor) a malá populace T buněk tvoří gama/delta TCR, jež obvykle mají dvojitý negativní (CD4/CD8) fenotyp.

Gama/delta T buňky obvykle tvoří první bojovou linii na epidermálním a epitelovém povrchu a reprezentují 10–12 % lymfocytů ve slezině (16). IMMU 510 rozpoznává všechny T buňky gama/delta bez ohledu na proměnlivé geny nebo jimi exprimované spojovací oblasti, jak je hodnotí studie pomocí průtokové imunofluorescence na polyklonálních T-buněčných liniích gama/delta i na T-buněčných klonech gama/delta (17, 18, 19, 20, 21).

PRECIZNOST

Procento pozitivních hodnot bylo stanoveno pomocí plné krve. Každý ze vzorků byl otestován 4krát, dvakrát za den po dobu 1 dne na 2 přístrojích pomocí 2 šarží reagencií obsahujících monoklonální protilátky Anti-TCR PAN γ/δ-FITC. Měření (% pozitivních) byla prováděna na průtokovém cytometru Navios. Analýza byla prováděna metodou CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Hodnocení preciznosti při provádění metod kvantitativního měření).

Naše kritéria přijatelnosti závisí na počtu pozitivních událostí změřených pro každou populaci:

- Pokud pozitivní událost < 1 500, VK < 15 %
- Pokud pozitivní událost > 1 500, VK < 10 %

Lymfocyty CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Počet pozitivních událostí (průměr) = 961							
	Mezi obslužnými pracovníky	Mezi cytometry	V rámci šarže	Mezi šaržemi	Mezi cykly	V rámci cyklu	Celkem
VK (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PŘESNOST

Přesnost testu Anti-TCR PAN γ/δ-FITC byla posuzována podle srovnatelných výsledků pomocí referenčních reagencií jako predikátu na souboru vzorků plné krve měřených průtokovým cytometrem Navios. Odchylka mezi testovací a referenční reagencií byla stanovena podle rozdílu mezi výsledky testů. Je-li odchylka v rozmezí dovolené chyby nebo pokud p-hodnota nevykazuje žádný významný rozdíl (> 0,05), považují se výsledky testů pro dané dvě reagencie za ekvivalentní.

Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Počet dárců = 25				
Pozitivní nosič	Průměr Δ	Kritéria Δ % buněk	Hodnota p	VÝSLEDKY
Lymfocyty CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

MEZ PRÁZDNÉHO VZORKU A MEZ MĚŘITELNOSTI

Byla provedena studie v souladu se směrnicí CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnocení schopnosti detekce pro klinické laboratorní postupy měření). Mez měřitelnosti (LOD) je nejnižší koncentrace analytu, kterou lze spolehlivě detekovat. Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Positive Target	Mez prázdného vzorku (buňky/µl)	Mez měřitelnosti (buňky/µl)
Lymfocyty CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

OMEZENÍ

1. Průtoková cytometrie může přinést falešné výsledky, pokud cytometr nebyl dokonale seřízen, pokud nebyly správně kompenzovány úniky fluorescence a pokud oblasti nebyly pečlivě umístěny.
2. Je vhodné používat techniku lýzy RBC s promývacím krokem, protože tato reagencie není optimalizována pro techniku lýzy bez promývání.

3. Přesných a reprodukovatelných výsledků bude dosaženo, pokud jsou použité postupy v souladu s technickým příbalovým letákem a se správnou laboratorní praxí.
4. Konjugovaná protilátka této reagencie je kalibrována tak, aby poskytovala nejlepší možný poměr specifického signálu k nespecifickému signálu. Proto je důležité při každém testu dodržovat poměr objemu reagencie a objemu vzorku.
5. V případě hyperleukocytózy nařeďte krev v přípravku PBS tak, aby byla dosažena hodnota přibližně 5 x 10^9 leukocytů/l (22).
6. U určitých chorob, například závažného selhání ledvin či hemoglobinopatií, se může stát, že lýza červených krvinek bude probíhat pomalu, nedokončí se, nebo dokonce nebude možná. V tomto případě se před značením doporučuje izolovat mononukleární buňky s použitím hustotního gradientu (např. Ficoll) (23).
7. U pacientů léčených pomocí monoklonálních protilátek proti lidským antigenům může být detekce specificky cílených antigenů snížena nebo může chybět kvůli částečné nebo celkové blokaci terapeutickými protilátkami.
8. Výsledky analýzy Anti-TCR PAN γ/δ-FITC je nutné interpretovat s přihlédnutím k celkovému klinickému obrazu pacienta, včetně symptomů, klinické anamnézy, údajů z dalších testů a dalších vhodných informací.

Příklady a reference jsou uvedeny v příloze.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, stylizované logo a známky produktů a služeb společnosti Beckman Coulter uvedené v tomto dokumentu jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Beckman Coulter, Inc. ve Spojených státech amerických a dalších zemích.

DALŠÍ INFORMACE

Pro pacienty, uživatele nebo třetí osoby v Evropské unii a v zemích se stejným regulačním režimem (nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro); pokud při používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání dojde k závažné nehodě, prosím ohlaste tuto nehodu výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a kompetentnímu vnitrostátnímu orgánu.

Summary of Safety and Performance (Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti) je k dispozici v databázi EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIE REVIZÍ

REVIZE AE:	Datum vydání: Říjen 2019

REVIZE	**Datum vydání**
AW	Květen 2022
Aktualizace kvůli shodě s globálními zásadami označování společnosti Beckman Coulter a dle požadavků IVD-R (EU) 2017/746:	
Přidání částí	Číslo BSI 2797, Určený uživatel, Klinická významnost, Koncentrace, Preciznost, Přesnost, Mez prázdného vzorku a mez měřitelnosti, Další informace, Historie změn.
Přidány informace	Viz část Omezení
Aktualizace formulací a typografické aktualizace	Viz části Postup, Výkon, Omezení, Varování a bezpečnostní opatření, Skladování a stabilita.
Odstranění částí	Příklad klinických použití, Reagencie, Reprodukovatelnost v rámci laboratoře, Linearita
Aktualizované části	Určené použití, Klasifikace nebezpečí podle GHS, Známky znehodnocení, Postup, Příloha.

REVIZE	**Datum vydání**
AX	brezen 2023
Aktualizované části	Přidání kazašského jazyka
Aktualizované části	Skladování a stabilita

Revidovaná verze	AY
Datum revize	Květen 2024
Aktualizované překlady	**Klinická významnost:**
Aktualizované části	Historie revizí

Revidovaná verze	AZ
Datum revize	cervenec 2024
Aktualizované části	Historie revizí

Klíč k symbolům

Slovníček symbolů je k dispozici na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	Špecifikácie
Špecificita	TCR γ/δ
Klon	IMMU510
Hybridóm	X63 x balb/c
Imunogén	Soluble γ/δ receptor
Imunoglobulín	IgG1
Druhy	Myš
Purifikácia	Afinita Chromatografia
Fluorochróm	Fluorescein isothiocyanate
Molárny pomer	FITC/Ig: 4 - 6,5
Excitácia λ	488 nm
Vrchol emisií	525 nm
Tlmivý roztok	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugovaná protilátka Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 testov; 1 ml, 20 µl/test

Na *in vitro* diagnostické použitie.

URČENÉ POUŽITIE

Táto protilátka konjugovaná s fluorochrómom umožňuje pomocou prietokovej cytometrie vykonávať kvalitatívnu, neautomatizovanú identifikáciu populácie buniek exprimujúcich antigén TCR γ/δ v ľudských biologických vzorkách (pozri časť „vzorky“ nižšie).

PRINCÍP

Tento test je založený na schopnosti špecifických monoklonálnych protilátok viazať sa na antigénne determinanty exprimované na leukocytoch.

Špecifické farbenie leukocytov sa vykoná inkubáciou vzorky s činidlom IOTest. Červené krvinky sa následne odstránia lýzou a leukocyty, na ktoré tento postup nemá vplyv, sa analyzujú prietokovou cytometriou.

Prietokový cytometer meria rozptyl svetla a fluorescenciu buniek. Umožňuje vymedzenie požadovanej populácie v rámci elektronického okna zadefinovaného v histograme znázorňujúcom koreláciu ortogonálneho rozptylu svetla (bočný rozptyl, SS) a rozptylu svetla v úzkom uhle (predný rozptyl, FS). Ostatné histogramy obsahujúce kombináciu dvoch rozličných parametrov dostupných na cytometri možno použiť na podporu vo fáze gatingu v závislosti od aplikácie zvolenej používateľom.

Fluorescencia vymedzených buniek sa analyzuje s cieľom odlíšiť pozitívne sfarbené udalosti od nesfarbených. Výsledky sú vyjadrené ako percento pozitívnych udalostí vzhľadom na všetky udalosti zaznamenané gatingom.

URČENÝ POUŽÍVATEĽ

Tento produkt je určený na profesionálne laboratórne použitie.

KLINICKÝ VÝZNAM

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC je protilátka proti Anti-TCR PAN γ/δ používaná na identifikáciu a charakterizáciu buniek exprimujúcich antigén TCR γ/δ pomocou prietokovej cytometrie. Tento výrobok sám osebe nemôže a ani nemá slúžiť na vyvodzovanie akýchkoľvek diagnostických záverov.

Pri použití v kombinácii s inými markermi možno tento produkt použiť na jeden alebo viac z týchto účelov:

- Ako pomôcka pri diferenciálnej diagnostike hematologicky abnormálnych pacientov s podozrením na hematopoetickú neoplazmu a na monitorovanie pacientov so známou hematopoetickou neoplazmou.
- Na monitorovanie pacientov so známym autoimunitným ochorením alebo poruchou.

Pozrite si nasledujúce odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

VZORKY

Vzorky žilovej krvi musia byť odobraté do sterilných skúmaviek, ktoré obsahujú soľ EDTA ako antikoagulačné činidlo.

Vzorky by sa mali uchovávať pri izbovej teplote (18 – 25 °C) a nemalo by sa nimi triasť. Vzorky by sa mali pred odobratím testovacej vzorky homogenizovať jemným pretrepaním.

Vzorky sa musia analyzovať do 24 hodín od odberu.

KONCENTRÁCIA

Pozrite si certifikát analýzy pre konkrétnu šaržu na adrese www.beckman.com.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

1. Činidlo nepoužívajte po dátume exspirácie.
2. Nezamrazujte.
3. Pred použitím nechajte zahriať na izbovú teplotu (18 – 25 °C).
4. Minimalizujte vystavenie svetlu.
5. Zabráňte mikrobiálnej kontaminácii činidiel, inak môže dôjsť k falošným výsledkom.

6. S roztokmi protilátok obsahujúcimi azid sodný (NaN_3) by sa malo zaobchádzať opatrne. Nepožívajte ich a vyhýbajte sa akémukoľvek kontaktu s kožou, sliznicami a očami.

   V médiu s obsahom kyseliny môže navyše azid sodný vytvárať potenciálne nebezpečnú kyselinu azidovodíkovú. Ak je činidlo potrebné zlikvidovať, odporúča sa ho pred vyliatím do kanalizácie zriediť vo veľkom objeme vody, aby sa predišlo riziku explózie v dôsledku hromadenia azidu sodného v kovovom potrubí.
7. Všetky vzorky krvi sa musia považovať za potenciálne infekčné, a preto sa s nimi musí narábať opatrne (predovšetkým: používajte ochranné rukavice, plášte a okuliare).
8. Nikdy nepipetujte ústami a zabráňte akémukoľvek kontaktu vzoriek s pokožkou, sliznicami a očami.
9. Skúmavky na krv a jednorazový materiál používané pri manipulácii sa musia zlikvidovať do schválených nádob určených na spálenie.
10. Činidlá a odpad by sa mali eliminovať v súlade s miestnymi požiadavkami.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Nie je klasifikované ako nebezpečné

SDS Bezpečnostný list je dostupný na adrese beckmancoulter.com/techdocs

SKLADOVANIE A STABILITA

Toto činidlo sa musí skladovať pri teplote od 2 do 8 °C a chrániť pred svetlom pred aj po otvorení fľaštičky.

Doba použiteľnosti uzavretej fľaštičky podľa štúdie stability: 1095 dní.

Stabilita otvorenej fľaštičky: činidlo je stabilné 180 dní.

ZNÁMKY ZNEHODNOTENIA

Akákoľvek zmena fyzického vzhľadu činidla môže svedčiť o zhoršení kvality a takéto činidlo by sa nemalo používať.

Ak potrebujete ďalšie informácie alebo ak je výrobok poškodený, kontaktujte stredisko zákazníckych služieb spoločnosti Beckman Coulter na telefónnom čísle 800-742-2345 (ak sa nachádzate v USA alebo Kanade) alebo kontaktujte miestneho zástupcu spoločnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervačné činidlo azid sodný môže v kovovej kanalizačnej sieti vytvárať výbušné zlúčeniny. Pozrite si informačný bulletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečenstvo výbušného azidu) (16. 8. 76).
Aby nedošlo k možnému nahromadeniu azidových zlúčenín, po likvidácii neriedeného činidla vypláchnite potrubie vodou. Likvidácia azidu sodného musí prebiehať v súlade s príslušnými miestnymi predpismi.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ NIE JE SÚČASŤOU SÚPRAVY:

- Vzorkovacie skúmavky a materiál potrebný na vzorkovanie.
- Automatické pipety s jednorazovými špičkami na dávkovanie objemov 20, 100 a 500 µl.
- Plastové hemolytické skúmavky.
- Činidlo na lýzu červených krviniek s umývacou fázou po lýze. Napríklad: VersaLyse (Ref. A09777).
- Činidlo na fixáciu leukocytov. Napríklad: fixačný roztok IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotypová kontrolaFITC: činidlo IOTest (Ref. A07795).
- Tlmiaci roztok (PBS: fosforečnan sodný 0,01 M; chlorid sodný 0,145 M; pH 7,2).
- Centrifúga.
- Automatické miešadlo (typ Vortex).
- Prietokový cytometer.

POSTUP S ČINIDLOM VERSALYSE

Na každú analyzovanú vzorku je možné okrem testovacej skúmavky pridať aj jednu kontrolnú skúmavku, v ktorej sa zmiešajú bunky v prítomnosti izotypovej kontroly (Ref. A07795).

1. Pridajte 20 µl špecifickej konjugovanej protilátky IOTest do každej testovacej skúmavky a v prípade potreby 20 µl izotopovej kontroly do každej kontrolnej skúmavky.
2. Do každej skúmavky pridajte 100 µl testovanej vzorky. Skúmavky jemne vortexujte.
3. Inkubujte 15 až 20 minút pri izbovej teplote (18 – 25 °C) bez prístupu svetla.
4. Potom vykonajte lýzu červených krviniek. Postupujte podľa písomnej informácie VersaLyse (Ref. A09777) a ideálne použite postup označený ako „so sprievodnou fixáciou“, ktorý zahŕňa pridanie 1 ml bezprostredne pripravenej zmesi „na fixáciu a lýzu“. Ihneď premiešajte jednu sekundu a inkubujte 10 minút pri izbovej teplote a chráňte pred svetlom.
5. Odstreďujte 5 minút pri 150 x g pri izbovej teplote.
6. Nasatím odoberte supernatant.
7. Resuspendujte bunkový pelet použitím 3 ml PBS.
8. Zopakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte bunkový pelet použitím:

- 0,5 ml alebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, ak sa preparáty budú skladovať kratšie ako 24 hodín. (Roztok PBS s 0,1 % formaldehydu možno pripraviť zriedením 12,5 µl fixačného roztoku IOTest 3 (Ref. A07800) v 10X koncentrácii v 1 ml roztoku PBS).
- 0,5 ml alebo 1 ml PBS bez formaldehydu, ak sa preparáty budú analyzovať do 2 hodín.

Poznámka: Preparáty vždy uchovávajte pri teplote 2 až 8 °C a mimo dosahu svetla.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratóriách sa vzorky plnej krvi od 25 zjavne zdravých darcov spracovali pomocou vyššie popísaného činidla a vrátkovacieho činidla. Získané výsledky pre príslušné počty skúmaných pozitívnych udalostí s týmto činidlom sú uvedené v tabuľke nižšie:

Pozitívny cieľ	Počet	Priemer (%)	SD	CV (%)
Lymfocyty CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Tieto hodnoty slúžia len ako reprezentatívne údaje. Každé laboratórium by si malo určiť vlastné očakávané hodnoty na základe miestnej populácie normálnych darcov.

VÝKONNOSŤ

Údaje o výkonnosti boli získané pomocou vyššie opísaného postupu a vrátkovacieho činidla z menej ako 24 hodín starých vzoriek krvi odobraných do sterilných skúmaviek so soľou EDTA ako antikoagulačným činidlom. Analýza prebehla do 2 hodín od imunologického farbenia.

ŠPECIFICITA

Molekulárny komplex TCR sa skladá z dvoch jednotiek: rozoznávacej jednotky, ktorá sa skladá buď z alfa-beta alebo gama-delta heterodiméru, prítomného na povrchu bunky výlučne v jednej z týchto verzií, a transdukčnej jednotky, komplexu CD3, spoločnej pre alfa-beta a gama-delta heterodiméry, ktorá aktivuje T-bunku, keď je rozoznávacia jednotka obsadená antigénom. Rozoznávacia jednotka rozoznáva cudzie antigény a diverzita potrebná pre túto rozoznávaciu funkciu sa vytvára somatickou rekombináciou génov TCR (11, 12, 13).

Existujú štyri génové lokusy TCR (alfa, beta, gama a delta). Každý z nich sa skladá z niekoľkých segmentov V (variabilných) kódujúcich približne 90 aminokyselín, veľmi krátkych segmentov D (diverzita; len v lokusoch alfa a delta) a krátkych segmentov J (spájacích; približne 15 aminokyselín) a jedného alebo dvoch segmentov C (konštantné) (14, 15). Väčšina T-buniek exprimuje alfa/beta TCR proteín (receptor T-buniek) a malá populácia T-buniek exprimuje gama/delta TCR, čo zvyčajne vedie k dvojitému negatívnemu (CD4/CD8) fenotypu.

T-bunky gama/delta sú normálne prvou obrannou líniou na epidermálnych a epitelových povrchoch a predstavujú 10 – 12 % lymfocytov v slezine (16). Protilátka IMMU 510 rozoznáva všetky T-bunky gama/delta bez ohľadu na variabilné gény alebo spájacie regióny, ktoré tieto bunky exprimujú, ako bolo potvrdené v prietokových imunofluorescenčných štúdiách na polyklonálnych T-bunkových líniách gama/delta ako aj na T-bunkových gama/delta klonoch (17, 18, 19, 20, 21).

PRESNOSŤ

Percentuálne pozitívne hodnoty boli stanovené s použitím plnej krvi. Každá vzorka bola analyzovaná 4-krát, dva razy denne počas 1 dňa na 2 prístrojoch pri použití 2 šarží činidiel s monoklonálnymi protilátkami proti Anti-TCR PAN γ/δ-FITC. Merania (% pozitívnych) sa vykonávali na prietokovom cytometri Navios. Analýza sa vykonávala podľa metódy CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Hodnotenie zhodnosti pri metódach kvantitatívneho merania).

Naše kritériá prijateľnosti závisia od počtu pozitívnych udalostí nameraného v jednotlivých populáciách:

- Ak je pozitívnych udalostí < 1500, CV < 15 %
- Ak je pozitívnych udalostí > 1500, CV < 10 %

Lymfocyty CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Počet pozitívnych udalostí (priemer) = 961							
	Medzi operátormi	Medzi cytometrami	V rámci jednej šarže	Medzi šaržami	Medzi analýzami	V rámci jednej analýzy	Celkovo
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRESNOSŤ

Presnosť Anti-TCR PAN γ/δ-FITC bola vyhodnotená porovnaním výsledkov s porovnávacím referenčným činidlom na súbore vzoriek plnej krvi analyzovaných v prietokovom cytometri Navios. Odchýlka medzi testovaným a referenčným činidlom bola stanovená na základe rozdielu medzi výsledkami testov. Ak je odchýlka v medziach prípustného chybového rozsahu, alebo ak p-hodnota svedčí o nevýznamnom rozdiele (> 0,05), výsledky testovania daných dvoch činidiel sa považujú za rovnocenné.

Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Počet darcov = 25				
Pozitívny cieľ	Priemer Δ	Kritériá Δ % buniek	p-hodnota	VÝSLEDKY
Lymfocyty CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

MEDZA PRÁZDNEJ VZORKY A MEDZA MERATEĽNOSTI

Bola vykonaná štúdia v súlade s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnotenie detekčnej schopnosti pre postupy klinických laboratórnych meraní). Medza merateľnosti (LoD) je najnižšia koncentrácia analytu, ktorú možno konzistentne detegovať. Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Positive Target	Medza prázdnej vzorky (buniek/µl)	Medza merateľnosti (buniek/µl)
Lymfocyty CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

OBMEDZENIA

1. Prietoková cytometria môže vytvárať falošné výsledky, ak cytometer nie je správne zarovnaný, ak úniky fluorescencie nie sú správne kompenzované, alebo ak nie sú oblasti správne umiestnené.
2. Vhodnejšie je používať metódu lýzy RBC s krokom premývania, keďže toto činidlo nie je optimalizované na metódy lýzy „bez premývania“.
3. Presné a reprodukovateľné výsledky sa získajú len vtedy, ak sa použijú postupy v súlade s technickými údajmi v príbalovom letáku a v súlade s osvedčenou laboratórnou praxou.
4. Konjugovaná protilátka tohto činidla sa kalibruje tak, aby ponúkala najlepší pomer špecifického signálu/nešpecifického signálu. Preto je dôležité pri každom teste dodržať pomer objem činidla/objem vzorky.
5. V prípade hyperleukocytózy zrieďte krv v PBS na koncentráciu približne 5 x 10^9 leukocytov/l (22).
6. Pri niektorých chorobných stavoch, akými sú napríklad závažné zlyhanie obličiek alebo hemoglobinopatie, môže byť lýza červených krviniek pomalá, neúplná alebo dokonca nemožná. V takom prípade sa odporúča pred farbením izolovať mononukleárne bunky pomocou hustotného gradientu (napríklad Ficoll) (23).
7. U pacientov liečených monoklonálnymi protilátkami proti ľudským protilátkam môže byť detekcia špecifických cieleným antigénom znížená alebo môže úplne chýbať v dôsledku čiastočného alebo úplného blokovania terapeutickej protilátky.
8. Pri interpretácii výsledkov Anti-TCR PAN γ/δ-FITC treba brať do úvahy celkový klinický obraz pacienta vrátane symptómov, klinickej anamnézy, výsledkov ďalších testov a iných súvisiacich informácií.

Príklady a referencie nájdete v Dodatku.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, štylizované logo a známky produktov a služieb spoločnosti Beckman Coulter spomenuté v tomto dokumente sú ochranné známky alebo registrované ochranné známky spoločnosti Beckman Coulter, Inc. v USA a ďalších krajinách.

DOPLŇUJÚCE INFORMÁCIE

Pre pacienta/používateľa/tretiu stranu v Európskej únii a v krajinách s identickým regulačným režimom (Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/746 o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro): ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne vážna nehoda, nahláste ju výrobcovi a/alebo jeho autorizovanému zástupcovi a vášmu národnému orgánu.

Summary of Safety and Performance (Súhrn informácií o bezpečnosti a výkonnosti) je k dispozícii v databáze EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRIA REVÍZIÍ

REVÍZIA AE:	Dátum vydania: Október 2019

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AW	Máj 2022
Aktualizácie kvôli súladu s dokumentom Beckman Coulter Global Labelling Policy (Globálne pravidlá označovania spoločnosti Beckman Coulter) a podľa požiadaviek nariadenia IVDR (EÚ) 2017/746:	
Pridané časti	Číslo BSI 2797, Určený používateľ, Klinický význam, Koncentrácia, Zhodnosť, Presnosť, Medza prázdnej vzorky a medza merateľnosti, Doplňujúce informácie, História revízií.
Pridané informácie	Pozri časti Obmedzenia
Aktualizácie formulácií alebo typografické aktualizácie	Pozri časti Postup, Výkonnosť, Obmedzenia, Výstraha a opatrenia, Skladovanie a stabilita.
Odstránené časti	Príklad klinických aplikácií, Činidlá, Intralaboratórna reprodukovateľnosť, Linearita
Aktualizované časti	Určené použitie, Klasifikácia nebezpečenstiev podľa GHS, Známky zhoršenia kvality, Postup, Dodatok.

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AX	Marec 2023
Aktualizované časti	Pridať kazaštinu
Aktualizované časti	Skladovanie a stabilita

Revidovaná verzia	AY
Dátum revízie	Máj 2024
Aktualizované preklady	**Klinický význam:**
Aktualizované časti	História revízií

Revidovaná verzia	AZ
Dátum revízie	Júl 2024
Aktualizované časti	História revízií

Popis symbolov

Slovník symbolov je dostupný na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	규격
특이도	TCR γ/δ
클론	IMMU510
하이브리도마	X63 x balb/c
면역원	Soluble γ/δ receptor
면역글로불린	IgG1
종	생쥐
정제	친화성 크로마토그래피
형광색소	Fluorescein isothiocyanate
분자비	FITC/Ig: 4 - 6.5
λ 자극	488 nm
방출 피크	525 nm
완충액	PBS pH 7.2 + 2mg/mL BSA 및 0.1 % NaN_3

IOTest

복합 항체
Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50회 테스트, 1mL, 20µL/검사

체외 **진단용으로 사용합니다.**

사용목적

본 형광색소 결합 항체를 사용 시 유세포 분석법으로 인간의 생물학적 검체에 있는 TCR γ/δ 항원을 나타내는 세포군의 정성적 동정 및 비자동 동정을 수행할 수 있습니다(아래 "검체" 섹션 참조).

원리

이 검사는 백혈구로 발현되는 항원 결정기에 특이적 단일클론 항체가 결합할 수 있는 능력에 기초합니다.

백혈구의 특이적 염색은 검체를 IOTest 시약과 함께 배양하여 수행합니다. 그런 다음 적혈구를 용해하여 제거하고 이 과정에서 영향을 받지 않은 백혈구를 유세포 분석법을 통해 분석하십시오.

유세포 분석기는 세포의 빛 확산과 형광 영역을 측정합니다. 유세포 분석기를 사용하면 빛의 직교 확산(측면 산란, SS)과 좁은 각의 광확산(전방 산란, FS)의 상호 관계를 지정하는 막대그래프상에 정의된 전자 창 내에서 관심 개체의 한계를 결정할 수 있습니다. 유세포 분석기에서 사용할 수 있는 두 가지 파라메타를 결합하는 기타 막대그래프를 사용자가 선택한 애플리케이션에 따라 게이팅 단계에서 지원 자료로 사용 가능합니다.

범위가 결정된 세포의 형광 영역을 분석하여 명확하게 염색된 이벤트와 염색되지 않은 이벤트를 구분합니다. 분석 결과는 게이팅으로 획득한 전체 이벤트와 비교한 양성 이벤트의 비율로 표현합니다.

의도된 사용자

본 제품은 실험실 전문가용입니다.

임상 관련성

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC은(는) 유세포 분석법으로 TCR γ/δ 항원을 나타내는 세포를 식별하고 특성화하는 데 사용하는 Anti-TCR PAN γ/δ 항체입니다. 본 제품만 사용하여 진단과 관련된 결론을 내릴 수 없으며, 해당 용도로 사용해서도 안 됩니다.

다른 표지자와 함께 사용하는 경우 이 제품은 다음 중 하나 이상의 기능에 사용할 수 있습니다.

- 조혈세포성 종양이 의심되고 혈액학적 이상을 동반하는 환자의 감별 진단을 위한 보조 수단으로 활용하거나 알려진 조혈세포성 종양을 가진 환자를 모니터링하는 데 사용합니다.
- 알려진 자가면역 질환 또는 장애가 있는 환자를 모니터링합니다.

다음 참조를 살펴보십시오.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

검체

정맥혈은 EDTA 염을 항응고제로 포함한 무균 튜브를 사용하여 채취해야 합니다.

검체는 실온(18~25°C)에 보관해야 하며 흔들어서는 안 됩니다. 검사 검체를 채취하기 전에 부드럽게 교반하여 검체를 균질화해야 합니다.

검체는 정맥천자 후 24시간 이내에 분석해야 합니다.

농도

www.beckman.com에서 로트별 분석증명서를 확인할 수 있습니다.

경고 및 주의 사항

1. 유효 기간이 지난 시약은 사용하지 마십시오.
2. 냉동하지 마십시오.
3. 사용 전 실온(18~25°C)에 두십시오.
4. 빛 노출을 최소화하십시오.
5. 시약이 미생물에 오염되지 않도록 하십시오. 그러지 않으면 잘못된 결과를 얻을 수 있습니다.
6. 아지드화나트륨(NaN_3)을 함유한 항체 용액은 주의해서 다루어야 합니다. 흡입을 피하고 피부, 점막 및 눈에 절대 닿지 않도록 하십시오.

또한 산성 매질에 함유된 아지드화나트륨은 잠재적 위험 물질인 히드라조산을 만들어낼 수 있습니다. 시약을 폐기할 때는 금속 파이프 내 아지드화나트륨 축적과 폭발 위험을 방지하기 위해 다량의 물에 희석한 후 배수 시설로 흘려보내야 합니다.

7. 모든 혈액 검체는 잠재적으로 전염성이 있다고 간주하고 주의해서 다루어야 합니다(특히 보호용 장갑, 가운 및 보안경 착용).
8. 피펫을 절대 입으로 사용하지 않도록 하고 검체가 피부, 점막 및 눈에 닿지 않도록 하십시오.
9. 취급에 사용한 혈액 튜브 및 일회용 물질은 소각용 특수 용기에서 폐기해야 합니다.
10. 시약 및 폐기물은 현지 요구 사항에 따라 제거해야 합니다.

GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음

SDS 안전보건자료는 beckmancoulter.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다.

보관 및 안정성

이 시약은 바이알 개봉 전후에 2~8°C로 유지하면서 빛으로부터 보호해야 합니다.

안정성 시험에 따른 밀봉 바이알 유효 기간: 1095일.

개봉한 바이알의 안정성: 시약은 180일 동안 안정적입니다.

성능 저하 증거

시약 외관에 물리적 변화가 있는 경우 성능 저하를 나타내는 것일 수 있으므로 시약을 사용해서는 안 됩니다.

자세한 정보가 필요하거나 손상된 제품을 받은 경우에는 Beckman Coulter 고객 서비스에 800-742-2345(미국 또는 캐나다)로 또는 현지 Beckman Coulter 담당자에게 문의하십시오.

목차

소디움 아자이드 보존제는 금속 배수관에서 폭발성 화합물을 형성할 수 있습니다. NIOSH 게시판을 참조하십시오. Explosive Azide Hazard(폭발성 아지드 유해물질)(76/8/16)
아지드 화합물의 축적 가능성을 방지하려면 희석되지 않은 시약을 폐기한 다음 폐기 파이프를 물로 세척하십시오. 소디움 아자이드의 폐기는 해당 지역 규정을 따라야 합니다.

필요하지만 키트와 함께 제공되지 않는 품목:

- 검체 튜브와 검체 채취에 필요한 물질.
- 20, 100 및 500µL용 일회용 팁이 있는 자동 피펫.
- 플라스틱 용혈 튜브.
- 용해 후 세척 단계의 적혈구 용해 시약. 예: VersaLyse(참조 A09777).
- 백혈구 고정 시약. 예: IOTest 3 고정액(참조 A07800).
- 동형 정도관리물질FITC: IOTest 시약(참조 A07795).
- 완충액(PBS: 0.01M 인산나트륨, 0.145M 염화나트륨, pH 7.2).
- 원심분리기.
- 자동 교반기(교반 유형).
- 유세포 분석기.

VERSALYSE 시약을 이용한 절차

분석할 각 검체마다 검사 튜브와 더불어 동형 대조물질이 있는 상태에서 세포를 혼합하는 하나의 정도관리물질 튜브를 추가할 수 있습니다(참조 A07795).

1. 20µL의 특정 IOTest 결합 항체를 각 검사 튜브에 첨가하고, 필요에 따라 20µL의 동형 정도관리물질을 각 정도관리물질 튜브에 첨가합니다.
2. 100µL의 검사 검체를 각 튜브에 첨가합니다. 튜브를 부드럽게 교반합니다.
3. 실온(18~25°C)에서 빛을 피해 15~20분 동안 배양하십시오.
4. 그런 다음 적혈구 용해를 수행합니다. VersaLyse(참조 A09777) 책자 내용을 참조하여 즉석에서 준비한 1mL의 "고정 및 세포 용해" 혼합물을 첨가하는 "수반 고정" 절차를 따릅니다. 즉시 1초 동안 교반한 후 직사광선을 피해 상온에서 10분 동안 배양합니다.
5. 상온에서 150 x g로 5분 동안 원심분리합니다.
6. 흡입 시 상청액을 제거하십시오.
7. 3mL의 PBS를 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.
8. 5단계를 반복합니다.
9. 그런 다음 흡입 방식으로 상등액을 제거하고 다음을 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.

- 조제 물질을 24시간 미만으로 보관하려는 경우 0.1 %의 포름알데히드가 함유된 0.5mL 또는 1mL의 PBS. (0.1 % 포름알데히드 PBS는 12.5µL의 IOTest 3 고정액(참조 A07800)을 1mL의 PBS에 10X 농도로 희석하여 얻을 수 있습니다).
- 조제 물질을 2시간 이내에 분석하려는 경우 포름알데히드가 없는 0.5mL 또는 1mL의 PBS.

참고: 조제물은 항상 빛을 피해 2~8°C로 유지하십시오.

예상 수치

실험실에서 건강한 공여자 25명의 전혈 검체를 위에서 설명한 시약과 게이팅 시약을 사용하여 처리했습니다. 이 시약에서 관심 대상의 양성 이벤트 수 계산을 위해 얻은 결과는 아래 표와 같습니다.

양성 표적	번호	평균(%)	표준편차	CV(%)
림프구 CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5.43	3.40	62.54

위 값은 전형적인 값으로만 참고해야 합니다. 각 실험실은 소재 지역의 정상 공여자 집단을 통해 고유한 예상값을 설정해야 합니다.

성능

성능 데이터는 위에서 설명한 절차와 게이팅 시약을 사용하여 이전에 EDTA 염을 항응고제로 하여 무균 튜브에서 수집한 지 24시간 미만인 혈액 검체로 획득합니다. 분석은 면역염색 후 2시간 이내에 수행됩니다.

특이도

TCR은 상호 배타적인 방법으로 세포 표면에 존재하는 알파-베타 또는 감마 델타 이질이합체로 구성된 인식 단위와, 항원이 인식 단위를 점유할 때 T 세포를 촉발하며 알파-베타 및 감마-델타 이질이합체에 공통되는 형질도입 단위 CD3 복합체의 두 가지 단위로 구성된 분자 복합체입니다. 인식 단위는 외래 항원을 인식하며, 이러한 인식 기능에 필요한 다양성은 TCR 유전자의 체세포 재조합을 통해 생성됩니다(11, 12, 13).

TCR 유전자자리는 4가지가 있습니다(알파, 베타, 감마 및 델타). 각 유전자자리는 여러 V(가변) 분절, 약 90개 아미노산의 코드, 아주 짧은 D(다양성) 분절(α 및 델타 유전자자리만 해당), 짧은 J(연결) 분절(약 15개 아미노산) 및 1~2개의 C(상수) 분절로 구성됩니다(14, 15). 대부분의 T 세포는 알파/베타 TCR(T 세포 수용체) 단백질을 발현하고, 소수의 T 세포 모집단은 감마/델타 TCR을 발현하며, 후자의 경우 대개 이중 음성(CD4/CD8) 표현형을 가집니다.

일반적으로 감마/델타 T-세포는 표피 및 상피 표면의 1차 방어선이며 비장 내 림프구의 10~12 %를 차지합니다(16). IMMU 510은 다클론 감마/델타 T-세포계와 감마/델타 T-세포 클론에 대한 유세포 면역형광법 연구 평가에 따라 발현하는 다양한 유전자 또는 접합부 영역과 상관없이 모든 감마/델타 T 세포를 인식합니다(17, 18, 19, 20, 21).

정밀도

양성 비율 값은 전혈을 사용하여 측정되었습니다. 각 검체는 2개의 Anti-TCR PAN γ/δ-FITC 단일 클론 항체 시약 로트를 사용하여 2개의 장비에서 하루 동안 일일 2회씩 4번 실행되었습니다. 측정값(양성 비율)은 Navios 유세포 분석기로 도출했습니다. 분석은 CLSI 방법 EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods(정량적 측정 방법의 정밀도 성능 평가)를 기반으로 수행했습니다.

허용 기준은 각 집단에서 측정한 양성 이벤트 수에 따라 다릅니다.

- 양성 이벤트 수가 < 1,500인 경우 CV < 15 %
- 양성 이벤트 수가 > 1,500인 경우 CV < 10 %

림프구 CD3+ TCR PAN γ/δ+							
양성 이벤트 수(평균) = 961							
	작업자 간	유세포 분석기 간	로트 내	로트 간	실행 간	실행 내	총계
CV(%)	1.02	0.99	2.92	0.78	1.00	2.55	3.18
결과	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

정확도

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC의 정확도는 그 결과를 Navios 유세포 분석기로 처리된 전혈 세포 검체에 공인 참조 시약을 가한 값과 비교하여 평가했습니다. 검사 시약과 참조 시약 간 바이어스는 검사 결과 간 차이를 기반으로 지정되었습니다. 바이어스가 허용 가능한 오차 범위 내에 있거나 p-값이 유의한 차이를 나타내지 않는 경우(> 0.05) 두 시약의 검사 결과는 동일한 것으로 간주됩니다.

얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

공여자 수 = 25				
양성 표적	평균 Δ	Δ % 세포 기준	p-값	결과
림프구 CD3+ TCR PAN γ/δ+	0.082	<3	0.038	PASS

공시료 최저 검출한계 및 검출한계

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures(CLSI EP17-A2, 임상 실험실 측정 절차에 대한 검출 능력 평가)에 따라 연구를 실시했습니다. 검출한계(LoD)는 일관되게 검출 가능한 분석물질의 최저 농도입니다. 얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

Positive Target	공시료 최저 검출한계(세포/µL)	검출한계(세포/µL)
림프구 CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

한계

1. 유세포 분석기가 완벽하게 정렬되지 않은 경우, 형광 누출이 올바르게 보정되지 않은 경우 또는 영역 위치를 신중하게 지정하지 않은 경우 유세포 분석법에서 잘못된 결과가 나올 수 있습니다.
2. 이 시약은 "비세척" 용해 기법에 최적화되지 않았으므로 세척 단계를 포함한 적혈구 용해법을 사용하는 것이 바람직합니다.
3. 사용한 절차가 동봉된 기술 책자의 내용을 따르고 실험실 모범 사례와 호환되는 경우 정확하고 재현 가능한 결과를 얻을 수 있습니다.
4. 이 시약의 결합 항체는 최상의 특이/비특이 신호비를 제공하도록 보정됩니다. 그러므로 모든 검사에서 시약의 용적/검체 용적 비율을 준수하는 것이 중요합니다.
5. 과백혈구 증가증의 경우 혈액을 PBS에 희석하여 대략 백혈구 5 x 10^9개/L 값을 얻어야 합니다(22).
6. 심한 신부전 또는 혈색소병증 같은 특정 질병 상태에서 적혈구의 용해는 느리거나 불완전하거나 심지어는 불가능할 수도 있습니다. 이러한 경우 염색 전에 밀도 구배(예: Ficoll)를 사용하여 단핵구 세포를 분리하는 것이 좋습니다(23).
7. 항 인간 단일 클론 항체 요법으로 치료받은 환자에서, 특이 표적 항원의 검출이 치료 항체에 의한 일부 또는 전체 차단으로 인해 감소하거나 이루어지지 않을 수 있습니다.
8. Anti-TCR PAN γ/δ-FITC 결과는 증상, 병력, 추가 검사 데이터, 기타 적절한 정보 등 환자의 모든 임상 증상을 고려하여 해석해야 합니다.

예시와 참고 자료는 부록을 참조하십시오.

상표

본 문서에 포함된 Beckman Coulter, 스타일 로고, Beckman Coulter 제품 및 서비스 마크는 미국 및 기타 국가에서 Beckman Coulter, Inc.의 상표이거나 등록 상표입니다.

추가 정보

유럽 연합 및 이와 동일한 규정 체제(EU 규정 2017/746, 체외 진단용 의료 기기 관련)를 사용하는 국가에 거주하는 환자/사용자/타사의 경우, 이 장치의 사용 중이나 사용으로 인해 심각한 상황이 발생했다면 제조업체 및/또는 공인 담당자와 해당 국가의 담당 기관에 신고하십시오.

Summary of Safety and Performance(안전성 및 성능에 관한 개요)는 ec.europa.eu/tools/eudamed 주소의 EUDAMED 데이터베이스에서 확인할 수 있습니다.

개정 이력

개정판 AE:	출시일: 2019년 10월

개정	**발행 날짜**
AW	2022년 5월
Beckman Coulter 글로벌 라벨 지정 정책 및 IVD-R (EU) 2017/746 요건에 따라 업데이트했습니다.	
추가된 섹션	BSI 2797 번호, 대상 사용자, 임상적 관련성, 농도, 정밀도, 정확도, 공시료 최저 검출한계 및 검출한계, 추가 정보, 개정 이력.
추가된 정보	한계 섹션 참조
언어적 표현이나 글자 배치를 업데이트했습니다.	절차, 성능, 한계, 경고 및 주의 사항, 보관 및 안정성 섹션을 참조하십시오.
삭제된 섹션	임상 용도의 예, 시약, 실험실 내 재현성, 직선성
업데이트된 섹션	사용목적, GHS 유해물질 등급, 성능 저하 증거, 절차, 부록.

개정	**발행 날짜**
AX	3월 2023
업데이트된 섹션	카자흐어 추가
업데이트된 섹션	보관 및 안정성

개정된 버전	AY
개정 날짜	5월 2024
업데이트된 번역	**임상적 관련성:**
업데이트된 섹션	개정 이력

개정된 버전	AZ
개정 날짜	7월 2024
업데이트된 섹션	개정 이력

기호 목록

기호 용어집은 beckman.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다(문서 번호 B60062)

	Spesifikasyonlar
Özgüllük	TCR γ/δ
Klon	IMMU510
Hibridoma	X63 x balb/c
İmmünojen	Soluble γ/δ receptor
Immunoglobulin	IgG1
Türler	Fare
Arıtma	Afinite kromatografisi
Florokrom	Fluorescein isothiocyanate
Molar oran	FITC/Ig: 4 - 6,5
λ eksitasyonu	488 nm
Emisyon piki	525 nm
Tampon	PBS pH 7,2 artı 2 mg/mL BSA ve %0,1 NaN_3

IOTest
Konjuge Antikor
Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 test; 1 mL, 20 µL/test

***İn vitro* diagnostik kullanım içindir.**

KULLANIM AMACI

Bu florokrom konjuge antikor, akış sitometrisi kullanılarak insan biyolojik örneklerinde var olan TCR γ/δ antijenini eksprese eden hücre popülasyonlarının otomatik olmayan ve kalitatif tanımlamasına olanak tanır (aşağıdaki "Örnekler" bölümüne bakın).

İLKE

Bu test, spesifik monoklonal antikorların lökositler tarafından eksprese edilen antijenik belirleyicilere bağlanabilmesine dayanmaktadır.

Lökositlerin spesifik boyaması, örnek, IOTest reaktifi ile inkübe edilerek gerçekleştirilir. Sonra kırmızı hücreler parçalanarak giderilir ve bu işlemden etkilenmeyen lökositler, akış sitometrisi ile analiz edilir.

Akış sitometrisi ışık difüzyonunu ve hücre floresanını ölçer. Bu durum, ilgili popülasyonun, ışığın ortogonal difüzyonu (Yana Yayılma veya SS) ve dar açılı ışığın difüzyonu (İleri Yayılma veya FS) ile ilişkilendirilen histogram üzerinde tanımlanmış elektronik pencerede sınırlanmasını sağlar. Sitometredeki farklı parametrelerden ikisini birleştiren diğer histogramlar, kullanıcının seçtiği uygulamaya bağlı olarak kapılama aşamasında destek olarak kullanılabilir.

Sınırlı hücrelerin floresanı analiz edilerek pozitif boyalı olaylar boyasızlardan ayrılır. Sonuçlar pozitif olayların geçiş ile edinilmiş tüm olaylara yüzdesi olarak ifade edilir.

HEDEF KULLANICI

Bu ürün, laboratuvarda profesyonel kullanım için tasarlanmıştır.

KLİNİK GEÇERLİLİK

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC, akış sitometrisiyle TCR γ/δ antijenini eksprese eden hücreleri tanımlamak ve karakterize etmek amacıyla kullanılan bir Anti-TCR PAN γ/δ antikorudur. Bu ürün tek başına, herhangi bir tanı sonucu oluşturamaz ve tanı sonucu oluşturmak üzere tasarlanmamıştır.

Bu ürün, diğer belirteçlerle birlikte kullanıldığında aşağıdaki işlevlerden biri veya daha fazlası için kullanılabilir:

- Hematopoetik neoplazmı olduğundan şüphelenilen hematolojik olarak anormal hastalarda ayırıcı tanıya yardımcı olmak ve bilinen hematopoetik neoplazmı olan hastaları izlemek için.
- Bilinen otoimmün hastalığı veya bozukluğu olan hastaları izlemek için.

Şu referanslara bakın:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ÖRNEKLER

Antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüpler kullanılarak venöz kan alınmalıdır.

Örnekler oda sıcaklığında (18-25°C) tutulmalı ve çalkalanmamalıdır. Örnekler test örneği alınmadan önce hafifçe çalkalanarak homojenize edilmelidir.

Örnekler venipunktür sonrası 24 saat içinde analiz edilmelidir.

KONSANTRASYON

Lota özel Analiz Sertifikası için www.beckman.com adresine bakın.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. Reaktifi son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
2. Dondurmayın.
3. Kullanmadan önce oda sıcaklığına (18-25°C) getirin.
4. Işığa maruz kalmasını en aza indirin.
5. Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonundan kaçının yoksa yanlış sonuçlar oluşabilir.
6. Sodyum azid (NaN_3) içeren antikor solüsyonları dikkatle işlenmelidir. Yutmayın ve cilt, mukoza ve gözlerle temasından kaçının.

   Ayrıca, asit ortamında, sodyum azid potansiyel olarak tehlikeli hidrazoik asit oluşturabilir. Atılması gerekiyorsa, metal borularda sodyum azid birikmesini ve patlama riskini önlemek için, reaktifin drenaj sistemine dökülmeden önce çok miktarda suyla seyreltilmesi önerilmektedir.

7. Tüm kan örnekleri potansiyel olarak bulaşıcı olarak kabul edilmeli ve dikkatle ele alınmalıdır (özellikle koruyucu eldiven, önlük ve gözlük takılmalıdır).
8. Asla ağızla pipetleme yapmayın ve örneklerin cilt, mukoza veya gözle herhangi bir şekilde temas etmesini önleyin.
9. Taşıma için kullanılan kan tüpleri ve tek kullanımlık malzeme, yakma amacıyla özel kaplara atılmalıdır.
10. Reaktifler ve atıklar yerel gereksinimlere göre elimine edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır

SDS Güvenlik Bilgi Formuna beckmancoulter.com/techdocs adresinden ulaşılabilir

SAKLAMA VE STABİLİTE

Bu reaktifin, şişe açılmadan önce ve açıldıktan sonra 2 ile 8°C arasında tutulması ve ışıktan korunması gereklidir.

Stabilite çalışması için şişe raf ömrü: 1095 gün.

Açılan şişenin stabilitesi: reaktif 180 gün stabildir.

BOZULMA GÖSTERGESİ

Reaktiflerin fiziksel görünümündeki herhangi bir değişiklik bozulmayı gösterebilir ve reaktif kullanılmamalıdır.

Ek bilgi almak isterseniz veya aldığınız ürün hasarlı çıktıysa, 800-742-2345 numaralı telefondan (ABD veya Kanada) Beckman Coulter Müşteri Hizmetlerini arayın veya yerel Beckman Coulter Temsilcinizle temas kurun.

İÇİNDEKİLER

Sodyum azid koruyucu maddesi metal kanalizasyon hatlarında patlayıcı bileşimler oluşturabilir. NIOSH Bültenine bakın: Explosive Azide Hazard (Patlayıcı Azide Tehlikesi) (16.8.76).
Azid bileşenlerinin olası birikimini engellemek amacıyla, seyreltilmemiş reaktifi çöpe attıktan sonra atık borularını bol suyla yıkayın. Sodyum azid, uygun yerel düzenlemelere göre çöpe atılmalıdır.

GEREKLİ OLAN ANCAK KİT İLE BİRLİKTE VERİLMEYEN MALZEMELER:

- Numune alma tüpleri ve numune alma için gerekli malzemeler.
- 20, 100 ve 500 µL için tek kullanımlık uçlu otomatik pipetler.
- Plastik hemoliz tüpleri.
- Lizis sonrası yıkama aşamasıyla birlikte eritrosit lizis reaktifi. Örneğin: VersaLyse (Ref. A09777).
- Lökosit fiksasyon reaktifi. Örneğin: IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonu (Ref. A07800).
- İzotip kontrolüFITC: IOTest reaktifi (Ref. A07795).
- Tampon (PBS: 0,01 M sodyum fosfat; 0,145 M sodyum klorür; pH 7,2).
- Santrifüjleyin.
- Otomatik karıştırıcı (Vorteks tipi).
- Akış sitometresi.

VERSALYSE REAKTİFİ İLE PROSEDÜR

Analiz edilen her örnek için test tüpüne ek olarak, hücrelerin izotip kontrolü varlığında karıştırıldığı bir kontrol tüpü eklenebilir (Ref. A07795).

1. Her test tüpüne 20 µL spesifik IOTest konjuge antikor ve gerekirse, her kontrol tüpüne, 20 µL izotip kontrolü ekleyin.
2. Her bir tüpe 100 µL test örneği ekleyin. Tüpleri yavaşça vorteksleyin.
3. Oda sıcaklığında (18-25°C) ışıktan koruyarak 15-20 dakika boyunca inkübe edin.
4. Ardından kırmızı hücrelerin lizisini gerçekleştirin. VersaLyse (Ref. A09777) broşürüne bakın ve tercihen “birlikte kullanılan fiksasyon ile” adlı, doğaçlama hazırlanan 1 mL “Fiksasyon ve Lizis” karışımını eklemeyi içeren prosedürü izleyin. Hemen bir saniye boyunca vorteksleyin ve ışıktan koruyarak, 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
5. Oda sıcaklığında 5 dakika 150 x g hızda santrifüjleyin.
6. Aspirasyon ile üst fazı alın.
7. 3 mL PBS kullanarak hücre peletini yeniden süspanse edin.
8. Adım 5'i tekrarlayın.
9. Yüzer maddeyi aspirasyonla alın ve hücre topağını şunu kullanarak yeniden süspanse edin:

- Preparatlar 24 saatten az tutulacaksa, 0,5 mL veya 1 mL PBS'nin yanı sıra %0,1 formaldehit. (%0,1 formaldehit PBS, 1 mL PBS içinde 10X konsantre IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonundan (Ref. A07800) 12,5 µL seyreltilerek elde edilebilir).
- 0,5 mL veya 1 mL PBS formaldehidsiz, preparatlar 2 saat içinde analiz edilmelidir.

Not: Tüm durumlarda, preperatlar 2 ile 8°C arasında tutulmalı ve ışıktan korunmalıdır.

BEKLENEN DEĞERLER

Laboratuvarlarımızda, yukarıda açıklanan reaktif ve bir geçitleme reaktifi kullanılarak sağlıklı görünen 25 donörün tam kan örnekleri işlenmiştir. Bu reaktif ile ilgi konusu pozitif olayların sayısı için elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir:

Pozitif Hedef	Sayı	Ortalama (%)	SS	VK (%)
Lenfositler CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Bu değerlerin sadece temsili olması amaçlanmaktadır. Her laboratuvar normal donörlerden oluşan yerel popülasyonunda kendi beklenen değerlerini oluşturmalıdır.

PERFORMANS

Performans verileri, antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüplerde daha önce toplanan, 24 saatten eski olmayan kan örnekleri üzerinde yukarıdaki prosedür ve bir geçitleme reaktifi kullanılarak elde edilir. İmmün boyamayı takiben 2 saat içinde analiz gerçekleştirilir.

ÖZGÜLLÜK

TCR iki alt birimden oluşan bir molekül kompleksidir: hücre yüzeyinde birbirini dışlayan şekilde bulunan alfa-beta veya gama delta heterodimerinden oluşan bir tanıma ünitesi ve tanıma ünitesine antijen bağlandığı zaman T hücresini tetikleyen bir transdüksiyon ünitesi. Bu ünite bir CD3 kompleksidir ve alfa-beta ve gama delta heterodimerleri için ortaktır. Tanıma ünitesi yabancı antijenleri tanır ve bu tanıma fonksiyonu için gerekli olan çeşitlilik, TCR genlerinin somatik rekombinasyonu ile elde edilir (11, 12, 13).

Dört TCR gen lokusu (alfa, beta, gama ve delta) mevcuttur. Her biri, yaklaşık 90 amino asidi kodlayan çeşitli V (değişken) segmentleri, çok kısa D (farklılık) segmentleri (yalnızca α ve delta loci) ve kısa J (birleşme) segmentleri (yaklaşık 15 amino asit) ile bir ya da iki C (sabit) segmentinden oluşur (14, 15). T hücrelerinin çoğu alfa/beta TCR (T hücre reseptörü) proteini eksprese eder ve küçük bir T hücre popülasyonu genellikle bir çift negatif (CD4/CD8) fenotipe sahip olan gama/delta TCR eksprese eder.

Gama/delta T-hücreleri genellikle epidermal ve epitelyal yüzeylerin ilk savunma hattı olup dalaktaki lenfositlerin %10-12'sini temsil ederler (16). IMMU 510, poliklonal gama/delta T-hücre dizilerinde ve gama/delta T-hücre klonlarında akış immünofloresans çalışmalarıyla belirlenen hangi değişken genleri veya birleştirme bölgelerini eksprese ettiklerinden bağımsız olarak gama/delta T hücrelerinin tümünü tanır (17, 18, 19, 20, 21).

KESİNLİK

Yüzde pozitif değerler, Tam Kan kullanılarak belirlenmiştir. Her örnek, 2 lot Anti-TCR PAN γ/δ-FITC Monoklonal Antikor Reaktifleri kullanılarak 2 cihazda 1 gün için günde iki kez olmak üzere 4 kez çalışılmıştır. Ölçümler (% pozitif) Navios akış sitometresinde yapılmıştır. Analiz, CLSI yöntemi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kantitatif Ölçüm Yöntemlerinin Kesinlik Performansına İlişkin Değerlendirme) temelinde yürütülmüştür.

Kabul kriterlerimiz, her popülasyon için ölçülen pozitif olay sayısına bağlıdır:

- Pozitif olay <1.500, VK <%15 ise
- Pozitif olay >1.500, VK <%10 ise

Lenfositler CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Pozitif olay sayısı (Ortalama)=961							
	Kullanıcılar arası	Sitometreler arası	Lot içi	Lotlar arası	Çalışmalar arası	Çalışma içi	Total
VK (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
SONUÇLAR	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOĞRULUK

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC doğruluğu, bir Navios akış sitometresinde çalışılan tam kan örnekleri grubunda esas alınan bir referans reaktifle sonuçlar karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Test ve referans reaktif arasındaki sapma, test sonuçları arasındaki fark temelinde belirlenmiştir. Sapma, izin verilen hata aralığı dahilindeyse veya p değeri anlamlı fark göstermediğinde (>0,05), iki reaktif için test sonuçlarının eşdeğer olduğu kabul edilir.

Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Donör sayısı=25				
Pozitif Hedef	Ortalama Δ	Δ % Hücre kriteri	p değeri	SONUÇLAR
Lenfositler CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

KÖR LİMİTİ VE TESPİT LİMİTİ

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klinik Laboratuvar Ölçüm Prosedürleri için Tespit Kabiliyetinin Değerlendirilmesi) ile uyumlu bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Tespit Limiti (LOD), tutarlı olarak tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonudur. Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Positive Target	Kör Limiti (hücre/µL)	Tespit Limiti (hücre/µL)
Lenfositler CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

SINIRLAMALAR

1. Akış sitometrisi, sitometre mükemmel şekilde hizalanmadıysa, floresan sızıntıları doğru şekilde telafi edilmediyse ve bölgeler dikkatli bir şekilde konumlandırılmadıysa yanlış sonuçlar üretebilir.
2. Bu reaktif "yıkamasız" parçalama teknikleri için optimize edilmediğinden, yıkama adımı içeren bir RBC parçalama tekniği kullanılması tercih edilir.
3. Kullanılan prosedürler teknik bilgi broşürüne uygun olduğu ve iyi laboratuvar uygulamalarına uygun olduğu sürece doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilecektir.
4. Bu reaktifin konjugat antikoru, en iyi spesifik sinyal/spesifik olmayan sinyal oranını sunacak şekilde kalibre edilir. Bu nedenle her testte reaktif hacmi/örnek hacmi oranına bağlı kalmak önemlidir.
5. Hiperlökositoz durumunda yaklaşık 5 x 10^9 lökosit/L (22) değerini elde etmek için kanı PBS içinde seyreltin.

6. Şiddetli böbrek yetmezliği veya hemoglobinopatiler gibi bazı hastalık durumlarında, eritrosit lizisi yavaş, eksik ve hatta imkansız olabilir. Bu durumda mononükleotidli hücrelerin boyama öncesinde yoğunluk gradyanı (örneğin Ficoll) kullanılarak izole edilmesi önerilmektedir (23).
7. Anti-insan monoklonal antikor terapisi ile tedavi edilen hastalarda, terapötik antikorun kısmi veya tam engellemesi nedeniyle spesifik hedeflenen antijenlerin tespiti azalabilir veya yapılamayabilir.
8. Anti-TCR PAN γ/δ-FITC sonuçları; semptomlar, klinik öykü, ilave testlerden elde edilen veriler ve diğer uygun bilgiler dahil olmak üzere hastanın genel klinik tablosu dikkate alınarak yorumlanmalıdır.

Örnekler ve referanslar için Ek'e bakın.

TİCARİ MARKALAR

Bu belgede belirtilen Beckman Coulter, stilize logo ve Beckman Coulter ürün ve hizmet markaları, Beckman Coulter, Inc. firmasının ABD'de ve diğer ülkelerdeki ticari veya tescilli ticari markalarıdır.

EK BİLGİLER

Avrupa Birliği'nde ve aynı düzenleme rejiminin olduğu ülkelerdeki (In Vitro Diagnostik Tıbbi Cihazlar hakkında 2017/746/EU sayılı Yönetmelik) hasta/kullanıcı/üçüncü taraflar için; bu cihazın kullanımı sırasında veya cihazın kullanımının bir sonucu olarak ciddi bir olay meydana gelirse lütfen olayı üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makamınıza bildirin.

Summary of Safety and Performance (Güvenlik ve Performans Özeti) EUDAMED veritabanında mevcuttur: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVİZYON GEÇMİŞİ

REVİZYON AE:	Yayınlanma tarihi: Ekim 2019

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AW	Mayıs 2022
Beckman Coulter Global Etiketleme Politikasıyla uyumluluk sağlamak için ve IVD-R (AB)2017/746 gerekliliklerine göre güncellemeler yapıldı:	
Bölümler eklendi	BSI 2797 Numarası, Hedef Kullanıcı, Klinik Anlam, Konsantrasyon, Kesinlik, Doğruluk, Kör limiti ve tespit limiti, Ek Bilgiler, Revizyon Geçmişi.
Bilgi eklendi	Sınırlamalar bölümlerine bakın
İfade veya yazım güncellemeleri	Prosedür, Performans, Sınırlamalar, Uyarılar ve Önlemler, Saklama ve Stabilite bölümlerine bakın.
Bölümler kaldırıldı	Klinik uygulama örneği, Reaktifler, Laboratuvar içi yeniden üretilebilirlik, Linearite
Güncellenmiş bölümler	Kullanım Amacı, GHS Tehlike Sınıflandırması, Bozulma Göstergesi, Prosedür, Ek.

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AX	Mart 2023
Güncellenmiş bölümler	Kazakça ekle
Güncellenmiş bölümler	Saklama ve stabilite

Düzeltilmiş Sürüm	AY
Revizyon Tarihi	Mayıs 2024
Güncellenmiş Çeviriler	**Klinik önemi:**
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Düzeltilmiş Sürüm	AZ
Revizyon Tarihi	Temmuz 2024
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Sembol Anahtarı

Semboller Sözlüğü beckman.com/techdocs adresinde bulunabilir (belge numarası B60062)

	Спецификации
Специфичность	TCR γ/δ
Клон	IMMU510
Гибридома	X63 x balb/c
Иммуноген	Soluble γ/δ receptor
Иммуноглобулин	IgG1
Вид	Мышь
Очистка	Аффинная хроматография
Флуорохром	Fluorescein isothiocyanate
Молярное отношение	FITC / Ig: 4 - 6,5
Возбуждение λ	488 nm
Пик эмиссии	525 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 мг/мл БСА и 0,1% NaN_3

Конъюгированное антитело IOTest Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 тестов, 1 мл, 20 мкл/тест

Для диагностики *in vitro*.

НАЗНАЧЕНИЕ

Это конъюгированное с флуорохромом антитело позволяет с использованием проточной цитометрии выполнить качественное и не автоматизированное определение клеточных популяций, экспрессирующих антиген TCR γ/δ, который присутствует в биологических пробах человека (см. раздел «Пробы» ниже).

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Данный тест основан на способности специфических моноклональных антител связывать антигенные детерминанты, экспрессированные лейкоцитами.

Специфическое окрашивание лейкоцитов выполняется путем инкубирования пробы с реагентом IOTest. Затем методом лизиса удаляются эритроциты, и выполняется анализ лейкоцитов, не затронутых этим процессом, методом проточной цитометрии.

Проточный цитометр измеряет светорассеяние и флуоресценцию клеток. Это дает возможность разграничения интересующей популяции в электронном окне, определенном на гистограмме, что коррелирует с ортогональным светорассеянием (боковое рассеяние, или SS) и рассеянием света под острым углом (прямое рассеяние, или FS). Другие гистограммы, сочетающие два из других параметров, доступных на цитометре, могут использоваться как вспомогательные на стадии селекции, в зависимости от приложения, выбранного пользователем.

Флуоресценцию разграниченных клеток анализируют с целью различения положительно-окрашенных и неокрашенных событий. Результаты выражаются в виде процентного отношения положительных событий ко всем событиям, полученным в ходе селекции.

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ

Изделие предназначено для использования в лаборатории персоналом с профессиональной подготовкой.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC представляет собой антитело к Anti-TCR PAN γ/δ, используемое для идентификации и определения характеристик клеток, экспрессирующих антиген TCR γ/δ, методом проточной цитометрии. Этот продукт отдельно от других исследований не может приводить к принятию каких-либо диагностических решений и не предназначен для этого.

При использовании в сочетании с другими маркерами этот продукт может использоваться в следующих целях.

- Для использования при дифференциальной диагностике пациентов с отклонениями гематологических результатов (при подозрении на наличие гематопоэтических новообразований), а также для мониторинга пациентов с известным гематопоэтическим новообразованием.
- Для мониторинга пациентов с известным аутоиммунным заболеванием или нарушением.

См. следующие ссылки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ПРОБЫ

При взятии образца венозной крови необходимо использовать стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта.

Пробы следует хранить при комнатной температуре (18–25°C), не встряхивая. Пробы следует гомогенизировать, осторожно перемешав, до отбора тестовой пробы.

Пробы требуется проанализировать в течение 24 ч после венипункции.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

См. специфический для партии сертификат анализа на веб-сайте www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Не используйте реагенты после истечения срока годности.
2. Не замораживать.
3. Перед использованием довести до комнатной температуры (18–25°C).
4. Минимизируют воздействие света.
5. Во избежание получения ошибочных результатов не допускайте микробной контаминации реагентов.

6. Следует с осторожностью обращаться с растворами антител, содержащими натрия азид (NaN_3). Не принимайте внутрь и избегайте любого контакта с кожей, слизистыми оболочками и глазами.

   Кроме того, в кислой среде натрия азид может образовывать потенциально опасную азотистоводородную кислоту. Если требуется утилизация, рекомендуется разводить реагент в большом объеме воды, прежде чем выливать его в канализацию, чтобы избежать накопления натрия азида в металлических трубах и исключить возможность взрыва.

7. Все пробы крови должны считаться потенциально инфицированными, при обращении с ними необходимо соблюдать осторожность (в частности, использовать защитные перчатки, одежду и очки).
8. Никогда не пипетируйте ртом и избегайте любого контакта проб с кожей, слизистыми и глазами.
9. При утилизации пробирок и одноразовых материалов следует использовать специальные предназначенные для сжигания контейнеры.
10. При утилизации реагентов и отходов необходимо следовать требованиям местного законодательства.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Не классифицируется как опасное вещество

SDS Паспорт безопасности доступен на сайте beckmancoulter.com/techdocs

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Этот реагент требуется хранить при температуре от 2 до 8°C, защищая от света, до и после вскрытия флакона.

Срок хранения закрытого флакона согласно исследованию стабильности: 1095 день.

Стабильность в открытом флаконе: реагент сохраняет стабильность в течение 180 дн.

ПРИЗНАКИ ПОРЧИ

Любые изменения внешнего вида реагентов могут говорить о порче, использовать такой реагент не следует.

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь со своим местным представителем Beckman Coulter.

СОДЕРЖАНИЕ

Консервант с содержанием азида натрия может образовывать взрывоопасные соединения в металлической водопроводной арматуре. См. бюллетень Национального института по охране труда и промышленной гигиене (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Взрывоопасные азиды) (16.8.76). Чтобы избежать накопления азидных соединений, промывайте сливные трубы водой после сброса неразбавленного реагента. Утилизацию азида натрия следует проводить в соответствии с соответствующими местными нормами.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, КОТОРЫЕ НЕ ВХОДЯТ В НАБОР:

- Необходимые для взятия проб пробирки и материалы.
- Автоматические пипетки с одноразовыми наконечниками для 20, 100 и 500 мкл.
- Пластиковые пробирки для гемолиза.
- Реагент для лизиса эритроцитов с этапом промывки после лизиса. Например: VersaLyse (ссылочный номер A09777).
- Реагент для фиксации лейкоцитов. Например: IOTest 3 Fixative Solution (фиксирующий раствор) (ссылочный номер A07800).
- Изотипический контроль -FITC: Реагент IOTest (ссылочный номер A07795).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрия фосфата; 0,145 M натрия хлорида; pH 7,2).
- Центрифугируйте.
- Автоматическая мешалка (вортексная)
- Проточный цитометр.

ПРОЦЕДУРА С РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для каждой анализируемой пробы в дополнение к тестовой пробирке можно добавить одну контрольную пробирку, в которой клетки смешаны в присутствии изотипического контроля (ссылочный номер A07795).

1. В каждую тестовую пробирку добавьте по 20 мкл специфического конъюгированного антитела IOTest, а в каждую контрольную пробирку — по 20 мкл изотипического контроля, если необходимо.
2. Добавьте 100 мкл тестовой пробы в каждую пробирку. Аккуратно перемешайте пробирки на вортексе.
3. Инкубируют при комнатной температуре (18–25°C) в течение 15-20 мин, в защищенном от света месте.
4. Затем выполняют лизис эритроцитов. См. вкладыш VersaLyse (ссылочный номер A09777) и, предпочтительно, следуйте процедуре с названием «с сопутствующей фиксацией», которая заключается в добавлении 1 мл смеси «Фиксирующей и лизирующей», приготовленной для немедленного применения. Немедленно перемешивают на вортексе в течение одной секунды и инкубируют в течение 10 минут при комнатной температуре, защищая от света.
5. Центрифугируют в течение 5 минут при 150 g при комнатной температуре.
6. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации.
7. Ресуспендируют осадок клеток, используя 3 мл PBS.
8. Повторите шаг 5.
9. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации и ресуспендируют осадок клеток, используя:

- 0,5 мл или 1 мл PBS плюс 0,1% формальдегида, если препараты следует хранить менее 24 ч. (PBS с 0,1% формальдегида можно получить путем разведения 12,5 мкл фиксирующего раствора IOTest 3 (ссылочный номер A07800) в 10-кратной концентрации в 1 мл PBS).

- 0,5 мл или 1 мл PBS без формальдегида, если препараты следует проанализировать в течение 2 ч.

Примечание. В обязательном порядке защищайте подготавливаемые материалы от солнечного света, храните их при температуре от 2 до 8°C.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В наших лабораториях пробы цельной крови от клинически здоровых доноров (количество доноров: 25) были обработаны с использованием описанного выше реагента и синхронизирующего реагента. Результаты, полученные для количества положительных интересующих явлений с этим реагентом, приводятся в таблице ниже:

Положительная мишень	Число	Среднее (%)	SD	CV (%)
Лимфоциты CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Эти значения используются только в качестве примера. В каждой лаборатории должны быть установлены собственные диапазоны ожидаемых значений с учетом проб нормальных доноров из числа местного населения.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Рабочие характеристики получены с использованием описанной выше процедуры и синхронизирующего реагента на пробах, собранных не ранее чем за 24 часа до анализа в стерильные пробирки с солью ЭДТА как антикоагулянтом. Анализ проводится в течение 2 часов после иммуноокрашивания.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

TCR – это молекулярный комплекс, который содержит две единицы: распознающую, состоящую из альфа-бета или из гамма-дельта гетеродимеров, присутствующих на поверхности клеток взаимно исключающим образом, и трансдуцирующую единицу, комплекс CD3, общий для альфа-бета и гамма-дельта гетеродимеров, инициирующий Т-клетки, когда распознающая единица занимается антигеном. Распознающая единица распознает инородные антигены, и разнообразие, необходимое для этой функции распознавания, создается соматической рекомбинацией генов TCR (11, 12, 13).

Существуют четыре локуса гена TCR (альфа, бета, гамма и дельта). Каждый из них состоит из нескольких сегментов V (вариабельных), кодирующих приблизительно 90 аминокислот, очень коротких сегментов D (отвечающих за разнообразие) (только локусы α и дельта) и коротких сегментов J (связывающих) (около 15 аминокислот) и одного или двух сегментов C (постоянных) (14, 15). Большинство Т-клеток экспрессируют белок альфа/бета TCR (рецептор Т-клетки) и небольшая популяция Т-клеток экспрессирует гамма/дельта TCR, который обычно имеет дважды отрицательный (CD4/CD8) фенотип.

Гамма/дельта Т-клетки обычно являются первой линией защиты на эпидермальной и эпителиальной поверхностях и представляют 10–12% лимфоцитов в селезенке (16). IMMU 510 распознают все гамма/дельта Т-клетки вне зависимости от экспрессирующих вариабельных генов или связывающих регионов, что было показано иммунофлуоресцентными исследованиями с помощью проточной цитофлуориметрии как на поликлональных гамма/дельта Т-клеточных линиях, так и на гамма/дельта Т-клонах (17, 18, 19, 20, 21).

ПРЕЦИЗИОННОСТЬ

Процент положительных результатов был установлен с использованием цельной крови. Каждую пробу измеряли 4 раза, два раза в день в течение 1 дня на 2 приборах, с использованием 2 партий реагентов моноклональных антител Anti-TCR PAN γ/δ-FITC. Измерения (% положительных) выполняли на проточном цитометре Navios. Анализ проводился на основе метода CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оценка точности количественных методик измерения).

Наши критерии принятия зависят от количества положительных событий, измеренных для каждой популяции:

- Если положительных событий <1 500, CV <15%
- Если положительных событий >1 500, CV <10%

Лимфоциты CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Количество положительных событий (среднее) = 961							
	Между операторами	Между цитометрами	Внутри партии	Между партиями	Между анализами	Внутри анализа	Итого
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
РЕЗУЛЬТАТЫ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТЬ

Точность Anti-TCR PAN γ/δ-FITC оценивалась путем сравнения результатов с результатами по референсному реагенту как предикатом. Анализ выполняли на проточном цитометре Navios с использованием набора проб цельной крови. Систематическая ошибка оценки между тестовым и референсным реагентами была определена на основании различий между результатами теста. Если систематическая ошибка оценки находится в пределах допустимого диапазона ошибки или если p-значение указывает на отсутствие значительного различия (>0,05), тогда результаты теста для двух реагентов рассматриваются как эквивалентные.

Полученные результаты обобщены в таблице далее.

Количество доноров = 25				
Положительная мишень	Среднее значение Δ	Критерии Δ % клеток	p-значение	РЕЗУЛЬТАТЫ
Лимфоциты CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

ПРЕДЕЛ БЛАНКА И ПРЕДЕЛ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Исследование было проведено в соответствии с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Оценка способности обнаружения для методик измерения клинической лаборатории). Предел чувствительности (LOD) — наименьшая концентрация аналита, которая может последовательно обнаруживаться. Полученные результаты обобщены в таблице ниже.

Positive Target	Предел бланка (клеток/мкл)	Предел чувствительности (клеток/мкл)
Лимфоциты CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. При проведении проточной цитометрии возможно получение ложных результатов, если цитометр не был идеально позиционирован, не была проведена правильная компенсация утечек флуоресцентного агента или точное позиционирование областей.
2. Предпочтительно использовать технику лизиса RBC с шагом промывки, так как этот реагент не был оптимизирован для техник лизиса «без промывки».
3. Для получения точных и повторяемых результатов необходимо выполнять процедуры в соответствии с инструкцией-вкладышем и требованиями надлежащей лабораторной практики.
4. Выполняется калибровка конъюгированного антитела этого реагента с целью получения наилучшего для данной конкретной задачи соотношения специфичного и неспецифичного сигнала. Поэтому при каждом тесте важно придерживаться правильного соотношения объема реагента и пробы.
5. При гиперлейкоцитозе, разбавляют кровь PBS до приблизительно 5 x 10^9 лейкоцитов/л (22).
6. При определенных заболеваниях, таких как острая почечная недостаточность или гемоглобинопатии, лизис эритроцитов может протекать медленно, быть неполным или даже невозможным. В таком случае рекомендуется изолировать одноядерные клетки, используя градиент плотности (например, фиколл), перед окрашиванием (23).
7. У пациентов, получавших лечение античеловеческими моноклональными антителами, обнаружение специфических целевых антител может быть снижено или может отсутствовать вследствие частичной или полной блокировки терапевтическими антителами.
8. Результаты Anti-TCR PAN γ/δ-FITC должны интерпретироваться с учетом общих клинических проявлений пациента, включая симптомы, историю болезни, данные дополнительных тестирований и прочую информацию.

Примеры и ссылки см. в Приложении.

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

Beckman Coulter, стилизованный логотип и упоминаемые здесь знаки продукции и услуг Beckman Coulter являются товарными знаками или зарегистрированными товарными знаками корпорации Beckman Coulter, Inc. в Соединенных Штатах и других странах.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для пациента / пользователя / третьей стороны в Европейском Союзе и в странах с идентичным регуляторным режимом (Регламент 2017/746/EC в отношении медицинских изделий для in vitro диагностики); если, во время использования этого изделия или в результате его использования произошел серьезный инцидент, сообщите о нем производителю и/или его уполномоченному представителю и своему национальному органу регулирования.

Summary of Safety and Performance (Сводные данные по безопасности и функциональным характеристикам) доступны в Европейской базе данных изделий медицинского назначения (EUDAMED): ec.europa.eu/tools/eudamed.

СВЕДЕНИЯ О ВЕРСИЯХ

ВЕРСИЯ AE:	Дата выпуска: Октябрь 2019 г.

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AW	Май 2022 г.
Обновления с целью приведения в соответствие политике международной маркировки Beckman Coulter и для выполнения требований IVD-R (EC)2017/746:	
Добавлены разделы	Номер BSI 2797, «Предполагаемый пользователь», «Клиническая значимость», «Концентрация», «Прецизионность», «Точность», «Предел бланка и предел чувствительности», «Дополнительная информация», «Сведения о версиях».
Добавлена информация	См. раздел «Ограничения»
Обновлены формулировки или исправлены опечатки	См. разделы «Процедура», «Эксплуатационные характеристики», «Ограничения», «Предупреждения и меры предосторожности», «Хранение и стабильность».
Удалены разделы	«Примеры клинических областей применения», «Реагенты», «Внутрилабораторная сходимость», «Линейность»
Обновленные разделы	«Назначение», «Классификация опасностей по системе СГС», «Признаки порчи», «Процедура», «Приложение».

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AX	Март 2023
Обновленные разделы	Добавить казахский язык
Обновленные разделы	Хранение и стабильность

Пересмотренная версия	AY
Дата пересмотра	Май 2024
Обновленные переводы	**Клиническая значимость:**
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Пересмотренная версия	AZ
Дата пересмотра	Июль 2024
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Определения символов

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (номер документа B60062)

	Spetsifikatsioonid
Spetsiifilisus	TCR γ/δ
Kloon	IMMU510
Hübridoom	X63 x balb/c
Immunogeen	Soluble γ/δ receptor
Immunoglobuliin	IgG1
Liigid	Hiir
Puhastamine	Afiinsuskromotograafia
Fluorokroom	Fluorescein isothiocyanate
Molaarsuhe	FITC/Ig: 4 - 6,5
λ ergastumine	488 nm
Emission Peak	525 nm
Puhver	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/ml BSA ja 0,1% NaN_3

IOTest
konjugeeritud antikeha
Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 analüüsi; 1 ml, 20 µl / analüüs

***In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks.**

KASUTUSOTSTARVE

See fluorokroomiga konjugeeritud antikeha võimaldab voolutsütomeetriaga kvalitatiivselt ja mitteautomatiseeritult tuvastada rakupopulatsioone, mis esitavad inimese bioloogilistes proovides antigeeni TCR γ/δ (vt allpool osa „Proovid“).

PÕHIMÕTE

Analüüs põhineb spetsiifiliste monoklonaalsete antikehade võimel seonduda leukotsüütide sünteesitavate antigeensete determinantidega.

Leukotsüütide eriomaseks värvimiseks tuleb proovi koos tootesarja IOTest reagendiga inkubeerida. Seejärel eemaldatakse erütrotsüüdid lüüsimisega ja pärast seda analüüsitakse voolutsütomeetriaga leukotsüüte, mida see protsess ei mõjuta.

Läbivoolutsütomeeter mõõdab valguse hajumist ja rakkude fluorestsentsi. See muudab võimalikuks huvialuse populatsiooni piiristamise histogrammil määratud elektroonilisel alal. Histogramm korreleerib valguse ortogonaalset hajumist (külghajumine ehk KH) ja kitsasnurga valguse hajumist (edasihajumine ehk EH). Teisi histogramme, kus ühendatakse tsütomeetrias saadaolevat kahte parameetrit, võib kasutada lüüsimisetapis olenevalt kasutaja valitud rakendusest.

Piiritletud rakkude fluorestsentsi analüüsitakse, et eristada positiivselt värvitud sündmusi värvimata sündmustest. Tulemusi kajastatakse positiivsete sündmuste protsentuaalse osakaaluna kõigi väravdamisega hõivatud sündmuste suhtes.

SIHTKASUTAJA

See toode on ette nähtud laboratoorseks kasutamiseks.

KLIINILINE TÄHTSUS

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC on Anti-TCR PAN γ/δ antikeha, mida kasutatakse antigeeni TCR γ/δ ekspresseerivate rakkude tuvastamiseks ja kirjeldamiseks voolutsütomeetriaga. See toode üksi ei suuda ega ole mõeldud mis tahes diagnostiliste järelduste tegemiseks.

Koos teiste markeritega kasutades saab seda toodet kasutada ühes või mitmes järgmistest funktsioonidest:

- Lihtsustamaks diferentsiaaldiagnoosi panemist hematoloogiliste ebanormaalsustega patsientidele, kellel kahtlustatakse vereloome neoplasmi esinemist, ja teadaoleva vereloome neoplasmiga patsientide monitoorimiseks.
- Teadaoleva autoimmuunhaiguse või häirega patsientide jälgimiseks.

Vt järgmisi viiteid.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROOVID

Veeniverd tuleb võtta steriilsete katsutitega, mis sisaldavad antikoagulandina etüleendiamiintetraatsetaadi (EDTA) soola.

Proove tuleb hoida toatemperatuuril (18–25 °C) ja neid ei tohi raputada. Proove tuleb ühtlustada seda enne näidisproovi võtmist ettevaatlikult loksutades.

Proove tuleb analüüsida 24 tunni jooksul alates veenipunktsioonist.

KONTSENTRATSIOON

Vt partiispetsiifilist analüüsi sertifikaati veebilehelt www.beckman.com.

HOIATUS JA ETTEVAATUSABINÕUD

1. Ärge kasutage reagenti pärast aegumiskuupäeva.
2. Ärge külmutage.
3. Enne kasutamist laske tasakaalustuda toatemperatuuriga (18–25 °C).
4. Minimeerige kokkupuudet valgusega.
5. Vältige reagentide mikroobidega saastumist, vastasel juhul võite saada valed tulemused.
6. Antikehade lahuseid, mis sisaldavad naatriumasiidi (NaN_3), tuleb käsitseda ettevaatlikult. See pole mõeldud seespidiseks kasutamiseks. Vältige kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.

Lisaks võib naatriumasiid moodustada happelises keskkonnas potentsiaalselt ohtliku hüdrasoonhappe. Kui see tuleb kõrvaldada, on soovitatav lahjendada reagenti suure hulga veega, enne kui see äravoolusüsteemi valada, et vältida plahvatusohtu ja naatriumasiidi kogunemist metalltorudesse.

7. Kõiki vereproove tuleb pidada potentsiaalselt nakkusohtlikuks ja käsitseda ettevaatusega (kasutage kaitsekindaid, kitlit ning kaitseprille).
8. Ärge kunagi pipettige suuga ja vältige proovide kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.
9. Verekatsutid ja käitlemiseks kasutatav ühekordselt kasutatav materjal tuleb hävitada põletamiseks ettenähtud spetsiaalsetes konteinerites.
10. Reagendid ja jäätmed tuleb kõrvaldada vastavalt kohalikele nõuetele.

GHS-I OHUKLASSIFIKATSIOON

Ei ole klassifitseeritud ohtlikuks

SDS Ohutuskaart on saadaval saidil beckmancoulter.com/techdocs

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Seda reagenti tuleb enne ja pärast viaali avamist hoida temperatuuril 2–8 °C ning valguse eest kaitstult.

Suletud viaali säilivusaeg stabiilsusuuringu põhjal: 1095 päeva.

Avatud viaali stabiilsus: reagent on stabiilne 180 päeva.

RIKNEMISE TUNNUSED

Igasugune muutus reagentide füüsilises välimuses võib viidata reagendi riknemisele ja seda ei tohi kasutada.

Lisateabe hankimiseks või kahjustatud toote saamisel helistage Beckman Coulteri klienditeenindusse numbril 800-742-2345 (USA või Kanada) või võtke ühendust kohaliku Beckman Coulteri esindajaga.

SISU

Naatriumasiidist konservant võib moodustada metallist kanalisatsioonitorudes plahvatusohtlikke ühendeid. Vt asutuse NIOSH teadaannet. Explosive Azide Hazard (Plahvatusohtliku asiidi oht) (16.8.76).
Vältimaks võimalikku asiidiühendite akumuleerimist, loputage äravoolutorusid pärast lahjendamata reagendi kõrvaldamist. Naatriumasiidi kõrvaldamine peab olema kooskõlas asjakohaste kohalike eeskirjadega.

VAJALIKUD, KUID KOMPLEKTI MITTEKUULUVAD MATERJALID

- Proovide kogumiseks vajalikud proovivõtukatsutid ja vahendid.
- Automaatpipetid ühekordselt kasutatavate otsakutega, mis võimaldavad teisaldada 20, 100 ja 500 µl.
- Plastist hemolüüsi katsutid.
- Erütrotsüütide lüüsireagent koos pesemisetapiga pärast lüüsi. Analüüsinäide VersaLyse (viitenr A09777).
- Leukotsüütide fikseerimisreagent. Näide Tootesarja IOTest 3 fikseerimisreagent (viitenr A07800).
- Isotüübi kontrollFITC: Tootesarja IOTest reagent (viitenr A07795).
- Puhver (PBS: 0,01 M naatriumfosfaat; 0,145 M naatriumkloriid; pH 7,2).
- Tsentrifuugige.
- Automaatsegisti (vibratsioonsegamise tüüpi).
- Voolutsütomeeter.

PROTSEDUUR REAGENDIGA VERSALYSE

Iga analüüsitud proovi kohta võib lisaks analüüsikatsutile lisada ühe kontrollkatsuti, milles rakud segatakse isotüübi kontrolliga (viitenr A07795).

1. Lisage igasse analüüsikatsutisse 20 µl spetsiifilist tootesarja IOTest konjugeeritud antikeha ja vajaduse korral igasse kontrollkatsutisse 20 µl isotüüpset kontrolli.
2. Lisage igasse katsutisse 100 µl analüüsiproovi. Vibratsioonsegage ettevaatlikult katsuteid.
3. Inkubeerige valguse eest kaitstult 15–20 minutit toatemperatuuril (18–25 °C).
4. Seejärel lüüsige erütrotsüüdid. Lugege VersaLyse'i (viitenr A09777) teabelehte ja järgige eelistatavalt protseduuri nimega „samaaegse fikseerimisega", mis põhineb ekstemporaalselt ettevalmistatud 1 ml segu „Fix-and-Lyse" lisamisel. Vibratsioonsegage kohe üks sekund ja inkubeerige 10 minutit toatemperatuuril valguse eest kaitstult.
5. Tsentrifuugige 5 minutit toatemperatuuril kasutades sätet 150 x g.
6. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus.
7. Taassuspendeerige rakusade PBS-is, mille kogus on 3 ml.
8. Korrake etappi 5.
9. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus ja taassuspendeerige rakugraanuleid vahendiga:

- 0,5 ml või 1 ml PBS-i ja 0,1% formaldehüüdi, kui preparaate tuleb hoida vähem kui 24 tundi. (0,1% formaldehüüdi sisaldava PBS-i saamiseks võite lahjendada 12,5 µl tootesarja IOTest 3 10x kontsentratsioonil fikseerimislahust (viitenr A07800) PBS-is, mille kogus on) 1 ml.
- 0,5 ml või 1 ml formaldehüüdita PBS-iga, kui valmissegusid analüüsitakse 2 tunni jooksul.

Märkus Preparaate tuleb alati hoida temperatuuril 2–8 °C ja valguse eest kaitstult.

OODATUD VÄÄRTUSED

Ettevõttesisestes laborites töödeldi ülalkirjeldatud reagendiga ja stroobimisreagendiga täisvere proove, mis koguti 25 tõenäoliselt tervelt doonoritelt. Alljärgnev tabel annab ülevaate selle reagendiga saadud positiivsete huvipakkuvate sündmuste loendustulemustest:

Positiivne siht	Arv	Keskmine (%)	SH	CV (%)
Lümfotsüüdid CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Need väärtused on mõeldud üksnes näitlikena. Iga laboratoorium peaks kindlaks määrama oma oodatavad vahemikud kohaliku tavapäraste doonorite populatsiooni alusel.

TOIMIMINE

Toimimisandmed saadakse kasutades ülalkirjeldatud protseduuri ja stroobimisreagenti vähem kui 24 tundi vanadel antikoagulandi EDTA naatriumsoolaga steriilsetesse katsutitesse kogutud vereproovidel. Analüüs tehakse 2 tunni jooksul pärast immuunovärvimist.

SPETSIIFILISUS

TCR on molekulaarne kompleks, mis koosneb kahest üksusest. Tuvastamisüksus koosneb kas alfa-beeta või gamma-delta heterodimeerist, mis on olemas raku pinnal vastastikku välistaval viisil. Transduktsiooniüksus CD3 kompleks on levinud alfa-beeta ja gamma-delta heterodimeeride puhul ja vallandab T-raku, kui antigeen on tuvastamisüksuse hõivanud. Tuvastamisüksus tuvastab võõrantigeenid. Tuvastamisfunktsiooniks vajaliku mitmekesisuse loob TCR-geenide somaatiline rekombinatsioon (11, 12, 13).

On olemas neli TCR-geeni lookust (alfa, beeta, gamma ja delta). Neist igaüks koosneb mitmest V-segmendist (muutuja), umbes 90 aminohappe kodeeringust, väga lühikestest D-segmentidest (mitmekesisus) (ainult α ja delta lookused), lühikestest J-segmentidest (ühendus) (umbes 15 aminohapet) ning ühest või kahest C-segmendist (konstant) (14, 15). Enamik T-rakke avaldavad alfa/beeta TCR-i (T-raku retseptor) valku ja väike T-rakkude populatsioon avaldab gamma/delta TCR-i, millel on tavaliselt topeltnegatiivne (CD4/CD8) fenotüüp.

Gamma/delta T-rakud on tavaliselt esmaseks kaitseliiniks epidermaal- ja epiteeliapindadel ning need esindavad 10–12% põrna lümfotsüütidest (16). IMMU 510 tuvastab kõiki gamma/delta T-rakke olenemata muutuja geenidest või ühinemispiirkondadest, mida nad ekspresseerivad voolu immunofluorestsentsuuringute kohaselt nii polüklonaalsetel gamma/delta T-raku liinidel kui ka gamma/delta T-raku kloonidel (17, 18, 19, 20, 21).

TÄPSUS

Positiivsete väärtuste protsent määrati täisverest. Igat proovi testiti neli korda, kaks korda päevas ühe päeva jooksul kahel analüsaatoril kahe monoklonaalsete antikehade reagentide Anti-TCR PAN γ/δ-FITC partiiga. Mõõtmised (positiivsete %) tehti voolutsütomeetril Navios. Analüüs tehti CLSI-meetodi EP5-A2 alusel: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivsete mõõtmismeetodite toimivuse mõõtetäpsuse hindamine).

Meie sobivuskriteeriumid sõltuvad iga populatsiooni kohta mõõdetud positiivsete sündmuste arvust:

- Positiivse sündmuse korral < 1500, CV < 15%
- Positiivse sündmuse korral > 1500, CV < 10%

Lümfotsüüdid CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Positiivsete sündmuste arv (keskmine) = 961							
	Kasutajatevaheline	Tsütomeetritevaheline	Partiisisene	Partiidevaheline	Testidevaheline	Testisisene	Kokku
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
TULEMUSED	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

MÕÕTETÄPSUS

Analüüsi Anti-TCR PAN γ/δ-FITC mõõtetäpsust hinnati tulemuste võrdlemisel referentsreagendiga täisvere proovide kogumiga, mida analüüsiti voolutsütomeetriga Navios. Analüüsi ja referentsreagendi vaheline nihe määrati testitulemuste erinevuste põhjal. Kui nihe jääb lubatud vea piiridesse või p-väärtus ei näita statistiliselt olulist erinevust (> 0,05), peetakse kahe reagendi testitulemusi samaväärseteks.

Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis.

Doonorite arv = 25				
Positiivne siht	Keskmine Δ	Δ% raku kriteeriumid	p-väärtus	TULEMUSED
Lümfotsüüdid CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

NULLPIIR JA TUVASTUSPIIR

Uuriti vastavalt CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Kliinilise labori mõõtmisprotseduuride avastamisvõime hindamise) nõuetele. Tuvastuspiir (LOD) on väikseim analüüdi kontsentratsioon, mida saab järjekindlalt määrata. Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis:

Positive Target	Nullpiir (rakku/µl)	Tuvastuspiir (rakku/µl)
Lümfotsüüdid CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

PIIRANGUD

1. Voolutsütomeetria võib anda valed tulemused, kui tsütomeeter ei ole ideaalselt joondatud, kui fluorestsentsi lekkeid ei ole õigesti kompenseeritud ja kui piirkonnad ei ole hoolikalt paigutatud.
2. Eelistatav on kasutada pesemisetapiga RBC lüüsi tehnikat, kuna seda reagenti pole optimeeritud „pesemiseta“ lüüsi tehnikate jaoks.
3. Täpsed ja korratavad tulemused saadakse, kui kasutatavad protseduurid on kooskõlas tehnilise teabelehe ja heade laboritavadega.
4. Selle reagendi pööratud antikeha kalibreeritakse nii, et tagatud oleks parim spetsiifilise/mittespetsiifilise signaali suhe. Seetõttu on igas analüüsis oluline järgida reagendi- ja proovimahu suhet.
5. Hüperleukotsütoosi korral lahjendage verd PBS-is nii, et saadav väärtus oleks ligikaudu 5 x 10^9 leukotsüüti/l kohta (22).
6. Teatud haigusseisundite (näiteks raske neerupuudulikkuse või hemoglobinopaatia) korral võib erütrotsüütide lüüsimine olla aeglane, mittetäielik või isegi võimatu. Sellisel juhul on enne värvimist soovitatav mononukleaarsete rakkude isoleerimine tihedusgradiendi (näiteks Ficoll-gradiendi) abil (23).

7. Inimesevastaste monoklonaalsete antikehadega ravitud patsientidel võib spetsiifiliste antigeenide tuvastamise võime väheneda või puududa, sest need on terapeutiliste antikehade poolt osaliselt või täielikult blokeeritud.
8. Anti-TCR PAN γ/δ-FITC tulemuste tõlgendamisel tuleb arvestada patsiendi terviklikku kliinilist pilti, sh sümptomeid, kliinilist anamneesi, lisaanalüüside andmeid ja muud asjakohast teavet.

Vt näiteid ja viiteid lisast.

KAUBAMÄRGID

Beckman Coulter, stiliseeritud logo ning selles juhendis nimetatud ettevõtte Beckman Coulter toote- ja teenusemärgid on ettevõtte Beckman Coulter, Inc. kaubamärgid või registreeritud kaubamärgid Ameerika Ühendriikides ja teistes riikides.

LISATEAVE

Patsiendile / kasutajale / muule osapoolele Euroopa Liidus ja identse regulatsioonirežiimiga riikides (määrus (EL) nr 2017/746 in vitro diagnostikameditsiiniseadmete kohta), kui selle seadme kasutamise ajal või selle kasutamise tagajärjel on toimunud tõsine vahejuhtum, teatage sellest tootjale ja/või tema volitatud esindajale ning teie riiklikult pädevale asutusele.

Summary of Safety and Performance (Ohutuse ja kliinilise toimivuse kokkuvõte) on EUDAMED-andmebaasis: ec.europa.eu/tools/eudamed.

VERSIOONI AJALUGU

REVISION AE:	Avaldamise kuupäev: oktoober 2019

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AW	Mai 2022
Värskendused, mis vastavad Beckman Coulteri ülemaailmse märgistamise poliitikale ja IVD-R (EL) 2017/746 nõuetele:	
Lisatud osad	BSI 2797 number, sihtkasutaja, kliiniline tähtsus, kontsentratsioon, täpsus, mõõtetäpsus, nullpiir ja tuvastuspiir, lisateave, versiooni ajalugu.
Lisatud informatsioon	Vaata osa „Piirangud“
Fraseerimine või tüpograafiline värskendamine	Vaata osasid Protseduur, Toimimine, Piirangud, Hoiatus ja ettevaatusabinõud, Säilitamine ja stabiilsus.
Eemaldatud osad	Kasutusotstarvete, reagentide, laborisisese korratavuse, lineaarsuse näited
Uuendatud jaotised	Kasutusotstarve, GHS-i ohuklassifikatsioon, Riknemise tunnused, Protseduur, Lisa.

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AX	märts 2023
Uuendatud jaotised	Lisada kasahhi keel
Uuendatud jaotised	Säilitamine ja stabiilsus

Muudetud versioon	AY
Muutmise kuupäev	mai 2024
Värskendatud tõlked	**Kliiniline tähtsus:**
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Muudetud versioon	AZ
Muutmise kuupäev	juuli 2024
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Sümboli tähis

Sümbolite mõisted on kättesaadavad veebilehel beckman.com/techdocs (dokument nr B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	TCR γ/δ
Klon	IMMU510
Hibridom	X63 x balb/c
Imunogen	Soluble γ/δ receptor
Imunoglobulin	IgG1
Vrsta	Miš
Pročišćavanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate
Molarni omjer	FITC / Ig: 4 - 6,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna emisija	525 nm
Pufer	PBS pH 7,2 uz 2 mg/mL BSA i 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugirano antitijelo Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 testiranja; 1 mL, 20 µL/test

Za *in vitro* dijagnostičku uporabu.

NAMJENA

To fluorokromom konjugirano antitijelo omogućuje kvalitativno i neautomatizirano prepoznavanje populacija stanica koje eksprimiraju antigen TCR γ/δ prisutan u humanim biološkim uzorcima uz pomoć protočne citometrije (pogledajte odjeljak „Uzorci" u nastavku).

NAČELO

Ovaj je test utemeljen na mogućnosti vezivanja specifičnih monoklonskih antitijela na antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično se bojenje leukocita izvodi inkubacijom uzorka s reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utječe, analiziraju se protočnom citometrijom.

Citometar toka mjeri difuziju svjetlosti i fluorescenciju stanica. Omogućuje razgraničavanje promatrane populacije unutar elektroničkog prozora definiranog na histogramu, koji stvara korelaciju između ortogonalne difuzije svjetlosti (bočnog raspršenja (BR)) i difuzije uskokutne svjetlosti (prednjeg raspršenja (PR)). Drugi histogrami koji kombiniraju dva od više različitih parametara dostupnih na citometru mogu se upotrebljavati kao pomoć u fazi ograđivanja ovisno o primjeni koju je odabrao korisnik.

Analizira se fluorescencija ograničenih stanica da bi se pozitivno obojeni događaji odvojili od neobojenih. Rezultati se izražavaju kao postotak pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobivene ograđivanjem.

PREDVIĐENI KORISNIK

Proizvod je namijenjen za profesionalnu laboratorijsku uporabu.

KLINIČKA RELEVANTNOST

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC antitijelo je na Anti-TCR PAN γ/δ koje se koristi za prepoznavanje i karakteriziranje stanica koje eksprimiraju antigen TCR γ/δ protočnom citometrijom. Samo na temelju primjene ovog proizvoda ne može se donositi dijagnostičke zaključke niti je on tome namijenjen.

Kada se upotrebljava u kombinaciji s drugim markerima, ovaj se proizvod može upotrebljavati u jednoj ili više sljedećih funkcija:

- Kao pomoć prilikom postavljanja diferencijalne dijagnoze u hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu te za praćenje pacijenata s poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Za praćenje pacijenta s poznatom autoimunom bolešću ili poremećajem.

Pogledajte sljedeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

UZORCI

Venska krv mora se uzeti sterilnim epruvetama koje kao antikoagulans sadrže EDTA sol.

Uzorke držite na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C) i nemojte ih tresti. Prije uzimanja testnog uzorka potrebno je homogenizirati uzorke pažljivim mućkanjem.

Uzorci venske krvi moraju se analizirati u roku od 24 sata od njihova uzimanja.

KONCENTRACIJA

Na web-mjestu www.beckman.com pogledajte Certifikat o analizi specifičan za lot koji upotrebljavate.

UPOZORENJE I MJERE OPREZA

1. Reagens nemojte upotrebljavati nakon isteka roka trajanja.
2. Nemojte zamrzavati.
3. Prije upotrebe pustite da dosegne sobnu temperaturu (18 – 25 °C).
4. Smanjite izlaganje svjetlu.
5. Izbjegavajte mikrobnu kontaminaciju reagensa ili može doći do netočnih rezultata.
6. Otopinama antitijela koje sadrže natrijev azid (NaN_3) potrebno je rukovati oprezno. Ne gutajte i izbjegavajte dodir s kožom, sluznicom i očima.

Štoviše, natrijev azid u kiselom mediju može formirati potencijalno opasnu hidrazoičnu kiselinu. Ako je reagens potrebno odložiti u otpad, preporučuje se da ga razrijedite u velikoj količini vode prije nego što ga izlijete u odvodni sustav da biste izbjegli nakupljanje natrijeva azida u metalnim cijevima i spriječili opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno zaraznima te je njima potrebno rukovati oprezno (odnosno nositi zaštitne rukavice, odjeću i naočale).
8. Nikada ne pipetirajte ustima te izbjegavajte doticaj uzoraka s kožom, sluznicom i očima.
9. Epruvete s krvlju i otpadni materijal za rukovanje treba odložiti u jednokratne spremnike namijenjene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad potrebno je ukloniti u skladu s lokalnim zahtjevima.

KLASIFIKACIJA OPASNOSTI PREMA GHS-U

Nije klasificiran kao opasan

SDS Sigurnosni list dostupan je na adresi beckmancoulter.com/techdocs

POHRANA I STABILNOST

Reagens se mora čuvati na temperaturi između 2 i 8 °C te zaštićen od svjetlosti, kako prije, tako i poslije otvaranja bočice.

Vijek trajanja zatvorene bočice prema ispitivanju stabilnosti: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dana.

DOKAZ PROPADANJA

Svaka promjena fizičkog izgleda reagensa može upućivati na propadanje te se reagens ne smije upotrebljavati.

Ako su vam potrebne dodatne informacije ili ste primili oštećen proizvod, nazovite korisnički servis tvrtke Beckman Coulter na 800-742-2345 (u SAD-u ili Kanadi) ili se obratite lokalnom predstavniku tvrtke Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans s natrijevim azidom može stvoriti eksplozivne spojeve u metalnim cjevovodima. Pogledajte bilten NIOSH: Explosive Azide Hazard (Opasnost od eksplozije azida) (16. 8. 76.).
Da biste spriječili moguće taloženje komponenata azida, prilikom odlaganja nerazrijeđenog reagensa u otpad odvodne cijevi isperite vodom. Odlaganje natrijeva azida u otpad mora biti u skladu s odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU DIO KOMPLETA:

- Epruvete za uzorke i materijal potreban za uzimanje uzoraka.
- Automatske pipete s jednokratnim nastavcima za 20, 100 i 500 µL.
- Plastične hemolitičke epruvete.
- Reagens za liziranje eritrocita s fazom pranja nakon liziranja. Na primjer: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primjer: Otopina za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotipska kontrola FITC: reagens IOTest (ref. A07795).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijeva fosfata, 0,145 M natrijeva klorida, pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska miješalica (tip vorteks).
- Citometar toka.

POSTUPAK S REAGENSOM VERSALYSE

Za svaki uzorak koji se analizira može se uz testnu epruvetu dodati jedna kontrolna epruveta u kojoj su stanice pomiješane u prisutnosti izotipskih kontrola (ref. A07795).

1. Dodajte 20 µL konjugiranog antitijela specifičnog za IOTest u svaku testnu epruvetu i, ako je potrebno, 20 µL izotipske kontrole u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µL testnog uzorka u svaku epruvetu. Epruvete polako promiješajte u vorteks-miješalici.
3. Inkubirajte od 15 do 20 min na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C), zaštićeno od svjetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje eritrocita. Pogledajte brošuru VersaLyse (ref. A09777) i po mogućnosti slijedite postupak „uz istovremeno fiksiranje" koji se sastoji od dodavanja 1 mL svježe pripremljene mješavine za fiksiranje i liziranje. Odmah promiješajte u vorteks-miješalici jednu sekundu i inkubirajte 10 min pri sobnoj temperaturi, zaštićeno od svjetlosti.
5. Centrifugirajte 5 min pri 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću 3 mL PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Uklonite supernatant aspiracijom i stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću:

- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a plus 0,1 % formaldehida ako se pripravke planira čuvati manje od 24 sati. (PBS s 0,1 % formaldehida možete pripremiti razrjeđivanjem 12,5 µL otopine za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800) pri njezinoj 10X koncentraciji u 1 mL PBS-a).
- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a bez formaldehida, ako pripravak treba analizirati u roku od 2 sati.

Napomena: U svakom slučaju pripravke čuvajte zaštićene od svjetlosti na temperaturi između 2 i 8 °C.

OČEKIVANE VRIJEDNOSTI

U našim su laboratorijima uzorci pune krvi naizgled zdravih davatelja (njih 25) obrađeni s pomoću prethodno opisanog reagensa i reagensa za ograđivanje. Rezultati prikupljeni u svrhu brojanja pozitivnih relevantnih događaja s pomoću tog reagensa navedeni su u tablici u nastavku:

Pozitivna ciljna vrijednost	Broj	Srednja vrijednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Te su vrijednosti samo okvirne. Svaki laboratorij mora utvrditi vlastite očekivane vrijednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o performansama prikupljaju se prethodno opisanim postupkom i reagensom za ograđivanje na uzorcima krvi starima manje od 24 sata prethodno prikupljenima u sterilne epruvete uz EDTA sol kao antikoagulans. Analiza se provodi u roku od 2 sata nakon imunobojenja.

SPECIFIČNOST

TCR je molekularni kompleks koji se sastoji od dvije jedinice: jedinice za prepoznavanje, sastavljene od alfa-beta ili gama-delta heterodimera koji su prisutni na površnici stanice na način koji je međusobno isključiv i jedinice za pretvaranje, kompleksa CD3 koji je zajednički alfa-beta i gama-delta heterodimerima, a koji aktivira T stanicu ako jedinicu za prepoznavanje zauzima antigen. Jedinica za prepoznavanje prepoznaje strana antitijela i raznolikost koja je potrebna da se funkcija prepoznavanja pokrene somatskom rekombinacijom TCR gena (11, 12, 13).

Postoji četiri lokusa TCR gena (alfa, beta, gama i delta). Svaki se sastoji od nekoliko V (varijabilnih) segmenata, kodiranja za oko 90 aminokiselina, vrlo kratkih D (raznolikih) segmenata (samo lokusi α i delta) i kratkih J (spojnih) segmenata (oko 15 aminokiselina) te jednog ili dva C (konstantna) segmenta (14, 15). Većina T stanica izražavaju protein alfa/beta TCR (receptor T stanice), a mala populacija T stanica izražava gama/delta TCR, koji obično ima dvostruko negativan (CD4/CD8) fenotip.

Gama/delta T stanice obično su prva linija obrane na epidermalnim i epitelnim površinama te predstavljaju 10 – 12 % limfocita u slezeni (16). IMMU 510 prepoznaje sve gama/delta T stanice bez obzira na varijabilne gene ili spojna područja koja izražavaju prema procjeni ispitivanja imunofluorescencijom toka na poliklonalnim gama/delta T stanicama, kao i klonovima gama/delta T stanica (17, 18, 19, 20, 21).

PRECIZNOST

Postotne pozitivne vrijednosti utvrđene su pomoću pune krvi. Svaki je uzorak obrađen 4 puta, dvaput dnevno tijekom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 serije reagensa s monoklonskim antitijelima Anti-TCR PAN γ/δ-FITC. Mjerenja (postotna pozitivna) provedena su na protočnom citometru Navios. Analiza je provedena na temelju metode EP5-A2 instituta CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procjena radnih značajki preciznosti metoda kvantitativnog mjerenja).

Naši kriteriji prihvatljivosti ovise o broju pozitivnih događaja izmjerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivni događaj < 1500, CV < 15 %
- Ako je pozitivni događaj > 1500, CV < 10 %

Limfociti CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrijednost) = 961							
	Među operatorima	Među citometrima	Unutar lota	Među lotovima	Među obradama	Unutar obrade	Ukupno
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost mjerenja Anti-TCR PAN γ/δ-FITC procijenjena je usporedbom rezultata s referentnim reagensom kao predikatom na skupu uzoraka pune krvi obrađenima na protočnom citometru Navios. Odstupanje između testa i referentnog reagensa utvrđeno je na temelju razlike između rezultata testa. Ako je odstupanje unutar dopuštenog raspona pogreške ili ako p-vrijednost upućuje na to da nema značajne razlike (> 0,05), rezultati testa za dva reagensa smatraju se istovjetnima.

Dobiveni rezultati sažeti su u tablici u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivna ciljna vrijednost	Srednja vrijednost Δ	Kriterij stanica Δ %	p-vrijednost	REZULTATI
Limfociti CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

GRANICA SLIJEPE PROBE I GRANICA DETEKCIJE

Ispitivanje je izvedeno u skladu s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Procjena sposobnosti otkrivanja za postupke mjerenja u kliničkim laboratorijima). Granica detekcije (LOD) – najniža koncentracija analita koja se može dosljedno otkriti. Dobiveni rezultati sažeti su u sljedećoj tablici:

Positive Target	Granica slijepe probe (stanica/µL)	Granica detekcije (stanica/µL)
Limfociti CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti pogrešne rezultate ako citometar nije savršeno poravnat, ako fluorescentna curenja nisu pravilno kompenzirana i ako regije nisu pažljivo pozicionirane.
2. Poželjno je upotrebljavati tehniku liziranja pomoću RBC-a uz korak pranja jer ovaj reagens nije optimiziran za tehnike liziranja „bez pranja”.
3. Točni i ponovljivi rezultati dobivat će se sve dok se postupci izvode u skladu s tehničkom brošurom i u skladu s dobrim laboratorijskim praksama.

4. Konjugirano antitijelo tog reagensa kalibrirano je tako da pruža najbolji omjer specifičnog i nespecifičnog signala. Zato je važno pridržavati se omjera volumena reagensa i volumena uzorka prilikom svakog testiranja.
5. U slučaju hiperleukocitoze razrijedite uzorak u PBS-u da biste dobili vrijednost od približno 5 x 10^9 leukocita/L (22).
6. Pri određenim bolestima, kao što je ozbiljno zatajenje bubrega ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak i nemoguće. U tom se slučaju prije bojenja preporučuje izoliranje jednojezgrenih stanica s pomoću gradijenta gustoće (na primjer, Ficoll) (23).
7. U pacijenata koji primaju terapiju monoklonskim antihumanim antitijelima detekcija određenih ciljanih antigena može biti smanjena ili nepostojeća zbog djelomičnog ili potpunog blokiranja terapijskih antitijela.
8. Rezultate Anti-TCR PAN γ/δ-FITC treba tumačiti u kontekstu ukupne kliničke slike pacijenta, uključujući simptome, anamnezu, podatke iz dodatnih testova i druge odgovarajuće informacije.

Za primjere i reference pogledajte Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizirani logotip te oznake proizvoda i usluga tvrtke Beckman Coulter žigovi su ili registrirani žigovi tvrtke Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim državama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta / korisnika / treću stranu u Europskoj uniji i u državama s identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskim proizvodima za in vitro dijagnostiku): ako tijekom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe dođe do ozbiljnog štetnog događaja, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovu ovlaštenom zastupniku te nadležnom nacionalnom tijelu.

Summary of Safety and Performance (Sažetak podataka o sigurnosti i performansama) potražite u bazi podataka EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

POVIJEST REVIZIJA

REVIZIJA AE:	Datum objave: listopad 2019.

REVIZIJA	**Datum objave**
AW	Svibanj 2022.
Ažuriranja radi usklađivanja s pravilnikom o globalnom označavanju tvrtke Beckman Coulter i u skladu sa zahtjevima uredbe (EU)2017/746 o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima (IVD-R):	
Dodani odjeljci	Broj BSI 2797, Ciljni korisnik, Klinička relevantnost, Koncentracija, Preciznost, Točnost, Granica slijepe probe i granica detekcije, Dodatne informacije, Povijest revizija.
Dodane informacije	Pogledajte odjeljke Ograničenja
Preformuliranje ili tipografska ažuriranja	Pogledajte odjeljke Postupak, Performanse, Ograničenja, Upozorenje i mjere opreza, Pohrana i stabilnost.
Uklonjeni odjeljci	Primjer kliničkih primjena, Reagensi, Unutarlaboratorijska obnovljivost, Linearnost
Ažurirani odjeljci	Namjena, Klasifikacija opasnosti prema GHS-u, Dokaz pogoršanja stanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum objave**
AX	Ožujak 2023
Ažurirani odjeljci	Dodati kazaški
Ažurirani odjeljci	Čuvanje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Svibanj 2024
Ažurirani prijevodi	**Klinička relevantnost:**
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Srpanj 2024
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Pojmovnik simbola

Pojmovnik simbola dostupan je na web-mjestu beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Спецификации
Специфичност	TCR γ/δ
Клонинг	IMMU510
Хибридома	X63 x balb/c
Имуноген	Soluble γ/δ receptor
Имуноглобулин	IgG1
Вид	Мишка
Пречистване	Афинитетна хроматография
Флуорохром	Fluorescein isothiocyanate
Моларно съотношение	FITC / Ig: 4 - 6,5
λ възбуждане	488 nm
Емисионен пик	525 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 mg/mL BSA и 0,1 % NaN_3

IOTest
Конюгирано антитяло
Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 теста; 1 mL, 20 µL/тест

За *in vitro* диагностика.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Това флуорохром-конюгирано антитяло позволява качествена и неавтоматизирана идентификация с помощта на поточна цитометрия на клетъчни популации, експресиращи TCR γ/δ антиген, присъстващ в човешки биологични проби (вижте раздел „Проби“ по-долу).

ПРИНЦИП

Този тест се базира на способността на специфични моноклонални антитела да се свързват с антигенни детерминанти, експресирани от левкоцитите.

Специфично оцветяване на левкоцитите се извършва чрез инкубиране на пробата с реактива IOTest. След това червените кръвни телца се отстраняват чрез лизиране, а левкоцитите, които не се повлияват от този процес, се анализират чрез поточна цитометрия.

Поточният цитометър измерва разсейването на светлината и флуоресценцията на клетките. Това прави възможно разграничаването на популацията, която се изследва, в електронния прозорец, дефиниран на една хистограма, която корелира с ортогоналната дифузия на светлината (странично разсейване) и дифузията на тесноъгълна светлина (предно разсейване). Други хистограми, комбиниращи два от различните параметри на разположение на цитометъра, могат да бъдат използвани като основа в етапа на определяне на област за анализ в зависимост от приложението, избрано от потребителя.

Флуоресценцията на разграничените клетки се анализира, за да се разграничат позитивно оцветените събития от неоцветените такива. Резултатите се изразяват като процент на положителни събития във връзка с всички събития, получени от определянето на областта за анализ.

ПРЕДВИДЕН ПОТРЕБИТЕЛ

Този продукт е предназначен само за лабораторна професионална употреба.

КЛИНИЧНА ЗНАЧИМОСТ

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC е антитяло Anti-TCR PAN γ/δ, използвано за идентифициране и характеризиране чрез поточна цитометрия на клетки, експресиращи TCR γ/δ антиген. Този продукт не може и не е предназначен самостоятелно да генерира каквото и да е диагностично заключение.

Когато се използва в комбинация с други маркери, този продукт може да се използва в една или повече от следните функции:

- Като помощно средство при поставяне на диференциална диагноза на хематологично абнормни пациенти, суспектни за хематопоетично новообразуване, и за проследяване на пациенти с известно хематопоетично новообразуване.
- За проследяване на пациенти с известно автоимунно заболяване или нарушение.

Вижте следните справки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ПРОБИ

Венозна кръв трябва да се взема в стерилни епруветки, съдържащи сол EDTA като антикоагулант.

Пробите трябва да бъдат съхранявани при стайна температура (18–25°C) и не трябва да се разклащат. Пробите трябва да бъдат хомогенизирани чрез внимателно смесване, преди да се вземе пробата за теста.

Пробите трябва да бъдат анализирани в рамките на 24 часа от венопункturата.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Вижте Сертификата за анализ за конкретната партида на www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Не използвайте реактива след изтичане на срока на годност.
2. Не замразявайте.
3. Оставете на стайна температура (18–25°C) преди употреба.
4. Минимизирайте излагането на светлина.
5. Избягвайте микробно замърсяване на реактивите, в противен случай е възможно да се получат погрешни резултати.

6. С разтворите на антитела, съдържащи натриев азид (NaN_3), трябва да се работи внимателно. Не приемайте вътрешно и избягвайте всякакъв контакт с кожата, лигавицата и очите.

   В допълнение, в киселинна среда натриевият азид може да образува потенциално опасната хидразоена киселина. Ако тя трябва да се изхвърли, препоръчва се реактивът да се разреди в голям обем вода, преди да се излее в дренажната система, за да се избегне натрупването на натриев азид в металните тръби и да се предотврати риск от експлозия.

7. Всички кръвни проби трябва да се считат за потенциално заразни и с тях трябва да се борави внимателно (по-специално: носене на защитни ръкавици, облекло и очила).
8. Никога не пипетирайте с уста и избягвайте всякакви контакти между пробите и Вашата кожа, лигавица и очи.
9. Епруветките за кръв и материалите за еднократна употреба, използвани за боравене, трябва да се изхвърлят във временни контейнери, предназначени за изгаряне.
10. Реактивите и отпадъците трябва да бъдат елиминирани в съответствие с местните изисквания.

КЛАСИФИЦИЯ НА ОПАСНОСТИТЕ ПО GHS

Не е класифициран като опасен

SDS Информационният лист за безопасност е наличен на адрес beckmancoulter.com/techdocs

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Този реактив трябва да се съхранява при температури между 2 и 8°C и да бъде защитен от светлина преди и след отваряне на флакона.

Изследване на срок на годност при затворена епруветка и стабилност: 1095 дни.

Стабилност на отворен флакон: реактивът е стабилен за 180 дни.

ДАННИ ЗА ВЛОШАВАНЕ

Всяка промяна във физическия изглед на реактивите може да е признак за влошаване и реактивът не трябва да бъде използван.

За допълнителна информация или при получаване на повреден продукт се свържете с отдела за обслужване на клиенти на Beckman Coulter на тел. 800-742-2345 (САЩ или Канада) или се свържете с местния представител на Beckman Coulter.

СЪДЪРЖАНИЕ

Консервантът натриев азид може да образува експлозивни съединения в метални отводнителни тръбопроводи. Вижте Бюлетина на NIOSH: Explosive Azide Hazard (Бюлетин на Националния институт по безопасност и хигиена на труда: Опасност от експлозия на азид) (16/8/76).
За да избегнете възможно натрупване на азидни съединения, промивайте канализационните тръби с вода след изхвърляне на неразтворен реактив. Изхвърлянето на натриев азид трябва да бъде в съответствие с местните разпоредби.

НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СА ДОСТАВЕНИ С КОМПЛЕКТА:

- Епруветки за проби и материали, необходими за вземане на проби.
- Автоматични пипети с накрайници за еднократна употреба за 20, 100 и 500 µL.
- Пластмасови хемолизни епруветки.
- Реактив за лизис на червени кръвни телца с етап на отмиване след лизис. Например: VersaLyse (Реф. A09777).
- Реактив за левкоцитна фиксация. Например: IOTest 3 фиксиращ разтвор (Реф. A07800).
- Изотипна контрола FITC: Реактив IOTest (Реф. № A07795).
- Буфер (PBS: 0,01 M натриев фосфат; 0,145 M натриев хлорид; pH 7,2).
- Центрофугирайте.
- Автоматичен агитатор (тип вортекс).
- Поточен цитометър.

ПРОЦЕДУРА С РЕАКТИВ VERSALYSE

За всяка анализирана проба освен тестовата епруветка може да се добави и една контролна епруветка, в която клетките да са смесени в присъствието на изотипната контрола (Реф. A07795).

1. Добавете 20 µL специфично IOTest конюгирано антитяло във всяка тестова епруветка и, ако е необходимо, 20 µL изотипна контрола във всяка контролна епруветка.
2. Добавете 100 µL от тестовата проба във всяка епруветка. Внимателно разбъркайте във вортекс епруветките.
3. Инкубирайте за 15 до 20 минути при стайна температура (18–25°C), като предпазвате от светлина.
4. След това се изпълнява лизиране на червените кръвни телца. Вижте брошурата на VersaLyse (Реф. A09777) и изпълнете за предпочитане процедурата, наречена „със съпътстващо фиксиране“, която се състои от добавяне на 1 mL от сместа „Фиксиране и лизиране“, приготвена за незабавно приложение. Незабавно завъртете епруветките с вортекс за една секунда и инкубирайте за 10 минути при стайна температура на защитено от светлина място.
5. Центрофугирайте 5 минути при 150 x g при стайна температура.
6. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация.
7. Разтворете отново клетъчната утайка, като използвате 3 mL PBS.
8. Повторете стъпка 5.
9. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация и ресуспендирайте клетъчната утайка с:

- 0,5 mL или 1 mL PBS плюс 0,1 % формалдехид, ако препаратите трябва да бъдат съхранявани по-малко от 24 часа. (Може да се получи 0,1 % формалдехид PBS чрез разреждане на 12,5 µL разтвор за фиксиране IOTest 3 (Реф. A07800) при 10X концентрация в 1 mL PBS).

- 0,5 mL или 1 mL PBS без формалдехид, ако препаратите ще бъдат анализирани в рамките на 2 часа.

Забележка: Във всички случаи съхранявайте препаратите при температури между 2 и 8°C и защитени от светлина.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

В нашите лаборатории бяха третирани пробите цялостна кръв на 25 видимо здрави донори с описания по-горе реактив и с реактив за гейтиране. Получените с този реактив резултати за броя на положителните събития, които са от значение, са дадени в таблицата по-долу:

Положителна цел	Брой	Средна (%)	SD	CV (%)
Лимфоцити CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Тези стойности са само представителни. Всяка лаборатория трябва да установи свои очаквани стойности от местната популация нормални донори.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данните за ефективността се получават с помощта на описаната по-горе процедура и реактив за гейтиране на кръвни проби до 24 часа, предварително събрани в стерилни епруветки със сол EDTA като антикоагулант. Анализ се извършва в рамките на 2 часа след имунооцветяване.

СПЕЦИФИЧНОСТ

TCR е молекулярен комплекс, който се състои от две единици: разпознаваща единица, съставена или от алфа-бета, или от гама-делта хетеродимер, които се представят върху клетъчната повърхност по взаимно изключващ се начин, и трансдуцираща единица, CD3 комплекс, обичаен за алфа-бета и гама-делта хетеродимери, които активират Т-клетката, когато към разпознаващата единица се свърже антиген. Разпознаващата единица разпознава чужди антигени и многообразието, необходимо за тази функция на разпознаването, се генерира от соматична рекомбинация на TCR гени (11, 12, 13).

Има четири генни локуса на TCR (алфа, бета, гама и делта). Всеки от тях е съставен от няколко V (вариабилни) сегмента, кодиращи около 90 аминокиселини, много къси D (допълнителни) сегменти (само за α и делта локус) и къси J (свързващи) сегменти (около 15 аминокиселини), и един или два C (константни) сегмента (14, 15). Повечето от Т-клетките експресират протеин на алфа/бета TCR (Т-клетъчен рецептор), а малка популация от Т-клетки експресира гама/делта TCR, който обикновено има двоен негативен (CD4/CD8) фенотип.

Гама/делта Т-клетките обикновено са първата линия на защита при епидермални и епителни повърхности и представляват 10–12 % от лимфоцитите в далака (16). IMMU 510 разпознава всички гама/делта Т-клетки независимо от вариабилните гени или области на свързване, които те експресират, като се определят чрез поточна имунофлуорисценция на поликлоналните гама/делта Т-клетъчни редове, както и гама/делта Т-клетъчните клонове (17, 18, 19, 20, 21).

ТОЧНОСТ

Процентните положителни стойности са определени посредством цялостна кръв. Всяка проба е обработена 4 пъти, два пъти на ден за 1 ден на 2 инструмента, като са използвани 2 партиди реактиви с Anti-TCR PAN γ/δ-FITC моноклонално антитяло. Измерванията (% положителни) са направени на поточен цитометър Navios. Анализът е проведен на базата на метода EP5-A2 на CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оценка на прецизната работа на методите за количествено измерване).

Нашите критерии за приемливост зависят от броя положителни събития, измерени за всяка популация:

- Ако положителните събития са < 1500, CV < 15 %
- Ако положителните събития са > 1500, CV < 10 %

Лимфоцити CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Брой положителни събития (средно) = 961							
	Между оператори	Между цитометри	Вътрепартидна	Между партиди	Между цикли	В рамките на цикъл	Общо
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
РЕЗУЛТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТ

Точността на Anti-TCR PAN γ/δ-FITC е оценена чрез сравняване на резултатите с референтен реактив като потвърждение върху група от проби от цялостна кръв, обработени на поточен цитометър Navios. Отклонението между тестовия и референтния реактив е определено чрез разликата между резултатите от теста. Ако отклонението е в рамките на допустимия диапазон на грешка или p-стойността не показва значима разлика (> 0,05), резултатите от теста за двата реактива се считат за еквивалентни.

Получените резултати са обобщени в таблицата, дадена по-долу:

Брой донори = 25				
Положителна цел	Средна Δ	Критерии Δ % клетки	p-стойност	РЕЗУЛТАТИ
Лимфоцити CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

ГРАНИЦА НА СЛЯПА ПРОБА И ГРАНИЦА НА ОТКРИВАНЕ

Проведено е проучване в съответствие с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оценка на възможността за детекция за измервателни процедури в клинични лаборатории). Границата на откриване (LOD) е най-ниската концентрация на аналита, която може да бъде стабилно открита. Получените резултати са обобщени в следващата таблица:

Positive Target	Граница на сляпата проба (клетки/µL)	Граница на откриване (клетки/µL)
Лимфоцити CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Поточната цитометрия може да даде неточни резултати, ако цитометърът не е бил идеално приравнен, ако течове на флуоресценция не са били правилно компенсирани или ако регионите не са били внимателно позиционирани.
2. Предпочита се използването на техника за лизиране на червени кръвни клетки със стъпка за промиване, тъй като този реактив не е оптимизиран за техники за лизиране „без промиване“.
3. Ще бъдат получени точни и възпроизводими резултати, при условие, че използваните процедури са в съответствие с техническата листовка и са съвместими с добрите лабораторни практики.
4. Конюгираното антитяло на този реактив е калибрирано, за да се осигури най-доброто съотношение между специфичен сигнал/неспецифичен сигнал. Затова е важно да се придържате към съотношението обем на реактива/обем на пробата във всеки тест.
5. В случай на хиперлевкоцитоза кръвта се разрежда в PBS, така че да се получи стойност приблизително 5 x 10^9 левкоцити/L (22).
6. При определени болестни състояния, например тежка бъбречна недостатъчност или хемоглобинопатии, лизирането на червените кръвни телца може да бъде бавно, непълно или дори невъзможно. В този случай се препоръчва да се изолират мононуклеарни клетки, като се използва градиент на плътността (Ficoll например) преди оцветяване (23).
7. При пациенти, лекувани с терапии с античовешко моноклонално антитяло, отриването на специфични целеви антигени може да бъде занижено или да липсват поради частично или цялостно блокиране от терапевтичното антитяло.
8. Резултатите от Anti-TCR PAN γ/δ-FITC трябва да се интерпретират спрямо общото клинично представяне на пациента, включващо: симптоми, клинична анамнеза, данни от допълнителни тестове и друга съответстваща информация.

Вижте Приложението за примери и справки.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ

Beckman Coulter, стилизираното лого и марките на продуктите и услугите на Beckman Coulter, присъстващи в този документ, са търговски марки или регистрирани търговски марки на Beckman Coulter, Inc. в САЩ и в други държави.

ДОПЪЛНИТЕЛНА ИНФОРМАЦИЯ

За пациенти/потребители/трети лица в Европейския съюз и в страни с идентичен регулаторен режим (Регламент 2017/746/EC относно ин витро диагностичните медицински изделия); ако по време на използването на това изделие или в резултат на използването му е настъпил сериозен инцидент, моля, съобщете за това на производителя и/или неговия упълномощен представител и на Вашия национален орган.

Summary of Safety and Performance (Обобщение на безопасността и работата) е налично в базата данни EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ХРОНОЛОГИЯ НА РЕДАКЦИИТЕ

РЕДАКЦИЯ AE:	Дата на издаване: октомври 2019 г.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AW	май 2022 г.
Актуализации с цел съответствие с Глобалната политика за етикетиране на Beckman Coulter и съгласно изискванията на Регламент (ЕС) 2017/746 за медицинските изделия за ин витро диагностика (IVD-R):	
Добавени раздели	Номер 2797 на BSI, Предвиден потребител, Клинична значимост, Концентрация, Прецизност, Точност, Граница на сляпата проба и граница на откриване, Допълнителна информация, Хронология на редакциите.
Добавена информация	Вижте разделите „Ограничения“
Актуализации във формулировките или типографията	Вижте раздели „Процедура“, „Работни характеристики“, „Ограничения“, „Предупреждения и предпазни мерки“, „Съхранение и стабилност“.
Премахнати раздели	Пример за клинични приложения, Реактиви, Вътрешнолабораторна възпроизводимост, Линейност
Актуализирани раздели	Предвидена употреба, Класификация на опасностите по GHS, Признаци за влошаване, Процедура, Приложение.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AX	Март 2023
Актуализирани раздели	Добавен е казахски
Актуализирани раздели	Съхранение и стабилност

Редактирана версия	AY
Редактирана дата	Май 2024
Актуализирани преводи	**Клинична значимост:**
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Редактирана версия	AZ
Редактирана дата	Юли 2024
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Легенда на символите

Речник на символите е наличен на beckman.com/techdocs (номер на документа B60062)

	規格
專一性	TCR γ/δ
轉殖	IMMU510
融合瘤	X63 x balb/c
免疫原	Soluble γ/δ receptor
免疫球蛋白	IgG1
物種	小鼠
純化	親和層析法
螢光染料	Fluorescein isothiocyanate
莫耳比率	FITC/Ig： 4 - 6.5
λ 激發	488 nm
發射峰	525 nm
緩衝劑	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 及 0.1% NaN_3

IOTest

結合抗體
Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 次測試；1 mL, 20 µL/測試

***體外*診斷用。**

預期用途

使用此螢光染料結合的抗體，能夠以流式細胞分析儀器對人體生物檢體中出現的表現 TCR γ/δ 抗原之細胞群進行非自動化定性鑑別（請參閱下列「檢體」部分）。

原理

本測試的基礎在於特異性單株抗體結合由白血球表現之抗原決定簇的能力。

以 IOTest 試劑與檢體反應，對白血球進行特異性染色。然後以溶解作用去除紅血球，而白血球不受此程序影響，並可透過流式細胞分析儀器進行分析。

流式細胞分析儀器可測量細胞的光漫射和螢光。這樣可以界定直方圖上定義的電子窗口內的目標群體，直方圖可以關聯光的正交漫射（側向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。細胞分析儀器上可用之結合兩個不同參數的其他直方圖，可用於支持圈選階段，這取決於使用者所選的應用。

為了區分陽性染色事件和未染色事件，對劃定細胞的螢光進行了分析。結果表示為陽性事件相對於圈選所得全部事件的百分比。

預期使用者

本產品應當用於實驗室內的專業用途。

臨床相關性

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC 是用於識別和分類以流式細胞術表現 TCR γ/δ 抗原的細胞的 Anti-TCR PAN γ/δ 抗體。單獨使用這個產品無法也不預期可產生任何診斷結論。

本產品搭配其他標誌物使用時，可用於以下一或多個功能：

- 可輔助疑似罹患造血組織腫瘤之血液異常患者的鑑別診斷，並可監測已知罹患造血組織腫瘤的患者。
- 可監測已知罹患自體免疫疾病或異常的患者。

請參閱下列參考資料：

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

檢體

靜脈血必須使用無菌試管抽取，此無菌試管中含有 EDTA 鹽作為抗凝劑。

檢體應存放在室溫 (18~25°C)，且不得搖晃。取用測試檢體前，應將檢體輕輕攪動，使之均勻化。

檢體必須在靜脈穿刺後 24 小時內進行分析。

濃度

請參閱 www.beckman.com 參閱各批次專屬的分析證書。

警告和預防措施

1. 請勿使用過期試劑。
2. 切勿冷凍。
3. 使用前，請將其恢復至室溫 (18~25°C)。
4. 儘量避免陽光直射。
5. 請避免試劑受到微生物污染，否則可能會出現錯誤結果。
6. 含有疊氮化鈉 (NaN_3) 的抗體溶液應謹慎處理。請勿內服，並避免接觸皮膚、黏膜和眼睛。

   此外，在酸性介質中，疊氮化鈉可形成具有潛在危害的疊氮酸。若需要對其進行處置，建議在試劑倒入排水系統前以大量清水稀釋，避免疊氮化鈉在金屬管道中累積並預防爆炸。
7. 所有血液檢體必須視為具有潛在傳染性，且必須小心處理（務必穿戴防護手套、防護衣和護目鏡）。
8. 切勿用嘴吸液，並避免檢體接觸皮膚、黏膜和眼睛。

9. 用於處理的血液試管和一次性材料應放入焚化專用的特殊容器中處置。
10. 應根據當地要求清除試劑和廢棄物。

GHS 危害分類

未歸類為危險物質

SDS 安全性資料表載於 beckmancoulter.com/techdocs

存儲和穩定性

在打開試劑瓶前後，試劑必須避光保存於 2~8°C。

穩定性研究的封閉式藥瓶有效期限：1095 天。

開瓶後穩定性：試劑穩定性可維持 180 天。

變質的證據

試劑外觀的任何變化表示可能發生變質，因此不應使用該試劑。

如需瞭解其他資訊，或如果收到已損壞的產品，請撥打 800-742-2345（美國或加拿大）聯絡貝克曼庫爾特客戶服務部，或聯絡您當地的貝克曼庫爾特代表。

內容物

疊氮化鈉防腐劑可能會在金屬排水管道中形成爆炸性化合物。請參閱 NIOSH Bulletin： Explosive Azide Hazard（爆炸性疊氮化物危害）(76/8/16)。為防止疊氮化合物可能累積，丟棄未稀釋的試劑後請用水沖洗污水管。必須依照相關當地法規丟棄疊氮化鈉。

試劑盒未提供但卻需要的材料：

- 採樣時需要採樣試管和材料。
- 帶有可吸取 20、100 和 500 µL 一次性吸頭的自動移液器。
- 塑膠溶血試管。
- 用於溶解後洗滌階段的紅血球溶解試劑。舉例：VersaLyse (參考 A09777)。
- 白血球固定試劑。舉例：IOTest 3 固定液 (參考 A07800)。
- 同型品管劑 FITC：IOTest 試劑 (參考 A07795)。
- 緩衝劑 (PBS：0.01 M 磷酸鈉；0.145 M 氯化鈉；pH 7.2）。
- 離心機。
- 自動攪拌器（漩渦型）。
- 流式細胞分析儀器。

使用 VERSALYSE 試劑的程序

對於已分析的每項檢體，除使用測試試管外，可再增加一個品管劑試管，以在其中混合細胞與同型品管劑 (參考 A07795)。

1. 向每個測試試管添加 20 µL 特異性 IOTest 結合抗體，如果需要，向每個質控試管添加 20 µL 同型質控品。
2. 向每個試管中添加 100 µL 測試檢體。輕輕漩渦振盪試管。
3. 在室溫 (18~25°C) 下避光反應 15~20 分鐘。
4. 然後將紅血球溶解。請參閱 VersaLyse (參考 A09777) 的手冊，最好按照名為「共伴固定」的程序操作，其包含添加臨時製備的 1 mL「固定加溶解」混合物。立即震盪 1 秒後，在室溫下避光反應 10 分鐘。
5. 在室溫下以 150 x g 離心 5 分鐘。
6. 吸除上清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新懸浮細胞團塊。
8. 重複第 5 步。
9. 吸除上清液並按照以下方式重新懸浮細胞團塊：

- 若製劑存放時間不超過 24 小時，則以 0.5 mL 或 1 mL PBS 加 0.1% 甲醛。（可在 1 mL PBS 中稀釋 10X 濃度的 12.5 µL IOTest 3 固定液 (參考 A07800)，得到含有 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 若製劑將在 2 小時內分析，使用 0.5 mL 或 1 mL PBS（無甲醛）。

註：在所有情況下，將製劑在 2~8°C 避光保存。

預期值

在我們的實驗室中，採用上述試劑及圈選試劑處理 25 名明顯健康的捐贈者的全血檢體。使用該試劑進行陽性目標事件計數得到的結果如下表所示：

陽性目標	數量	平均值 (%)	SD	CV (%)
淋巴細胞 CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5.43	3.40	62.54

這些數值是具代表性的參考值。每個實驗室都應運用當地正常捐贈者族群的檢測結果，自行確立適用的預期值。

性能

對於之前採集在無菌試管（含有 EDTA 鹽作為抗凝劑）中短於 24 小時的血液檢體，使用上面描述的程序及圈選試劑獲取了性能資料。在免疫染色後的 2 小時內進行分析。

專一性

TCR 是一種分子複合體，其包含兩個單元：一個為識別單元，由 α-β 或 γ-δ 異二聚體組成，它們以相互排斥的方式存在於細胞表面；另一個為轉換單元，即 CD3 複合體，為 α-β及 γ-δ 異二聚體共用，當識別單元被抗原佔用時，轉換單元會觸發 T 細胞。識別單元可以識別外來抗原，該識別功能所必需的多樣性由 TCR 基因的體細胞重組產生 (11, 12, 13)。

有四種 TCR 基因座（α、β、γ 和 δ）。每種基因座均由幾個 V（可變）片段（編碼約 90 個氨基酸）、非常短的 D（多樣性）片段（僅 α 和 δ 基因座）、短 J（連接）片段（約 15 個氨基酸）以及一個或兩個 C（恆定）片段組成 (14, 15)。大多數 T 細胞表達 α/β TCR（T 細胞受體）蛋白，少數 T 細胞表達 γ/δ TCR，其通常具有雙陰性 (CD4/CD8) 表型。

γ/δ T 細胞通常為表皮和上皮表面的第一道防線，它們代表脾臟中 10-12% 的淋巴細胞 (16)。根據在多株 γ/δ T 細胞系以及 γ/δ T 細胞殖株上進行的流式免疫螢光研究的評估，IMMU 510 可識別所有 γ/δ T 細胞，而不論它們表達的可變基因或接合區如何 (17, 18, 19, 20, 21)。

準確度

陽性百分比值是使用全血決定的。每個檢體會檢驗 4 次，一天兩次，使用 2 批次的 Anti-TCR PAN γ/δ-FITC 單株抗體試劑在 2 種儀器上進行 1 天。測量（陽性 %）會在 Navios 流式細胞分析儀器上完成。分析會根據 CLSI 方法 EP5-A2 進行：Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（定量測量方法的精確度性能評估）。

我們的接受標準視各族群所檢測的陽性事件數量而定：

- 若陽性事件數量 < 1,500，則 CV < 15%
- 若陽性事件數量 > 1,500，則 CV < 10%

淋巴細胞 CD3+ TCR PAN γ/δ+							
陽性事件數量（平均值）= 961							
	各操作者間	各台細胞分析儀器間	批內	批間	各次執行間	各次執行內	總計
CV (%)	1.02	0.99	2.92	0.78	1.00	2.55	3.18
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

準確性

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC 的精確度是透過將結果和參考試劑比較後進行評估，可預測在 Navios 流式細胞分析儀器上分析一組全血檢體的結果。測試和參考試劑之間的偏差值會根據測試結果間的差異來判定。如果偏差值在可允許的錯誤範圍內或是 p 值指出沒有重大差異（> 0.05），則兩種試劑的測試結果會視為相同。

所得結果總結於下表：

捐贈者數量 = 25				
陽性目標	平均值差	細胞標準 Δ %	P 值	結果
淋巴細胞 CD3+ TCR PAN γ/δ+	0.082	<3	0.038	PASS

空白檢體的偵測極限與偵測極限

按照 CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2，臨床實驗室測定程序的偵測能力評估）開展了一項試驗。偵測極限 (LOD) 是指可始終被偵測出的最低分析物濃度。所得結果總結於下表：

Positive Target	空白檢體的偵測極限（細胞數/µL）	偵測極限（細胞數/µL）
淋巴細胞 CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

限制條件

1. 流式細胞分析儀器在下列情況下可能產生錯誤結果：細胞分析儀器未正確校正、螢光洩漏未正確補償、相關區域並未仔細定位。
2. 最好採用帶洗滌步驟的 RBC 溶解方法，因該試劑不能在「無洗滌」溶解方法中取得最佳效果。
3. 按照技術手冊採用相關流程並遵循優良實驗室操作規範，便可得到準確且可重複的結果。
4. 此試劑的結合抗體已經過校正，以提供最佳的特異性訊號/非特異性訊號比率。因此，在每次測試中遵守試劑體積/檢體體積比率很重要。
5. 如果白血球過多，請在 PBS 中稀釋血液，使白血球濃度約為 5 x 10^9 顆/L (22)。
6. 在嚴重腎衰竭、血色素病變等特定疾病狀態中，紅血球溶解可能會變得緩慢、不完全，甚至無法溶解。在這種情況下，建議在染色前使用密度梯度（例如聚蔗糖）分離單核球 (23)。
7. 使用抗人單株抗體療法治療患者時，由於治療抗體的部分或完全阻斷，偵測到的特定目標抗原可能會減少或完全偵測不到。
8. Anti-TCR PAN γ/δ-FITC 結果的判讀應結合患者的整體臨床表徵，包括：症狀、臨床病史、其他測試的資料以及其他相關資訊。

請參閱附錄以閱讀舉例和參考文獻。

商標

Beckman Coulter、徽標以及本文述及的貝克曼庫爾特公司產品和服務標記是美國貝克曼庫爾特有限公司在美國和其他國家的商標或註冊商標。

其他資訊

對於患者/使用者/第三方（在歐盟和有相同監管制度（體外診斷醫療裝置法規，2017/746/EU）的國家）；如果在使用中或由於使用而導致嚴重事件，請將情況回報製造商和/或授權代表，以及貴國主管機關。

Summary of Safety and Performance（安全與性能）的摘要請參見 EUDAMED 資料庫：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修訂歷程記錄

修訂版 AE：	發佈日期：2019 年 10 月

修訂	**發行日期**
AW	2022 年 5 月
更新以遵守貝克曼庫爾特公司全球標籤政策以及 IVD-R (EU)2017/746 規定：	
已新增部分	BSI 2797 編號、預期使用者、臨床相關性、濃度、精密度、準確性、空白檢體的偵測極限和偵測極限、其他資訊、修訂記錄。
已新增資訊	請參閱「限制」部分
修辭或印刷更新	請參閱「程序」、「性能」、「限制」、「警告和預防措施」、「存儲和穩定性」等部分。
已移除的部分	臨床應用範例、試劑、實驗室內再現性、線性
已更新部分	預期用途、GHS 危害分類、變質的證據、程序、附錄。

修訂	**發行日期**
AX	3 月 2023
已更新部分	新增哈薩克語
已更新部分	存儲和穩定性

修訂版本	AY
修訂日期	5 月 2024
已更新的譯文	**臨床關聯性：**
已更新部分	修訂歷史

修訂版本	AZ
修訂日期	7 月 2024
已更新部分	修訂歷史

符號釋義

符號術語表請參見網站：beckman.com/techdocs（文件編號 B60062）

	Specificații
Specificitate	TCR γ/δ
Clonă	IMMU510
Hibridom	X63 x balb/c
Imunogen	Soluble γ/δ receptor
Imunoglobulină	IgG1
Specie	Șoarece
Purificare	Cromatografia afinităților
Fluorocrom	Fluorescein isothiocyanate
Raport molar	FITC/Ig: 4 - 6,5
Excitare λ	488 nm
Vârful de emisie	525 nm
Soluție tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA și 0,1% NaN_3

IOTest
Anticorp conjugat
Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 de teste; 1 ml, 20 µl/test

Pentru utilizare în diagnosticarea *in vitro*.

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

Acest anticorp conjugat cu fluorocrom permite identificarea calitativă și non-automată a populațiilor celulare care exprimă antigenul TCR γ/δ prezent în probele biologice umane prin citometrie în flux (consultați secțiunea „probe" de mai jos).

PRINCIPIU

Acest test se bazează pe abilitatea anticorpilor monoclonali specifici de a se lega de determinanții antigenici exprimați de leucocite.

Colorarea specifică a leucocitelor este efectuată prin incubarea probei cu reactivul IOTest. Eritrocitele sunt ulterior îndepărtate prin liză, iar leucocitele, care nu sunt afectate de acest proces, sunt analizate prin citometrie în flux.

Citometrul în flux măsoară difuzia luminii și fluorescența celulelor. Acesta face posibilă delimitarea populațiilor de interes în fereastra electronică definită pe o histogramă, care corelează difuzia ortogonală a luminii (Dispersia perpendiculară sau SS – Side Scatter) și difuzia luminii sub un unghi ascuțit (Dispersia pe direcția înainte sau FS – Forward Scatter). Alte histograme care combină doi dintre parametrii diferiți disponibili pe citometru pot fi utilizate ca suporturi în faza de stabilire a porților (gating) în funcție de aplicația aleasă de către utilizator.

Fluorescența celulelor delimitate se analizează pentru distingerea evenimentelor colorate pozitiv de cele necolorate. Rezultatele sunt exprimate ca procentaj de evenimente pozitive în raport cu toate evenimentele obținute de gating.

UTILIZATOR PRECONIZAT

Acest produs este destinat utilizării profesionale în laborator.

RELEVANȚĂ CLINICĂ

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC este un anticorp Anti-TCR PAN γ/δ utilizat pentru a identifica și caracteriza celulele care exprimă antigenul TCR γ/δ prin citometrie în flux. Acest produs în sine nu poate și nu este conceput pentru a genera concluzii cu rol de diagnostic.

Atunci când este utilizat în combinație cu alți markeri, acest produs poate fi utilizat pentru una sau mai multe dintre următoarele funcții:

- Pentru a ajuta la obținerea unui diagnostic diferențial pentru pacienții cu anormalități hematologice suspecți de neoplasm hematopoietic și la monitorizarea pacienților cu neoplasm hematopoietic diagnosticat.
- Pentru a monitoriza pacienții diagnosticați cu boli sau tulburări autoimune.

Consultați următoarele referințe:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROBE

Sângele venos trebuie recoltat utilizând eprubete sterile care conțin o sare de EDTA drept anticoagulant.

Se recomandă păstrarea probelor la temperatura camerei (18–25°C). Acestea nu se vor scutura. Se recomandă omogenizarea probelor prin agitare ușoară înainte de recoltarea probei de test.

Proba trebuie analizată în decurs de 24 de ore de la puncția venoasă.

CONCENTRAȚIE

Consultați certificatul de analiză specific lotului la adresa www.beckman.com.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Nu utilizați reactivul după data expirării.
2. Nu congelați.
3. Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei (18–25°C).
4. Reduceți la minimum expunerea la lumină.
5. Evitați contaminarea microbiană a reactivilor. În caz contrar, se pot obține rezultate false.
6. Soluțiile de anticorpi care conțin azidă de sodiu (NaN_3) trebuie manipulate cu atenție. A nu se ingera și a se evita contactul cu pielea, mucoasele și ochii.

În plus, într-un mediu acid, azida de sodiu poate forma acid hidrazoic, un compus potențial periculos. Dacă este necesară eliminarea reactivului, se recomandă ca acesta să fie diluat într-un volum mare de apă înainte de a fi vărsat în sistemul de canalizare pentru a evita acumularea de azidă de sodiu în conductele metalice și pentru a preveni riscul de explozie.

7. Toate probele de sânge trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie manipulate cu grijă (în special: purtarea de mănuși de protecție, halate și ochelari de protecție).
8. Nu pipetați niciodată cu gura și evitați contactul probelor cu pielea, mucoasele și ochii.
9. Eprubetele pentru sânge și materialele de unică folosință utilizate pentru manipulare trebuie eliminate în recipiente ad-hoc destinate incinerării.
10. Reactivii și deșeurile trebuie eliminați în conformitate cu cerințele locale.

CLASIFICAREA RISCURILOR ÎN SISTEMUL GHS

Nu este clasificat ca periculos

SDS Fișa tehnică de securitate este disponibilă la beckmancoulter.com/techdocs

DEPOZITAREA ȘI STABILITATEA

Înainte și după desigilarea fiolei, acest reactiv trebuie păstrat la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C într-un loc ferit de lumină.

Perioada de valabilitate în fiolă închisă în conformitate cu studiul de stabilitate: 1095 zile.

Stabilitatea fiolei desigilate: reactivul este stabil timp de 180 (de) zile.

DOVADĂ DE DETERIORARE

Orice modificare a aspectului fizic al reactivilor poate indica degradarea. În acest caz, nu se recomandă utilizarea reactivului.

Pentru informații suplimentare sau dacă s-a primit un produs deteriorat, sunați la Serviciul Clienți Beckman Coulter la 800-742-2345 (SUA sau Canada) sau contactați-vă reprezentantul Beckman Coulter local.

CONȚINUT

Azida de sodiu folosită drept conservant poate forma compuși cu risc de explozie în conductele de drenaj metalice. Consultați buletinul informativ al NIOSH: Explosive Azide Hazard (Azidă cu risc de explozie) (08/16/76).
Pentru a evita posibila acumulare de compuși de azidă, spălați cu apă conductele pentru evacuarea deșeurilor după eliminarea reactivului nediluat. Eliminarea azidei de sodiu trebuie realizată în conformitate cu reglementările locale aplicabile.

MATERIALE NECESARE, DAR NEFURNIZATE CU SETUL:

- Eprubete pentru probe și materiale necesare pentru prelevarea probelor.
- Pipete automate cu vârfuri de unică folosință pentru 20, 100 și 500 µl.
- Eprubete din plastic pentru hemoliză.
- Reactiv de liză a eritrocitelor cu faza de spălare după liză. De exemplu: VersaLyse (ref. A09777).
- Reactiv de fixare a leucocitelor. De exemplu: Soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800).
- Ser de control izotipic FITC: Reactiv IOTest (ref. A07795).
- Soluție tampon (PBS: 0,01 mol de fosfat de sodiu; 0,145 mol de clorură de sodiu; pH 7,2).
- Centrifugați.
- Agitator automat (tip Vortex).
- Citometru de flux.

PROCEDURA CU REACTIVUL VERSALYSE

Pentru fiecare probă analizată, în afară de eprubeta de testare, poate fi adăugată o eprubetă de ser de control în care celulele sunt amestecate în prezența serurilor de control izotipic (ref. A07795).

1. Adăugați 20 µl de anticorp conjugat IOTest specific în fiecare eprubetă de test și, dacă este necesar, 20 µl de ser de control izotipic în fiecare eprubetă cu ser de control.
2. Adăugați 100 µl de probă de test în fiecare eprubetă. Amestecați cu grijă eprubetele în agitatorul vortex.
3. Incubați timp de 15–20 de minute la temperatura camerei (18–25°C) într-un loc ferit de lumină.
4. Apoi efectuați liza eritrocitelor. Consultați prospectul VersaLyse (ref. A09777) și urmați, de preferat, procedura denumită „cu fixare concomitentă”, care constă în adăugarea a 1 ml de amestec „Fixare și liză” preparat extemporaneu. Amestecați imediat în agitatorul vortex timp de o secundă și incubați timp de 10 minute la temperatura camerei, într-un loc ferit de lumină.
5. Centrifugați timp de 5 minute la 150 x g la temperatura camerei.
6. Îndepărtați supernatantul prin aspirare.
7. Resuspendați peleta de celule utilizând 3 ml de PBS.
8. Repetați pasul 5.
9. Îndepărtați supernatantul prin aspirare și resuspendați peleta de celule utilizând:

- 0,5 ml sau 1 ml de PBS plus 0,1% formaldehidă dacă preparatele trebuie păstrate mai puțin de 24 (de) ore. (O soluție PBS cu 0,1% formaldehidă poate fi obținută prin diluarea unei cantități de 12,5 µl de soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800) la concentrația sa de 10X în 1 ml de PBS).
- 0,5 ml sau 1 ml de PBS fără formaldehidă, dacă preparatele trebuie analizate în decurs de 2 (de) ore.

Observație: În toate cazurile, păstrați preparatele la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C, în locuri ferite de lumină.

VALORI PRECONIZATE

În laboratoarele noastre, probele de sânge integral de la 25 donatori aparent sănătoși au fost tratate utilizându-se reactivul descris mai sus și un reactiv de separare. Rezultatele obținute pentru numărul de evenimente pozitive de interes cu acest reactiv sunt date în tabelul de mai jos:

Ținta pozitivă	Număr	Medie (%)	SD (deviație standard)	CV (%)
Limfocite CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Aceste valori au doar caracter exemplificativ. Fiecare laborator trebuie să stabilească propriile valori așteptate de la populația locală de donatori normali.

PERFORMANȚĂ

Datele de performanță se obțin folosindu-se procedeul descris mai sus și un reactiv de separare pe probe de sânge recoltate cu mai puțin de 24 ore înainte în eprubete sterile cu sare EDTA ca anticoagulant. Analiza este efectuată în decurs de 2 ore de la imunocolorare.

SPECIFICITATE

TCR este un complex molecular care are două unități: o unitate de recunoaștere, compusă dintr-un heterodimer alpha-beta sau gamma delta, prezentă la suprafața celulei într-o manieră mutual exclusivă, și o unitate transductoare, complexul CD3, comună heterodimerilor alpha-beta și gamma-delta, care declanșează celula T atunci când unitatea de recunoaștere este ocupată de un antigen. Unitatea de recunoaștere recunoaște antigenii străini, iar diversitatea necesară acestei funcții este generată de recombinarea somatică a genelor TCR (11, 12, 13).

Există patru loci de gene TCR (alfa, beta, gamma și delta). Fiecare dintre acestea este compus din mai multe segmente V (variabile), codând aproximativ 90 de aminoacizi, segmente D (diversitate) foarte scurte (numai pentru locii α și delta) și segmente J (joining) scurte (aproximativ 15 aminoacizi) și unul sau două segmente C (constant) (14, 15). Majoritatea celulelor T prezintă proteina TCR (receptor celular T) alfa/beta și o mică populație de celule T prezintă TCR gamma/delta, care are de obicei un fenotip dublu negativ (CD4/CD8).

Celulele T gamma/delta sunt în mod normal prima linie de apărare în suprafețele epidermale și epiteliale și reprezintă 10–12% din limfocitele din splină (16). IMMU 510 recunoaște toatele celulele T gamma/delta, indiferent de diferitele gene sau regiuni de joncțiune pe care acestea le prezintă, așa cum s-a demonstrat în studiile de imunofluorescență de flux pe linii de celule T gamma/delta policlonale, precum și pe clone de celule T gamma/delta (17, 18, 19, 20, 21).

PRECIZIE

Valorile procentuale pozitive au fost stabilite folosind sânge integral. Fiecare probă a fost analizată de 4 ori, de două ori pe zi timp de 1 zi, pe 2 instrumente, folosind 2 loturi de reactivi cu anticorp monoclonal Anti-TCR PAN γ/δ-FITC. Măsurătorile (% pozitive) au fost efectuate pe un citometru în flux Navios. Analiza a fost efectuată în conformitate cu metoda CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluarea performanței de precizie a metodelor de măsurare cantitativă).

Criteriile noastre de acceptare depind de numărul de evenimente pozitive măsurate pentru fiecare populație:

- Dacă evenimentul pozitiv < 1500, CV < 15%
- Dacă evenimentul pozitiv > 1500, CV < 10%

Limfocite CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Număr de evenimente pozitive (medie) = 961							
	Inter-operator	Inter-citometru	Intra-lot	Inter-lot	Inter-ciclu	Intra-testare	Total
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
REZULTATE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACURATEȚE

Acuratețea Anti-TCR PAN γ/δ-FITC a fost evaluată prin compararea rezultatelor cu un reactiv de referință ca predicat pe un set de probe de sânge integral analizate cu un citometru în flux Navios. Eroarea sistematică dintre test și reactivul de referință a fost determinată în funcție de diferența dintre rezultatele testului. Dacă eroarea sistematică se încadrează în intervalul de eroare permis sau dacă valoarea p nu indică o diferență semnificativă (> 0,05), rezultatele testului pentru cei doi reactivi sunt considerate ca fiind echivalente.

Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul de mai jos:

Număr de donatori = 25				
Ținta pozitivă	Medie Δ	Criterii celulă Δ%	Valoarea p	REZULTATE
Limfocite CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

LIMITA DE BLANC ȘI LIMITA DE DETECȚIE

A fost realizat un studiu în conformitate cu documentul CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluarea capacității de detecție în cazul procedurilor de măsurare din laborator). Limita de detecție (LOD) este cea mai redusă concentrație de analit care poate fi detectată în mod constant. Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul următor:

Positive Target	Limită de blanc (celulă/µl)	Limită de detecție (celulă/µl)
Limfocite CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

LIMITĂRI

1. Citometria în flux poate furniza rezultate false dacă citometrul nu a fost aliniat perfect, dacă scurgerile de fluorescență nu au fost compensate corect și dacă regiunile nu au fost poziționate corect.
2. Este de preferat să se utilizeze o tehnică de liză a eritrocitelor (RBC) cu o etapă de spălare, deoarece acest reactiv nu a fost optimizat pentru tehnici de liză „fără spălare”.
3. Se vor obține rezultate corecte și reproductibile dacă procedurile utilizate respectă prospectul tehnic și bunele practici de laborator.
4. Anticorpul conjugat din acest reactiv este calibrat astfel încât să ofere cel mai bun raport semnal specific/semnal nespecific. Prin urmare, este important ca la fiecare test să se respecte raportul volum de reactiv/volum de probă.

5. În cazul unei hiperleucocitoze, diluați sângele în PBS astfel încât să obțineți o valoare de aproximativ 5 x 10^9 leucocite/l (22).
6. În anumite stări patologice, cum ar fi insuficiența renală severă sau hemoglobinopatiile, liza eritrocitelor poate fi lentă, incompletă sau chiar imposibilă. În acest caz, se recomandă izolarea celulelor mononucleare cu ajutorul unui gradient de densitate (de exemplu, Ficoll), înainte de colorare (23).
7. În cazul pacienților tratați cu terapii cu anticorp monoclonal anti-uman, detecția antigenilor specifici țintiți poate fi diminuată sau absentă din cauza blocării parțiale sau complete asigurată de anticorpul terapeutic.
8. Rezultatele Anti-TCR PAN γ/δ-FITC trebuie interpretate în lumina prezentării clinice integrale a pacientului, inclusiv: simptome, istoric clinic, date din teste suplimentare și alte informații corespunzătoare.

Consultați Anexa pentru exemple și referințe.

MĂRCI COMERCIALE

Beckman Coulter, logoul stilizat și mărcile de produse și servicii Beckman Coulter menționate aici sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Beckman Coulter, Inc. în Statele Unite și în alte țări.

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

În cazul unui pacient/utilizator/terț aflat în Uniunea Europeană sau în țări cu un regim de reglementare identic (Regulamentul 2017/746/UE privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro); dacă, în timpul utilizării acestui dispozitiv sau în urma utilizării acestuia, are loc un incident grav, raportați acest incident către producător și/sau reprezentantul său autorizat și către autoritatea națională din țara dvs.

Rezumatul secțiunilor Siguranță și Performanță este disponibil din baza de date EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORICUL REVIZUIRILOR

REVIZIA AE:	Data publicării: Octombrie 2019

REVIZIE	**Data publicării**
AW	Mai 2022
Se actualizează pentru a respecta politica globală de etichetare Beckman Coulter și cerințele regulamentului IVD-R (UE) 2017/746:	
Secțiuni adăugate	Număr BSI 2797, Utilizator propus, Relevanță clinică, Concentrație, Precizie, Acuratețe, Limita de blanc și limita de detecție, Informații suplimentare, Istoric revizuiri.
Informații adăugate	Consultați secțiunile Limitări
Actualizări referitoare la frazare și tipografice	Consultați secțiunile Procedură, Performanță, Limitări, Avertizări și măsuri de precauție, Depozitare și stabilitate.
Secțiuni eliminate	Exemplu de utilizări clinice, Reactivi, Reproductibilitate intralaborator, Liniaritate
Secțiuni actualizate	Utilizare propusă, Clasificarea riscurilor în sistemul GHS, Dovadă de deteriorare, Procedură, Anexă.

REVIZIE	**Data publicării**
AX	Martie 2023
Secțiuni actualizate	A fost adăugată limba kazahă
Secțiuni actualizate	Depozitare și stabilitate

Versiunea revizuită	AY
Data revizuirii	Mai 2024
Au fost actualizate traducerile	**Relevanță clinică:**
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Versiunea revizuită	AZ
Data revizuirii	Iulie 2024
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Cheie simboluri

Glosarul de simboluri este disponibil la beckman.com/techdocs (număr document B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	TCR γ/δ
Klon	IMMU510
Hibridom	X63 x balb/c
Imunogen	Soluble γ/δ receptor
Imunoglobulin	IgG1
Vrsta	Miš
Prečiščevanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate
Molarno razmerje	FITC/Ig: 4 - 6,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisij	525 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA in 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano protitelo Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 testov; 1 ml, 20 µl/test

Za diagnostično uporabo *in vitro*.

NAMEN UPORABE

To protitelo, konjugirano s fluorokromi, omogoča kvalitativno in neavtomatizirano identifikacijo celičnih populacij, ki izražajo antigen TCR γ/δ, prisoten v človeških bioloških vzorcih, z uporabo pretočne citometrije (oglejte si poglavje »Vzorci« spodaj).

NAČELO

Ta test temelji na sposobnosti specifičnih monoklonskih protiteles, da se vežejo na antigenske determinante, ki jih izražajo levkociti.

Specifično barvanje levkocitov izvedemo z inkubacijo vzorca z reagentom IOTest. Rdeče krvničke nato odstranimo z lizo, levkocite, na katere ta proces ne vpliva, pa analiziramo s pretočno citometrijo.

Pretočni citometer meri difuzijo svetlobe in fluorescenco celic. Omogoča razmejitev opazovane populacije v elektronskem oknu, opredeljenem v histogramu, ki je povezan z ortogonalno difuzijo svetlobe (stransko sipanje ali SS) in difuzijo svetlobe pri majhnemu kotu (sipanje naprej ali FS). Glede na uporabo, ki jo izbere uporabnik, lahko druge histograme, ki uporabljajo kombinacijo dveh različnih parametrov, ki so na voljo na citometru, uporabimo kot nosilce v fazi uokvirjanja.

Fluorescenco razmejenih celic analiziramo z namenom razlikovanja med pozitivno obarvanimi dogodki in tistimi, ki niso obarvani. Rezultati so izraženi kot odstotek pozitivnih dogodkov glede na vse dogodke, pridobljene z uokviranjem.

PREDVIDENI UPORABNIK

Izdelek je namenjen profesionalni laboratorijski uporabi.

KLINIČNI POMEN

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC je protiteloAnti-TCR PAN γ/δ, ki se uporablja za identifikacijo in karakterizacijo celic, ki izražajo antigen TCR γ/δ s pomočjo pretočne citometrije. Ta izdelek sam ne more ustvariti in ni namenjen za ustvarjanje kakršnih koli diagnostičnih zaključkov.

Če se izdelek uporablja v kombinaciji z drugimi označevalci, se lahko uporablja pri eni ali več naslednjih funkcij:

- Uporablja se kot pripomoček pri diferencialnem diagnosticiranju hematološko neobičajnih bolnikov, pri katerih obstaja sum, da imajo hematopoetsko neoplazmo, in za spremljanje bolnikov z znano hematopoetsko neoplazmo.
- Za spremljanje bolnikov z znano avtoimunsko boleznijo ali motnjo.

Oglejte si naslednje reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

VZORCI

Pri jemanju venske krvi je treba uporabiti sterilne epruvete, ki vsebujejo sol EDTA kot antikoagulant.

Vzorce je treba hraniti pri sobni temperaturi (18–25 °C) in jih ni dovoljeno pretresati. Vzorce je treba homogenizirati z rahlim stresanjem pred odvzemom testnega vzorca.

Vzorce je treba analizirati v 24 urah po venepunkciji.

KONCENTRACIJA

Oglejte si ustrezen certifikat o analizi za izbrano serijo na spletni strani www.beckman.com.

OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI

1. Ne uporabljajte reagenta po izteku roka uporabnosti.
2. Ne zamrzujte.
3. Pred uporabo počakajte, da se ogrejejo na sobno temperaturo (18–25 °C).
4. Čim manj izpostavljajte svetlobi.
5. Preprečite mikrobno kontaminacijo reagentov, sicer lahko pride do napačnih rezultatov.
6. Z raztopinami protiteles, ki vsebujejo natrijev azid (NaN_3), je treba ravnati previdno. Ne zaužijte in se izogibajte vsakršnemu stiku s kožo, sluznico in očmi.

Poleg tega lahko natrijev azid v kislem mediju tvori potencialno nevaren vodikov azid. Če ga je treba odstraniti, je reagent priporočljivo razredčiti z veliko količino vode pred izlivanjem v kanalizacijo, da bi se izognili kopičenju natrijevega azida v kovinskih ceveh in preprečili nevarnost eksplozije.

7. Vse vzorce krvi je treba obravnavati kot potencialno kužne in je treba z njimi ravnati previdno (predvsem je treba nositi zaščitne rokavice, halje in očala).
8. Nikoli ne pipetirajte z usti in se izogibajte vsakršnemu stiku vzorcev s kožo, sluznico in očmi.
9. Epruvete za kri in material za enkratno uporabo je treba odstraniti v zabojnike na licu mesta, namenjene sežigu.
10. Reagente in odpadke je treba odstraniti skladno z lokalnimi predpisi.

KLASIFIKACIJA NEVARNOSTI PO GHS

Ni razvrščeno kot nevarno

SDS Varnostni list je na voljo na povezavi beckmancoulter.com/techdocs

SHRANJEVANJE IN OBSTOJNOST

Ta reagent je treba shranjevati pri temperaturi od 2 do 8 °C in zaščiteno pred svetlobo pred odprtjem vial in po njem.

Rok uporabnosti zaprte viale po študiji stabilnosti: 1095 dni.

Stabilnost odprte stekleničke: reagent je stabilen 180 dni.

DOKAZ O POSLABŠANJU STANJA

Vsaka sprememba fizičnega videza reagentov lahko kaže na poslabšanje stanja in reagenta ni dovoljeno uporabljati.

Za dodatne informacije ali ob prejemu poškodovanega izdelka pokličite službo za pomoč strankam družbe Beckman Coulter na številko 800-742-2345 (ZDA ali Kanada) ali se obrnite na lokalnega predstavnika podjetja Beckman Coulter.

VSEBINA

Konzervans iz natrijevega azida lahko tvori eksplozivne spojine v kovinskih odvodnih ceveh. Oglejte si NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16. 8. 76) (Nevarnost eksplozivnih azidov).
Da bi se izognili morebitnemu kopičenju azidnih spojin, po odstranjevanju nerazredčenega reagenta sperite odtočne cevi z vodo. Odstranjevanje natrijevega azida mora biti skladno z ustreznimi lokalnimi predpisi.

POTREBEN MATERIAL, KI NI PRILOŽEN V KOMPLETU:

- Epruvete za vzorčenje in material, potreben za vzorčenje.
- Samodejne pipete s konicami za enkratno uporabo za 20, 100 in 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizo.
- Reagent za lizo rdečih krvničk z izpiranjem po lizi. Na primer: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagent za fiksacijo levkocitov. Na primer: fiksirna raztopina IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotipska kontrola FITC: Reagent IOTest (Ref. A07795).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijev fosfat; 0,145 M natrijev klorid; pH 7,2).
- Centrifugirajte.
- Samodejni stresalnik (za stresanje).
- Pretočni citometer.

POSTOPEK Z REAGENTOM VERSALYSE

Za vsak analizirani vzorec lahko poleg testne epruvete dodamo še kontrolno epruveto, v kateri so celice pomešane v prisotnosti izotipskih kontrol (Ref. A07795).

1. V vsako testno epruveto dodajte 20 µl konjugiranih protiteles IOTest, po potrebi pa 20 µl izotipske kontrole v vsako kontrolno epruveto.
2. V vsako epruveto dodajte 100 µl testnega vzorca. Epruvete nežno stresajte.
3. Inkubirajte ga 15 do 20 minut pri sobni temperaturi (18–25 °C), zaščitenega pred svetlobo.
4. Nato izvedite lizo rdečih celic. Oglejte si brošuro VersaLyse (Ref. A09777) in po možnosti upoštevajte postopek, imenovan »s hkratno fiksacijo«, po katerem je treba dodati 1 ml mešanice »Fix-and-Lyse«, pripravljene sprotno. Takoj stresajte eno sekundo in inkubirajte 10 minut pri sobni temperaturi, zaščiteno pred svetlobo.
5. Centrifugirajte 5 minut pri 150 x g na sobni temperaturi.
6. Supernatant odstranite z aspiracijo.
7. Celično usedlino znova suspendirajte z uporabo 3 ml PBS.
8. Ponovite 5. korak.
9. Supernatant odstranite z aspiracijo in znova suspendirajte celično usedlino z uporabo:

- 0,5 ml ali 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehida, če je pripravke treba hraniti manj kot 24 ur. (0,1-% formaldehid PBS lahko dobimo z redčenjem 12,5 µl fiksirne raztopine IOTest 3 (Ref. A07800) pri njeni 10X koncentraciji v 1 ml PBS).
- 0,5 ml ali 1 ml PBS brez formaldehida, če je pripravke treba analizirati v 2 urah.

Opomba: v vseh primerih pripravke hranite na temperaturi od 2 do 8 °C in zaščitite pred svetlobo.

PRIČAKOVANE VREDNOSTI

V naših laboratorijih smo z zgoraj opisanim reagentom in prehodnim reagentom obdelali vzorce polne krvi 25 na videz zdravih darovalcev. Rezultati, pridobljeni s štetjem pozitivnih dogodkov, ki nas zanimajo v zvezi s tem reagentom, so navedeni v spodnjih preglednicah:

Pozitivna tarča	Številka	Povprečje (%)	SD (SO)	CV (%)
Limfociti CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Te vrednosti so zgolj reprezentativne. Vsak laboratorij mora določiti lastne pričakovane vrednosti za lokalno populacijo običajnih darovalcev.

USPEŠNOST

Podatke o zmogljivosti pridobimo z zgoraj opisanim postopkom in prehodnim reagentom na vzorcih krvi, starih manj kot 24 ur, ki so bili predhodno zbrani v sterilnih epruvetah s soljo EDTA kot antikoagulantom. Analiza se izvede v 2 urah po imunobarvanju.

SPECIFIČNOST

TCR je molekularni kompleks, ki ga sestavljata dve enoti: enota za prepoznavanje, sestavljena iz heterodimera alfa-beta ali gama-delta, ki sta prisotna na celični površini na medsebojno izključujoč način, in pretvorna enota, kompleks CD3, ki je skupen heterodimerom alfa-beta ali gama-delta in sproži celico T, ko je enota za prepoznavanje zasedena z antigenom (11, 12, 13).

Obstajajo štirje genski lokusi TCR (alfa, beta, gama in delta). Vsakega od njih sestavlja več segmentov V (spremenljivka, »variable«), ki se jih kodira za približno 90 aminokislin, zelo kratkih segmentov D (diverziteta, »diversity«) (le na lokusih α in delta) in kratkih segmentov J (pridruževanje, »joining«) (približno 15 aminokislin) ter en ali dva segmenta C (konstanta, »constant«) (14, 15). Večina celic T izraža beljakovino alfa/beta TCR (receptor celic T), majhna populacija celic T pa izraža gama/delta TCR, ki ima običajno dvojno negativen (CD4/CD8) fenotip.

Celice T gama/delta so običajno prva obrambna linija na epidermalnih in epitelijskih površinah in predstavljajo 10–12 % limfocitov v vranici (16). IMMU 510 prepozna vse celice T gama/delta ne glede na spremenljive gene ali stične regije, ki jih izražajo, kot je bilo ocenjeno s pretočnimi imunofluorescenčnimi študijami na poliklonskih linijah celic T gama/delta in klonih celic T gama/delta (17, 18, 19, 20, 21).

NATANČNOST

Odstotke pozitivnih vrednosti smo določili z uporabo polne krvi. Vsak vzorec je bil obravnavan štirikrat, dvakrat dnevno en dan na dveh napravah z uporabo dveh serij reagentov z monoklonskimi protitelesi Anti-TCR PAN γ/δ-FITC. Meritve (% pozitivnih) so bile opravljene na pretočnem citometru Navios. Analiza je bila izvedena na podlagi metode CLSI EP5-A2: Vrednotenje natančnosti kvantitativnih merilnih metod.

Naša merila sprejemljivosti so odvisna od števila pozitivnih dogodkov, izmerjenih za vsako populacijo:

- Če je pozitiven dogodek < 1.500, je CV < 15 %
- Če je pozitiven dogodek > 1.500, je CV < 10 %

Limfociti CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Število pozitivnih dogodkov (povprečje) = 961							
	Med upravljavci	Med citometri	Znotraj serije	Med serijami	Med postopki	Znotraj postopka	Skupaj
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost Anti-TCR PAN γ/δ-FITC smo ocenili s primerjavo rezultatov z referenčnim reagentom kot reagentom s potrjeno skladnostjo na nizu vzorcev polne krvi, obogatene s pozitivnimi celicami, obdelanimi na pretočnem citometru Navios. Odstopanje med preskusnim in referenčnim reagentom je bilo določeno na podlagi razlike med rezultati testa. Če je odstopanje znotraj dovoljenega območja napake ali vrednost p ne kaže pomembne razlike (> 0,05), se rezultati preskusov za oba reagenta štejejo za enakovredne.

Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Število darovalcev = 25				
Pozitivna tarča	Povprečje Δ	Δ % celičnega kriterija	vrednost p	REZULTATI
Limfociti CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

MEJA SLEPEGA VZORCA IN MEJA ZAZNAVANJA

Študija je bila izvedena skladno z metodo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zmogljivosti zaznavanja za merilne postopke v kliničnih laboratorijih). Meja zaznavanja (LOD) je najnižja koncentracija analita, ki jo je mogoče dosledno zaznati. Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Positive Target	Meja slepega vzorca (celic/µl)	Meja zaznavanja (celic/µl)
Limfociti CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

OMEJITVE

1. S pretočno citometrijo lahko pride do napačnih rezultatov, če citometer ni bil točno nameščen, če puščanje fluorescence ni bilo ustrezno izravnano in če območja niso bila natančno pozicionirana.
2. Priporočljivo je uporabiti tehniko liziranja RBC s korakom pranja, saj ta reagent ni optimiziran za tehnike liziranja »brez pranja«.
3. Točne in ponovljive rezultate se bo doseglo, če se bo uporabilo postopke, ki so skladni s priloženim tehničnim listom in z načeli dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugirano protitelo tega reagenta je umerjeno, tako da zagotavlja najboljše razmerje med specifičnim/nespecifičnim signalnim razmerjem. Zato je pomembno, da pri vsakem testu upoštevamo razmerje med količino reagenta/količino vzorca.

5. V primeru hiperlevkocitoze razredčite kri v PBS, da se tako dobi vrednost približno 5 x 10^9 levkocitov/l (22).
6. Pri nekaterih bolezenskih stanjih, kot je huda ledvična odpoved ali hemoglobinopatije, je lahko liza rdečih krvničk počasna, nepopolna ali celo nemogoča. V tem primeru je priporočljivo izolirati mononuklearne celice z uporabo gradienta gostote (na primer Ficoll) pred barvanjem (23).
7. Pri bolnikih, ki se zdravijo s terapijo z antihumanimi monoklonskimi protitelesi, je lahko odkrivanje specifičnih ciljnih antigenov zmanjšano ali pa ga sploh ni zaradi delnega ali popolnega blokiranja s strani terapevtskega protitelesa.
8. Rezultate Anti-TCR PAN γ/δ-FITC je treba razlagati v luči celotne klinične slike bolnika, vključno s: simptomi, anamnezo, podatki dodatnih testov in drugimi ustreznimi podatki.

Primere in reference si oglejte v prilogi.

BLAGOVNE ZNAMKE

Beckman Coulter, stiliziran logotip ter znamke izdelkov in storitev podjetja Beckman Coulter, omenjene v tem dokumentu, so blagovne znamke ali registrirane blagovne znamke podjetja Beckman Coulter, Inc. v Združenih državah Amerike in drugih državah.

DRUGI PODATKI

Za bolnike/uporabnike/tretje osebe v Evropski uniji in v državah z enakim regulativnim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskih pripomočkih za in vitro diagnostiko): če med uporabo tega pripomočka ali kot rezultat njegove uporabe pride do resnega incidenta, o tem poročajte proizvajalcu in/ali njegovemu pooblaščenemu predstavniku in svojemu nacionalnemu organu.

Summary of Safety and Performance (Povzetek o varnosti in zmogljivosti) je na voljo v bazi podatkov EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ZGODOVINA REVIZIJ

REVIDIRANA IZDAJA AE:	Datum izdaje: Oktober 2019

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AW	Maj 2022
Posodobitve za skladnost z globalno politiko označevanja Beckman Coulter in v skladu z zahtevami IVD-R (EU) 2017/746:	
Dodana poglavja	Številka BSI 2797, predvideni uporabnik, klinični pomen, koncentracija, točnost, natančnost, meja slepega vzorca in meja zaznavanja, dodatne informacije, zgodovina revizij.
Dodatne informacije	Oglejte si poglavja Omejitve
Izrazne ali tipografske posodobitve	Oglejte si poglavja Postopek, Zmogljivost, Omejitve, Opozorila in previdnostni ukrepi, Shranjevanje in stabilnost.
Odstranjena poglavja	Primer klinične uporabe, reagenti, ponovljivost znotraj laboratorija, linearnost
Posodobljena poglavja	Predvidena uporaba, Klasifikacija nevarnosti po GHS, Dokaz o poslabšanju stanja, Postopek, Priloga.

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AX	Marec 2023
Posodobljena poglavja	Dodaj kazaščino
Posodobljena poglavja	Shranjevanje in stabilnost

Revidirana različica	AY
Revidiran datum	Maj 2024
Posodobljeni prevodi	**Klinični pomen:**
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Revidirana različica	AZ
Revidiran datum	Julij 2024
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Seznam simbolov

Glosar simbolov je na voljo na beckman.com/techdocs (številka dokumenta B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	TCR γ/δ
Klon	IMMU510
Hibridom	X63 x balb/c
Imunogen	Soluble γ/δ receptor
Imunoglobulin	IgG1
Vrste	Miš
Prečišćavanje	Afinitetna hromatografija
Fluorohrom	Fluorescein isothiocyanate
Molarni odnos	FITC/Ig: 4 - 6,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisije	525 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Konjugovano antitelo Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 testova; 1 ml, 20 µl/testu

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.

NAMENA

Ovo fluorohromno-konjugovano antitelo omogućava kvalitativnu i neautomatizovanu identifikaciju ćelijskih populacija koje eksprimiraju TCR γ/δ antigen prisutnih u humanim biološkim uzorcima pomoću protočne citometrije (pogledati odeljak „Uzorci“ u nastavku).

PRINCIP

Ovaj test se zasniva na sposobnosti određenih monoklonskih antitela da se vežu za antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično bojenje leukocita se obavlja inkubiranjem uzorka sa reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utiče, analiziraju se protočnom citometrijom.

Protočni citometar meri difuziju svetlosti i fluorescenciju ćelija. On omogućava razgraničenje populacije od interesa u okviru elektronskog prozora definisanog na histogramu, što je u korelaciji sa ortogonalnom difuzijom svetlosti (bočno rasejanje ili SS) i difuzijom uskougaone svetlosti (prednje rasejanje ili FS). Drugi histogrami koji kombinuju dva različita parametra koja postoje na citometru mogu se koristiti kao podrška u fazi regulacije, u zavisnosti od primene koju je korisnik odabrao.

Fluorescencija ograničenih ćelija se analizira kako bi se razlikovali pozitivno obojeni događaji od neobojenih događaja. Rezultati su prikazani kao procenat pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobijene regulacijom.

PREDVIĐENI KORISNIK

Ovaj proizvod je namenjen za upotrebu od strane laboratorijskih stručnjaka.

KLINIČKI ZNAČAJ

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC je antitelo Anti-TCR PAN γ/δ koje se koristi za identifikovanje i karakterisanje ćelija koje izražavaju antigen TCR γ/δ putem protočne citometrije. Ovaj proizvod ne može samostalno da proizvede dijagnostičke zaključke i nije namenjen za to.

Kada se koristi u kombinaciji sa drugim markerima, ovaj proizvod može da se koristi kod jedne ili više od sledećih funkcija:

- Kao pomoć u diferencijalnoj dijagnozi kod hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu i za nadgledanje pacijenata sa poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Za nadgledanje pacijenata sa poznatom autoimunom bolesti ili poremećajem.

Pogledajte sledeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

UZORCI

Uzorci iz venske krvi moraju se uzimati sterilnim epruvetama koje sadrže EDTA so kao antikoagulans.

Uzorke treba čuvati na sobnoj temperaturi (18–25°C) i ne tresti. Uzorke treba pre uzimanja uzorka za testiranje homogenizovati blagim mešanjem.

Uzorci se moraju analizirati u roku od 24 sati od venepunkcije.

KONCENTRACIJA

Pogledajte dokument „Certificate of Analysis“ (Sertifikat analize) za određeni lot na veb-sajtu www.beckman.com.

UPOZORENJE I MERE OPREZA

1. Ne koristite reagense nakon isteka roka trajanja.
2. Ne zamrzavajte.
3. Pre upotrebe sačekajte da se približi sobnoj temperaturi (18–25°C).
4. Izbegavati izloženost svetlosti.
5. Sprečite mikrobsku kontaminaciju reagenasa ili se mogu javiti netačni rezultati.
6. Rastvorima antitela koji sadrže natrijum azid (NaN_3) treba pažljivo rukovati. Ne uzimajte interno i izbegavajte svaki dodir sa kožom, sluzokožom i očima.

Pored toga, u kiseloj sredini, natrijum azid može formirati potencijalno opasnu hidrazoinsku kiselinu. Ako je potrebno da se odloži u otpad, preporučuje se da se reagens razblaži u velikoj zapremini vode pre sipanja u sistem kanalizacije kako bi se izbeglo taloženje natrijum azida u metalnim cevima i sprečila opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno infektivnim i njima se mora pažljivo rukovati (posebno: nošenje zaštitnih rukavica, odeće i zaštitnih naočara).
8. Nikada ne pipetirajte ustima i izbegavajte svaki kontakt uzoraka sa kožom, sluzokožom i očima.
9. Epruvete za uzorak krvi i potrošni materijal koji je korišćen za rukovanje treba odložiti u ad hoc kontejnere predviđene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad treba ukloniti prema lokalnim zahtevima.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno

SDS Dokument „Bezbednosni list“ dostupan je na internet stranici beckmancoulter.com/techdocs

SKLADIŠTENJE I STABILNOST

Ovaj reagens se mora čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C i zaštićen od svetlosti, pre i posle otvaranja bočice.

Ispitivanje roka trajanja zatvorene bočice u odnosu na stabilnost: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dan(a).

DOKAZI POGORŠANJA

Bilo koja promena u fizičkom izgledu reagensa može ukazivati na pogoršanje i reagens ne treba koristiti.

Za dodatne informacije ili ako dobijete oštećen proizvod, pozovite korisnički servis kompanije Beckman Coulter na broj 800-742-2345 (SAD ili Kanada) ili pozovite svog lokalnog predstavnika kompanije Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans sa natrijum azidom može formirati eksplozivna jedinjenja u metalnim odvodnim vodovima. Pogledajte „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (16.8.76.) (Bilten Nacionalnog instituta za bezbednost i zdravlje na radu: Opasnost od eksplozivnih azida).
Da biste sprečili moguće taloženje jedinjenja azida, isperite cevi za otpad vodom nakon odlaganja u otpad nerazblaženog reagensa. Odlaganje u otpad natrijum azida mora biti u skladu sa odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI SE NE ISPORUČUJU UZ KOMPLET:

- Epruvete za uzorkovanje i materijal potreban za uzorkovanje.
- Automatske pipete sa nastavcima za jednokratnu upotrebu za 20 100 µl i 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizu.
- Reagens za liziranje eritrocita sa fazom ispiranja nakon liziranja. Na primer: VersaLyse (referentni broj A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primer: IOTest 3 fiksativni rastvor (referentni broj A07800).
- Izotipska kontrola FITC: IOTest reagens (referentni broj A07795).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijum-fosfat; 0,145 M natrijum-hlorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska mešalica (vrtložnog tipa).
- Protočni citometar.

POSTUPAK SA VERSALYSE REAGENSOM

Za svaki analiziran uzorak je pored epruvete za uzorak moguće dodati i jednu kontrolnu epruvetu u kojoj se ćelije mešaju u prisustvu izotipske kontrole (referentni broj A07795).

1. Dodajte 20 µl specifičnog IOTest konjugovanog antitela u svaku epruvetu za uzorak i, ako je to potrebno, 20 µl kontrole izotipa u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µl uzorka za testiranje u svaku epruvetu za uzorak. Pažljivo izmešajte epruvete u vrtložnoj mešalici.
3. Inkubirajte 15 do 20 minuta na sobnoj temperaturi (18–25°C), zaštićeno od svetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje crvenih ćelija. Pogledajte VersaLyse (referentni broj A09777) letak i poželjno pratite postupak pod nazivom „sa istovremenom fiksacijom“, koji se sastoji od dodavanja 1 ml nezavisno pripremljene smeše za fiksiranje i liziranje („Fix-and-Lyse“). Odmah izmešajte u vrtložnoj mešalici jednu sekundu i inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi, zaštićeno od svetlosti.
5. Centrifugirajte 5 minuta na 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Ponovo suspendujte talog ćelija u 3 ml PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Aspiracijom uklonite supernatant i ponovo suspendujte talog ćelija u:

- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a plus 0,1% formaldehida ako će se preparati čuvati kraće od ovog broja sati: 24. (PBS sa 0,1% formaldehida može se dobiti razblaživanjem 12,5 µl IOTest 3 rastvora za fiksiranje (referentni broj A07800) u 10X koncentraciji u 1 ml PBS-a).
- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a bez formaldehida ako će se preparati analizirati u roku od ovog broja sati – 2.

Napomena: U svim slučajevima preparate čuvajte na temperaturi između 2°C i 8°C i zaštićene od svetlosti.

OČEKIVANE VREDNOSTI

U našim laboratorijama, uzorci pune krvi od 25 naizgled zdravih donora tretirani su pomoću reagensa opisanog iznad i reagensa za gejting. Dobijeni rezultati u pozitivnim slučajevima od važnosti sa ovim reagensom dati su u tabeli ispod:

Pozitivan cilj	Broj	Srednja vrednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Ove vrednosti treba da služe samo kao reprezentativne vrednosti. Svaka laboratorija treba da uspostavi sopstvene očekivane vrednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o učinku dobijeni su primenom postupka opisanog iznad i reagensa za gejting na uzorcima krvi starim manje od 24 sata koji su prethodno prikupljeni u sterilne epruvete sa EDTA soli kao antikoagulansom. Analiza je obavljena u roku od 2 sata nakon imunobojenja.

SPECIFIČNOST

TCR je molekulski kompleks koji se sastoji od dve jedinice: jedinice za prepoznavanje, sastavljene ili od alfa-beta ili od gama-delta heterodimera, koji su prisutni na površini ćelije na međusobno isključujući način, i prenosne jedinice, CD3 kompleksa, koja je uobičajena za alfa-beta i gama-delta heterodimere, koja aktivira T ćeliju kada je jedinica za prepoznavanje zauzeta antigenom. Jedinica za prepoznavanje prepoznaje strane antigene i raznovrsnost potrebna za ovu funkciju prepoznavanja generiše se somatskom rekombinacijom TCR gena (11, 12, 13).

Postoje četiri položaja TCR gena (alfa, beta, gama i delta). Svaki od njih se sastoji od nekoliko V (promenljivih) segmenata, kodiranja za oko 90 aminokiselina, veoma kratkih D (različitih) segmenata (samo α i δ položaji) i kratkih J (spojnih) segmenata (oko 15 aminokiselina) i jednog ili dva C (konstantna) segmenta (14, 15). Većina T ćelija eksprimira alfa/beta TCR (T-ćelijski receptor) protein a mala populacija T ćelija eksprimira gama/delta TCR, koji obično ima dvostruko negativan (CD4/CD8) fenotip.

Gama/delta T ćelije su obično prva linija odbrane na epidermalnim i epitelnim površinama i one predstavljaju 10–12% limfocita u slezini (16). IMMU 510 prepoznaje sve gama/delta T ćelije nezavisno od promenljivih gena ili regiona spajanja koje eksprimiraju, što je utvrđeno u studijama protočne imunofluorescencije na poliklonalnim gama/delta lozama T ćelije, kao i na gama/delta klonovima T ćelije (17, 18, 19, 20, 21).

PRECIZNOST

Pozitivne vrednosti procenta su utvrđene korišćenjem pune krvi. Svaki uzorak je analiziran 4 puta, dva puta dnevno tokom 1 dana na 2 instrumenta uz korišćenje 2 partije reagenasa za monoklonsko antitelo Anti-TCR PAN γ/δ-FITC. Merenja (pozitivni %) napravljena su na protočnom citometru Navios. Analiza je izvršena na osnovu CLSI metoda EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluacija preciznog utvrđivanja performansi kvantitativnih metoda merenja).

Naši kriterijumi prihvatljivosti zavise od broja pozitivnih događaja izmerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivan događaj <1.500, CV <15%
- Ako je pozitivan događaj >1.500, CV <10%

Limfociti CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrednost) = 961							
	Između više operatera	Između više citometara	Unutar jednog lota	Između više lotova	Između više analiziranja	Unutar jednog analiziranja	Ukupno
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TAČNOST

Tačnost za Anti-TCR PAN γ/δ-FITC je utvrđena poređenjem rezultata sa referentnim reagensom kao iskazom na nizu uzoraka pune krvi koji su analizirani na protočnom citometru Navios. Odstupanje između testa i referentnog reagensa utvrđeno je na osnovu razlike između rezultata testova. Ako je odstupanje u okvirima dozvoljenog opsega greške ili p-vrednost ne ukazuje na značajnu razliku (>0,05), onda se rezultati testova za dva reagensa smatraju ekvivalentnim.

Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivan cilj	Srednja vrednost Δ	Δ % ćelijskih kriterijuma	p-vrednost	REZULTATI
Limfociti CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

LIMIT SLEPE PROBE I LIMIT DETEKCIJE

Izvršeno je ispitivanje u skladu s protokolom CLSI EP17-A2, „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Procena sposobnosti detekcije za postupke merenja u kliničkoj laboratoriji). Limit detekcije (LoD) je najniža koncentracija analita koja se može dosledno detektovati. Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli:

Positive Target	Limit slepe probe (ćelija/µl)	Limit detekcije (ćelija/µl)
Limfociti CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti netačne rezultate ako citometar nije pravilno postavljen, ako fluorescentna curenja nisu ispravno kompenzirana ili ako regioni nisu pažljivo postavljeni.
2. Poželjno je koristiti tehniku liziranja RBC sa korakom ispiranja jer ovaj reagens nije optimizovan za tehnike liziranja „bez pranja“.
3. Tačni i ponovljivi rezultati će se dobijati sve dok su korišćeni postupci u skladu sa listom sa tehničkim podacima i postupci kompatibilni sa smernicama dobre laboratorijske prakse.

4. Konjugovano antitelo ovog reagensa je kalibrisano tako da ponudi najbolji odnos specifičnog i nespecifičnog signala. Prema tome, važno je u svakom testu koristiti utvrđeni odnos zapremine reagensa i zapremine uzorka.
5. U slučaju hiperleukocitoze, razredite krv u PBS-u kako biste dobili vrednost od približno 5 x 10^9 leukocita/l (22).
6. U određenim stanjima bolesti, kao što su teška bubrežna insuficijencija ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak nemoguće. U tom slučaju se pre bojenja preporučuje izoliranje mononuklearnih ćelija upotrebom gradijenta gustine (na primer, fikol) (23).
7. Kod pacijenata lečenih terapijama antihumanim monoklonskim antitelima, detekcija specifičnih ciljanih antigena može biti umanjena ili odsutna usled delimične ili potpune blokade od strane terapijskog antitela.
8. Rezultate Anti-TCR PAN γ/δ-FITC testa treba tumačiti u svetlu celokupne kliničke slike pacijenta, uključujući: simptome, kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i druge prikladne informacije.

Za primere i referentne materijale pogledati Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizovani logotip i Beckman Coulter robni i servisni žigovi koji se navode u ovom dokumentu jesu žigovi ili registrovani žigovi kompanije Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim zemljama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta/korisnika/treću stranu u Evropskoj uniji i zemljama sa identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o in vitro dijagnostičkim medicinskim sredstvima); ako je tokom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe došlo do ozbiljnog incidenta, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlašćenom predstavniku i svom nacionalnom organu.

Dokument Summary of Safety and Performance (Sažetak informacija o bezbednosti i učinku) dostupan je u EUDAMED bazi podataka: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORIJA REVIZIJA

REVIZIJA AE:	Datum izdavanja: Oktobar, 2019.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AW	Maj 2022.
Ažurirano radi usklađenosti sa smernicama za globalno obeležavanje kompanije Beckman Coulter u skladu sa zahtevima IVD-R (EU)2017/746:	
Dodati odeljci	BSI 2797 broj, Predviđeni korisnik, Klinički značaj, Koncentracija, Preciznost, Tačnost, Limit slepe probe i limit detekcije, Dodatne informacije, Istorija revizija.
Dodate informacije	Pogledati odeljke Ograničenja
Ažuriranje formulacija ili tipografije	Pogledati odeljke Postupak, Učinak, Ograničenja, Upozorenja i mere opreza, Čuvanje i stabilnost.
Uklonjeni odeljci	Primeri kliničkih primena, Reagensi, Intralaboratorijska reproducibilnost, Linearnost
Dopunjeni odeljci	Namena, GHS klasifikacija opasnosti, Dokaz propadanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AX	Mart 2023
Dopunjeni odeljci	Dodajte kazaški
Dopunjeni odeljci	Skladištenje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Maj 2024
Ažurirani prevodi	**Klinički značaj:**
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Jul 2024
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Ključ za simbole

Rečnik simbola je dostupan na adresi beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Specifikācijas
Specifika	TCR γ/δ
Klons	IMMU510
Hibridoma	X63 x balb/c
Imunogēns	Soluble γ/δ receptor
Imūnglobulīns	IgG1
Suga	Pele
Attīrīšana	Radniecības noteikšanas hromatogrāfija
Fluorohroms	Fluorescein isothiocyanate
Molārā attiecība	FITC/Ig: 4 - 6,5
λ ierosme	488 nm
Izstarojuma lielākā vērtība	525 nm
Buferšķīdums	PBS pH 7,2 ar 2 mg/ml BSA un 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugētā antiviela
Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 testi; 1 ml, 20 µl uz testu

***In vitro* diagnostikas lietošanai.**

PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

Ar fluorohromu konjugētā antiviela nodrošina tādu šūnu populāciju kvalitatīvo un neautomatizēto noteikšanu, kam ir TCR γ/δ antigēna ekspresija un kas ir cilvēka bioloģiskajos paraugos, izmantojot plūsmas citometriju (skatīt tālāk sadaļu „Paraugi").

PRINCIPS

Šī testa pamatā ir specifisku monoklonālu antivielu spēja saistīties ar leikocītu izdalītām antigēnu determinantēm.

Leikocītu specifiskā iekrāsošana tiek veikta, inkubējot paraugu ar IOTest reaģentu. Pēc tam eritrocīti tiek atdalīti lizēšanas procesā, un leikocīti, ko šis process neietekmē, tiek analizēti, izmantojot plūsmas citometriju.

Plūsmas citometrs mēra gaismas difūziju un šūnu fluorescenci. Tādēļ ir iespējama interesējošās populācijas ierobežošana elektroniskajā logā, kas definēts histogrammā, kas korelē ar gaismas ortogonālo difūziju (sānu izkliede jeb SS) un šaurleņķa gaismas difūziju (priekšējā izkliede jeb FS). Kā papildu metodes sinhronizācijas procesā iespējams izmantot citas histogrammas, kurās iespējams kombinēt divus dažādus citometrā pieejamos parametrus atkarībā no lietotāja izvēlētā izmantojuma.

Tiek analizēta atdalīto šūnu fluorescence, lai atšķirtu pozitīvi iekrāsotos notikumus no neiekrāsotajiem. Rezultāti tiek izteikti kā procentuālais lielums no pozitīviem notikumiem attiecībā pret visiem notikumiem, kas iegūti selekcijā.

PAREDZĒTAIS LIETOTĀJS

Šis produkts ir paredzēts profesionālai lietošanai laboratorijā.

KLĪNISKAIS NOZĪMĪGUMS

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC ir Anti-TCR PAN γ/δ antiviela, kas tiek izmantota, lai ar plūsmas citometriju noteiktu un raksturotu šūnas, kas ekspresē TCR γ/δ antigēnus. Ar vienu pašu šo produktu nevar iegūt nekādu diagnostisku secinājumu, un tas nav tam paredzēts.

Izmantojot kopā ar citiem marķieriem, šo izstrādājumu var lietot vienai vai vairākām tālāk norādītajām funkcijām.

- Lai palīdzētu veikt diferenciāldiagnostiku pacientiem ar hematoloģiskām patoloģijām, kuriem, iespējams, ir asinsrades neoplazma, un lai kontrolētu pacientus ar zināmu asinsrades neoplazmu.
- Lai kontrolētu pacientus ar zināmu autoimūnu slimību vai traucējumiem.

Skatiet tālāk sniegtās atsauces.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PARAUGI

Venozās asinis jāņem, izmantojot sterilas mēģenes, kurās kā antikoagulants ir izmantots EDTA sāls.

Paraugi ir jāuzglabā istabas temperatūrā (18–25 °C), un tos nedrīkst sakratīt. Pirms testa parauga ņemšanas ir jāveic paraugu homogenizācija, viegli saskalojot paraugus.

Paraugu analīze ir jāveic 24 stundu laikā pēc vēnas punkcijas.

KONCENTRĀCIJA

Konkrētai partijai atbilstošo analīzes sertifikātu skatiet vietnē www.beckman.com.

BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

1. Neizmantojiet reaģentu pēc derīguma termiņa beigām.
2. Nedrīkst sasaldēt.
3. Pirms izmantošanas ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai (18–25 °C).
4. Minimizējiet ekspozīciju gaismas iedarbībai.
5. Izvairieties no reaģentu bakteriālas kontaminācijas, jo iespējami viltus rezultāti.
6. Strādājot ar antivielu šķīdumiem, kuru sastāvā ir nātrija azīds (NaN_3), jāievēro piesardzība. Neizmantojiet iekšķīgi un nepieļaujiet saskari ar ādu, gļotādu un acīm.

   Turklāt skābā vidē nātrija azīds var radīt potenciāli bīstamo hidrazoīdskābi. Ja to nepieciešams izmest, reaģentu ieteicams šķīdināt lielā daudzumā ūdens un izliet to kanalizācijas sistēmā, lai novērstu nātrija azīda uzkrāšanos metāla caurulēs un novērstu sprādziena risku.

7. Visi asins paraugi ir jāuzskata par potenciāli infekcioziem, un ar tiem jārīkojas, ievērojot piesardzību (respektīvi, jāvalkā aizsargcimdi, aizsargtērpi un brilles).
8. Nekādā gadījumā neizmantojiet muti, lai darbotos ar pipeti. Paraugi nekādā gadījumā nedrīkst saskarties ar ādu, gļotādu un acīm.
9. Darbā izmantotās asiņu mēģenes un vienreizlietojamie materiāli ir jāizmet ad hoc konteineros, kas paredzēti sadedzināšanai.
10. Ir jāveic reaģentu un atkritumu utilizācija atbilstoši vietējām prasībām.

ĶĪMISKO VIELU KLASIFICĒŠANAS UN MARĶĒŠANAS VISPĀRĒJI SASKAŅOTĀS SISTĒMAS BĪSTAMĪBAS KLASIFIKĀCIJA

Nav klasificēts kā bīstams

SDS Drošības datu lapa ir pieejama vietnē beckmancoulter.com/techdocs

GLABĀŠANA UN STABILITĀTE

Reaģents ir jāuzglabā 2–8 °C temperatūrā un jāsargā no gaismas pirms un pēc flakona atvēršanas.

Aizvērta flakona glabāšanas laiks saskaņā ar stabilitātes pētījumu: 1095 dienas.

Atvērta flakona stabilitāte: reaģents ir stabils 180 dienas.

SADALĪŠANĀS PAZĪMES

Jebkuras reaģentu pazīmju izmaiņas var norādīt, ka reaģents sadalās un to nedrīkst izmantot.

Lai iegūtu papildu informāciju vai arī ja saņemtais izstrādājums ir bojāts, zvaniet Beckman Coulter klientu servisam pa tālruni 800-742-2345 (ASV vai Kanāda) vai sazinieties ar vietējo Beckman Coulter pārstāvi.

SATURS

Nātrija azīda konservants var izveidot sprādzienbīstamus savienojumus metāla notekcaurulēs. Skatīt NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (NIOSH biļetens: Azīdu sprādzienbīstamība) (16.8.76.).
Lai nepieļautu iespējamo azīda savienojumu uzkrāšanos, pēc neatšķaidītā reaģenta izmešanas izskalojiet kanalizācijas caurules ar ūdeni. Nātrija azīda izmešana ir jāveic saskaņā ar atbilstošajiem vietējiem noteikumiem.

NEPIECIEŠAMIE MATERIĀLI, KAS NEIETILPST KOMPLEKTĀ

- Paraugu ņemšanai nepieciešamās mēģenes un materiāli.
- Automātiskās pipetes ar vienreizlietojamiem uzgaļiem, kas paredzētas 20, 100 un 500 µl.
- Plastmasas hemolīzes mēģenes.
- Eritrocītu lizēšanas reaģents ar mazgāšanas fāzi pēc lizēšanas. Piemērs: VersaLyse (ats. A09777).
- Leikocītu fiksācijas reaģents. Piemērs: IOTest 3 fiksatīvais šķīdums (ats. A07800).
- Izotipa kontrole FITC: IOTest reaģents (ats. A07795).
- Buferšķīdums (PBS: 0,01 M nātrija fosfāta; 0,145 M nātrija hlorīda; pH 7,2).
- Centrifugējiet.
- Automātisks maisītājs (samaisīšanas tipa).
- Plūsmas citometrs.

PROCEDŪRA AR REAĢENTU VERSALYSE

Katram analizētajam paraugam papildus testa mēģenei var izmantot vienu kontroles mēģeni, kurā šūnas tiek sajauktas izotipu kontroles klātbūtnē (ats. A07795).

1. Katrai testa mēģenei pievienojiet 20 µl specifiskas IOTest konjugētas antivielas un, ja nepieciešams, katrai kontroles mēģenei pievienojiet 20 µl izotipa kontroles.
2. Pievienojiet 100 µl testa parauga katrai mēģenei. Saudzīgi samaisiet mēģenes.
3. Inkubējiet 15–20 minūtes istabas temperatūrā (18–25 °C), sargājot no gaismas.
4. Pēc tam veiciet eritrocītu lizēšanu. Skatiet VersaLyse (ats. A09777) lietošanas instrukciju, un ir vēlams izmantot procedūru ar nosaukumu „ar vienlaicīgu fiksāciju", kas tiek veikta, pievienojot 1 ml ekstemporāli izgatavota „Fix-and-Lyse" maisījuma. Nekavējoties samaisiet uz vienu sekundi un inkubējiet mēģeni 10 minūtes istabas temperatūrā, sargājot to no gaismas iedarbības.
5. Centrifugējiet 5 minūtes istabas temperatūrā, izmantojot 150 x g.
6. Aspirējot noņemiet virsējo slāni.
7. Atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu ar 3 ml PBS.
8. Atkārtojiet 5. darbību.
9. Aspirējot noņemiet virsējo slāni un atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu, izmantojot:

- 0,5 ml vai 1 ml PBS ar 0,1 % formaldehīda, ja preparātus ir paredzēts uzglabāt mazāk nekā 24 stundas. (0,1 % formaldehīda PBS var iegūt, atšķaidot 12,5 µl IOTest 3 fiksācijas šķīduma (ats. A07800) 10X koncentrācijā ar 1 ml PBS).
- 0,5 ml vai 1 ml PBS bez formaldehīda, ja ir paredzēts analizēt sagataves 2 stundu laikā.

Piezīme. Sagatavotos maisījums vienmēr uzglabājiet 2–8 °C temperatūrā un sargājiet no gaismas.

PAREDZAMĀS VĒRTĪBAS

Mūsu laboratorijās tika apstrādāti 25 acīmredzami veselu donoru pilnasins paraugi, izmantojot iepriekš aprakstīto reaģentu un atsijāšanas reaģentu. Ar šo reaģentu iegūtie interesējošo pozitīvo notikumu rezultāti skaitliskā veidā ir sniegti tālāk tabulā.

Pozitīvais mērķis	Numurs	Aritmētiskais vidējais (%)	SN	Variācijas koeficients (%)
Limfocīti CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Šīm vērtībām ir tikai raksturojošs nolūks. Katrai laboratorijai jānosaka savas paredzamās vērtības, kas iegūtas no veseliem vietējās populācijas donoriem.

VEIKTSPĒJA

Veiktspējas dati tiek iegūti, izmantojot iepriekš aprakstīto procedūru un atsijāšanas reaģentu mazāk nekā 24 stundu veciem asins paraugiem, kas iepriekš paņemti sterilās mēģenēs ar EDTA sāli kā antikoagulantu. Analīze tika veikta 2 stundu laikā pēc imunoloģiskās krāsošanas.

SPECIFIKA

TCR ir molekulārs komplekss, kas aptver divas vienības: atpazīšanas vienību, kas sastāv vai nu no alfa-beta, vai gamma-delta heterodimēra, kas atrodas uz šūnu virsmas savstarpēji izslēdzošā veidā, un transdukcijas vienību, CD3 kompleksu, kas raksturīgs alfa-beta un gamma-delta heterodimēriem, kas aktivizē T šūnu, kad atpazīšanas vienībā ir antigēns. Atpazīšanas vienība atpazīst svešus antigēnus, un dažādību, kas nepieciešama šai atpazīšanas funkcijai rada somatiskā TCR gēnu rekombinācija (11, 12, 13).

Pastāv četri TCR gēnu lokusi (alfa, beta, gamma un delta). Katrs no tiem veido vairākus V (mainīgais) segmentus, kodējot apmēram 90 aminoskābes, ļoti īsus D (daudzveidībai) segmentus (tikai α un delta lokusiem) un īsus J (savienošanai) segmentus (apmēram 15 aminoskābes), un vienu vai abus C (nemainīgajam lielumam) segmentus (14,15). Vairums T šūnu ekspresē alfa un beta TCR (T šūnu receptora) proteīnu, un neliela T šūnu populācija ekspresē gamma un delta TCR, kam parasti ir dubultnegatīvs (CD4 un CD8) fenotips.

Gamma un delta T šūnas parasti ir pirmais aizsardzības līdzeklis epidermas un epitēlija virsmu līmenī un ir 10–12 % no limfocītiem liesā (16). IMMU 510 atpazīst visas gamma un delta T šūnas neatkarīgi no mainīgajiem gēniem vai krustojumu apgabaliem, ko tie ekspresē, atbilstoši poliklonālo gamma un delta T šūnu līnijām, kā arī gamma un delta T šūnu klonu plūsmas imūnfluorescences pētījumiem (17, 18, 19, 20, 21).

PRECIZITĀTE

Procentuālās pozitīvās vērtības tika noteiktas, izmantojot pilnasinis. Katrs paraugs tika analizēts 4 reizes: divreiz dienā 1 dienu 2 instrumentos, izmantojot 2 partijas Anti-TCR PAN γ/δ-FITC monoklonālu antivielu reaģentu. Mērījumi (% pozitīvs) tika veikti Navios plūsmas citometrā. Analīze tika veikta, pamatojoties uz CLSI metodi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatīvo mērīšanas metožu precizitātes veiktspējas novērtēšana).

Mūsu pieņemšanas kritēriji ir atkarīgi no katrai populācijai noteikto pozitīvo notikumu skaita.

- Ja pozitīvs notikums < 1500, variācijas koeficients < 15 %
- Ja pozitīvs notikums > 1500, variācijas koeficients < 10 %

Limfocīti CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Pozitīvo notikumu skaits (aritmētiskais vidējais) = 961							
	Starp operatoriem	Starp citometriem	Partijā	Starp partijām	Starp analīzēm	Analīzē	Kopā
Variācijas koeficients (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
REZULTĀTI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRECIZITĀTE

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC precizitāte tika novērtēta, rezultātus no pilnasins paraugu kopas, kas analizēti Navios plūsmas citometrā, salīdzinot ar atsauces reaģentu kā predikātu. Novirze starp testa un atsauces reaģentu tika noteikta, pamatojoties uz testu rezultātu atšķirību. Ja novirze atbilst pieļaujamajam kļūdas diapazonam vai p vērtība neliecina par nozīmīgu atšķirību (> 0,05), tad abu reaģentu testu rezultāti uzskatāmi par līdzvērtīgiem.

Iegūtie rezultāti ir apkopoti nākamajā tabulā.

Donoru skaits = 25				
Pozitīvais mērķis	Aritmētiskais vidējais Δ	Δ % šūnu kritēriji	p vērtība	REZULTĀTI
Limfocīti CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

TUKŠO PARAUGU ROBEŽVĒRTĪBA UN NOTEIKŠANAS ROBEŽVERTĪBA

Pētījums tika veikts saskaņā ar CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klīniskās laboratorijas mērījumu procedūru noteikšanas spēju izvērtējums). Noteikšanas robežvērtība (NR) ir zemākā analīta koncentrācija, ko iespējams konsekventi noteikt. Iegūtie rezultāti ir apkopoti tālāk tabulā.

Positive Target	Tukšo paraugu robežvērtība (šūnas/µl)	Noteikšanas robežvērtība (šūnas/µl)
Limfocīti CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

IEROBEŽOJUMI

1. Ja citometrs nav novietots precīzi līdzeni, ja nav pareizi kompensētas fluorescences noplūdes un ja reģioni nav uzmanīgi novietoti, plūsmas citometrija var radīt viltus rezultātus.
2. Ir ieteicams izmantot RBC lizēšanas paņēmienu ar mazgāšanas darbību, jo šis reaģents nav optimizēts izmantošanai lizēšanas paņēmienā „bez mazgāšanas".
3. Iegūtie rezultāti ir precīzi un reproducējami, ja visas izmantotās procedūras tiek izpildītas atbilstoši tehniskajai lietošanas instrukcijai un ir saskaņā ar labu laboratorijas praksi.
4. Šī reaģenta konjugētā antiviela ir kalibrēta tā, lai nodrošinātu labāko specifiska signāla/nespecifiska signāla attiecību. Tāpēc ir ļoti svarīgi ievērot reaģenta tilpuma/parauga tilpuma attiecību katrā testā.
5. Hiperleikocitozes gadījumā atšķaidiet asinis ar PBS, lai iegūtā vērtība būtu apmēram 5 x 10^9 leikocīti/l (22).
6. Dažos slimību stāvokļos, piemēram, izteiktas nieru mazspējas vai hemoglobinopātijas gadījumā, eritrocītu lizēšana var būt lēna, nepilnīga vai pat neiespējama. Šajā gadījumā pirms iekrāsošanas ir ieteicams izolēt mononukleārās šūnas, izmantojot blīvuma gradientu (piemēram, Ficoll) (23).

7. Pacientiem, ko ārstē ar anti-cilvēka monoklonālas antivielas līdzekļiem, specifisku mērķa antigēnu noteikšana var būt pasliktināta vai tās var nebūt, jo to daļēji vai pilnībā bloķē terapeitiskā antiviela.
8. Anti-TCR PAN γ/δ-FITC rezultāti jāinterpretē, ņemot vērā pacienta kopējo klīnisko stāvokli, tajā skaitā simptomus, klīnisko vēsturi, papildu testu rādītājus un citu atbilstošu informāciju.

Pielikumā skatiet piemērus un atsauces.

PREČU ZĪMES

Beckman Coulter, stilizētais logotips un Beckman Coulter preču un pakalpojumu zīmes, kas minētas šeit, ir Beckman Coulter, Inc. preču zīmes vai reģistrētas preču zīmes Amerikas Savienotajās Valstīs un citās valstīs.

PAPILDINFORMĀCIJA

Attiecībā uz pacientiem/lietotājiem/trešajām personām Eiropas Savienībā vai valstīs ar identisku regulatīvo režīmu (Regula (ES) 2017/746 par in vitro diagnostikas medicīniskām ierīcēm); ja ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā rodas nopietns negadījums, informējiet par to ražotāju un/vai tā pilnvaroto pārstāvi, kā arī valsts iestādi.

Summary of Safety and Performance (Drošuma un veiktspējas kopsavilkums) ir pieejams EUDAMED datubāzē: ec.europa.eu/tools/eudamed.

PĀRSKATĪŠANAS VĒSTURE

AE VERSIJA:	Laidiena datums: 2019. gada oktobris

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AW	2022. gada maijs
Atjauninājumi atbilst Beckman Coulter vispārējai marķēšanas politikai un IVD-R (ES)2017/746 prasībām:	
Pievienotas iedaļas	BSI 2797 numurs, Paredzētais lietotājs, Klīniskais nozīmīgums, Koncentrācija, Precizitāte, Precizitāte, Tukšo paraugu robežvērtība un noteikšanas robežvērtība, Papildinformācija, Pārskatīšanas vēsture.
Pievienota informācija	Skatīt iedaļas Ierobežojumi.
Formulējuma vai tipogrāfiski atjauninājumi	Skatīt iedaļas Procedūra, Veiktspēja, Ierobežojumi, Brīdinājumi un piesardzības pasākumi, Glabāšana un Stabilitāte.
Izņemtās iedaļas	Klīniskā lietojuma piemērs, reaģenti, reproducējamība laboratorijā, linearitāte.
Atjauninātās sadaļas	Paredzētā lietošana, Ķīmisko vielu klasificēšanas un marķēšanas vispārēji saskaņotās sistēmas bīstamības klasifikācija, Sadalīšanās pazīmes, Procedūra, Pielikums.

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AX	Marts 2023
Atjauninātās sadaļas	Pievienot kazahu valodu
Atjauninātās sadaļas	Glabāšana un stabilitāte

Pārskatītā versija	AY
Pārskatītā izdevuma datums	Maijs 2024
Atjauninātie tulkojumi	**Klīniskais nozīmīgums:**
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Pārskatītā versija	AZ
Pārskatītā izdevuma datums	Jūlijs 2024
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Simbolu skaidrojumi

Simbolu glosārijs ir pieejams vietnē beckman.com/techdocs (dokumenta numurs B60062)

	Специфікації
Специфічність	TCR γ/δ
Клон	IMMU510
Гібридома	X63 x balb/c
Імуноген	Soluble γ/δ receptor
Імуноглобулін	IgG1
Вид	Миша
Очищення	Афінна хроматографія
Флуорохром	Fluorescein isothiocyanate
Молярне співвідношення	FITC/Ig: 4 - 6,5
λ-збудження	488 нм
Пік випромінювання	525 нм
Буфер	Розчин ФСБ pH 7,2 плюс бичачий сироватковий альбумін (БСА) 2 мг/мл та 0,1% NaN_3

Кон'юговане антитіло IOTest Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 тестів; 1 мл, 20 мкл/тест

Для діагностики *in vitro*.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Ці антитіла, кон'юговані з флуорохромом, забезпечують якісну та неавтоматизовану ідентифікацію популяцій клітин, що експресують антиген TCR γ/δ, присутніх у біологічних пробах людини, за допомогою проточної цитометрії (див. розділ «Проби» нижче).

ПРИНЦИП

Цей тест базується на здатності специфічних моноклональних антитіл зв'язуватися з антигенними детермінантами, які експресуються лейкоцитами.

Специфічне забарвлення лейкоцитів здійснюється через інкубацію проби з реагентом IOTest. Еритроцити далі видаляють за допомогою лізису, а лейкоцити, на які не впливає цей процес, досліджують методом проточної цитометрії.

Проточний цитометр вимірює розсіювання світла та флуоресценцію клітин. Це робить можливим розмежування досліджуваної популяції всередині електронного вікна, що визначається на гістограмі, яка співвідносить ортогональне розсіювання світла (бічне розсіювання або Side Scatter — SS) і вузькокутове розсіювання світла (пряме розсіювання або Forward Scatter — FS). Інші гістограми, що поєднують два різні параметри, доступні на цитометрі, можна використовувати для допомоги на етапі гейтингу залежно від програми, вибраної користувачем.

Флуоресценція обмеженої популяції клітин аналізується, щоб розрізнити події з позитивно забарвленими клітинами й незабарвленими. Результати виражаються як відсоток позитивних подій відносно всіх подій, зареєстрованих за допомогою гейтингу.

ПЕРЕДБАЧУВАНИЙ КОРИСТУВАЧ

Цей продукт призначений для професійного використання в лабораторії.

КЛІНІЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC — це Anti-TCR PAN γ/δ антитіло, що використовується для ідентифікації та характеристики клітин, що експресують антиген TCR γ/δ, за допомогою проточної цитометрії. Цей продукт сам по собі не може генерувати жоден діагностичний висновок і не призначений для цього.

Під час використання разом з іншими маркерами цей продукт можна використовувати в одному або декількох з нижченаведених застосувань.

- Як допоміжний засіб під час проведення диференціальної діагностики в пацієнтів з відхиленнями в результатах гематологічних досліджень із підозрою на наявність гематопоетичного новоутворення, а також для моніторингу пацієнтів з відомим гематопоетичним новоутворенням.
- Для моніторингу пацієнтів з відомим аутоімунним захворюванням або порушенням.

Див. такі посилання:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ПРОБИ

Венозну кров потрібно брати в стерильні пробірки, що містять ангикоагулянт — сіль ЕДТА.

Проби слід зберігати за кімнатної температури (18–25°C), і їх не слід струшувати. Перш ніж узяти пробу для тестування, проби потрібно гомогенізувати за допомогою обережного перемішування.

Проби потрібно проаналізувати не пізніше ніж через 24 години після венепункції.

КОНЦЕНТРАЦІЯ

Див. сертифікат аналізу для серії на вебсайті www.beckman.com.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.
2. Не заморожуйте.
3. Доведіть до кімнатної температури (18–25°C) перед використанням.
4. Зведіть до мінімуму вплив світла.
5. Уникайте мікробної контамінації реагентів, інакше можуть бути отримані помилкові результати.
6. Розчини антитіл, які містять азид натрію (NaN_3), треба обробляти обережно. Не приймайте внутрішньо й уникайте будь-якого контакту зі шкірою, слизовими оболонками та очима.

Крім того, у кислому середовищі азид натрію може утворити потенційно небезпечну азотистоводневу кислоту. Якщо його потрібно утилізувати, рекомендується розвести реагент у великій кількості води перед зливанням у водостічну систему, щоб уникнути накопичення азиду натрію на поверхні металевих труб і запобігти небезпеці вибуху.

7. Усі проби крові слід розглядати як потенційно інфекційні та поводитися з ними обережно (зокрема, використовуючи захисні рукавички, халати й окуляри).
8. У жодному разі не піпетуйте ротом та уникайте потрапляння проб на шкіру, слизові оболонки та в очі.
9. Пробірки для крові та одноразові матеріали, які використовуються для оброблення, слід викидати в спеціальні контейнери, вміст яких призначений для спалювання.
10. Реагенти та відходи потрібно утилізувати відповідно до місцевих вимог.

КЛАСИФІКАЦІЯ НЕБЕЗПЕКИ ЗА СИСТЕМОЮ GHS

Не класифікуються як небезпечні

SDS Паспорт безпеки доступний на сторінці beckmancoulter.com/techdocs

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Цей реагент потрібно зберігати за температури від 2 до 8°C у захищеному від світла місці, як до, так і після відкриття флакона.

Термін придатності вмісту закритого флакону відповідно до дослідження стабільності: 1095 день.

Стабільність після відкриття флакона: реагент стабільний 180 діб.

ОЗНАКИ ПСУВАННЯ

Будь-яка зміна зовнішнього вигляду реагентів може вказувати на псування, і реагент не слід використовувати.

Щоб отримати додаткову інформацію або повідомити про отримання пошкодженого продукту, зателефонуйте до Служби обслуговування клієнтів Beckman Coulter за номером 800-742-2345 (США або Канада) чи зверніться до місцевого представника компанії Beckman Coulter.

ЗМІСТ

Консервант азид натрію може утворювати вибухонебезпечні сполуки в металевих зливних трубопроводах. Див. Бюлетень Національного інституту з охорони праці та промислової гігієни (NIOSH) Explosive Azide Hazard (Вибухонебезпечні азиди) (16.8.76).
Щоб уникнути можливого утворення сполук азиду, промийте зливні труби водою відразу після утилізації нерозведеного реагенту. Реагенти, що містять азид натрію, треба утилізувати з дотриманням відповідних місцевих норм.

ПОТРІБНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ У КОМПЛЕКТ

- Пробірки для проб і матеріали, потрібні для забору проб.
- Автоматичні піпетки з одноразовими наконечниками на 20, 100 і 500 мкл.
- Пластикові пробірки для гемолізу.
- Реагент для лізису еритроцитів з етапом промивання після лізису. Наприклад: VersaLyse (Ref. A09777).
- Реагент для фіксації лейкоцитів. Наприклад: розчин для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ізотипічний контроль FITC: реагент IOTest (Ref. A07795).
- Буфер (ФСБ: 0,01 моль фосфату натрію; 0,145 моль хлориду натрію; pH 7,2).
- Центрифугування.
- Автоматичний змішувач (типу вортекс).
- Проточний цитометр.

ПРОЦЕДУРА З РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для кожної аналізованої проби на додачу до тест-пробірки може бути використана одна контрольна пробірка, у якій клітини змішано в присутності ізотипічного контролю (Ref. A07795).

1. Додайте до кожної тестової пробірки 20 мкл специфічних кон'югованих антитіл IOTest, і, якщо потрібно, 20 мкл ізотипічного контролю до кожної контрольної пробірки.
2. Додайте 100 мкл проби для тестування в кожну пробірку. Обережно змішайте вміст пробірок вихровим способом.
3. Витримайте протягом 15–20 хвилин за кімнатної температури (18–25°C) у захищеному від світла місці.
4. Потім виконують лізис еритроцитів. Перегляньте вкладний листок VersaLyse (Ref. A09777) і за можливості дотримуйтеся процедури з одночасною фіксацією, яка полягає в додаванні 1 мл суміші Fix-and-Lyse, приготованої безпосередньо перед використанням. Відразу змішайте вихровим способом упродовж однієї секунди й витримайте протягом 10 хвилин за кімнатної температури в захищеному від світла місці.
5. Центрифугуйте за кімнатної температури протягом 5 хвилин зі швидкістю 150 g.
6. Видаліть надосадову рідину аспіратором.
7. Ресуспендуйте осад клітин у 3 мл ФСБ.
8. Повторіть крок 5.
9. Видаліть надосадову рідину аспіратором і ресуспендуйте осад клітин, використовуючи наведене далі.

- 0,5 мл або 1 мл ФСБ плюс 0,1% формальдегіду, якщо препарати передбачається зберігати менше ніж 24 годин. (Розчин ФСБ, що містить 0,1% формальдегіду, можна отримати за допомогою розведення 12,5 мкл розчину для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800) за його 10-кратної концентрації в 1 мл ФСБ).
- 0,5 мл або 1 мл ФСБ без формальдегіду, якщо препарати будуть аналізувати впродовж наступних 2 годин.

Примітка. У всіх випадках препарати слід зберігати в захищеному від світла місці за температури 2–8°C.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

У наших лабораторіях зразки цільної крові 25 майже здорових донорів оброблювалися з використанням описаного вище реагенту й реагенту для гейтування. Отримані результати підрахунку позитивних подій, які досліджуються, із використанням цього реагенту наведено в таблиці нижче.

Цільова позитивна популяція	Число	Середнє значення (%)	СВ	КВ (%)
Лімфоцити CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Ці значення призначені лише для репрезентативних цілей. Кожна лабораторія має встановити власний діапазон очікуваних значень серед місцевої популяції здорових донорів.

ЕФЕКТИВНІСТЬ

Робочі показники ефективності отримуються з використанням процедури, описаної вище, і реагенту для гейтування на зразках крові, які були зібрані в стерильні пробірки із сіллю ЕДТА, що є антикоагулянтом, і зберігалися менше ніж 24 години. Аналіз проводиться протягом 2 годин після імунного забарвлення.

СПЕЦИФІЧНІСТЬ

TCR є молекулярним комплексом, що містить дві одиниці: одиницю розпізнавання, що складається з alpha-beta або gamma delta гетеродимеру, що взаємовиключно присутні на поверхні клітини, а також одиницю трансдукції, CD3 комплекс, загальний для alpha-beta і gamma delta гетеродимерів, який приводить у дію Т-клітини, коли одиниця розпізнавання зайнята антигеном. Одиниця розпізнавання розпізнає чужорідні антигени й необхідна для цієї функції розпізнавання різноманітність генерується соматичною рекомбінацією генів TCR (11,12,13).

Є чотири локуси гена TcR (alpha, beta, gamma і delta). Кожен з них складається з декількох V-сегментів (варіабельних сегментів), що кодують близько 90 амінокислот, дуже коротких D-сегментів (різноманітних сегментів) (тільки локуси α і delta) і коротких J-пептидів (з'єднувальних пептидів) (близько 15 амінокислот), а також одного або двох C-сегментів (постійні сегменти) (14,15). Більшість Т-клітин експресує білок alpha/beta TCR (Т-клітинний рецептор) і невелика популяція Т-клітин експресує gamma/delta TCR, який зазвичай має подвійний негативний (CD4/CD8) фенотип.

Gamma/delta Т-клітини, як правило, є першою лінією оборони на епідермальних і епітеліальних поверхнях, і вони становлять 10–12% лімфоцитів в селезінці (16). IMMU 510 розпізнає всі gamma/delta Т-клітини незалежно від варіабельних генів або областей переходу, що вони експресують, як було оцінено на проточному флюорометрі за допомогою імунофлуоресцентного аналізу поліклональних ліній gamma/delta Т-клітин, а також gamma/delta клонів Т-клітин (17,18,19,20,21).

ПРЕЦИЗІЙНІСТЬ

Відсоток позитивних значень визначали з використанням цільної крові. Кожну пробу аналізували 4 рази, двічі на день впродовж 1 дня на 2 приладах, використовуючи 2 партії реагентів Anti-TCR PAN γ/δ-FITC моноклональних антитіл. Вимірювання (% позитивних значень) були виконані на проточному цитометрі Navios. Аналіз проводився на основі методу CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оцінка прецизійності кількісних методів вимірювання).

Наші критерії прийнятності залежать від кількості позитивних подій, виміряних для кожної популяції.

- Якщо кількість позитивних подій < 1500, КВ < 15%
- Якщо кількість позитивних подій > 1500, КВ < 10%

Лімфоцити CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Кількість позитивних подій (середнє значення) = 961							
	Між операторами	Між цитометрами	У межах однієї серії	Між серіями	Між серіями вимірювань	У межах однієї серії вимірювань	Усього
КВ (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
РЕЗУЛЬТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНІСТЬ

Точність Anti-TCR PAN γ/δ-FITC оцінювали шляхом порівняння результатів з еталонним реагентом як контролем якості для набору проб цільної крові, аналізованих на проточному цитометрі Navios. Зсув між тестованим і контрольним реагентами визначали на підставі різниці між результатами тесту. Якщо зсув знаходиться в межах допустимого діапазону помилок або p-значення вказує на відсутність суттєвої відмінності (> 0,05), то результати вимірювань для двох реагентів вважаються еквівалентними.

Отримані результати підсумовано в таблиці, наведеній нижче.

Кількість донорів = 25				
Цільова позитивна популяція	Середня Δ	Критерії Δ % клітин	p-значення	РЕЗУЛЬТАТИ
Лімфоцити CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

МЕЖА ХОЛОСТОЇ ПРОБИ Й МЕЖА ВИЯВЛЕННЯ

Дослідження проводилося відповідно до рекомендацій CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оцінювання можливості виявлення для методик клінічних лабораторних вимірювань). Межа виявлення (LOD) — це найнижча концентрація аналіту, яку стабільно можна виявити. Отримані результати підсумовано в наведеній нижче таблиці.

Positive Target	Межа холостої проби (клітин/мкл)	Межа виявлення (клітин/мкл)
Лімфоцити CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

ОБМЕЖЕННЯ

1. Результати проточної цитометрії можуть бути помилковими, якщо вказане нижче не було виконано належним чином: вирівняно цитометр, скомпенсовано витік флуоресценції, здійснено позиціонування ділянок.
2. Бажано використовувати метод лізису еритроцитів з етапом промивання, оскільки цей реагент не оптимізовано для методів лізису «без промивання».
3. Буде отримано точні й відтворювані результати, якщо процедури застосовуються відповідно до технічної інструкції, що додається, і стандартів належної лабораторної практики.
4. Кон'юговані антитіла цього реагенту відкалібровано таким чином, щоб забезпечити краще співвідношення специфічного сигналу та неспецифічного сигналу. Тому важливо дотримуватися співвідношення об'єму реагенту та об'єму проби в кожному тесті.
5. У разі гіперлейкоцитозу кров слід розводити у ФСБ так, щоб отримати концентрацію приблизно 5×10^9 лейкоцитів/л (22).
6. У разі деяких захворювань або станів, як-от тяжка ниркова недостатність або гемоглобінопатії, лізис еритроцитів може бути повільним, неповним або навіть неможливим. У цьому разі рекомендується виділяти мононуклеарні клітини за градієнтом щільності (наприклад, з використанням фіколу) перед фарбуванням (23).
7. У пацієнтів, які отримують лікування антилюдськими моноклональними антитілами, виявлення специфічних цільових антигенів може бути зниженим або відсутнім через часткове або повне блокування терапевтичним антитілом.
8. Результати Anti-TCR PAN γ/δ-FITC слід інтерпретувати у світлі загальної клінічної картини пацієнта, включно із симптомами, клінічним анамнезом, даними додаткових тестів та іншою відповідною інформацією.

Див. приклади й посилання в додатку.

ТОРГОВЕЛЬНІ МАРКИ

Beckman Coulter, стилізований логотип, товарні знаки й сервісні марки Beckman Coulter, вказані тут, є торговельними марками або зареєстрованими торговельними марками компанії Beckman Coulter, Inc. у Сполучених Штатах Америки й інших країнах.

ДОДАТКОВА ІНФОРМАЦІЯ

Для пацієнта / користувача / третьої сторони в Європейському Союзі та в країнах з ідентичною системою нормативного регулювання (Регламент 2017/746/ЄС про медичні вироби для діагностики in vitro); якщо під час використання цього пристрою або в результаті його використання стався серйозний інцидент, повідомте про це виробнику й (або) його уповноваженому представнику та місцевому національному органу.

The Summary of Safety and Performance (Огляд безпеки та основних характеристик) доступний у базі даних EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ІСТОРІЯ ЗМІН

РЕДАКЦІЯ AE	Дата випуску: Жовтень 2019 р.

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AW	Травень 2022 р.
Оновлення мають відповідати Глобальній політиці щодо маркування компанії Beckman Coulter і вимогам IVD-R (ЄС)2017/746:	
Додані розділи	«Номер BSI 2797», «Цільовий користувач», «Клінічна значущість», «Концентрація», «Прецизійність», «Точність», «Межа холостої проби й межа виявлення», «Додаткова інформація», «Історія змін».
Додана інформація	Див. розділ «Обмеження»
Оновлення формулювання або типографічні оновлення	Див. розділи «Процедура», «Робочі показники», «Обмеження», «Попередження та застереження», «Зберігання та стабільність».
Видалені розділи	«Приклад клінічного застосування», «Реагенти», «Міжлабораторна відтворюваність», «Лінійність»
Оновлені розділи	«Призначення», «Класифікація небезпек GHS», «Ознаки погіршення характеристик», «Процедура», «Додаток».

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AX	Березень 2023
Оновлені розділи	Додано казахську мову
Оновлені розділи	Зберігання й стабільність

Переглянута версія	AY
Дата перегляду	Травень 2024
Оновлені переклади	**Клінічна значущість:**
Оновлені розділи	Історія змін

Переглянута версія	AZ
Дата перегляду	Липень 2024
Оновлені розділи	Історія змін

Список символів

Глосарій символів доступний на сайті beckman.com/techdocs (документ № B60062)

	Especificações
Especificidade	TCR γ/δ
Clone	IMMU510
Hibridoma	X63 x balb/c
Imunógeno	Soluble γ/δ receptor
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Camundongo
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	Fluorescein isothiocyanate
Razão molar	FITC/Ig: 4 - 6,5
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	525 nm
Tampão	PBS com pH de 7,2 mais 2 mg/mL de BSA e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 testes; 1 mL, 20 µL/teste

Para uso em diagnóstico *in vitro.*

USO PREVISTO

Esse anticorpo conjugado com fluorocromo permite a identificação qualitativa e não automatizada das populações de células que expressam o antígeno TCR γ/δ presente em amostras biológicas humanas utilizando a citometria de fluxo (consulte a seção “Amostras” a seguir).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade que os anticorpos monoclonais específicos têm de se ligarem aos determinantes antigênicos expressos por leucócitos.

A coloração específica de leucócitos é realizada incubando-se a amostra com o reagente IOTest. As hemácias são então removidas por lise e os leucócitos, que não são afetados por esse processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citômetro de fluxo mede a difusão da luz e a fluorescência das células. Ele possibilita a delimitação da população de interesse na janela eletrônica definida por um histograma, que correlaciona a difusão ortogonal da luz (dispersão lateral ou SS) e a difusão da luz em ângulo estreito (dispersão frontal ou FS). Outros histogramas que combinam dois dos diferentes parâmetros disponíveis no citômetro podem ser utilizados como auxílio no estágio de delimitação, dependendo da aplicação escolhida pelo usuário.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são expressos como uma porcentagem dos eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos pela delimitação.

USUÁRIO PREVISTO

Este produto destina-se ao uso laboratorial profissional.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O Anti-TCR PAN γ/δ-FITC é um anticorpo para Anti-TCR PAN γ/δ usado para identificar e caraterizar, por citometria de fluxo, as células que expressam o antígeno TCR γ/δ. Este produto por si só não pode e não se destina a originar qualquer conclusão diagnóstica.

Quando usado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser usado com uma ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com anormalidades hematológicas com suspeita de terem neoplasia hematopoiética e para monitorar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.
- Para monitorar pacientes com doença ou distúrbio autoimune conhecidos.

Consulte as referências a seguir:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

AMOSTRAS

Sangue venoso deve ser coletado usando tubos estéreis contendo um sal de EDTA como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas em temperatura ambiente (18-25°C) e não devem ser agitadas. A amostra deve ser homogeneizada por agitação suave antes que a amostra para teste seja retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a coleta.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não use o reagente após o prazo de validade.
2. Não congele.
3. Deixe atingir a temperatura ambiente antes de usar (18-25°C).
4. Minimize a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, pois isso pode gerar falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos contendo azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não utilize internamente e evite o contato com a pele, mucosas e olhos.

Além disso, em um meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazoico potencialmente perigoso. Se precisar descartar essa substância, recomenda-se que o reagente seja diluído em um grande volume de água antes de despejá-lo no sistema de drenagem para evitar o acúmulo de azida sódica nos canos de metal e o risco de explosão.

7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas como potencialmente infecciosas e devem ser manipuladas com cuidado (em particular: uso de luvas, jalecos e óculos de proteção).
8. Nunca coloque a pipeta na boca e evite qualquer contato das amostras com a pele, mucosas e olhos.
9. Os tubos de sangue e o material descartável utilizado para manuseio deve ser descartado em recipientes ad hoc destinados à incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO DO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Folha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido entre 2 e 8°C e protegido da luz, antes e depois do frasco ter sido aberto.

Validade do frasco fechado de acordo com o estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente é estável por 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DETERIORAÇÃO

Qualquer alteração no aspecto físico dos reagentes poderá indicar deterioração e o reagente não deverá ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, entre em contato com o serviço de atendimento ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou entre em contato com o representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em canos de escoamento metálicos. Consulte o Boletim do NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health [Instituto de segurança e saúde ocupacional dos EUA]): Explosive Azide Hazard (Perigos de explosão de azida) (16/8/76).
Para evitar o possível acúmulo de compostos de azida, enxágue os canos de escoamento com água após o descarte do reagente não diluído. O descarte da azida sódica deve ser efetuado de acordo com as normas locais apropriadas.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostra e material necessário para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 20, 100 e 500 µL.
- Tubos plásticos de hemólise.
- Reagente de lise de hemácias com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: Reagente VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: Solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controle do isótipo FITC: reagente IOTest (Ref. A07795).
- Tampão (PBS: fosfato de sódio a 0,01 M; cloreto de sódio a 0,145 M; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citômetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM O REAGENTE VERSALYSE

Para cada amostra analisada, além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controle no qual as células são misturadas na presença do controle de isótipo (Ref. A07795).

1. Adicione 20 µL de anticorpo conjugado IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 20 µL do controle do isótipo a cada tubo de controle.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos em temperatura ambiente (18-25°C), protegido da luz.
4. Em seguida, faça a lise das hemácias. Consulte o folheto da VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento chamado “with concomitant fixation (com fixação concomitante)”, que consiste em adicionar 1 mL da mistura de fixação e lise preparada extemporaneamente. Agite em vórtex imediatamente durante um segundo e incube durante 10 minutos em temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue por 5 minutos a 150 x g em temperatura ambiente.
6. Retire o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita a etapa 5.
9. Retire o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular usando:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído, se as preparações forem mantidas por um prazo inferior a 24 horas. (É possível obter uma solução PBS com 0,1% de formaldeído diluindo-se 12,5 µL de Solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na concentração de 10X em 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído, se as preparações forem analisadas dentro de 2 horas.

Nota: Em qualquer dos casos, mantenha as preparações entre 2 e 8°C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Em nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 doadores aparentemente saudáveis foram tratadas usando o reagente descrito acima e um reagente de ligação. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos positivos de interesse com esse reagente são fornecidos na tabela abaixo:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP (Desvio padrão)	CV (%)
Linfócitos CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Esses valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores esperados da população local de doadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos utilizando o procedimento descrito acima e um reagente de ligação em amostras de sangue com menos de 24 horas, previamente coletadas em tubos esterilizados com sal EDTA como anticoagulante. A análise é efetuada em um prazo de até 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

O TCR é um complexo molecular que engloba duas unidades: uma unidade de reconhecimento, composta por heterodímeros alfa-beta ou gama-delta, presentes na superfície celular de maneira mutualmente exclusiva, e uma unidade de transdução, o complexo CD3, comum aos heterodímeros alfa-beta e gama-delta, que ativa a célula T quando a unidade de reconhecimento é ocupada pelo antígeno. A unidade de reconhecimento reconhece antígenos estranhos, e a diversidade necessária para essa função de reconhecimento é gerada através de recombinação somática dos genes TCR (11, 12, 13).

Existem quatro loci do gene TCR (alfa, beta, gama e delta). Cada um deles é composto por vários segmentos V (variáveis), que codificam cerca de 90 aminoácidos, segmentos D (diversidade) muito curtos (apenas loci α e delta), segmentos J (junção) curtos (cerca de 15 aminoácidos) e um ou dois segmentos C (constantes) (14, 15). A maioria das células T expressa a proteína TCR (receptor de células T) alfa/beta e uma pequena população de células T expressa a TCR gama/delta, que normalmente possui um fenótipo duplamente negativo (CD4/CD8).

As células T gama/delta são normalmente a primeira linha de defesa nas superfícies epidérmica e epitelial e representam 10–12% dos linfócitos no baço (16). O IMMU 510 reconhece todas as células T gama/delta, independentemente dos genes variáveis ou das regiões de junção que expressam, conforme avaliado pelos estudos por imunofluorescência de fluxo realizados em linhas de células T gama/delta policlonais e clones de células T gama/delta (17, 18, 19, 20, 21).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados usando-se sangue total. Cada amostra foi processada 4 vezes, duas vezes por dia durante 1 dia em 2 instrumentos, usando 2 lotes de reagentes de anticorpo monoclonal para Anti-TCR PAN γ/δ-FITC. As medições (% de positivos) foram realizadas no citômetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação de desempenho de precisão de métodos de medição quantitativos).

Nossos critérios de aceitação dependem do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Se eventos positivos <1.500, CV <15%
- Se eventos positivos >1.500, CV <10%

Linfócitos CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Número de eventos positivos (média) = 961							
	Entre operadores	Entre citômetros	Dentro do lote	Entre lotes	Entre processamentos	Dentro do processamento	Total
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do Anti-TCR PAN γ/δ-FITC foi avaliada comparando-se os resultados com um reagente de referência como o predicado em um conjunto de amostras de sangue total processadas em um citômetro de fluxo Navios. O viés entre o reagente de teste e o de referência foi determinado com base na diferença entre os resultados dos testes. Se o viés estiver dentro da faixa de erro aceitável ou o valor p não indicar diferenças significativas (>0,05), então os resultados dos testes para os dois reagentes são considerados equivalentes.

Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Número de doadores = 25				
Alvo positivo	Δ média	Critérios de Δ % de células	valor p	RESULTADOS
Linfócitos CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

LIMITE DE BRANCO E LIMITE DE DETECÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com a diretriz EP17-A2 do CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de detecção para procedimentos de medição de laboratório clínico). O Limite de detecção (LOD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detectada consistentemente. Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite de branco (células/µL)	Limite de detecção (células/µL)
Linfócitos CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo pode produzir resultados falsos se o citômetro não for alinhado perfeitamente, se os vazamentos de fluorescência não forem corretamente compensados e se as regiões não forem cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível usar uma técnica de lise de RBC com uma etapa de lavagem, já que esse reagente não foi otimizado para técnicas de lise “sem lavagem”.
3. Serão obtidos resultados exatos e reproduzíveis desde que os procedimentos utilizados estejam em conformidade com o folheto técnico e sejam compatíveis com as boas práticas de laboratório.

4. O anticorpo conjugado desse reagente é calibrado para oferecer a melhor razão entre sinal específico e sinal não específico. Por isso, é importante manter a razão entre volume do reagente e volume da amostra em cada teste.
5. No caso de hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (22).
6. Em certos estados da doença, como insuficiência renal grave e hemoglobinopatias, a lise das hemácias pode ser lenta, incompleta ou até mesmo impossível. Nesse caso, recomenda-se isolar as células mononucleadas usando um gradiente de densidade (Ficoll, por exemplo) antes da coloração (23).
7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a detecção dos antígenos-alvo específicos pode ser diminuída ou não ocorrer devido ao bloqueio parcial ou total pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de Anti-TCR PAN γ/δ-FITC devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, histórico clínico, dados de testes adicionais e outras informações apropriadas.

Consulte o anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logotipo estilizado e as marcas dos produtos e serviços da Beckman Coulter mencionados neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registradas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e em outros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/usuário/terceiro na União Europeia e em países com regime regulatório idêntico (Regulamentação 2017/746/UE sobre In vitro Diagnostic Medical Devices [Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro]), se, durante o uso deste dispositivo ou como resultado de seu uso, ocorrer um incidente grave, relate-o ao fabricante e/ou ao seu representante autorizado e à sua autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível no banco de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO AE:	Data de publicação: outubro de 2019

REVISÃO	**Data de publicação**
AW	Maio de 2022
Atualizações para o cumprimento da Global labelling Policy (Política de rotulagem global) da Beckman Coulter e de acordo com os requisitos da IVD-R (UE)2017/746:	
Seções adicionadas	Número BSI 2797, Usuário previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite de branco e limite de detecção, Informações adicionais, Histórico de revisão.
Informações adicionadas	Consulte as seções: Limitações
Atualizações tipográficas ou de fraseado	Consulte as seções Procedimento, Desempenho, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Seções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Seções atualizadas	Uso previsto, Classificação de perigo do GHS, Evidência de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de publicação**
AX	Março 2023
Seções atualizadas	Adicionar cazaque
Seções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revisada	AY
Data da revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Versão revisada	AZ
Data da revisão	Julho 2024
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (documento número B60062)

	Specificaties
Specificiteit	TCR γ/δ
Kloon	IMMU510
Hybridoom	X63 x balb/c
Immunogeen	Soluble γ/δ receptor
Immunoglobuline	IgG1
Soort	Muis
Purificatie	Affiniteitschromatografie
Fluorochroom	Fluorescein isothiocyanate
Molaire verhouding	FITC/Ig: 4 - 6,5
λ excitatie	488 nm
Emissiepiek	525 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA en 0,1% NaN_3

IOTest

Geconjugeerd antilichaam Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 tests; 1 mL, 20 µL/test

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

BEOOGD GEBRUIK

Met dit fluorochroom-geconjugeerde antilichaam kunnen celpopulaties die het TCR γ/δ-antigeen tot expressie brengen, kwalitatief en niet-geautomatiseerd worden geïdentificeerd in menselijke biologische monsters met behulp van flowcytometrie (zie het gedeelte 'Monsters' hieronder).

PRINCIPE

Deze test is gebaseerd op het vermogen van specifieke monoklonale antilichamen om zich te binden aan de antigene determinanten die tot expressie worden gebracht door leukocyten.

Specifieke kleuring van de leukocyten wordt uitgevoerd door het monster te incuberen met het IOTest -reagens. De rode cellen worden vervolgens via lysering verwijderd en de leukocyten (die ongevoelig zijn voor dit proces) worden geanalyseerd voor middel van flowcytometrie.

De flowcytometer meet de lichtdiffusie en de fluorescentie van cellen. Het maakt de afbakening van de betrokken populatie mogelijk binnen het elektronische venster gedefinieerd op een histogram, wat de orthogonale verspreiding van licht (zijwaartse verstrooiing of ZV) in verband brengt met de verspreiding van smalhoekig licht (voorwaartse verstrooiing of VV). Andere histogrammen die twee van de verschillende beschikbare parameters op de cytometer combineren, kunnen worden gebruikt als ondersteuning bij de gating-fase, afhankelijk van de door de gebruiker gekozen toepassing.

De fluorescentie van de afgeperkte cellen wordt geanalyseerd om de positief-gekleurde gebeurtenissen te onderscheiden van de niet-gekleurde. De resultaten worden uitgedrukt als een percentage van positieve gebeurtenissen ten opzichte van alle gebeurtenissen verzameld door de gating.

BEOOGDE GEBRUIKER

Dit product is bedoeld voor professioneel gebruik in het laboratorium.

KLINISCHE RELEVANTIE

Het Anti-TCR PAN γ/δ-FITC is een Anti-TCR PAN γ/δ-antilichaam dat wordt gebruikt om cellen die het TCR γ/δ-antigeen tot expressie brengen te identificeren en te karakteriseren met behulp van flowcytometrie. Dit product alleen kan niet worden gebruikt voor de totstandbrenging van diagnostische conclusies en hier is het ook niet voor bedoeld.

Bij gebruik in combinatie met andere markers kan dit product worden gebruikt voor een of meer van de volgende functies:

- Ter ondersteuning van de differentiaaldiagnostiek bij patiënten met een hematologische afwijking met verdenking op het hebben van een hematopoiëtisch neoplasma en ter controle van patiënten met een bekend hematopoiëtisch neoplasma.
- Ter bewaking van patiënten met bekende auto-immuunaandoeningen of -afwijkingen.

Zie de volgende referenties:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MONSTERS

Veneus bloed moet worden afgenomen met steriele buisjes die EDTA-zout bevatten als anticoagulans.

De monsters moeten op kamertemperatuur (18-25 °C) worden gehouden en mogen niet worden geschud. De monsters moeten gehomogeniseerd worden door licht te schudden voordat het testmonster wordt afgenomen.

De monsters moeten worden geanalyseerd binnen 24 uur van venapunctie.

CONCENTRATIE

Zie batch-specifiek analysecertificaat op www.beckman.com.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Gebruik het reagens niet na de uiterste houdbaarheidsdatum.
2. Niet invriezen.
3. Laat het op kamertemperatuur (18-25 °C) komen voor gebruik.
4. Beperk de blootstelling aan licht.
5. Vermijd microbiële verontreiniging van de reagentia, anders kunnen verkeerde resultaten optreden.

6. Antilichaamoplossingen die natriumazide (NaN_3) bevatten moeten voorzichtig gehanteerd worden. Niet innemen en elk contact met huid, slijmvliezen en ogen vermijden.

   In een zuur medium kan natriumazide bovendien de potentieel gevaarlijke waterstofazide vormen. Indien verwijdering nodig is, wordt het aanbevolen om het reagens te verdunnen in een groot volume water voordat het in het afvoersysteem wordt gegoten, om de accumulatie van natriumazide in metalen buizen en explosiegevaar te vermijden.
7. Alle bloedmonsters moeten worden beschouwd als mogelijk besmettelijk en moeten voorzichtig worden gehanteerd (met name: veiligheidshandschoenen, -jas en -bril dragen).
8. Pipetteer nooit met de mond en vermijd elk contact van de monster met huid, slijmvliezen en ogen.
9. Bloedbuisjes en wegwerpmateriaal die gebruikt zijn, moeten verwijderd worden in afvalcontainers bestemd voor verbranding.
10. Reagentia en afval moeten verwijderd worden volgens de plaatselijke voorschriften.

GHS GEVARENCLASSIFICATIE

Niet geclassificeerd als gevaarlijk

SDS Het veiligheidsinformatieblad is beschikbaar op beckmancoulter.com/techdocs

OPSLAG EN STABILITEIT

Dit reagens moet tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht worden bewaard, voor- en nadat het buisje wordt geopend.

Houdbaarheidsdatum van ongeopend buisje volgens stabiliteitsstudie: 1095 dagen.

Stabiliteit van geopend buisje: het reagens is stabiel gedurende 180 dagen.

BEWIJS VAN BEDERF

Elke wijziging in de fysieke verschijning van de reagentia kan wijzen op aantasting; het reagens mag dan niet langer gebruikt worden.

Bel voor meer informatie, of als het product beschadigd is, met de klantenservice van Beckman Coulter op 800-742-2345 (VS of Canada) of neem contact op met uw plaatselijke vertegenwoordiger van Beckman Coulter.

INHOUD

Een conserveringsmiddel van natriumazide kan explosieve verbindingen vormen in metalen afvoerleidingen. Zie NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (Explosiegevaar van azide, 16-08-1976).
Om de ophoping van azideverbindingen te vermijden, spoelt u de afvoerbuizen met water na verwijdering van onverdund reagens. Natriumazide moet worden verwijderd volgens de toepasselijke plaatselijke voorschriften.

BENODIGD MATERIAAL DAT NIET IS MEEGELEVERD IN DE KIT:

- Monsterbuisjes en materiaal vereist voor monsterneming.
- Automatische pipetten met wegwerppunten voor 20, 100 en 500 µL.
- Plastic hemolysebuisjes.
- Ontbindingsreagens voor rode cellen met spoelfase na de lysis. Bijvoorbeeld: VersaLyse (ref. A09777).
- Fixatiereagens voor leukocyten. Bijvoorbeeld: IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800).
- Isotypecontrole FITC: IOTest-reagens (ref. A07795).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfaat; 0,145 M natriumchloride; pH 7,2).
- Centrifugeer.
- Automatische schudder (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MET VERSALYSE-REAGENS

Voor elk geanalyseerd monster kan, naast het testbuisje, één controlebuisje worden toegevoegd waarin de cellen worden gemengd in aanwezigheid van de isotypecontrole (ref. A07795).

1. Voeg 20 µL specifiek IOTest-geconjugeerd antilichaam toe aan elk testbuisje en, indien nodig, 20 µL isotypecontrole aan elk controlebuisje.
2. Voeg 100 µL van het testmonster toe aan elk buisje. Wervel de buisjes voorzichtig.
3. Incubeer 15 tot 20 minuten op kamertemperatuur (18-25 °C), beschermd tegen licht.
4. Lyseer vervolgens de rode cellen. Raadpleeg de VersaLyse-bijsluiter (ref. A09777) en volg bij voorkeur de procedure genaamd 'met gelijktijdige fixatie', die bestaat uit het toevoegen van 1 mL 'fixeer-en-lyseer'-oplossing die ex tempore wordt bereid. Wervel onmiddellijk gedurende één seconde en incubeer 10 minuten op kamertemperatuur, beschermd tegen licht.
5. Centrifugeer gedurende 5 minuten bij 150 x g op kamertemperatuur.
6. Verwijder het supernatant door opzuiging.
7. Suspendeer de celpellet opnieuw met 3 mL van PBS.
8. Herhaal stap 5.
9. Verwijder het supernatant door opzuiging en suspendeer de celpellet opnieuw met:

- 0,5 mL of 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyde, indien de bereidingen minder dan 24 uur worden bewaard. (Een PBS met 0,1% formaldehyde kan worden verkregen door 12,5 µL IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800) bij de 10X-concentratie te verdunnen in 1 mL PBS).
- 0,5 mL of 1 mL PBS zonder formaldehyde, indien de bereidingen moeten worden geanalyseerd binnen 2 uur.

Opmerking: houd de bereidingen in alle gevallen tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht.

VERWACHTE WAARDEN

In onze laboratoria werden de volbloedmonsters van 25 ogenschijnlijk gezonde donoren behandeld met het hierboven beschreven reagens en een gating-reagens. De verkregen resultaten voor de telling van de relevante positieve gebeurtenissen voor dit reagens worden in de onderstaande tabel weergegeven:

Positieve target	Nummer	Gemiddeld (%)	SD	VC (%)
Lymfocyten CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Deze waarden zijn uitsluitend bedoeld als referentie. Elk laboratorium moet zijn eigen verwachte waarden bepalen op basis van de lokale populatie van normale donoren.

PRESTATIES

Prestatiegegevens worden verkregen met de hierboven beschreven procedure en een gating-reagens op minder dan 24 uur oude bloedmonsters die eerder zijn verzameld in steriele buisjes met EDTA-zout als anticoagulans. De analyse wordt uitgevoerd binnen 2 uur na immunokleuring.

SPECIFICITEIT

De TCR is een moleculair complex dat bestaat uit twee eenheden: een herkenningseenheid die bestaat uit alfa-bèta of gamma-delta heterodimer dat aanwezig is op het celoppervlak op een wederzijds uitsluitende manier, en een transductie-eenheid, het CD3-complex, dat gemeenschappelijk is aan alfa-bèta en gamma-delta heterodimeren en dat de T-cel activeert wanneer de herkenningseenheid wordt bezet door het antigeen. De herkenningseenheid herkent vreemde antigenen en de diversiteit die voor deze herkenningsfunctie vereist is, wordt gegenereerd door de somatische recombinatie van de TCR-genen (11, 12, 13).

Er zijn vier loci voor het TCR-gen (alfa, bèta, gamma en delta). Elk van deze bestaat uit verschillende V (variabele)-segmenten die coderen voor ongeveer 90 aminozuren, erg korte D (diversiteit)-segmenten (alleen α en delta loci) en korte J ('joining' [samenvoegende])-segmenten (ongeveer 15 aminozuren) en een of twee C (voor constante)-segmenten (14, 15). De meeste T-cellen brengen de alfa/bèta TCR (T-celreceptor)-proteïne tot expressie en een kleine populatie T-cellen brengt de gamma/delta TCR tot expressie, die meestal een dubbel negatief (CD4/CD8) fenotype heeft.

Gamma/delta T-cellen zijn normaal gesproken de eerste verdedigingslinie op epidermale en epitheliale oppervlakken en vertegenwoordigen 10-12% van de lymfocyten in de milt (16). IMMU 510 herkent alle gamma/delta T-cellen ongeacht de variabele genen of verbindingsregio's die zij tot expressie brengen, zoals getest in flow-immunofluorescentie-onderzoeken naar polyklonale gamma/delta T-cellijnen en gamma/delta T-celklonen (17, 18, 19, 20, 21).

PRECISIE

De procentuele positieve waarden werden bepaald met behulp van volbloed. Elk monster werd 4 maal getest, tweemaal per dag gedurende 1 dag op 2 instrumenten, waarbij gebruik werd gemaakt van 2 batches Anti-TCR PAN γ/δ-FITC monoklonale antilichaamreagentia. Metingen (% positief) werden uitgevoerd op de Navios-flowcytometer. Analyse werd uitgevoerd op basis van de CLSI-methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluatie van de precisie van kwantitatieve meetmethoden).

Onze acceptatiecriteria zijn afhankelijk van het aantal positieve gebeurtenissen dat voor elke populatie wordt gemeten:

- In het geval van een positieve gebeurtenis <1500, VC <15%
- In het geval van een positieve gebeurtenis >1500, VC <10%

Lymfocyten CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Aantal positieve gebeurtenissen (gemiddelde) = 961							
	Tussen gebruikers	Tussen cytometers	Van dezelfde batch	Tussen batches	Tussen runs	Tijdens run	Totaal
VC (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
RESULTATEN	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NAUWKEURIGHEID

De nauwkeurigheid van Anti-TCR PAN γ/δ-FITC werd beoordeeld door de resultaten te vergelijken met een referentiereagens als het vergelijkbare hulpmiddel op een reeks volbloedmonsters die op een Navios-flowcytometer werden uitgevoerd. De afwijking tussen test- en referentiereagens werd bepaald op basis van het verschil tussen de testresultaten. Als de afwijking binnen het toegestane foutbereik ligt of de p-waarde geen significant verschil (>0,05) aangeeft, worden de testresultaten voor de twee reagentia als gelijkwaardig beschouwd.

De resultaten worden samengevat in de onderstaande tabel:

Aantal donoren = 25				
Positieve target	Gemiddelde Δ	Δ % Celcriteria	p-waarde	RESULTATEN
Lymfocyten CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

BLANCOLIMIET EN DETECTIELIMIET

Een studie is uitgevoerd in overeenstemming met CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluatie van detectiecapaciteit voor meetprocedures in klinische laboratoria). Het detectielimiet (LOD) is de laagste concentratie analiet die consistent kan worden gedetecteerd. De verkregen resultaten worden samengevat in de volgende tabel:

Positive Target	Blancolimiet (cel/µL)	Detectielimiet (cel/µL)
Lymfocyten CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

BEPERKINGEN

1. Flowcytometrie kan leiden tot verkeerde resultaten indien de cytometer niet perfect is uitgelijnd, indien fluorescentielekken niet juist zijn gecompenseerd en indien de gebieden niet zorgvuldig zijn gepositioneerd.

2. Gebruik bij voorkeur een RBC-lyseertechniek met een wasstap, aangezien dit reagens niet is geoptimaliseerd voor lyseertechnieken zonder wassen.
3. Nauwkeurige en reproduceerbare resultaten worden verkregen zolang de gebruikte procedures in overeenstemming zijn met de technische brochure en compatibel met goede laboratoriumpraktijken.
4. Het geconjugeerde antilichaam van dit reagens wordt gekalibreerd om de beste verhouding van specifiek signaal/niet-specifiek signaal te bieden. Daarom is het belangrijk dat de verhouding van reagensvolume/monstervolume in acht wordt genomen bij elke test.
5. In het geval van een hyperleukocytose verdunt u het bloed in PBS om een waarde van ongeveer 5 x 10^9 leukocyten/L te verkrijgen (22).
6. In sommige stadia van een aandoening, zoals ernstig nierfalen of hemoglobinopathieën, kan de ontbinding van rode cellen traag verlopen, onvolledig of zelfs onmogelijk zijn. In dit geval wordt het aanbevolen om cellen met één kern te isoleren met een dichtheidsgradiënt (bijvoorbeeld Ficoll) voorafgaand aan de kleuring (23).
7. Bij patiënten die worden behandeld met anti-humane monoklonale antilichaamtherapieën kan de detectie van de specifieke doelantigenen verminderd of afwezig zijn als gevolg van een gedeeltelijke of volledige blokkering door het therapeutische antilichaam.
8. De Anti-TCR PAN γ/δ-FITC-resultaten moeten worden geïnterpreteerd in het licht van het totale klinische beeld van de patiënt, met onder meer: symptomen, klinische anamnese, gegevens van aanvullende tests en andere relevante informatie.

Zie de bijlage voor voorbeelden en referenties.

Handelsmerken

Beckman Coulter, het gestileerde logo en de merken van Beckman Coulter-producten en -services in dit document zijn handelsmerken of gedeponeerde handelsmerken van Beckman Coulter, Inc. in de Verenigde Staten en andere landen.

AANVULLENDE INFORMATIE

Voor patiënten/gebruikers/derden in de EU en in landen met soortgelijke regelgeving (Verordening 2017/746/EU inzake in-vitro diagnostische medische apparaten); als er zich tijdens of als gevolg van het gebruik van dit apparaat een ernstig incident voordoet, dient u dit te melden bij de fabrikant en/of diens bevoegde vertegenwoordiger en bij uw nationale autoriteiten.

Het overzicht van de veiligheid en prestaties is beschikbaar in de database EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed

REVISIEGESCHIEDENIS

REVISIE AE:	Uitgiftedatum: Oktober 2019

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AW	Mei 2022
Bijgewerkt om te voldoen aan het wereldwijde etiketteringsbeleid van Beckman Coulter en volgens de vereisten van IVD-R (EU)2017/746:	
Toegevoegde paragrafen	BSI 2797-nummer, Beoogde gebruiker, Klinische relevantie, Concentratie, Precisie, Nauwkeurigheid, Blancolimiet en detectiegrens, Aanvullende informatie, Revisiegeschiedenis.
Toegevoegde informatie	Zie paragraaf Beperkingen
Bijgewerkte formulering of typografie	Zie paragrafen Procedure, Prestaties, Beperkingen, Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen, Opslag en Stabiliteit.
Verwijderde paragrafen	Voorbeeld van klinische toepassingen, Reagentia, Reproduceerbaarheid intra-laboratoria, Lineariteit
Bijgewerkte paragrafen	Beoogd gebruik, GHS-gevarenclassificatie, Bewijs van bederf, Procedure, Bijlage.

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AX	Maart 2023
Bijgewerkte paragrafen	Toevoegen Kazachs
Bijgewerkte paragrafen	Opslag en stabiliteit

Bijgewerkte versie	AY
Herzieningsdatum	Mei 2024
Bijgewerkte vertalingen	**Klinische relevantie:**
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Bijgewerkte versie	AZ
Herzieningsdatum	Juli 2024
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Verklaring van symbolen

Overzicht met verklaring van symbolen is beschikbaar op beckman.com/techdocs (documentnummer B60062)

	Thông số kỹ thuật
Độ đặc hiệu	TCR γ/δ
Dòng vô tính	IMMU510
Tế bào lai	X63 x balb/c
Chất sinh miễn dịch	Soluble γ/δ receptor
Globulin miễn dịch	IgG1
Các loài	Chuột
Tinh chế	Sắc ký ái lực
Chất nhuộm huỳnh quang	Fluorescein isothiocyanate
Tỷ lệ mol	FITC/Ig: 4 - 6,5
Kích thích λ	488 nM
Đỉnh phát xạ	525 nM
Dung dịch đệm	PBS pH 7,2 cộng với 2 mg/mL BSA và 0,1% NaN_3

Kháng thể cộng hợp IOTest Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 xét nghiệm; 1 mL, 20 µL/xét nghiệm

Dùng cho chẩn đoán *in vitro*.

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Kháng thể cộng hợp chất nhuộm huỳnh quang này cho phép xác định theo phương thức định tính và không tự động các quần thể tế bào biểu hiện kháng nguyên TCR γ/δ có trong mẫu sinh học của người bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy (xem phần "Mẫu" bên dưới).

NGUYÊN TẮC

Xét nghiệm này dựa trên khả năng liên kết của kháng thể đơn dòng đặc hiệu với yếu tố quyết định kháng nguyên biểu hiện bởi bạch cầu.

Nhuộm đặc hiệu bạch cầu bằng cách ủ mẫu với thuốc thử IOTest. Sau đó, loại bỏ tế bào hồng cầu bằng cách ly giải và tế bào bạch cầu không bị ảnh hưởng bởi quá trình này sẽ được phân tích bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy.

Máy đếm tế bào dòng chảy đo mức khuếch tán ánh sáng và phát huỳnh quang của các tế bào. Điều này giúp phân định được quần thể quan tâm trong cửa sổ điện tử được xác định trên biểu đồ, tương quan với sự khuếch tán trực giao ánh sáng (Tán xạ góc bên hay SS) và khuếch tán ánh sáng góc hẹp (Tán xạ góc thẳng hay FS). Có thể dùng các biểu đồ khác (kết hợp hai trong các thông số có sẵn trên máy đếm tế bào) để hỗ trợ trong giai đoạn khoanh vùng tùy thuộc vào ứng dụng mà người dùng chọn.

Huỳnh quang của các tế bào đã phân định được phân tích để phân biệt các sự kiện nhuộm dương tính với các sự kiện không nhuộm. Kết quả được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm số sự kiện dương tính so với tất cả sự kiện thu được từ việc khoanh vùng.

ĐỐI TƯỢNG SỬ DỤNG

Sản phẩm này chỉ dùng cho mục đích chuyên môn trong phòng xét nghiệm.

TÍNH THÍCH HỢP VỀ LÂM SÀNG

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC là một kháng thể Anti-TCR PAN γ/δ dùng để xác định và xác định đặc điểm của các tế bào biểu hiện kháng nguyên TCR γ/δ bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy. Chỉ riêng sản phẩm này không thể và không nhằm tạo ra bất kỳ kết luận chẩn đoán nào.

Khi kết hợp với các chỉ dấu khác, có thể dùng sản phẩm này trong một hoặc nhiều chức năng sau:

- Để hỗ trợ chẩn đoán phân biệt những bệnh nhân bị bất thường về huyết học nghi ngờ mắc ung thư máu và để theo dõi những bệnh nhân đã được xác định là mắc ung thư máu.
- Để theo dõi những bệnh nhân mắc bệnh tự miễn hoặc chứng rối loạn đã biết.

Xem tài liệu tham khảo sau đây:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MẪU

Phải lấy mẫu máu tĩnh mạch vào ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA.

Phải bảo quản mẫu ở nhiệt độ phòng (18–25°C) và không lắc mẫu. Phải khuấy nhẹ mẫu trước khi lấy mẫu xét nghiệm để mẫu có trạng thái đồng nhất.

Phải phân tích các mẫu trong vòng 24 giờ sau khi lấy từ tĩnh mạch.

NỒNG ĐỘ

Xem Giấy chứng nhận phân tích theo lô cụ thể tại www.beckman.com.

CẢNH BÁO VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG NGỪA

1. Không dùng thuốc thử đã hết hạn sử dụng.
2. Không làm đông lạnh.
3. Để dung dịch trở về nhiệt độ phòng (18–25°C) trước khi sử dụng.
4. Giảm thiểu tiếp xúc với ánh sáng.
5. Tránh làm thuốc thử bị nhiễm khuẩn, nếu không, có thể dẫn đến kết quả sai.
6. Phải xử lý cẩn thận dung dịch kháng thể chứa natri azit (NaN_3). Không được uống và tránh mọi tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.

Ngoài ra, trong môi trường axit, natri azit có thể tạo thành axit hydrazoic nguy hiểm. Nếu cần phải thải bỏ, bạn nên pha loãng thuốc thử trong nhiều nước trước khi thải vào hệ thống thoát nước để tránh tích tụ natri azide trong ống kim loại và để tránh nguy cơ nổ.

7. Phải coi tất cả mẫu máu là có nguy cơ lây nhiễm và xử lý cẩn thận (cụ thể: đeo găng tay, mặc áo choàng và đeo kính bảo vệ).
8. Tuyệt đối không dùng pipet bằng miệng và tránh để mẫu tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.
9. Phải bỏ ống máu và vật liệu dùng một lần đã dùng để xử lý trong thùng chứa đặc biệt cho mục đích thiêu hủy.
10. Phải thải bỏ thuốc thử và chất thải theo yêu cầu của địa phương.

PHÂN LOẠI MỐI NGUY HIỂM THEO GHS

Không được phân loại là chất nguy hiểm

SDS Phiếu dữ liệu an toàn có sẵn tại beckmancoulter.com/techdocs

BẢO QUẢN VÀ ĐỘ ỔN ĐỊNH

Phải bảo quản thuốc thử này ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng, trước và sau khi mở ống.

Hạn sử dụng của ống khi chưa mở nắp theo nghiên cứu về độ ổn định: 1095 ngày.

Độ ổn định của ống đã mở: thuốc thử ổn định trong 180 ngày.

BẰNG CHỨNG BIẾN CHẤT

Mọi sự biến đổi về vẻ ngoài của thuốc thử có thể là dấu hiệu suy giảm chất lượng và bạn không nên dùng thuốc thử đó.

Để biết thêm thông tin hoặc nếu bạn nhận được sản phẩm bị hỏng, hãy gọi điện cho Dịch vụ khách hàng của Beckman Coulter theo số 8007422345 (Hoa Kỳ hoặc Canada) hoặc liên hệ với Đại diện của Beckman Coulter tại địa phương bạn.

HÀM LƯỢNG

Chất bảo quản natri azit có thể hình thành hợp chất nổ trong ống dẫn bằng kim loại. Xem Thông Báo của Viện quốc gia về an toàn và sức khỏe nghề nghiệp (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Nguy cơ nổ azit) (16/8/76).
Để tránh khả năng tích tụ hợp chất azit, hãy xả sạch các ống thải bằng nước sau khi xử lý vứt bỏ thuốc thử chưa pha loãng. Phải xử lý vứt bỏ natri azit theo đúng quy định sở tại.

VẬT LIỆU CẦN DÙNG (KHÔNG KÈM THEO BỘ THUỐC THỬ):

- Ống lấy mẫu và vật liệu cần dùng để lấy mẫu.
- Pipet tự động có đầu hút dùng một lần để lấy mẫu có thể tích 20, 100 và 500 µL.
- Ống chứa mẫu tan huyết bằng nhựa.
- Thuốc thử ly giải hồng cầu với bước rửa sau khi ly giải. Ví dụ: VersaLyse (Số tham chiếu A09777).
- Thuốc thử cố định Leucocyte. Ví dụ: Dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800).
- Mẫu chứng âm FITC: Thuốc thử IOTest (Số tham chiếu: A07795).
- Dung dịch đệm (PBS: 0,01 Mol natri photphat; 0,145 Mol natri clorua; pH 7,2).
- Máy ly tâm.
- Máy trộn tự động (loại khuấy).
- Máy đếm tế bào dòng chảy.

QUY TRÌNH VỚI THUỐC THỬ VERSALYSE

Đối với mỗi mẫu phân tích, ngoài ống xét nghiệm, có thể thêm một ống kiểm chuẩn, trong đó tế bào được trộn với mẫu chứng âm (Số tham chiếu A07795).

1. Thêm 20 µL kháng thể cộng hợp IOTest đặc hiệu vào mỗi ống xét nghiệm và nếu cần, 20 µL mẫu chứng âm vào từng ống kiểm chuẩn.
2. Thêm 100 µL mẫu xét nghiệm vào từng ống. Lắc nhẹ các ống.
3. Ủ trong 15 đến 20 phút ở nhiệt độ phòng (18–25°C), tránh ánh sáng.
4. Sau đó, ly giải hồng cầu. Tham khảo tờ hướng dẫn về VersaLyse (Số tham chiếu A09777) và tốt nhất là làm theo quy trình tên là “có cố định đồng thời”, bao gồm thêm 1 mL hỗn hợp “Cố định và ly giải” được chuẩn bị tùy ứng. Lắc ngay trong một giây và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.
5. Quay ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 150 x g tại nhiệt độ phòng.
6. Hút bỏ dịch nổi.
7. Tái huyền phù viên tế bào bằng 3 mL PBS.
8. Lặp lại bước 5.
9. Hút bỏ dịch nổi và tái huyền phù viên tế bào bằng:

- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS cộng với 0,1% formaldehyde nếu sử dụng chế phẩm trong vòng chưa đến 24 giờ. (Có thể thu được PBS chứa 0,1% formaldehyde bằng cách pha loãng 12,5 µL dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800) ở nồng độ 10X trong 1 mL PBS).
- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS không có formaldehyde, nếu phân tích các chế phẩm trong vòng 2 giờ.

Ghi chú: Trong mọi trường hợp, phải bảo quản chế phẩm ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng.

GIÁ TRỊ DỰ KIẾN

Trong phòng xét nghiệm của chúng tôi, mẫu máu toàn phần của 25 người hiến tặng có vẻ ngoài khỏe mạnh được điều trị bằng thuốc thử mô tả ở trên và thuốc thử gating. Bảng dưới đây trình bày kết quả đếm số lượng sự kiện dương tính quan tâm với thuốc thử này:

Mục tiêu dương tính	Số	Giá trị trung bình (%)	SD	CV (%)
Tế bào lympho CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Các giá trị sau chỉ có tính chất đại diện. Mỗi phòng xét nghiệm phải thiết lập giá trị dự kiến riêng từ quần thể người hiến bình thường của mình.

HIỆU SUẤT

Dữ liệu hiệu suất thu được bằng cách sử dụng quy trình mô tả ở trên và thuốc thử gating với các mẫu máu được thu thập dưới 24 giờ trong các ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA. Phân tích được thực hiện trong vòng 2 giờ sau khi nhuộm hóa mô miễn dịch.

ĐỘ ĐẶC HIỆU

TCR là một phức hợp phân tử bao gồm hai đơn vị: một đơn vị nhận dạng, bao gồm dị dimer alpha-beta hoặc gamma delta, hiện diện trên bề mặt tế bào theo cách loại trừ lẫn nhau, và một đơn vị tải nạp, phức hợp CD3, phổ biến với dị dimer alpha-beta và gamma-delta, kích hoạt tế bào T khi đơn vị nhận dạng bị kháng nguyên chiếm giữ. Đơn vị nhận dạng nhận ra các kháng nguyên lạ và các gen TCR tái tổ hợp soma tạo ra sự đa dạng cần thiết cho chức năng nhận dạng này (11, 12, 13).

Có bốn locus gen TCR (alpha, beta, gamma và delta). Mỗi locus gen bao gồm một số đoạn V (biến đổi) mã hóa cho khoảng 90 axit amin, đoạn D rất ngắn (đa dạng) (chỉ locus α và delta), đoạn J ngắn (liên kết) (khoảng 15 axit amin) và một hoặc hai đoạn C (bất biến) (14, 15). Hầu hết các tế bào T đều biểu hiện protein alpha/beta TCR (thụ thể tế bào T) và một số ít tế bào T biểu hiện gamma/delta TCR, thường có kiểu hình âm tính kép (CD4/CD8).

Các tế bào T gamma/delta thường là tuyến phòng thủ đầu tiên ở bề mặt biểu bì và biểu mô và chúng đại diện cho 10-12% tế bào lympho trong lá lách (16). IMMU 510 nhận ra tất cả các tế bào T gamma/delta bất kể gen biến đổi hoặc vùng tiếp giáp mà chúng biểu hiện khi được đánh giá bằng các nghiên cứu miễn dịch huỳnh quang dòng trên các dòng tế bào T gamma/delta đa dòng cũng như các dòng vô tính tế bào T gamma/delta (17, 18, 19, 20, 21).

ĐỘ CHỤM

Tỷ lệ phần trăm của các giá trị dương tính được xác định bằng cách sử dụng máu toàn phần. Mỗi mẫu được chạy 4 lần, hai lần một ngày trong 1 ngày trên 2 thiết bị sử dụng 2 lô thuốc thử kháng thể đơn dòng Anti-TCR PAN γ/δ-FITC. Các phép đo (% dương tính) được thực hiện trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Phân tích được tiến hành theo phương pháp EP5-A2 của CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Đánh giá hiệu suất độ chụm của phương pháp đo định lượng).

Tiêu chí chấp nhận của chúng tôi phụ thuộc vào số lượng sự kiện dương tính đo được cho mỗi quần thể:

- Nếu sự kiện dương tính <1.500, CV <15%
- Nếu sự kiện dương tính >1.500, CV <10%

Tế bào lympho CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Số sự kiện dương tính (Giá trị trung bình) = 961							
	Giữa những người thao tác	Giữa các máy đếm tế bào	Trong lô	Giữa các lô	Giữa các lần chạy	Trong lần chạy	Toàn phần
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
KẾT QUẢ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ĐỘ CHÍNH XÁC

Độ chính xác của Anti-TCR PAN γ/δ-FITC được đánh giá bằng cách so sánh kết quả với thuốc thử tham chiếu để khẳng định trên một tập hợp các mẫu máu toàn phần chạy trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Sự chênh lệch giữa xét nghiệm và thuốc thử tham chiếu được xác định dựa trên sự chênh lệch giữa các kết quả xét nghiệm. Nếu sự chênh lệch nằm trong phạm vi sai số cho phép hoặc giá trị p cho thấy không có sự khác biệt đáng kể (>0,05), thì kết quả xét nghiệm cho hai thuốc thử được coi là tương đương.

Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Số người hiến = 25				
Mục tiêu dương tính	Giá trị trung bình Δ	Tiêu chí tế bào Δ %	giá trị p	KẾT QUẢ
Tế bào lympho CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

GIỚI HẠN TRỐNG VÀ GIỚI HẠN PHÁT HIỆN

Một nghiên cứu đã được thực hiện theo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Đánh giá khả năng phát hiện cho các quy trình đo lường trong phòng xét nghiệm lâm sàng). Giới hạn phát hiện (LOD) là nồng độ thấp nhất của chất phân tích có thể phát hiện một cách nhất quán. Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Positive Target	Giới hạn trống (tế bào/µL)	Giới hạn phát hiện (tế bào/µL)
Tế bào lympho CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

GIỚI HẠN

1. Phương pháp đếm tế bào dòng chảy có thể cho kết quả sai nếu điều chỉnh máy đếm tế bào không phù hợp, nếu mức bù huỳnh quang rò rỉ không phù hợp và nếu định vị các vùng không cẩn thận.
2. Tốt nhất là sử dụng kỹ thuật ly giải RBC có bước rửa vì thuốc thử này chưa được tối ưu hóa cho các kỹ thuật ly giải "không rửa".
3. Sẽ thu được kết quả chính xác và có thể tái lặp nếu sử dụng quy trình theo tờ hướng dẫn kỹ thuật và phù hợp với biện pháp xét nghiệm hợp lý.
4. Kháng thể cộng hợp của thuốc thử này được hiệu chuẩn để đưa ra tỷ lệ tín hiệu đặc hiệu/tín hiệu không đặc hiệu tốt nhất. Do đó, điều quan trọng là phải tuân thủ tỷ lệ thể tích thuốc thử/thể tích mẫu trong mỗi xét nghiệm.
5. Trong trường hợp tăng bạch cầu, hãy pha loãng máu trong PBS để thu được giá trị xấp xỉ 5 x 10^9 bạch cầu/L (22).

6. Trong một số tình trạng bệnh, chẳng hạn như suy thận nặng hoặc bệnh rối loạn máu, hồng cầu có thể ly giải chậm, ly giải không hoàn toàn, hoặc thậm chí là không thể ly giải. Trong trường hợp này, bạn nên phân lập tế bào đơn nhân bằng phương pháp ly tâm phân lớp theo tỷ trọng (ví dụ: Ficoll) trước khi nhuộm (23).
7. Ở những bệnh nhân được điều trị bằng các liệu pháp kháng thể đơn dòng kháng người, khả năng phát hiện các kháng nguyên mục tiêu đặc hiệu có thể giảm đi hoặc không xảy ra do bị kháng thể điều trị chặn một phần hoặc toàn bộ.
8. Phải diễn giải kết quả Anti-TCR PAN γ/δ-FITC dựa trên toàn bộ các dấu hiệu lâm sàng của bệnh nhân, bao gồm: triệu chứng, tiền sử lâm sàng, dữ liệu từ các xét nghiệm khác và thông tin thích hợp khác.

Xem Phụ lục để biết ví dụ và tài liệu tham khảo.

NHÃN HIỆU

Beckman Coulter, logo cách điệu và các nhãn hiệu sản phẩm cũng như dịch vụ của Beckman Coulter nêu trong tài liệu này là nhãn hiệu hoặc nhãn hiệu đã đăng ký của Beckman Coulter, Inc. ở Hoa Kỳ và các quốc gia khác.

THÔNG TIN BỔ SUNG

Đối với bệnh nhân/người dùng/bên thứ ba tại Liên minh Châu Âu và ở các quốc gia có chế độ quản lý giống nhau (Quy định 2017/746/EU về Thiết bị y tế chẩn đoán In vitro); nếu xảy ra sự cố nghiêm trọng trong quá trình sử dụng thiết bị này hoặc do sử dụng thiết bị này, vui lòng báo cáo cho nhà sản xuất và/hoặc đại diện ủy quyền của nhà sản xuất cũng như cơ quan có thẩm quyền tại quốc gia của bạn.

Summary of Safety and Performance (Tóm tắt về an toàn và hiệu suất) có trong cơ sở dữ liệu EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

LỊCH SỬ SỬA ĐỔI

PHIÊN BẢN AE:	Ngày phát hành: Tháng 10 năm 2019

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AW	Tháng 05 năm 2022
Cập nhật để tuân thủ Chính sách ghi nhãn toàn cầu của Beckman Coulter và theo các yêu cầu IVD-R (EU) 2017/746:	
Bổ sung các phần	Số BSI 2797, Đối tượng sử dụng, Tính thích hợp về lâm sàng, Nồng độ, Độ chụm, Độ chính xác, Giới hạn trống và giới hạn phát hiện, Thông tin bổ sung, Lịch sử sửa đổi.
Bổ sung thông tin	Xem các phần Giới hạn
Cập nhật cách diễn đạt hoặc câu chữ	Xem các phần Quy trình, Hiệu suất, Giới hạn, Cảnh báo và Biện pháp phòng ngừa, Bảo quản và Độ ổn định.
Các phần bị xóa	Ví dụ về các ứng dụng lâm sàng, Thuốc thử, Khả năng tái lập trong phòng xét nghiệm, Độ tuyến tính
Các phần cập nhật	Mục đích sử dụng, Phân loại mối nguy hiểm theo GHS, Bằng chứng biến chất, Quy trình, Phụ lục.

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AX	Tháng 3 2023
Các phần cập nhật	Thêm tiếng Kazakh
Các phần cập nhật	Bảo quản và độ ổn định

Phiên bản sửa đổi	AY
Ngày sửa đổi	Tháng 5 2024
Đã cập nhật bản dịch	**Tính thích hợp về lâm sàng:**
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Phiên bản sửa đổi	AZ
Ngày sửa đổi	Tháng 7 2024
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Bảng chú giải các ký hiệu

Danh mục thuật ngữ ký hiệu có sẵn tại beckman.com/techdocs (số tài liệu B60062)

	Сипаттамалары
Ерекшелік	TCR γ/δ
Клон	IMMU510
Гибридома	X63 x balb/c
Иммуноген	Soluble γ/δ receptor
Иммунды глобулин	IgG1
Түрлері	Тышқан
Тазарту	Үйірлік хроматография
Флуорохром	Fluorescein isothiocyanate
Молярлық қатынасы	FITC / Ig: 4 - 6,5
λ қозу	488 нм
Эмиссияның жоғарғы шегі	525 нм
Буфер	PBS pH 7,2 + 2 мг / мл BSA және 0,1% NaN_3

Конъюгацияланған
IOTest антиденесі Anti-TCR PAN γ/δ-FITC

REF B49175 50 сынақ; 1 мл, 20 мкл / сынақ

***In vitro* диагностикасында пайдалануға арналған.**

ПАЙДАЛАНУ МАҚСАТЫ

Бұл флуорохроммен конъюгацияланған антидене адамның биологиялық үлгілерінде TCR γ/δ антигеннің болуын көрсететін жасуша популяциясын ағын цитометриясы көмегімен сапалы және автоматтандырылмаған анықтауға мүмкіндік береді (төмендегі «Үлгілер» бөлімін қараңыз).

ҚАҒИДА

Бұл сынақ нақты моноклоналды антиденелердің лейкоциттер айқындайтын антигендік детерминанттармен байланысу қабілетіне негізделген.

Лейкоциттердің арнайы бояуы үлгіні IOTest реагентімен инкубациялау арқылы жүзеге асады. Сол кезде эритроциттер лизис арқылы шығарылады, ал осы процесс әсер етпейтін лейкоциттерге ағын цитометриясы арқылы талдау жасалады.

Ағын цитометрі жарық диффузиясы мен жасушалардың флуоресценттенуін өлшейді. Бұл гистограммада анықталған электронды терезеде қызығушылық популяциясын ажыратуға мүмкіндік береді, ол жарықтың ортогональды диффузиясын (бүйірлік шашырау немесе SS) және тар бұрышты жарықтың диффузиясын (тікелей шашырау немесе FS) байланыстырады. Цитометрде қолжетімді екі түрлі параметрді біріктіретін басқа гистограммаларды пайдаланушы таңдаған қолданбаға байланысты гейтинг кезеңінде тірек ретінде пайдалануға болады.

Оң боялған оқиғаларды боялмаған оқиғалардан ажырату үшін шектеулі жасушалардың флуоресценттенуіне талдау жүргізілді. Оның нәтижесі оң оқиғалардың гейтинг арқылы алынған барлық оқиғаларға қатынасының пайыздық көрсеткіші ретінде көрсетіледі.

МАҚСАТТЫ ПАЙДАЛАНУШЫ

Бұл өнім зертханалық жағдайда кәсіби пайдалануға арналған.

КЛИНИКАЛЫҚ МАҢЫЗЫ

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC – ағын цитометриясы арқылы TCR γ/δ антигенін экспрессиялайтын жасушаларды сәйкестендіру және сипаттау үшін пайдаланылатын Anti-TCR PAN γ/δ антиденесі. Бұл өнім жалғыз өзі қандай да бір диагностикалық қорытынды жасай алмайды және оған арналмаған.

Басқа маркерлермен бірлесіп пайдаланылғанда, бұл өнімді келесі функциялардың біреуінде немесе бірнешеуінде пайдалануға болады:

- Гемопоэтикалық неоплазмаға күдікті гематологиялық аномальды пациенттерді дифференциалды диагностикалауға көмектесу және белгілі гемопоэтикалық неоплазмасы бар пациенттерді бақылау үшін.
- Белгілі аутоиммунды ауруы немесе бұзылысы бар емделушілерді бақылау үшін.

Келесі анықтамаларды қараңыз:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ҮЛГІЛЕР

Көктамыр қанын антикоагулянт ретінде EDTA тұзы бар стерильді түтіктердің көмегімен алу керек.

Үлгілерді бөлме температурасында (18–25°C) сақтау керек және оларды шайқауға болмайды. Үлгілерді сынақ үлгісін алмастан бұрын жеңіл араластыру жолымен гомогендеу керек.

Үлгілерді көк тамырды тескен соң 24 сағат ішінде талдау қажет.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Нақты топтама бойынша талдау сертификатын мына сайттан қараңыз www.beckman.com.

ЕСКЕРТУ ЖӘНЕ САҚТЫҚ ШАРАЛАРЫ

1. Жарамдылық мерзімі өткеннен кейін реагентті қолдануға болмайды.
2. Қатыруға болмайды.
3. Оны пайдаланбас бұрын, температурасының бөлме температурасына (18–25°C) жетуін күтіңіз.
4. Жарық әсерін азайтыңыз.
5. Реагенттердің микробтармен ластануына жол бермеңіз немесе жалған нәтижелер орын алуы мүмкін.

6. Құрамында натрий азиды бар антидене ерітінділермен (NaN_3) жұмыс істегенде абай болу керек. Ішке қабылдамаңыз. Теріге, шырышты қабыққа және көзге тиігізбеңіз.

   Оған қоса, қышқылды ортада натрий азиды ықтимал қауіпті азотты сутек қышқылын түзуі мүмкін. Оны жою қажет болған жағдайда реагентті алдымен судың көп мөлшерінде сұйылтып, артынан кәріз жүйесіне төгуге кеңес беріледі. Осылайша, натрий азидының металл құбырларда жиналуын болдырмай, жарылыс қаупінің алдын алуға болады.

7. Қанның барлық үлгілері ықтимал жұқпалы деп есептелуі және сақтықпен өңделуі (атап айтқанда: қорғаныс қолғабын, халат және көзілдірік кию) керек.
8. Ешқашан оны аузыңызға құймаңыз және үлгілерді теріге, шырышты қабыққа және көзге тигізбеңіз.
9. Өңдеу үшін пайдаланылатын қан түтіктері мен бір реттік материалдарды өртеуге арналған арнайы контейнерлерге тастау керек.
10. Реагенттер мен қалдықтар жергілікті талаптарға сәйкес жойылуы тиіс.

GHS ҚАУІПТЕР КЛАССИФИКАЦИЯСЫ

Қауіпті деп жіктелмейді

SDS Қауіпсіздік парағы beckmancoulter.com/techdocs мекенжайы бойынша қолжетімді

САҚТАУ ЖӘНЕ ТҰРАҚТЫЛЫҚ

Құтыны ашпай тұрып және оны ашқаннан кейін, бұл реагентті 2–8°C температурада жарықтан қорғалған жерде сақтау керек.

Тұрақтылық зерттеуіне сәйкес жабық күйіндегі сауыт сөресінің жарамдылық мерзімі: 1095 күндер.

Ашық құтының тұрақтылығы: реагент 180 күн бойы тұрақты болады.

ЗАҚЫМДАЛУ БЕЛГІЛЕРІ

Реагенттердің сыртқы түрінің кез келген өзгерісі олардың зақымдалғандығын көрсетуі мүмкін және реагентті пайдаланбаған жөн.

Қосымша ақпарат алу үшін немесе зақымдалған өнімді алған жағдайда 800-742-2345 (АҚШ немесе Канада) арқылы Beckman Coulter тұтынушыларға қызмет көрсету орталығына қоңырау шалыңыз немесе жергілікті Beckman Coulter компаниясының өкіліне хабарласыңыз.

МАЗМҰНЫ

Натрий азиді консерванты металдан жасалған құбыр желілерінде жарылғыш қосылыстар түзуі мүмкін. NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76) (NIOSH бюллетенін қараңыз: азидтердің жарылу қаупі (16.08.1976)).
Азид қосылыстарының ықтимал түзілуін болдырмау үшін сұйылтылмаған реагентті жойғаннан кейін су құбырларын шайыңыз. Натрий азидін жою тиісті жергілікті ережелерге сәйкес жүзеге асырылуы тиіс.

ҚАЖЕТТІ, БІРАҚ ЖИНАҚПЕН БІРГЕ ЖЕТКІЗІЛМЕГЕН МАТЕРИАЛДАР

- Үлгі алу түтіктері және үлгі алу үшін қажетті материал.
- 20, 100 және 500 мкл ерітінділерге арналған бір реттік ұшы бар автоматты тамызғыштар.
- Эритроциттер гемолизіне арналған пластикалық түтіктер.
- Лизистен кейін жуу әдісі пайдаланылатын эритроцит лизисінің реагенті. Мысалы: VersaLyse (Сілт A09777).
- Лейкоцит фиксация реагенті. Мысалы: IOTest 3 бекіту ерітіндісі (A07800 қараңыз).
- Изотиптік бақылау FITC: IOTest реагенті (анық. A07795).
- Буфер (PBS: 0,01 М натрий фосфаты; 0,145 М натрий хлориді; pH 7,2).
- Центрифугалау
- Автоматты араластырғыш (араластырғыш түрі).
- Ағын цитометрі.

VERSALYSE РЕАГЕНТІ КӨМЕГІМЕН ОРЫНДАЛАТЫН ПРОЦЕДУРА

Әрбір талданатын үлгі үшін сынақ түтігіне қосымша, жасушалар изотиптік бақылаудың қатысуымен араласатын бір бақылау түтігін пайдалану ұсынылады (анық. A07795).

1. Әрбір түтікке 20 мкл арнайы конъюгацияланған IOTest антиденесін және, қажет болса, әрбір сынақ түтігіне 20 мкл изотиптік бақылауды қосыңыз.
2. Әр түтікке сынақ үлгісінің 100 мкл қосыңыз. Түтіктерді абайлап араластырыңыз.
3. Жарықтан қорғалған бөлме температурасында (18–25°C) 15–20 минут инкубациялаңыз.
4. Содан соң қызыл жасушалардың лизисін орындаңыз. VersaLyse (анық. A09777) парақшасын қарап, жоспардан тыс дайындалған 1 мл «Бекіту және еріту» қоспасын қосудан тұратын «ілеспе бекітумен» деп аталатын процедураны орындаңыз. Бір секунд дереу араластырыңыз және жарықтан қорғалған бөлме температурасында 10 минут бойы инкубациялаңыз.
5. 150 x г шамасында 5 минут бойы бөлме температурасында центрифугалаңыз.
6. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастаңыз.
7. 3 мл PBS ерітіндісін пайдаланып, жасуша массасын қайта ерітіңіз.
8. 5-қадамды қайталаңыз.
9. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастап, жасуша массасын төмендегіні қолдану арқылы қайта ерітіңіз:

- Егер препараттар 24 сағаттан аз сақталатын болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне 0,1% формальдегид қосылады. (0,1% формальдегидті PBS ерітіндісі 12,5 мкл IOTest 3 бекіту ерітіндісін (анық. A07800) 10 еселік концентрациясында 1 мл PBS ерітіндісін сұйылту арқылы алуға болады).

- Егер 2 сағат ішінде талдануы керек болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне формальдегид қосылмайды.

Ескертпе: барлық жағдайда препараттарды 2–8°C температурада, күн көзінен алыс жерде сақтау керек.

КҮТІЛЕТІН МӘНДЕР

Біздің зертханаларда 25 іс жүзінде дені сау донорларынан жаңа алынған қан үлгілері жоғарыда сипатталған реагентпен және іріктеу реагентімен өңделді. Осы реагентпен қызығушылық тудыратын оң оқиғаларды санау үшін алынған нәтижелер төмендегі кестеде келтірілген:

Оңтайлы нысана	Сан	Орташа мән (%)	SD	CV (%)
Лимфоциттер CD3+ TCR PAN γ/δ+	25	5,43	3,40	62,54

Бұл мәндер тек ұсыну үшін арналған. Әр зертхана қалыпты донорлардың жергілікті популяциясынан күтілетін өзіндік мәндерді белгілеуі керек.

ӨНІМДІЛІК

Өнімділік жөніндегі деректер 24 сағаттық үлгілерді пайдаланып, жоғарыда сипатталған процедура және іріктеу реагенті арқылы алынады. Бұл үлгілер алдын ала антикоагулянт ретінде EDTA тұзы арқылы стерильді түтіктерге жиналады. Талдау иммундық бояудан соң 2 сағат ішінде жасалады.

ЕРЕКШЕЛІГІ

TCR – бұл екі бірліктен тұратын молекулалық кешен: жасуша бетінде бірін-бірі жоққа шығаратын түрде болатын альфа-бета немесе гамма-дельта гетеродимерінен тұратын тану бірлігі және тану бірлігі антигенмен бос емес кезде Т жасушаларын қоздыратын альфа-бета және гамма-дельта гетеродимерлеріне ортақ CD3 кешенінің түрлендіру бірлігі. Тану бірлігі кез келген ықтимал бөгде антигендерді таниды және бұл тану функциясына қажетті әртүрлілік TCR гендерінің соматикалық рекомбинациясы арқылы (11, 12, 13) жасалады.

TCR генінің төрт локусы бар (альфа, бета, гамма және дельта). Олардың әрқайсысы 90-ға жуық амин қышқылын кодтайтын бірнеше V (түрленгіш) сегменттерінен, өте қысқа D (әртүрлілік) сегменттерінен (тек α және дельта локустары) және қысқа J (қосылу) сегменттерінен (шамамен 15 амин қышқылы) және бір немесе екі C (тұрақтылар) сегменттерін тұрады (14, 15). Т жасушаларының көпшілігі альфа/бета TCR (Т жасушалық рецептор) протеинін, ал Т жасушаларының аз популяциясы әдетте қос теріс (CD4/CD8) фенотипі бар гамма/дельта TCR экспрессиялайды.

Гамма/дельта Т жасушалары әдетте эпидермис пен эпителий беттеріндегі бірінші қорғаныс сызығы болып табылады және көкбауырдағы лимфоциттердің 10–12%-ын құрайды (16). IMMU 510 барлық гамма/дельта Т жасушаларын, олар қандай түрленгіш гендер немесе қосылыс аймақтары экспрессияланғанына қарамастан таниды, бұл гамма/дельта Т жасушаларының поликлоналды сызықтарындағы, сондай-ақ гамма/дельта Т жасушаларының клондарындағы ағындық иммунофлуоресценция зерттеулерімен расталады (17, 18, 19, 20, 21).

ДӘЛДІК

Оң мәндердің пайызы жаңа алынған қанды қолдану арқылы анықталды. Әрбір үлгі Anti-TCR PAN γ/δ-FITC моноклоналды антидене реагентерінің 2 топтамасын пайдаланып 2 құралда 1 күн бойы күніне екі реттен 4 рет талданды. Өлшемдер (% оң) Navios ағын цитометрінде жүргізілді. Талдау EP5-A2 CLSI әдісі негізінде жүргізілді: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Сандық өлшеу әдістерінің дәлдік өнімділігін бағалау).

Біздің қабылдау критерийлері әрбір популяция үшін өлшенген оң оқиғалардың санына байланысты:

- Оң оқиға болса <1500, CV <15%
- Оң оқиға болса >1500, CV <10%

Лимфоциттер CD3+ TCR PAN γ/δ+							
Оң оқиғалар саны (Орташа мән) = 961							
	Аралық оператор	Цитометрараралық	Топтама ішілік	Топтама аралық	Жүгіру арасында	Жүгіру ішінде	Жалпы
CV (%)	1,02	0,99	2,92	0,78	1,00	2,55	3,18
НӘТИЖЕЛЕР	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ДҰРЫСТЫҚ

Anti-TCR PAN γ/δ-FITC дұрыстығы Navios ағын цитометрінде өңделген жаңа алынған қан үлгілерінің жинағындағы, предикат ретінде анықтамалық реагентпен нәтижелерді салыстыру арқылы бағаланған. Сынақ пен анықтамалық реагент арасындағы жүйелік қателік сынақ нәтижелері арасындағы айырмашылық негізінде анықталды. Егер қателік рұқсат етілген қателер ауқымында болса немесе p-мәні айтарлықтай айырмашылықты көрсетпесе (>0,05), онда екі реагенттің сынау нәтижелері баламалы болып саналады.

Алынған нәтижелер келесі кестеде толық көрсетілген:

Донорлар саны = 25				
Оңтайлы нысана	Орташа мән Δ	Δ % Жасуша критерийлері	p-мәні	НӘТИЖЕЛЕР
Лимфоциттер CD3+ TCR PAN γ/δ+	0,082	<3	0,038	PASS

БОС СЫНАМА ШЕГІ ЖӘНЕ АНЫҚТАУ ШЕГІ

Зерттеу CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, клиникалық зертханалық өлшеу процедураларын анықтау мүмкіндігін бағалау) нұсқауына сәйкес жүргізілді. Анықтау шегі (LOD) – бұл рет-ретімен анықтауға болатын аналиттің ең төмен концентрациясы. Алынған нәтижелер келесі кестеде жинақталған:

Positive Target	Бос сынама шегі (жасуша/мкл)	Анықтау шегі (жасуша/мкл)
Лимфоциттер CD3+ TCR PAN γ/δ+	1	3

ШЕКТЕУЛЕР

1. Цитометр дұрыс баптalмаған, флуоресценттенудің ағып кетуі дұрыс өтелмеген және аймақтар мұқият орналастырмаған жағдайда, ағын цитометриясы қате нәтижелер беруі мүмкін.
2. RBC лизис әдісін жуу қадамымен пайдаланған жөн, себебі бұл реагент «жуусыз» лизис әдістері үшін оңтайландырылмаған.
3. Жүргізілген процедуралар техникалық нұсқау брошюрасына сәйкес және тиісті зертханалық тәжірибемен үйлесімді болған жағдайда ғана дұрыс, әрі жаңғыртылуы мүмкін нәтижелерді алуға болады.
4. Осы реагенттің конъюгацияланған антиденесі арнайы сигнал мен арнайы емес сигналдың ең жақсы қатынасын қамтамасыз ететіндей калибрленген. Сондықтан әрбір сынақты жүргізгенде реагент көлемінің үлгі көлеміне қатынасын сақтау маңызды.
5. гиперлейкоцитоз жағдайында шамамен 5 x 10^9 лейкоцит/л (22) мәнін алу үшін PBS ерітіндісінде қанды сұйылтыңыз.
6. Кейбір жіті бүйрек жеткіліксіздігі немесе гемоглобинопатия сияқты аурулар жағдайында, эритроциттер лизисі баяу, толық емес немесе тіпті мүмкін емес болуы мүмкін. Бұл жағдайда бояудан бұрын тығыздық градиентін (мысалы, Ficoll) пайдаланып мононуклеарлы жасушаларды оқшаулап алу ұсынылады (23).
7. Адамға қарсы моноклоналды антиденелер терапиясымен емделген пациенттерде арнайы мақсатты антигендерді анықтау емдік антиденеңің ішінара немесе толық бұғатталуына байланысты төмендеуі немесе болмауы мүмкін.
8. Anti-TCR PAN γ/δ-FITC нәтижелері емделушінің жалпы клиникалық деректері тұрғысынан түсіндірілуі тиіс, соның ішінде: симптомдар, клиникалық анамнез, қосымша сынақтардың деректері және басқа тиісті ақпарат.

Мысалдар мен анықтамалар алу үшін қосымшаны қараңыз.

САУДА БЕЛГІЛЕРІ

Beckman Coulter, стильденген логотип, сонымен қатар Beckman Coulter өнім мен қызмет көрсету белгілері — бұл АҚШ және басқа елдердегі Beckman Coulter, Inc. сауда белгілері немесе тіркелген сауда белгілері.

ҚОСЫМША АҚПАРАТ

Еуропалық Одақтағы және бірдей реттеу режимі (зертханалық жағдайдағы медициналық диагностикалық құрылғылар туралы 2017/746/ЕО қаулысы) бар елдердегі пациент/пайдаланушы/үшінші тарап үшін; егер осы құрылғыны пайдалану кезінде немесе оны пайдалану нәтижесінде елеулі оқиға орын алса, өндірушіге және/немесе оның уәкілетті өкіліне және ұлттық органыңызға хабарлаңыз.

Қауіпсіздік пен өнімділік бойынша қорытынды мәліметтер EUDAMED дерекқорында қолжетімді: ec.europa.eu/tools/eudamed.

Өзгерту тарихы

Жағымсыз оқиға (AE) ҚАЙТА ҚАРАУ:	Шығарылған күні: Қазан 2019

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AW	Мамыр 2022 ж.
Beckman Coulter ғаламдық таңбалау саясатына және IVD-R (ЕО) 2017/746 талаптарына сәйкес жасалған жаңартулар:	
Қосылған бөлімдер	«BSI 2797 нөмірі», «Мақсатты пайдаланушы», «Клиникалық маңызы», «Концентрациясы», «Анықтық», «Дұрыстық», «Бос сынама шегі және анықтау шегі», «Қосымша ақпарат», «Өзгерту тарихы».
Қосылған ақпарат	«Шектеулер» бөлімінен қараңыз
Фразалар және типографиялық жаңартулар	«Процедура», «Өнімділік», «Шектеулер», «Ескерту және сақтық шаралары» «Сақтау және тұрақтылық» бөлімдерін қараңыз.
Жойылған бөлімдер	«Клиникалық қолдану мысалы», «Реагенттер», «Зертханаішілік жаңғыртылу», «Сызықтық»
Жаңартылған бөлімдер	«Пайдалану мақсаты», «GHS қауіптер классификациясы», «Зақымдалу белгілері», «Процедура», «Қосымша».

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AX	Наурыз 2023
Жаңартылған бөлімдер	Қазақ тілін қосу
Жаңартылған бөлімдер	Сақтау және тұрақтылық

Қайта қаралған нұсқасы	AY
Қайта қаралған күні	Мамыр 2024
Жаңартылған аудармалар	**Клиникалық маңызы:**
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Қайта қаралған нұсқасы	AZ
Қайта қаралған күні	Шілде 2024
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

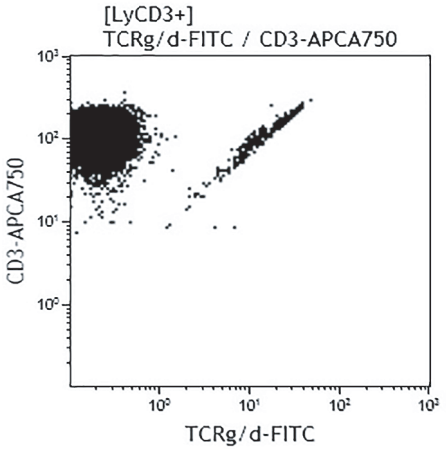
Таңбалар пернесі

Таңбалар глоссарийі beckman.com/techdocs сайтында (құжат нөмірі: B60062) қолжетімді

APPENDIX

- EXAMPLES

Whole blood samples stained with IOTest Anti-TCR PAN γ/δ-FITC Conjugated Antibody and CD3-APC-Alexa Fluor 750 Conjugated Antibody.
Acquisition is performed with a Beckman Coulter Navios flow cytometer equipped with the Navios analysis software.



REFERENCES

1. M. Yabe, L. J. Medeiros, S. A. Wang, G. Tang, C. E. Bueso-Ramos, J. L. Jorgensen, G. Bhagat, W. Chen, S. Li, K. H. Young, R. N. Miranda, "Distinguishing Between Hepatosplenic T-cell Lymphoma and γδ T-cell Large Granular Lymphocytic Leukemia: A Clinicopathologic, Immunophenotypic, and Molecular Analysis.", Am J Surg Pathol. 41, 82–93 (2017).
2. J. Kelsen, A. Dige, M. Christensen, F. D'Amore, L. Iversen, "Frequency and clonality of peripheral γδ T cells in psoriasis patients receiving anti-tumour necrosis factor-α therapy.", Clin Exp Immunol. 177, 142–148 (2014).
3. M. Yabe, L. J. Medeiros, S. A. Wang, S. Konoplev, C. Y. Ok, S. Loghavi, G. Lu, L. Flores, J. D. Khoury, R. C. Cason, K. H. Young, R. N. Miranda, "Clinicopathologic, Immunophenotypic, Cytogenetic, and Molecular Features of γδ T-Cell Large Granular Lymphocytic Leukemia: An Analysis of 14 Patients Suggests Biologic Differences With αβ T-Cell Large Granular Lymphocytic Leukemia.", [corrected]. Am J Clin Pathol. 144, 607–619 (2015).
4. D. F. Angelini, R. Zambello, R. Galandrini, A. Diamantini, R. Placido, F. Micucci, F. Poccia, G. Semenzato, G. Borsellino, A. Santoni, L. Battistini, "NKG2A inhibits NKG2C effector functions of γδ T cells: implications in health and disease.", J Leukoc Biol. 89, 75–84 (2011).
5. E. Rådestad, H. Wikell, M. Engström, E. Watz, "Alpha/Beta T-Cell Depleted Grafts as an Immunological Booster to Treat Graft Failure after Hematopoietic Stem Cell Transplantation with HLA-Matched Related and Unrelated Donors.", Journal of Immunology Research. 2014 (2014), doi:10.1155/2014/578741.
6. L. Wang, N. Kang, J. Zhou, Y. Guo, X. Zhang, L. Cui, D. Ba, W. He, "Downregulation of CD94/NKG2A inhibitory receptor on decreased γδ T cells in patients with systemic lupus erythematosus.", Scand J Immunol. 76, 62–69 (2012).
7. Z. Lu, D. Su, D. Wang, X. Li, X. Feng, L. Sun, "Elevated apoptosis and impaired proliferation contribute to downregulated peripheral γ δ T cells in patients with systemic lupus erythematosus.", Clin Dev Immunol. 2013, 405395 (2013).
8. A. Zubkiewicz-Kucharska, A. Noczyńska, "Abnormal Distribution of Gamma-Delta T Lymphocytes and Their Subsets in Type 1 Diabetes.", Advances in Clinical and Experimental Medicine: Official Organ Wroclaw Medical University. 25, 665–671 (2016).
9. J. Kelsen, A. Dige, H. Schwindt, F. D'Amore, F. S. Pedersen, J. Agnholt, L. A. Christensen, J. F. Dahlerup, C. L. Hvas, "Infliximab induces clonal expansion of γδ-T cells in Crohn's disease: a predictor of lymphoma risk?", PLoS One. 6, e17890 (2011).
10. R. Ríos León, L. Crespo Pérez, E. Rodríguez de Santiago, G. Roy Ariño, "Genetic and flow cytometry analysis of seronegative celiac disease: a cohort study.", Scandinavian journal of gastroenterology. 54, 563–570 (2019).
11. Allison, J.P., "Structure, function, and serology of the T-cell antigen receptor complex", 1987, Annu. Rev. Immunol., 5, 503-539.
12. Clevers, H., Alarcon, B., Wileman, T., Terhorst, C., "The T cell receptor / CD3 complex: A dynamic protein ensemble", 1988, Annu. Rev. Immunol., 6, 629-662.
13. Porcelli, S., Brenner, M.B., Band, H., "Biology of the human γδ T-cell receptor", 1991, Immunol. Rev., 120, 137-183.
14. Wei, S., Charmley, P., Robinson, M.A., Concannon, P., "The extent of the human germline T-cell receptor Vß gene segment repertoire", 1994, Immunogenetics, 40, 27-36.
15. Arden, B., Clark, S.P., Mak, T.W., "Human T cell receptor variable gene segment families", 1995, Immunogenetics, 42, 455-500.
16. Falini, B., Flenghi, L., Pileri, S., Pelicci, P., Fagioli, M., Martelli, M.F., Moretta, L., Ciccone, E., "Distribution of T cells bearing different forms of the T cell receptor γδ in normal and pathological human tissues" 1989, J Immunol., 143, 2480-2488.
17. Davodeau, F., Houde, I., Boulot, G., Romagné, F., Necker, A., Canavo, N., Peyrat, M.A., Hallet, M.M., Vie, H., Jacques, Y., Mariuzza, R., Bonneville, M., "Secretion of disulfide linked human TCR γδ heterodimers", 1993, J. Biol. Chem., 268, 15455-15460.
18. Davodeau, F., Peyrat, M.A., Houde, I., Hallet, M.M., De Libero, G., Vié, H., Bonneville, M., "Surface Expression ot two distinct functional antigen receptors on human γ-δ T cells", 1993, Science, 260, 1800-1802.
19. Davodeau, F., Peyrat, M.A., Romagné, F., Necker, A., Hallet, M.A., Vié, H., Bonneville, M., "Dual T cell receptor ß chain expression on human T lymphocytes", 1995, J. Exp. Med., 181, 1391-1398.
20. Peyrat, M.A., Davodeau, F., Houde, I., Romagné, F., Necker, A., Leget, C., Cervoni, J.P., Cerf-Bensoussan, N., Vié, H., Bonneville, M., Hallet, M.M., "Repertoire analysis of human PBL using a human V δ 3 region specific mAb. Characterization of dual TCR δ chain expressors and α ß T cells expressing V δ 3/J α/C α-encoded TCR chains",1995, J. Immunol., 155, 3060-3067.
21. Thibault, G., Bardos, P., "Compared TCR and CD3ε expression on αß and γδ cells. Evidence for the association of two TCR heterodimers with three CD3ε chains in the TCR/CD3 complex", 1995, J. Immunol.,154, 3814-3820.
22. H42-A2 Vol.27 No. 16. P30. Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry; Approved Guideline - Second Edition.
23. Ibrahim FF, Ghannam MM, Ali FM., "Effect of dialysis on erythrocyte membrane of chronically hemodialyzed patients"., 2002. Ren Fail., Nov;24(6):779-90.

IMMUNOTECH SAS 是贝克曼库尔特公司的旗下公司，地址：130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France，电话：+(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda
Alameda Rio Negro, 500, 15 andar, Torre B Alphaville Industrial
CEP 06.454-000 Barueri, São Paulo, Brasil
CNPJ: 42.160.812/0001-44 Telefone: 0800-771-8818

製造販売業者: ベックマン·コールター株式会社
〒135-0063
東京都江東区有明三丁目5 番7号
TOC有明ウエストタワー

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

 IMMUNOTECH SAS A Beckman Coulter Company, 130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France, +(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

BECKMAN COULTER
MADE IN France

CE 2797

IOTest
Conjugated Antibody
Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 tests; 1 mL, 20 µL / test

TABLE OF CONTENTS

English . . . 2
Français (France) (fr-fr) . . . 6
Deutsche (de-de) . . . 10
Italiano (it-it) . . . 14
Español (es-es) . . . 18
Português (Portugal) (pt-pt) . . . 22
Dansk (da-dk) . . . 26
Svenska (sv-se) . . . 30
Norsk (nb-no) . . . 34
Suomi (fi-fi) . . . 38
Ελληνικά (el-gr) . . . 42
日本語 (ja-jp) . . . 46
中文（中国）(zh-cn) . . . 50
Lietuvių (lt-lt) . . . 54
Magyar (hu-hu) . . . 58
Polski (pl-pl) . . . 62
Čeština (cs-cz) . . . 66
Slovák (sk-sk) . . . 70
한국어 (ko-kr) . . . 74
Türkçe (tr-tr) . . . 78
Русский (ru-ru) . . . 82
Eestlane (et-ee) . . . 86
Hrvatski (hr-hr) . . . 90
Български (bg-bg) . . . 94
中文（台灣）(zh-tw) . . . 98
Română (ro-ro) . . . 102
Slovenščina (sl-si) . . . 106
Srpski (sr-rs) . . . 110
Latviešu (lv-lv) . . . 114
Українська (uk-ua) . . . 118
Português (Brasil) (pt-br) . . . 122
Nederlands (nl-nl) . . . 126
Tiếng Việt (vi-vn) . . . 130
Қазақша (kk-kz) . . . 134
APPENDIX . . . 138
REFERENCES . . . 139

© 2024 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

	Specifications
Specificity	TCR α/β
Clone	IP26A
Hybridoma	NS1 x balb/c
Immunogen	T cell clone
Immunoglobulin	IgG1
Species	Mouse
Purification	Affinity chromatography
Fluorochrome	R Phycoerythrin
Molar ratio	PE / Ig: 0.5 - 1.5
λ excitation	488 nm
Emission Peak	575 nm
Buffer	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA and 0.1% NaN_3

IOTest
Conjugated Antibody
Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 tests; 1 mL, 20 µL / test

For *in vitro* diagnostic use.

INTENDED USE

This fluorochrome-conjugated antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the TCR α/β antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

PRINCIPLE

This test is based on the ability of specific monoclonal antibodies to bind to the antigenic determinants expressed by leucocytes.

Specific staining of the leucocytes is performed by incubating the sample with the IOTest reagent. The red cells are then removed by lysis and the leucocytes, which are unaffected by this process, are analyzed by flow cytometry.

The flow cytometer measures light diffusion and the fluorescence of cells. It makes possible the delimitation of the population of interest within the electronic window defined on a histogram, which correlates the orthogonal diffusion of light (Side Scatter or SS) and the diffusion of narrow-angle light (Forward Scatter or FS). Other histograms combining two of the different parameters available on the cytometer can be used as supports in the gating stage depending on the application chosen by the user.

The fluorescence of the delimited cells is analyzed in order to distinguish the positively-stained events from the unstained ones. The results are expressed as a percentage of positive events in relation to all the events acquired by the gating.

INTENDED USER

This product is intended for laboratory professional use.

CLINICAL RELEVANCE

The Anti-TCR PAN α/β-PE is a Anti-TCR PAN α/β antibody used to identify and characterize cells expressing the TCR α/β antigen by flow cytometry. This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.

When used in combination with other markers, this product can be used in one or more of the following functions:

- To aid in the differential diagnosis of hematologically abnormal patients suspected of having hematopoietic neoplasm and to monitor patients with known hematopoietic neoplasm.

See following references :

1; 2; 3; 4

SAMPLES

Venous blood must be taken using sterile tubes containing an EDTA salt as the anticoagulant.

The samples should be kept at room temperature (18 – 25°C) and not shaken. The samples should be homogenized by gentle agitation prior to taking the test sample.

The samples must be analyzed within 24 hours of venipuncture.

CONCENTRATION

See lot specific Certificate of Analysis at www.beckman.com.

WARNING AND PRECAUTIONS

1. Do not use the reagent beyond the expiry date.
2. Do not freeze.
3. Let it come to room temperature (18 – 25°C) before use.
4. Minimize exposure to light.
5. Avoid microbial contamination of the reagents, or false results may occur.
6. Antibody solutions containing sodium azide (NaN_3) should be handled with care. Do not take internally and avoid all contact with the skin, mucosa and eyes.

Moreover, in an acid medium, sodium azide can form the potentially dangerous hydrazoic acid. If it needs to be disposed of, it is recommended that the reagent be diluted in a large volume of water before pouring it into the drainage system so as to avoid the accumulation of sodium azide in metal pipes and to prevent the risk of explosion.

7. All blood samples must be considered as potentially infectious and must be handled with care (in particular: the wearing of protective gloves, gowns and goggles).
8. Never pipet by mouth, and avoid all contact of the samples with the skin, mucosa and eyes.
9. Blood tubes and disposable material used for handling should be disposed of in ad hoc containers intended for incineration.
10. Reagents and waste should be eliminated according to local requirements.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

SDS Safety Data Sheet is available at beckmancoulter.com/techdocs

STORAGE AND STABILITY

This reagent must be kept at between 2 and 8°C and protected from light, before and after the vial has been opened.

Closed vial shelf life per stability study: 1095 days.

Stability of opened vial: the reagent is stable for 180 days.

EVIDENCE OF DETERIORATION

Any change in the physical appearance of the reagents may indicate deterioration and the reagent should not be used.

For additional information, or if damaged product is received, call Beckman Coulter Customer Service at 800-742-2345 (USA or Canada) or contact your local Beckman Coulter Representative.

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).
To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

MATERIALS NEEDED BUT NOT SUPPLIED WITH KIT:

- Sampling tubes and material necessary for sampling.
- Automatic pipettes with disposable tips for 20, 100 and 500 µL.
- Plastic haemolysis tubes.
- Red cell lysis reagent with washing stage after lysis. For example: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leucocyte fixation reagent. For example : IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800).
- Isotype control PE : IOTest reagent (Ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0.01 M sodium phosphate; 0.145 M sodium chloride; pH 7.2).
- Centrifuge.
- Automatic agitator (Vortex type).
- Flow cytometer.

PROCEDURE WITH VERSALYSE REAGENT

For each sample analyzed, in addition to the test tube, one control tube can be added in which the cells are mixed in the presence of the isotype control (Ref. A07796).

1. Add 20 µL of specific IOTest conjugated antibody to each test tube and if necessary, 20 µL of the isotype control to each control tube.
2. Add 100 µL of the test sample to each tube. Vortex the tubes gently.
3. Incubate for 15 to 20 minutes at room temperature (18 – 25°C), protected from light.
4. Then perform lysis of the red cells. Refer to VersaLyse (Ref. A09777) leaflet and follow preferably the procedure called “with concomitant fixation”, which consists of adding 1 mL of the “Fix-and-Lyse” mixture prepared extemporaneously. Vortex immediately for one second and incubate for 10 minutes at room temperature, protected from light.
5. Centrifuge for 5 minutes at 150 x g at room temperature.
6. Remove the supernatant by aspiration.
7. Resuspend the cell pellet using 3 mL of PBS.
8. Repeat step 5.
9. Remove the supernatant by aspiration and resuspend the cell pellet using:

- 0.5 mL or 1 mL of PBS plus 0.1% of formaldehyde if the preparations are to be kept less than 24 hours. (A 0.1% formaldehyde PBS can be obtained by diluting 12.5 µL of the IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800) at its 10X concentration in 1 mL of PBS).
- 0.5 mL or 1 mL of PBS without formaldehyde, if the preparations are to be analyzed within 2 hours.

Note: In all cases, keep the preparations between 2 and 8°C and protected from light.

EXPECTED VALUES

In our laboratories, the whole blood samples of 25 apparently healthy donors were treated using the reagent described above. The results obtained for the count of the positive events of interest with this reagent are given in the table below :

Positive Target	Number	Mean (%)	SD	CV (%)
Lymphocytes	25	67.94	11.93	17.56

These values are intended to be representative only. Each laboratory should establish its own expected values from the local population of normal donors.

PERFORMANCE

Performance data are obtained using the procedure described above on less than 24 hour-old blood samples previously collected in sterile tubes with EDTA salt as anticoagulant. Analysis is performed within 2 hours following immunostaining.

SPECIFICITY

Human T cells recognize foreign antigens, in the context of host HLA molecules through the T-cell receptor for antigen (TcR) (5, 6, 7). The TcRs are molecular complexes which comprise two units: a recognition unit, composed of either α-β or γ-δ heterodimer, which are present on the cell surface in a mutually exclusive manner, and, a transducing unit, the CD3 complex, common to α-β and γ-δ heterodimers, which triggers the T cell when the recognition unit is occupied by the antigen.

The recognition units recognize any possible foreign antigen and the diversity necessary for this function of recognition is generated by somatic recombination the TcR genes. There are four TcR gene loci (α, β, γ and δ). Each of them is composed of several V (for variable) segments, coding for about 90 amino acids, very short D (for diversity) segments (α and δ loci only), and short J (for joining) segments (about 15 amino acids), and one or two C (for constant) segments (8, 9, 10, 11). The IP26A antibody recognizes a monomorphic determinant of the human α/β chain of the TcR complex (12, 13).

PRECISION

The percent positive values were determined using Whole Blood. Each sample was run 4 times, twice a day for 1 day on 2 instruments using 2 lots of Anti-TCR PAN α/β-PE Monoclonal Antibody Reagents. Measurements (% positive) were made on Navios flow cytometer. Analysis was conducted based on the CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.

Our acceptance criteria is dependent on the number of positive events measured for each population:

- If positive event <1500, CV <15%
- If positive event >1500, CV <10%

Lymphocytes							
Number of positive events (Mean) = 6178							
	Inter-Operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-run	Intra-run	Total
CV (%)	0.22	0.36	0.72	0.34	0.21	0.65	0.87
RESULTS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURACY

The accuracy of Anti-TCR PAN α/β-PE was assessed by comparing the results with a reference reagent as the predicate on a set of whole blood samples run on a Navios flow cytometer. The bias between test and reference reagent was determined based on the difference between test results. If the bias is within the allowable error range or the p-value indicates no significant difference (> 0.05), then test results for the two reagents are considered as equivalent.

The results obtained are summarized in the following table below:

Number of donors = 25				
Positive Target	Mean Δ	Δ % Cell criteria	p-value	RESULTS
Lymphocytes	-1.26	<5	0.208	PASS

LIMIT OF BLANK AND LIMIT OF DETECTION

A study was conducted in accordance with CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures. The Limit of Detection (LOD) is the lowest concentration of analyte that can be consistently detected. Results obtained are summarized in the following table:

Positive Target	Limit of Blank (cell/µL)	Limit of Detection (cell/µL)
Lymphocytes	4	6

LIMITATIONS

1. Flow cytometry may produce false results if the cytometer has not been aligned perfectly, if fluorescence leaks have not been correctly compensated for and if the regions have not been carefully positioned.
2. It is preferable to use a RBC lysis technique with a washing step, as this reagent has not been optimized for "no wash" lysis techniques.
3. Accurate and reproducible results will be obtained as long as the procedures used are in accordance with the technical insert leaflet and compatible with good laboratory practices.
4. The conjugated antibody of this reagent is calibrated so as to offer the best specific signal/non-specific signal ratio. Therefore, it is important to adhere to the reagent volume/sample volume ratio in every test.
5. In the case of a hyperleucocytosis, dilute the blood in PBS so as to obtain a value of approximately 5 x 10^9 leucocytes/L (14).
6. In certain disease states, such as severe renal failure or haemoglobinopathies, lysis of red cells may be slow, incomplete or even impossible. In this case, it is recommended to isolate mononucleated cells using a density gradient (Ficoll, for example) prior to staining (15).
7. In patients treated with anti-human monoclonal antibody therapies, detection of the specific targeted antigens may be diminished or absent due to partial or complete blocking by the therapeutic antibody.
8. The Anti-TCR PAN α/β-PE results should be interpreted in light of the total clinical presentation of the patient, including: symptoms, clinical history, data from additional tests, and other appropriate information.

See the Appendix for examples and references.

TRADEMARKS

Beckman Coulter, the stylized logo, and the Beckman Coulter product and service marks mentioned herein are trademarks or registered trademarks of Beckman Coulter, Inc. in the United States and other countries.

ADDITIONAL INFORMATION

For a patient/user/third party in the European Union and in countries with identical regulatory regime (Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices); if, during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorized representative and to your national authority.

The Summary of Safety and Performance is available from the EUDAMED database: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISION HISTORY

REVISION AD:	Release date : October 2019

REVISION	**Release Date**
AW	February 2022
Updates to comply with the Beckman Coulter Global labelling Policy and according to IVD-R (EU)2017/746 requirements:	
Added sections	BSI 2797 Number, Intended User, Clinical Relevance, Concentration, Precision, Accuracy, Limit of blank and limit of detection, Additional Information, Revision History.
Added information	See sections Limitations
Phrasing or typographic updates	See sections Procedure, Performance, Limitations, Warning and Precautions, Storage and Stability.
Removed sections	Example of clinical applications, Reagents, Intra-laboratory reproducibilty, Linearity
Updated sections	Intended Use, GHS Hazard Classification, Evidence of deterioration, Procedure, Appendix.

REVISION	**Release Date**
AX	April 2023
Updated sections	Add Kazakh
Updated sections	Storage and stability

Revised Version	AY
Revised Date	May 2024
Updated Translations	**Clinical relevance :**
Updated sections	Revision History

Revised Version	AZ
Revised Date	July 2024
Updated sections	Revision History

Symbols Key

Glossary of Symbols is available at beckman.com/techdocs (document number B60062)

	Spécifications
Spécificité	TCR α/β
Clone	IP26A
Hybridome	NS1 x balb/c
Immunogène	T cell clone
Immunoglobuline	IgG1
Espèce	Souris
Purification	Chromatographie d'affinité
Fluorochrome	R Phycoerythrin
Rapport molaire	PE/Ig : 0,5 - 1,5
Excitation λ	488 nm
Pic d'émission	575 nm
Solution tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA et 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticorps conjugué Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 tests ; 1 mL, 20 µL/test

Pour un usage diagnostique *in vitro.*

UTILISATION

Cet anticorps conjugué-fluorochrome permet l'identification qualitative non automatisée des populations de cellules exprimant l'antigène TCR α/β présent dans les échantillons biologiques humains à l'aide d'une cytométrie en flux (voir la section « Échantillons » ci-dessous).

PRINCIPE

Ce test est fondé sur la capacité d'anticorps monoclonaux spécifiques de se lier à des déterminants antigéniques exprimés par les leucocytes.

Une coloration spécifique des leucocytes est effectuée en incubant l'échantillon avec le réactif IOTest. Les globules rouges sont ensuite supprimés par lyses et les leucocytes, qui ne sont pas affectés par cette procédure, sont analysés par cytométrie en flux.

Le cytomètre en flux mesure la diffusion de la lumière et la fluorescence des cellules. Il rend possible la délimitation de la population d'intérêt au sein de la fenêtre électronique définie sur un histogramme, qui met en corrélation la diffusion orthogonale de la lumière (diffusion latérale ou SS) et la diffusion de la lumière en angle étroit (dispersion avant ou FS). D'autres histogrammes combinant deux des différents paramètres disponibles sur le cytomètre peuvent être utilisés comme supports dans la phase de gating en fonction de l'application choisie par l'utilisateur.

La fluorescence des cellules délimitées est analysée de manière à distinguer les événements colorés positifs de ceux qui ne le sont pas. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'événements positifs par rapport à tous les événements acquis grâce à la méthode de gating.

UTILISATEUR PRÉVU

Ce produit est destiné à un usage professionnel en laboratoire.

PERTINENCE CLINIQUE

Le Anti-TCR PAN α/β-PE est un mélange d'anticorps Anti-TCR PAN α/β utilisés pour identifier et caractériser les cellules exprimant l'antigène TCR α/β par cytométrie en flux. Ce produit seul ne peut pas et n'est pas destiné à produire une conclusion diagnostique.

Lorsqu'il est utilisé conjointement avec d'autres marqueurs, ce produit peut être utilisé pour l'une ou plusieurs des fonctions suivantes :

- Aider au diagnostic différentiel des patients ayant une hématologie anormale et suspectés d'être atteints d'un néoplasme hématopoïétique et surveiller les patients atteints d'un néoplasme hématopoïétique connu.

Voir les références suivantes :

1 ; 2 ; 3 ; 4

ÉCHANTILLONS

Le sang veineux doit être prélevé avec des tubes stériles contenant un sel EDTA comme anticoagulant.

Les échantillons doivent être conservés à température ambiante (18–25 °C) et ne doivent pas être agités. Les échantillons doivent être homogénéisés par agitation douce avant de prélever l'échantillon de test.

Les échantillons doivent être analysés dans les 24 heures qui suivent la ponction veineuse.

CONCENTRATION

Voir le certificat d'analyse du lot spécifique sur www.beckman.com.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Ne pas utiliser le réactif au-delà de la date de péremption.
2. Ne pas congeler.
3. Laisser le réactif passer à la température ambiante (18–25 °C) avant de l'utiliser.
4. Minimiser l'exposition à la lumière.
5. Éviter la contamination microbienne des réactifs, ou des résultats erronés peuvent se produire.
6. Les solutions d'anticorps contenant de l'azide de sodium (NaN_3) doivent être manipulées avec précautions. Ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau, les muqueuses et les yeux.

En outre, dans un milieu acide, l'azide de sodium peut former le potentiellement dangereux acide hydrazoïque. S'il doit être éliminé, il est recommandé de diluer le réactif dans un grand volume d'eau avant de le verser dans le système de drainage afin d'éviter l'accumulation d'azide de sodium dans les tubes métalliques et de prévenir le risque d'explosion.

7. Tous les échantillons de sang doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés avec soin (en particulier : port de gants, de blouses et de lunettes de protection).
8. Ne jamais pipetter avec la bouche et éviter tout contact des échantillons avec la peau, les muqueuses et les yeux.
9. Les tubes de prélèvement sanguin et les matériaux jetables utilisés pour la manipulation doivent être éliminés dans des conteneurs appropriés prévus pour incinération.
10. Les réactifs et les déchets doivent être éliminés conformément aux exigences locales.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux

SDS La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVATION ET STABILITÉ

Ce réactif doit être conservé entre 2 et 8 °C, à l'abri de la lumière, avant et après l'ouverture du flacon.

Durée de conservation du flacon fermé selon l'étude de stabilité : 1095 jours.

Stabilité du flacon ouvert : le réactif est stable pendant 180 jours.

PREUVE DE DÉTÉRIORATION

Tout changement de l'apparence physique des réactifs peut indiquer une détérioration et le réactif ne doit pas être utilisé.

Pour plus de renseignements ou si un produit défectueux est livré, appeler le service client de Beckman Coulter au 800-742-2345 (USA ou Canada), ou votre représentant de Beckman Coulter local.

CONTENU

Les agents de conservation à base d'azide de sodium peuvent former des composés explosifs dans les conduites d'évacuation métalliques. Voir le bulletin NIOSH : Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Dangers d'explosion de l'azide).
Pour éviter l'accumulation potentielle des composés d'azide, rincer les tuyaux d'évacuation à l'eau après l'élimination de réactifs non dilués. L'élimination de l'azide de sodium doit se faire conformément aux réglementations locales en vigueur.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI AVEC CE COFFRET:

- Les tubes d'échantillonnage et le matériel nécessaires pour l'échantillonnage.
- Pipettes automatiques aux embouts jetables pour 20, 100 et 500 µL.
- Tubes d'hémolyse en plastique.
- Réactif de lyse des érythrocytes avec étape de lavage post-lyse. Par exemple : VersaLyse (Réf. A09777).
- Réactif de fixation de leucocyte. Par exemple : Solution fixative IOTest 3 (Réf. A07800).
- Contrôle d'isotype PE : Réactif IOTest (Réf. A07796).
- Tampon (PBS : 0,01 M phosphate de sodium ; 0,145 M chlorure de sodium ; pH 7,2).
- Centrifugeuse.
- Agitateur automatique (type vortex).
- Cytomètre en flux.

PROCÉDURE AVEC RÉACTIF VERSALYSE

Pour chaque échantillon analysé, en plus du tube de test, un tube de contrôle peut être ajouté dans lequel les cellules sont mélangées en présence du contrôle isotypique (Réf. A07796).

1. Ajouter 20 µL d'anticorps conjugué spécifique IOTest à chaque tube de test et si nécessaire,20 µL de contrôle isotypique dans chaque tube de contrôle.
2. Ajouter 100 µL de l'échantillon à tester dans chaque tube. Vortexer doucement les tubes.
3. Incuber pendant 15 à 20 minutes à température ambiante (18–25 °C), à l'abri de la lumière.
4. Puis effectuer la lyse des globules rouges. Consulter la notice VersaLyse (Réf. A09777) et suivre de préférence la procédure appelée « with concomitant fixation » (avec fixation concomitante), qui consiste à ajouter 1 mL du mélange « Fixer et Lyser » préparé à n'importe quel moment. Vortexer immédiatement pendant une seconde et incuber pendant 10 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière.
5. Centrifuger pendant 5 minutes à 150 x g à température ambiante.
6. Retirer le surnageant par aspiration.
7. Remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant 3 mL de PBS.
8. Répéter l'étape 5.
9. Éliminer le liquide surnageant par aspiration et remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant :

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS plus 0,1 % de formaldéhyde si les préparations doivent être conservées moins de 24 heures. (Un PBS à 0,1 % de formaldéhyde peut être obtenu en diluant 12,5 µL de solution de fixation IOTest 3 (Réf. A07800) à 10 fois sa concentration dans 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sans formaldéhyde, si les préparations doivent être analysées dans les 2 heures.

Remarque : dans tous les cas, conserver les préparations entre 2 et 8 °C et à l'abri de la lumière.

VALEURS ATTENDUES

Dans nos laboratoires, les échantillons de sang total de 25 donneurs apparemment sains ont été traités à l'aide du réactif décrit ci-dessus. Les résultats obtenus pour le compte des événements positifs d'intérêt pour ce réactif sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Cible positive	Nombre	Moyenne (%)	ET (Écart type)	CV (%)
Lymphocytes	25	67,94	11,93	17,56

Ces valeurs sont censées être uniquement représentatives. Chaque laboratoire doit établir ses valeurs attendues à partir d'une population locale de donneurs normaux.

PERFORMANCE

Les données de performance sont obtenues à l'aide de la procédure décrite ci-dessus sur des échantillons de sang de moins de 24 heures préalablement collectés dans des tubes stériles contenant du sel EDTA comme anticoagulant. L'analyse est effectuée dans les 2 heures suivant l'immunocoloration.

SPÉCIFICITÉ

Les cellules T humaines reconnaissent les antigènes étrangers, dans le contexte de molécules HLA hôtes par le récepteur des cellules T pour l'antigène (TcR) (5, 6, 7). Les TcR sont des complexes moléculaires comprenant deux unités : une unité de reconnaissance, composée soit de l'hétérodimère α-β soit de l'hétérodimère γ-δ, qui sont présents à la surface cellulaire de manière mutuellement exclusive et une unité de transduction, le complexe CD3, commune aux hétérodimères α-β et γ-δ, qui déclenche les cellules T lorsque l'unité de reconnaissance est occupée par l'antigène.

Les unités de reconnaissance reconnaissent les anticorps étrangers possibles et la diversité nécessaire pour cette fonction de reconnaissance est générée par la recombinaison somatique des gènes TcR. Il existe quatre loci des gènes TcR (α, β, γ et δ). Chacun est composé de plusieurs segments V (variables), codant pour environ 90 acides aminés, de segments très courts D (diversité) (uniquement sur les loci α et δ), de segments courts J (jonction) (environ 15 acides aminés), et de un ou deux segments C (constants) (8, 9, 10, 11). L'anticorps IP26A reconnaît un déterminant monomorphique de la chaîne α/β humaine du complexe TcR (12, 13).

PRÉCISION

Le pourcentage de valeurs positives a été déterminé à l'aide du sang total. Chaque échantillon a été analysé 4 fois, deux fois par jour pendant 1 jour sur 2 instruments utilisant 2 lots de réactifs d'anticorps monoclonaux Anti-TCR PAN α/β-PE. Les mesures (% positif) ont été effectuées sur un cytomètre en flux Navios. L'analyse a été effectuée avec la méthode CLSI EP5-A2 : Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Évaluation des performances de précision des méthodes de mesure quantitative).

Notre critère d'acceptation est dépendant du nombre d'événements positifs mesurés pour chaque population :

- Si événement positif < 1 500, CV < 15 %
- Si événement positif > 1 500, CV < 10 %

Lymphocytes							
Nombre d'événements positifs (Moyenne) = 6178							
	Inter-opérateur	Inter-cytomètre	Intra-lot	Inter-lot	Inter-analyse	Intra-analyse	Total
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
RÉSULTATS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUDE

La précision de Anti-TCR PAN α/β-PE a été évaluée en comparant les résultats avec un réactif de référence comme prédicat sur un ensemble d'échantillons de sang total analysés sur un cytomètre en flux Navios. Le biais entre le réactif de test et le réactif de référence a été déterminé en fonction de la différence entre les résultats du test. Si le biais se trouve dans la plage d'erreurs permise ou si la valeur p n'indique aucune différence significative (> 0,05), les résultats des tests pour les deux réactifs sont considérés comme équivalents.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Nombre de donneurs = 25				
Cible positive	Moyenne Δ	Critères de cellules Δ %	Valeur-p	RÉSULTATS
Lymphocytes	-1,26	<5	0,208	PASS

LIMITE DU BLANC ET LIMITE DE DÉTECTION

Une étude a été conduite conformément au document CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Évaluation des capacités de détection des procédures de mesures biologiques cliniques). La limite de détection (LOD) est la concentration la plus basse d'analyte qui peut être systématiquement détectée. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Positive Target	Limite du blanc (cellules/µL)	Limite de détection (cellules/µL)
Lymphocytes	4	6

LIMITES

1. La cytométrie en flux peut produire des résultats erronés si le cytomètre n'a pas été parfaitement aligné, si les fuites de fluorescence n'ont pas été correctement compensées et si les régions n'ont pas été soigneusement positionnées.
2. Il est préférable d'utiliser une technique de lyse des GR comprenant une étape de lavage, comme ce réactif n'a pas été optimisé pour les techniques de lyse « sans lavage ».
3. Des résultats précis et reproductibles seront obtenus tant que les procédures utilisées sont en conformité avec la notice technique et compatibles avec les bonnes pratiques de laboratoire.
4. L'anticorps conjugué de ce réactif est étalonné de manière à offrir le meilleur ratio de signal spécifique/signal non spécifique. Par conséquent, il est important de respecter le ratio de volume de réactif/volume d'échantillon à chaque test.
5. En cas d'hyperleucocytose, diluer le sang dans du PBS de façon à obtenir une valeur d'approximativement 5 x 10^9 leucocytes/L (14).

6. Dans certains états pathologiques, tels qu'une grave insuffisance rénale ou une hémoglobinopathie, la lyse des globules rouges peut être lente, incomplète ou même impossible. Dans ce cas, il est recommandé d'isoler les cellules mononucléées à l'aide d'un gradient de densité (Ficoll, par exemple) avant la coloration (15).
7. Chez les patients traités par thérapie d'anticorps monoclonal anti-humain, la détection d'antigènes ciblés spécifiques peut être diminuée ou absente en raison d'un blocage partiel ou total par l'anticorps thérapeutique.
8. Les résultats de Anti-TCR PAN α/β-PE doivent être interprétés à la lumière du tableau clinique complet du patient, y compris : les symptômes, l'anamnèse, les résultats de tests supplémentaires et toute autre information appropriée.

Voir l'annexe pour des exemples et des références.

MARQUES

Beckman Coulter, le logo stylisé et les marques des produits et des services Beckman Coulter mentionnées ici sont des marques ou des marques déposées de Beckman Coulter, Inc. aux États-Unis et dans d'autres pays.

INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES

Pour un patient/utilisateur/tiers de l'Union européenne et des pays ayant le même régime réglementaire (Règlement 2017/746/UE relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro) ; si, lors de l'utilisation de ce dispositif ou suite à son utilisation, un incident important se produit, veuillez le rapporter au fabricant et/ou à son représentant autorisé et à l'autorité nationale de votre pays.

Le Summary of Safety and Performance (Résumé de sécurité et de performance) est disponible sur la base de données EUDAMED : ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

RÉVISION AD :	Date de publication : octobre 2019

RÉVISION	**Date de publication**
AW	Février 2022
Mises à jour pour se conformer aux exigences de la politique d'étiquetage générale de Beckman Coulter et aux exigences IVD-R (UE)2017/746 :	
Ajout de sections	Numéro BSI 2797, Utilisateur prévu, Pertinence clinique, Concentration, Exactitude, Précision, Limite du blanc et limite de détection, Informations supplémentaires, Historique de révisions.
Ajout d'informations	Voir les sections Limites
Mises à jour typographiques et de formulations	Voir les sections Procédure, Performance, Limites, Avertissement et précautions, Conservation et stabilité.
Suppression de sections	Exemple d'applications cliniques, réactifs, reproductibilité intra-laboratoire, linéarité
Sections mises à jour	Utilisation, Classification des risques SGH, Preuve de détérioration, Procédure, Annexe.

RÉVISION	**Date de publication**
AX	Avril 2023
Sections mises à jour	Ajouter le kazakh
Sections mises à jour	Conservation et stabilité

Version révisée	AY
Date de révision	Mai 2024
Traductions mises à jour	**Pertinence clinique :**
Sections mises à jour	Historique des révisions

Version révisée	AZ
Date de révision	Juillet 2024
Sections mises à jour	Historique des révisions

Légende des symboles

Un glossaire des symboles est disponible sur beckmancoulter.com/techdocs (document numéro B60062)

	Spezifikationen
Spezifität	TCR α/β
Klon	IP26A
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	T cell clone
Immunglobulin	IgG1
Spezies	Maus
Aufreinigung	Affinitätschromatographie
Fluorochrom	R Phycoerythrin
Molverhältnis	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-Anregung	488 nm
Emissionspeak	575 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA und 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugierter Antikörper Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 Tests; 1 mL, 20 µL/Test

***In-vitro*-Diagnostikum.**

VERWENDUNGSZWECK

Dieser mit einem Fluorochrom konjugierte Antikörper ermöglicht mithilfe der Durchflusszytometrie eine qualitative und nicht automatisierte Identifikation von Zellpopulationen, die das TCR α/β-Antigen exprimieren, das in biologischen Proben menschlicher Herkunft vorhanden ist (siehe den Abschnitt „Proben“ unten).

PRINZIP

Dieser Test basiert auf der Fähigkeit bestimmter monoklonaler Antikörper, an die durch Leukozyten exprimierten antigenen Determinanten zu binden.

Die spezifische Färbung der Leukozyten erfolgt durch Inkubation der Probe mit dem IOTest-Reagenz. Die Erythrozyten können dann mittels Lyse entfernt werden. Die von diesem Vorgang unberührten Leukozyten werden mittels Durchflusszytometrie analysiert.

Das Durchflusszytometer misst die Lichtstreuung und die Fluoreszenz der Zellen. Es ermöglicht die Abgrenzung der gewünschten Population innerhalb des auf einem Histogramm definierten elektronischen Fensters, welches die orthogonale Lichtstreuung (Seitwärtsstreuung, SW) und die Streuung des Lichts im flachen Winkel (Vorwärtsstreuung, VW) in Beziehung zueinander setzt. Andere Histogramme, die zwei der auf dem Zytometer verfügbaren Parameter kombinieren, können zur Unterstützung beim Gating eingesetzt werden, je nachdem welche Anwendung der Benutzer ausgewählt hat.

Die Fluoreszenz der einzelnen Zellen wird analysiert, um die positiv angefärbten Ereignisse von den nicht angefärbten zu unterscheiden. Die Ergebnisse werden als Prozentsatz positiver Ereignisse relativ zu allen durch das Gating erfassten Ereignissen angegeben.

VORGESEHENER BENUTZER

Dieses Produkt ist für den Einsatz durch Laborfachkräfte vorgesehen.

KLINISCHE RELEVANZ

Anti-TCR PAN α/β-PE ist ein Anti-TCR PAN α/β-Antikörper zur durchflusszytometrischen Identifikation und Charakterisierung von Zellen, die das TCR α/β-Antigen exprimieren. Es ist weder möglich noch vorgesehen, alleine anhand dieses Produkts zu einer diagnostischen Schlussfolgerung zu kommen.

Bei Verwendung in Verbindung mit anderen Markern kann dieses Produkt für einen oder mehrere der folgenden Zwecke eingesetzt werden:

- Als Hilfsmittel zur Differenzialdiagnose von hämatologisch anormalen Patienten mit Verdacht auf ein hämatopoetisches Neoplasma und zur Überwachung von Patienten mit bestätigtem hämatopoetischem Neoplasma.

Siehe die nachstehenden Literaturhinweise:

1; 2; 3; 4

PROBEN

Venöses Blut muss mit sterilen Röhrchen entnommen werden, die ein EDTA-Salz als Antikoagulanz enthalten.

Die Proben bei Raumtemperatur (18–25 °C) aufbewahren und nicht schütteln. Die Proben vor Entnahme der Testprobe durch vorsichtiges Schütteln homogenisieren.

Die Proben müssen innerhalb von 24 Stunden analysiert werden.

KONZENTRATION

Siehe das chargenspezifische Analysezertifikat unter www.beckman.com.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Das Reagenz nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden.
2. Nicht einfrieren.
3. Vor der Verwendung auf Raumtemperatur (18–25 °C) bringen.
4. Vor Licht schützen.
5. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien muss vermieden werden, damit kein falsches Ergebnis erzielt wird.
6. Antikörperlösungen, die Natriumazid (NaN_3) enthalten, vorsichtig handhaben. Nicht einnehmen und Berührungen mit Haut, Schleimhäuten und Augen vermeiden.

Zudem kann Natriumazid in einem sauren Medium zur Bildung potenziell gefährlicher Stickstoffwasserstoffsäure führen. Zur Entsorgung des Reagenzes wird empfohlen, das Reagenz mit viel Wasser zu verdünnen, bevor es in das Abwassersystem gegossen wird, um einer Ansammlung von Natriumazid in den Metallrohren und dem Risiko einer Explosion vorzubeugen.

7. Blutproben sind als potenziell infektiös zu betrachten und müssen mit Vorsicht gehandhabt werden (insbesondere durch Tragen von Schutzhandschuhen, -kittel und -brille).
8. Niemals mit dem Mund pipettieren und jeglichen Kontakt der Proben mit Haut, Schleimhaut und Augen vermeiden.
9. Blutröhrchen und Einwegmaterial, das zur Handhabung verwendet wird, müssen in dafür vorgesehenen, für die Verbrennung bestimmten Behältern entsorgt werden.
10. Reagenzien und Abfälle sind entsprechend den örtlichen Anforderungen zu entsorgen.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft

SDS Das Sicherheitsdatenblatt ist auf beckmancoulter.com/techdocs verfügbar.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Dieses Reagenz muss vor und nach dem Öffnen des Fläschchens lichtgeschützt zwischen 2 und 8 °C gelagert werden.

Haltbarkeit der geschlossenen Durchstechflasche gemäß Stabilitätsstudie: 1095 Tage.

Stabilität geöffneter Fläschchen: Das Reagenz ist 180 Tage lang stabil.

VERFALLSANZEICHEN

Ein verändertes Aussehen der Reagenzien kann ein Verfallsanzeichen sein. Entsprechende Reagenzien dürfen nicht verwendet werden.

Wenn Sie weitere Informationen wünschen oder falls das Produkt beschädigt bei Ihnen eintrifft, setzen Sie sich (innerhalb der USA und Kanada) unter der Rufnummer 800-742-2345 mit dem Kundendienst von Beckman Coulter bzw. außerhalb dieser Länder mit dem für Sie zuständigen Beckman Coulter-Mitarbeiter in Verbindung.

INHALT

Natriumazid als Konservierungsmittel kann in metallischen Abflussleitungen explosive Verbindungen bilden. Siehe NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (NIOSH-Bulletin: Gefahr durch explosive Azide).
Um eine mögliche Akkumulation von Azidverbindungen zu vermeiden, die Abwasserrohre nach der Entsorgung von unverdünntem Reagenz mit Wasser spülen. Natriumazid muss entsprechend den örtlichen behördlichen Vorschriften entsorgt werden.

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT IM KIT ENTHALTENE ARTIKEL:

- Probenahmeröhrchen und für die Probenahme benötigte Materialien.
- Automatische Pipetten mit Einwegspritzen für 20, 100 und 500 µL.
- Hämolyseröhrchen aus Kunststoff.
- Reagenz zur Lyse der Erythrozyten mit Waschstufe nach der Lyse. Beispiel: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagenz zur Leukozytenfixierung. Beispiel: IOTest 3-Fixierungslösung (Ref. A07800).
- Isotypkontrolle PE: IOTest-Reagenz (Ref. A07796).
- Puffer (PBS: 0,01 M Natriumphosphat; 0,145 M Natriumchlorid; pH 7,2).
- Zentrifuge.
- Automatisches Mischgerät (Typ Vortex-Mischer).
- Durchflusszytometer.

VERFAHREN MIT VERSALYSE-REAGENZ

Für jede analysierte Probe kann zusätzlich zum Teströhrchen noch ein Kontrollröhrchen verwendet werden, in dem die Zellen in Gegenwart der Isotypkontrolle (Ref. A07796) gemischt werden.

1. 20 µL des spezifischen konjugierten IOTest-Antikörpers in jedes Teströhrchen und bei Bedarf 20 µL der Isotypkontrolle in jedes Kontrollröhrchen geben.
2. 100 µL der Testprobe in jedes Röhrchen geben. Die Röhrchen sachte mittels Vortex-Mischer mischen.
3. Bei Raumtemperatur (18–25 °C) 15 bis 20 Minuten lang lichtgeschützt inkubieren.
4. Im Anschluss die Erythrozyten lysieren. Das Merkblatt für VersaLyse (Ref. A09777) beachten und vorzugsweise das Verfahren mit dem Titel „with concomitant fixation“ (mit gleichzeitiger Fixierung) befolgen, das eine Zugabe von 1 mL des spontan zubereiteten „Fix-and-Lyse“(Fixierung und Lyse)-Gemisches vorsieht. Sofort eine Sekunde lang auf dem Vortex-Mischer mischen und 10 Minuten lang lichtgeschützt bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Bei 150 x g 5 Minuten lang bei Raumtemperatur zentrifugieren.
6. Den Überstand absaugen.
7. Das Zellpellet in 3 mL PBS resuspendieren.
8. Schritt 5 wiederholen.
9. Den Überstand absaugen und das Zellpellet resuspendieren mit:

- 0,5 mL oder 1 mL PBS plus 0,1 % Formaldehyd, wenn die Präparate weniger als 24 Stunden aufbewahrt werden sollen. (Ein 0,1%iges Formaldehyd-PBS-Gemisch kann hergestellt werden, indem 12,5 µL der IOTest 3-Fixierlösung (Ref. A07800) bei 10-facher Konzentration in 1 mL PBS verdünnt werden.)
- 0,5 mL oder 1 mL PBS ohne Formaldehyd, wenn die Präparate innerhalb von weniger als 2 Stunden analysiert werden sollen.

Hinweis: Die Präparate in jedem Fall zwischen 2 und 8 °C und vor Licht geschützt aufbewahren.

ERWARTETE WERTE

In unseren Laboren wurden die Vollblutproben von 25 scheinbar gesunden Spendern unter Verwendung des oben beschriebenen Reagenzes behandelt. Die Ergebnisse für die Anzahl der positiven Ereignisse von Interesse, die mit diesem Reagenz erzielt wurden, sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt:

Positives Ziel	Nummer	Mittelwert (%)	SD	VK (%)
Lymphozyten	25	67,94	11,93	17,56

Die Werte dienen nur zu Veranschaulichungszwecken. Jedes Labor muss anhand der örtlichen Population normaler Spender eigene erwartete Werte festlegen.

LEISTUNG

Leistungsdaten werden unter Anwendung des oben beschriebenen Verfahrens mit weniger als 24 Stunden alten Blutproben ermittelt, die zuvor in sterile Röhrchen mit EDTA-Salz als Antikoagulanz entnommen wurden. Die Analyse erfolgt innerhalb von 2 Stunden nach der Immunfärbung.

SPEZIFITÄT

Menschliche T-Zellen erkennen fremde Antigene im Kontext von Host-HLA-Molekülen durch den T-Zell-Rezeptor für das Antigen (TCR) (5, 6, 7). Die TCRs sind Molekülkomplexe aus zwei Einheiten: einer Erkennungseinheit aus α-β- oder γ-δ-Heterodimern an der Zelloberfläche, die sich gegenseitig ausschließen sowie einer Umformeinheit, dem CD3-Komplex, der für α-β- und γ-δ-Heterodimer gleich ist, und die T-Zellen „triggert“, wenn die Erkennungseinheit durch das Antigen besetzt ist.

Diese Erkennungseinheiten erkennen alle möglichen fremden Antigene, und die Diversität, die für diese Erkennungsfunktion notwendig ist, wird durch somatische Rekombination der TCR-Gene generiert. Es gibt vier TCR-Gen-Loci (α, β, γ und δ). Jeder davon besteht aus mehreren variablen V-Segmenten, Kodierungen für circa 90 Aminosäuren, sehr kurze D-Segmente (Diversitätssegmente) (nur α- und δ-Loci), kurze J-Segmente (verbindende Segmente) (circa 15 Aminosäuren) und ein oder zwei C-Segmente (konstante Segmente) (8, 9).1011 Der IP26A-Antikörper erkennt eine monomorphe Determinante der menschlichen α/β-Kette des TCR-Komplexes (12, 13).

PRÄZISION

Die prozentualen positiven Werte wurden unter Verwendung von Vollblut bestimmt. Jede Probe wurde zweimal täglich 1 Tag lang unter Verwendung von 2 Chargen der Reagenzien mit dem monoklonalen Antikörper Anti-TCR PAN α/β-PE 4 Mal auf 2 Instrumenten analysiert. Messungen (% positiv) wurden mit dem Navios-Durchflusszytometer vorgenommen. Die Analyse folgte den Vorgaben der CLSI-Methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Beurteilung der Präzisionsleistung von quantitativen Messmethoden).

Unsere Akzeptanzkriterien sind abhängig von der Anzahl an positiven Ereignissen, die für jede Population gemessen werden:

- Wenn positives Ereignis < 1 500, VK < 15 %
- Wenn positives Ereignis > 1 500, VK < 10 %

Lymphozyten							
Anzahl der positiven Ereignisse (Mittelwert) = 6178							
	Zwischen Bedienern	Zwischen Durchflusszytometern	Innerhalb einer Charge	Zwischen Chargen	Zwischen Läufen	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
VK (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
ERGEBNISSE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit von Anti-TCR PAN α/β-PE wurde anhand eines Vergleichs der Ergebnisse mit einem Referenzreagenz als Prädikat für einen Satz aus Vollblutproben bewertet, die auf einem Navios-Durchflusszytometer analysiert wurden. Die Abweichung zwischen Test- und Referenzreagenz wurde auf der Grundlage der Differenz zwischen Testergebnissen bestimmt. Sollte die Abweichung innerhalb des zulässigen Fehlerbereichs liegen oder der p-Wert keine signifikante Differenz (> 0,05) nahelegen, gelten die Testergebnisse für die beiden Reagenzien als gleichwertig.

Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Anzahl der Spender = 25				
Positives Ziel	Mittelwert Δ	Δ % Zellkriterien	p-Wert	ERGEBNISSE
Lymphozyten	-1,26	<5	0,208	PASS

GRENZWERT FÜR LEERWERT UND NACHWEISGRENZE

Es wurde eine Studie gemäß CLSI-Dokument EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluierung des Detektionsvermögens von klinischen Labormessverfahren), durchgeführt. Die Nachweisgrenze (LOD) ist die niedrigste Konzentration des Analyten, die durchweg nachgewiesen werden kann. Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Positive Target	Grenzwert für Leerwert (Zelle/µL)	Nachweisgrenze (Zelle/µL)
Lymphozyten	4	6

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Die Durchflusszytometrie kann falsche Ergebnisse liefern, wenn das Zytometer nicht perfekt ausgerichtet wurde, wenn Fluoreszenzlecks nicht korrekt kompensiert wurden und wenn die Bereiche nicht sorgfältig positioniert wurden.
2. Vorzugsweise sollte eine ERY-Lysetechnik mit einem Waschschritt angewandt werden, da dieses Reagenz nicht für Lysetechniken ohne Waschen optimiert wurde.
3. Genaue und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, sofern die verwendeten Verfahren der technischen Packungsbeilage entsprechen und mit der guten Laborpraxis kompatibel sind.

4. Der konjugierte Antikörper dieses Reagenzes ist so kalibriert, dass er das beste Verhältnis von spezifischem zu unspezifischem Signal bietet. Daher ist es wichtig, das Verhältnis Reagenzvolumen/Probenvolumen bei jedem Test einzuhalten.
5. Im Falle einer Hyperleukozytose das Blut in PBS verdünnen, um einen Wert von ungefähr 5 x 10^9 Leukozyten/L zu erhalten(14).
6. Bei bestimmten Krankheitszuständen, beispielsweise einem schweren Nierenversagen oder Hämoglobinopathien, kann die Lyse der Erythrozyten möglicherweise nur langsam oder unvollständig erfolgen oder sogar unmöglich sein. In diesem Fall empfiehlt es sich, vor dem Färben einkernige Zellen mittels eines Dichtegradienten (beispielsweise Ficoll) zu isolieren (15).
7. Bei Patienten, die sich Therapien mit anti-humanen monoklonalen Antikörpern unterziehen, kann das Nachweisvermögen für die spezifischen anvisierten Antigene aufgrund einer teilweisen oder vollständigen Blockierung durch die therapeutischen Antikörper vermindert sein oder gänzlich ausbleiben.
8. Die Ergebnisse für Anti-TCR PAN α/β-PE müssen unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde für den Patienten interpretiert werden, einschließlich Symptomen, klinischer Vorgeschichte, Daten zusätzlicher Tests sowie sonstiger relevanter Informationen.

Beispiele und Literaturhinweise siehe Anhang.

MARKEN

Beckman Coulter, das stilisierte Logo und die in diesem Dokument erwähnten Beckman Coulter-Produkt- und Dienstleistungsmarken sind in den USA und anderen Ländern Marken oder eingetragene Marken von Beckman Coulter, Inc.

WEITERE INFORMATIONEN

Für einen Patienten/Benutzer/Dritten in der Europäischen Union und in Ländern mit identischer Regulierungspraxis (Verordnung 2017/746/EU über In-vitro-Diagnostika) gilt Folgendes: Sollte es im Rahmen der Verwendung dieses Produktes oder infolge der Verwendung dieses Produktes zu einem schwerwiegenden Zwischenfall gekommen sein, ist dieser dem Hersteller und/oder dessen Bevollmächtigten sowie der nationalen Behörde zu melden.

Die „Summary of Safety and Performance“ (Bericht über Sicherheit und Leistung) kann aus der EUDAMED-Datenbank abgerufen werden: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSVERLAUF

REVISION AD:	Freigabedatum: Oktober 2019

REVISION	**Freigabedatum**
AW	Februar 2022
Aktualisierungen vorgenommen, um den Vorgaben der globalen Etikettierungsrichtlinie von Beckman Coulter und den Vorgaben nach IVD-R (EU) 2017/746 zu entsprechen:	
Abschnitte hinzugefügt	Nummer nach BSI 2797; Vorgesehener Benutzer; Klinische Anwendung; Konzentration; Präzision; Genauigkeit; Grenzwert für Leerwert und Nachweisgrenze; Weitere Informationen; Revisionsübersicht.
Informationen hinzugefügt	Siehe Abschnitt Einschränkungen
Formulierung oder Typografie aktualisiert	Siehe die Abschnitte Verfahren; Leistung; Einschränkungen; Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen; Lagerung und Stabilität.
Abschnitte gestrichen	Beispiel für klinische Anwendungen; Reagenzien; Reproduzierbarkeit innerhalb des Labors; Linearität
Aktualisierte Abschnitte	Verwendungszweck; GHS-Gefahrstoffklassifizierung; Verfallsanzeichen; Verfahren; Anhang.

REVISION	**Freigabedatum**
AX	April 2023
Aktualisierte Abschnitte	Kasachisch hinzufügen
Aktualisierte Abschnitte	Lagerung und Stabilität

Überarbeitete Version	AY
Überarbeitungsdatum	Mai 2024
Aktualisierte Übersetzungen	**Klinische Relevanz:**
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Überarbeitete Version	AZ
Überarbeitungsdatum	Juli 2024
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Liste der Symbole

Das Glossar der Symbole ist auf beckman.com/techdocs (Dokumentnummer B60062) verfügbar.

	Specifiche
Specificità	TCR α/β
Clone	IP26A
Ibridoma	NS1 x balb/c
Immunogeno	T cell clone
Immunoglobulina	IgG1
Specie	Topo
Purificazione	Cromatografia di affinità
Fluorocromo	R Phycoerythrin
Rapporto molare	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Eccitazione λ	488 nm
Picco di emissione	575 nm
Tampone	PBS pH 7,2 più 2 mg/mL di BSA e NaN_3 0,1%

IOTest
Anticorpo coniugato
Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 test, 1 mL, 20 µL/test

Per uso diagnostico *in vitro.*

USO PREVISTO

Questo anticorpo coniugato con fluorocromo consente l'identificazione qualitativa e non automatizzata di popolazioni cellulari che esprimono l'antigene TCR α/β presente nei campioni biologici umani mediante citometria a flusso (vedere la sezione "Campioni" di seguito).

PRINCIPIO

Questo test si basa sulla capacità di specifici anticorpi monoclonali di legarsi ai determinanti antigenici espressi dai leucociti.

La colorazione specifica dei leucociti viene eseguita incubando il campione con il reagente IOTest. Gli eritrociti vengono quindi rimossi tramite lisi e i leucociti, non interessati da questo processo, vengono analizzati tramite citometria a flusso.

Il citometro a flusso misura la diffusione di luce e la fluorescenza delle cellule. Ciò consente la delimitazione della popolazione di interesse con la finestra elettronica definita in un istogramma, che correla la diffusione ortogonale della luce (scattering laterale o SS) e la diffusione della luce ad angolo stretto (scattering frontale o FS). Altri istogrammi che combinano due dei diversi parametri disponibili sul citometro possono essere usati come supporti nella fase di determinazione del gate in base alle applicazioni scelte dall'utente.

La fluorescenza delle cellule delimitate viene analizzata per distinguere gli eventi colorati in modo positivo e quelli non colorati. I risultati sono espressi come percentuale di eventi positivi in relazione a tutti gli eventi acquisiti mediante determinazione del gate.

UTENTE PREVISTO

Questo prodotto è destinato all'uso professionale in laboratorio.

RILEVANZA CLINICA

Anti-TCR PAN α/β-PE è un anticorpo Anti-TCR PAN α/β utilizzato per identificare e caratterizzare le cellule che esprimono l'antigene TCR α/β mediante citometria a flusso. Questo prodotto da solo non può e non intende generare alcuna conclusione diagnostica.

Se impiegato in combinazione con altri marcatori, questo prodotto può essere utilizzato con una o più delle seguenti funzioni:

- Come supporto nella diagnosi differenziale di pazienti con anomalie ematologiche e sospetta neoplasia ematopoietica e nel monitoraggio di pazienti con neoplasia ematopoietica nota.

Vedere i riferimenti seguenti:

1; 2; 3; 4

CAMPIONI

I campioni di sangue venoso devono essere prelevati utilizzando provette sterili contenenti un sale EDTA come anticoagulante.

I campioni devono essere conservati a temperatura ambiente (18-25 °C) e non devono essere agitati. I campioni devono essere omogeneizzati agitandoli con delicatezza prima di prelevare il campione per il test.

I campioni devono essere analizzati entro 24 ore dalla venipuntura.

CONCENTRAZIONE

Vedere il Certificato di analisi specifico del lotto sul sito www.beckman.com.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza.
2. Non congelare.
3. Prima dell'uso, portare a temperatura ambiente (18-25 °C).
4. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce.
5. Evitare la contaminazione microbica dei reagenti, poiché potrebbe falsare i risultati.
6. Le soluzioni di anticorpi che contengono sodio azide (NaN_3) devono essere maneggiate con cura. Non ingerire ed evitare qualsiasi contatto con cute, mucose e occhi.

Inoltre, in un mezzo acido, il sodio azide può formare acido idrazoico, che è potenzialmente pericoloso. Per lo smaltimento, si consiglia di diluire il reagente in un grande volume di acqua prima di versarlo nell'impianto di scarico, in modo da evitare l'accumulo di sodio azide nelle tubazioni metalliche ed evitare il rischio di esplosione.

7. Tutti i campioni di sangue devono essere considerati potenzialmente infetti e devono essere maneggiati con cura (in particolare, indossando guanti, camici e occhiali protettivi).
8. Non pipettare mai usando la bocca ed evitare il contatto dei campioni con la pelle, le mucose e gli occhi.
9. Le provette per il sangue e i materiali monouso usati per la manipolazione devono essere smaltiti in appositi contenitori destinati all'inceneritore.
10. I reagenti e i rifiuti devono essere smaltiti conformemente alla normative locali.

CLASSIFICAZIONE DEI PERICOLI GHS

Classificato come non pericoloso

SDS La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile all'indirizzo beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Questo reagente deve essere mantenuto a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce, prima e dopo l'apertura della fiala.

Durata di conservazione della fiala chiusa secondo studi di stabilità: 1095 giorni.

Stabilità di una fiala aperta: il reagente è stabile per 180 giorni.

INDICI DI DETERIORAMENTO

Qualsiasi cambiamento dell'aspetto fisico dei reagenti può indicare un deterioramento. In tale caso, non utilizzare il reagente.

Per ulteriori informazioni, o nel caso in cui il prodotto ricevuto risulti danneggiato, rivolgersi all'assistenza clienti Beckman Coulter al numero 800-742-2345 (USA o Canada) o mettersi in contatto con il rappresentante locale Beckman Coulter.

SOMMARIO

Il conservante sodio azide può formare composti esplosivi nelle tubazioni metalliche di scarico. Vedere il bollettino NIOSH: Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Bollettino dell'Istituto Nazionale per la Sicurezza e la Salute sul Lavoro: Rischio di esplosione del sodio azide).
Per evitare il possibile accumulo di azidi, lavare i tubi di scarico con acqua dopo lo smaltimento del reagente puro. Il sodio azide deve essere eliminato conformemente alle normative locali applicabili.

COMPONENTI NECESSARI MA NON FORNITI CON IL KIT:

- Provette per campioni e materiale necessario per il campionamento.
- Pipette automatiche con punte monouso per 20, 100 e 500 µL.
- Provette per emolisi in plastica.
- Reagente per lisi degli eritrociti con fase di lavaggio successiva alla lisi. Ad esempio: VersaLyse (Rif. A09777).
- Reagente di fissaggio dei leucociti. Ad esempio: Soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800).
- Controllo di isotipo PE: reagente IOTest (Rif. A07796).
- Tampone (PBS: 0,01 M di fosfato di sodio, 0,145 M di cloruro di sodio, pH 7,2).
- Centrifugare.
- Agitatore automatico (tipo Vortex).
- Citometro a flusso.

PROCEDURA CON REAGENTE VERSALYSE

Per ogni campione analizzato, oltre alla provetta del test, si può aggiungere una provetta di controllo in cui miscelare le cellule in presenza di controllo di isotipo (Rif. A07796).

1. Aggiungere 20 µL di anticorpo coniugato IOTest specifico in ogni provetta del test e, se necessario, 20 µL di controllo di isotipo in ogni provetta di controllo.
2. Aggiungere 100 µL di campione del test in ogni provetta. Agitare delicatamente le provette con Vortex.
3. Incubare a temperatura ambiente (18-25 °C) per 15-20 minuti, al riparo dalla luce.
4. Quindi eseguire la lisi degli eritrociti. Consultare il foglietto illustrativo di VersaLyse (Rif. A09777) e seguire preferibilmente la procedura denominata "with concomitant fixation" (con fissazione concomitante), che consiste nell'aggiungere 1 mL della miscela fissante e lisante preparata estemporaneamente. Miscelare immediatamente con Vortex per un secondo e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente, al riparo dalla luce.
5. Centrifugare per 5 minuti a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Rimuovere il surnatante mediante aspirazione.
7. Risospendere il pellet cellulare utilizzando 3 mL di PBS.
8. Ripetere il passaggio 5.
9. Eliminare il surnatante tramite aspirazione e risospendere il pellet cellulare tramite:

- 0,5 mL o 1 mL di PBS più 0,1% di formaldeide, se i preparati devono essere conservati per meno di 24 ore. È possibile ottenere PBS con formaldeide allo 0,1% diluendo 12,5 µL di soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800) alla sua concentrazione di 10X in 1 mL di PBS.
- 0,5 mL o 1 mL di PBS senza formaldeide, se i preparati devono essere analizzati entro 2 ore.

Nota: in tutti i casi, mantenere i preparati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce.

VALORI ATTESI

Nei nostri laboratori, i campioni di sangue intero di donatori apparentemente sani 25 sono stati trattati utilizzando il reagente descritto sopra. I risultati ottenuti dal conteggio degli eventi positivi pertinenti a questo reagente sono riportati nella tabella di seguito:

Target positivo	Numero	Media (%)	SD	CV (%)
Linfociti	25	67,94	11,93	17,56

Tali valori sono forniti unicamente a scopo indicativo. Ogni laboratorio deve definire i propri valori attesi a partire dalla popolazione locale di donatori normali.

PRESTAZIONI

I dati delle prestazioni si ottengono adottando la procedura descritta in precedenza su campioni di sangue raccolti da meno di 24 ore in provette sterili con anticoagulante EDTA. L'analisi viene eseguita entro 2 ore dall'immunocolorazione.

SPECIFICITÀ

I linfociti T umani riconoscono gli antigeni estranei, nel contesto di molecole HLA ospiti, attraverso il recettore del linfocita T per l'antigene (TcR) (5, 6, 7). I TCR sono complessi molecolari che comprendono due unità: un'unità di identificazione, composta da un eterodimero α-β o γ/-δ, che sono presenti sulla superficie cellulare in modo da escludersi reciprocamente e un'unità di trasduzione, il complesso CD3, comune agli eterodimeri α-β e γ-δ, che stimola i linfociti T quando l'unità di identificazione è occupata dall'antigene.

Le unità di riconoscimento riconoscono tutti gli antigeni esterni possibili e la diversità necessaria per tale funzione di riconoscimento è generata mediante ricombinazione somatica dei geni TCR. Vi sono quattro siti del gene TCR (α, β, γ e δ) Ognuno di questi è composto da svariati segmenti V (che indica variabili, variable), codificati per circa 90 aminoacidi, segmenti D (che indica diversità, diversity) molto corti (solo siti α e δ), corti segmenti J (che indica unione, joining) (circa 15 aminoacidi) e uno o due segmenti C (che indica costanti, constant) (8, 9, 10, 11). L'anticorpo IP26A riconosce un determinante monomorfico della catena α/β umana del complesso TcR (12, 13).

PRECISIONE

I valori percentuali positivi sono stati determinati utilizzando sangue intero. Ogni campione è stato analizzato 4 volte, due volte al giorno per 1 giorno su 2 strumenti utilizzando 2 lotti di reagenti per anticorpi monoclonali Anti-TCR PAN α/β-PE. Le misurazioni (% positive) sono state eseguite sul citometro a flusso Navios. L'analisi è stata condotta secondo il metodo EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Valutazione delle prestazioni di precisione dei metodi di misurazione quantitativa).

I nostri criteri di accettazione dipendono dal numero di eventi positivi misurati per ogni popolazione:

- Se evento positivo < 1.500, CV < 15%
- Se evento positivo > 1.500, CV < 10%

Linfociti							
Numero di eventi positivi (media) = 6178							
	Inter-operatore	Inter-citometro	Intra-lotto	Inter-lotto	Inter-analisi	Intra-analisi	Totale
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
RISULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURATEZZA

L'accuratezza di Anti-TCR PAN α/β-PE è stata valutata confrontando i risultati con un reagente di riferimento come predicato su una serie di campioni di sangue intero eseguiti su un citometro a flusso Navios. La distorsione tra il test e il reagente di riferimento è stata determinata in base alla differenza tra i risultati dei test. Se la distorsione rientra nell'intervallo di errore consentito o il valore p indica che non vi è una differenza significativa (> 0,05), allora i risultati dei test per i due reagenti sono considerati equivalenti.

I risultati ottenuti sono riepilogati nella tabella seguente:

Numero di donatori = 25				
Target positivo	Δ medio	Criteri cellulari Δ %	Valore p	RISULTATI
Linfociti	-1,26	<5	0,208	PASS

LIMITE DEL BIANCO E LIMITE DI RILEVAZIONE

È stato effettuato uno studio in conformità al documento EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Valutazione delle capacità di rilevamento delle procedure di misurazione del laboratorio clinico). Il limite di rilevazione (LoD) è la più bassa concentrazione di analita che può essere costantemente rilevata. I risultati ottenuti sono riepilogati nella seguente tabella:

Positive Target	Limite del bianco (cellula/µL)	Limite di rilevazione (cellula/µL)
Linfociti	4	6

LIMITAZIONI

1. La citometria a flusso può produrre falsi risultati se il citometro non viene allineato perfettamente, le perdite di fluorescenza non vengono correttamente compensate e le regioni non vengono posizionate attentamente.
2. È preferibile utilizzare una tecnica di lisi RBC con una fase di lavaggio, in quanto il reagente non è stato ottimizzato per tecniche di lisi "senza lavaggio".
3. Seguendo le procedure descritte nel foglietto illustrativo con le informazioni tecniche, compatibili con le buone pratiche di laboratorio, è possibile ottenere risultati accurati e riproducibili.
4. L'anticorpo coniugato di questo reagente è calibrato in modo da offrire un rapporto segnale specifico/segnale non specifico ottimale. Di conseguenza, è importante rispettare il rapporto fra volume di reagente e volume di campione in tutti i test.
5. In caso di iperleucocitosi, diluire il sangue in PBS in modo da ottenere un valore di circa 5 x 10^9 leucociti/L (14).
6. In alcuni stati patologici, come insufficienza renale grave o emoglobinopatie, la lisi degli eritrociti può risultare lenta, incompleta o persino impossibile. In questo caso, è consigliabile isolare le cellule mononucleate usando un gradiente di densità (ad esempio, Ficoll) prima della colorazione (15).

7. In pazienti trattati con terapie a base di anticorpi monoclonali anti-umani, il rilevamento di antigeni specifici può essere minore o assente a causa del blocco parziale o completo da parte dell'anticorpo terapeutico.
8. I risultati Anti-TCR PAN α/β-PE devono essere interpretati alla luce del quadro clinico completo del paziente che comprende: sintomatologia, anamnesi clinica, risultati di altri test e altre informazioni appropriate.

Per esempi e riferimenti, vedere l'appendice.

MARCHI COMMERCIALI

Beckman Coulter, il logo stilizzato ed i marchi commerciali dei prodotti e servizi di Beckman Coulter menzionati qui, sono marchi commerciali o marchi commerciali registrati di Beckman Coulter, Inc., negli Stati Uniti e in altri paesi.

INFORMAZIONI AGGIUNTIVE

Per un paziente/utente/terza parte nell'Unione Europea e in paesi con identico regime normativo (Regolamento 2017/746/UE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro): se, durante l'utilizzo di questo dispositivo o in seguito al suo utilizzo, si fosse verificato un incidente grave, si prega di segnalarlo al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e all'autorità nazionale competente.

Il Summary of Safety and Performance (Sintesi relativa alla sicurezza e alle prestazioni) è disponibile nel database EUDAMED all'indirizzo: ec.europa.eu/tools/eudamed.

CRONOLOGIA REVISIONI

REVISIONE AD:	Data di pubblicazione: Ottobre 2019

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AW	Febbraio 2022
Aggiornamenti conformi alla politica sull'etichettatura globale di Beckman Coulter e ai requisiti IVD-R (UE)2017/746:	
Sezioni aggiunte	Numero BSI 2797, Utente previsto, Rilevanza clinica, Concentrazione, Precisione, Accuratezza, Limite del bianco e limite di rilevazione, Informazioni aggiuntive, Cronologia revisioni.
Aggiunta di informazioni	Vedere le sezioni Limitazioni
Aggiornamenti testuali o tipografici	Vedere le sezioni Procedura, Prestazioni, Limitazioni, Avvertenze e precauzioni, Conservazione e stabilità.
Sezioni rimosse	Esempio di applicazioni cliniche, Reagenti, Riproducibilità intra-laboratorio, Linearità
Sezioni aggiornate	Uso previsto, Classificazione pericoli GHS, Indici di deterioramento, Procedura, Appendice.

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AX	Aprile 2023
Sezioni aggiornate	Aggiungere la lingua kazaka
Sezioni aggiornate	Conservazione e stabilità

Versione revisionata	AY
Data di revisione	Maggio 2024
Traduzioni aggiornate	**Rilevanza clinica:**
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Versione revisionata	AZ
Data di revisione	Luglio 2024
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Legenda dei simboli

Il Glossario dei simboli è disponibile all'indirizzo beckman.com/techdocs (documento numero B60062)

	Especificaciones
Especificidad	TCR α/β
Clon	IP26A
Hibridoma	NS1 x balb/c
Inmunógeno	T cell clone
Inmunoglobulina	IgG1
Especie	Ratón
Purificación	Cromatografía de afinidad
Fluorocromo	R Phycoerythrin
Proporción molar	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Excitación λ	488 nm
Pico de emisión	575 nm
Tampón	PBS pH 7,2 más 2 mg/mL BSA y 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticuerpo conjugado Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 pruebas; 1 mL, 20 µL/prueba

Para uso diagnóstico *in vitro.*

USO PREVISTO

Este anticuerpo conjugado con un fluorocromo permite la identificación cualitativa y no automatizada de poblaciones de células que expresan el antígeno TCR α/β presente en muestras biológicas humanas mediante citometría de flujo (véase la sección «Muestras» más adelante).

PRINCIPIO

Esta prueba se basa en la capacidad de anticuerpos monoclonales específicos para unirse a los determinantes antigénicos expresados por leucocitos.

La tinción específica de los leucocitos se realiza incubando la muestra con el reactivo IOTest. A continuación, se eliminan los eritrocitos mediante lisis y los leucocitos, que no se ven afectados por este proceso, se analizan mediante citometría de flujo.

El citómetro de flujo mide la dispersión de la luz y la fluorescencia de las células. Permite acotar la población de interés dentro de una ventana electrónica, definida en un histograma que correlaciona la dispersión lateral de luz (Side Scatter o SS) con la dispersión frontal de la luz (Forward Scatter o FS). Se pueden utilizar otros histogramas que combinen dos de los distintos parámetros disponibles en el citómetro como apoyo para la fase de selección en función de la aplicación utilizada por el usuario.

La fluorescencia de las células acotadas se analiza para distinguir los eventos con tinción positiva de los eventos sin teñir. Los resultados se expresan como un porcentaje de eventos positivos en relación con todos los eventos adquiridos mediante la selección.

USUARIO PREVISTO

Este producto está diseñado para su uso en un laboratorio profesional.

IMPORTANCIA CLÍNICA

El reactivo Anti-TCR PAN α/β-PE es un anticuerpo frente a Anti-TCR PAN α/β utilizado para identificar y caracterizar células que expresan el antígeno TCR α/β mediante citometría de flujo. Este producto por sí solo no puede y no está diseñado para generar una conclusión diagnóstica.

Cuando se usa en combinación con otros marcadores, este producto puede utilizarse en una o más de las siguientes funciones:

- Ayudar al diagnóstico diferencial de pacientes con anomalías hematológicas en los que se sospecha la presencia de una neoplasia hematopoyética y realizar el seguimiento de pacientes con una neoplasia hematopoyética conocida.

Consulte las siguientes referencias:

1; 2; 3; 4

MUESTRAS

La sangre venosa debe recogerse en tubos de muestra estériles que contengan una sal de EDTA como anticoagulante.

Las muestras deben mantenerse a temperatura ambiente (18-25 °C) y no agitarse. Antes de tomar la muestra de prueba, es necesario homogeneizarla mediante una agitación suave.

Las muestras deben analizarse en el plazo de 24 horas tras la venopunción.

CONCENTRACIÓN

Consulte el certificado de análisis específico del lote en www.beckman.com.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. No use el reactivo después de la fecha de caducidad.
2. No lo congele.
3. Déjelo a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su utilización.
4. Minimice el tiempo de exposición a la luz.
5. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, ya que esto puede provocar resultados falsos.
6. Las soluciones de anticuerpo que contienen azida sódica (NaN_3) deben manipularse con precaución. No ingerir y evitar todo contacto con la piel, la mucosa y los ojos.

Asimismo, en un medio ácido, la azida sódica puede formar ácido hidrazoico potencialmente peligroso. Cuando se vaya a desechar, se recomienda diluir el reactivo en abundante agua antes de verterlo en el sistema de drenaje para evitar la acumulación de azida sódica en tubos metálicos y el riesgo de explosión.

7. Todas las muestras sanguíneas deben considerarse posiblemente infecciosas y deben manipularse con cuidado (en especial, hay que llevar guantes, bata y gafas de protección).
8. No pipetee nunca con la boca y evite todo contacto de las muestras con la piel, las mucosas y los ojos.
9. Los tubos para sangre y el material desechable utilizados para la manipulación deben eliminarse en recipientes especiales previstos para la incineración.
10. Los reactivos y los desechos deben eliminarse de acuerdo con los requisitos locales.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico

SDS La ficha de datos de seguridad está disponible en beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Este reactivo debe conservarse entre 2 y 8 °C en un lugar protegido de la luz, antes y después de abrir el vial.

Vida útil del vial cerrado según estudio de estabilidad: 1095 días.

Estabilidad del vial abierto: el reactivo es estable durante 180 días.

SIGNOS DE DETERIORO

Cualquier cambio en el aspecto físico de los reactivos puede indicar un deterioro, por lo que no debe utilizarse el reactivo.

Para obtener información adicional o si el producto está dañado, llame al servicio de atención al cliente de Beckman Coulter en el 800-742-2345 (EE. UU. o Canadá) o póngase en contacto con su representante local de Beckman Coulter.

CONTENIDO

El conservante de azida sódica puede formar compuestos explosivos en las tuberías metálicas del desagüe. Véase el NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Boletín de NIOSH: Peligro de explosión con la azida) (16/8/76).
Para evitar la posible acumulación de compuestos de azida, limpie con agua los tubos de desagüe tras la eliminación del reactivo sin diluir. Para desechar la azida sódica deben seguirse las normativas locales adecuadas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS CON EL KIT:

- Tubos y material de muestras necesarios para el muestreo.
- Pipetas automáticas para puntas desechables de 20, 100 y 500 µL.
- Tubos de hemólisis de plástico.
- Reactivo de lisis de glóbulos rojos con estado de lavado después de la lisis. Por ejemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reactivo de fijación de leucocitos. Por ejemplo: Solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800).
- Control de isotipo PE: Reactivo IOTest (Ref. A07796).
- Tampón (PBS: 0,01 M de fosfato de sodio; 0,145 M de cloruro sódico; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de flujo.

PROCEDIMIENTO CON EL REACTIVO VERSALYSE

Para cada muestra analizada, además del tubo de ensayo, se puede añadir un tubo de control en el que se mezclan las células en presencia de los controles de isotipo (Ref. A07796).

1. Añadir 20 µL de anticuerpos conjugados específicos IOTest a cada tubo de muestra problema y, si es necesario, 20 µL del control de isotipo a cada tubo de control.
2. Añadir 100 µL de la muestra problema a cada tubo. Mezclar suavemente los tubos en el Vórtex.
3. Incube entre 15 y 20 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C) y protegido de la luz.
4. A continuación, lleve a cabo la lisis de los eritrocitos. Consulte la ficha técnica VersaLyse (Ref. A09777) y siga preferiblemente el procedimiento denominado «with conconmitant fixation» (con fijación concomitante), que consiste en añadir 1 mL de la mezcla «Fijar y lisar» preparada extemporáneamente. Agite inmediatamente con vórtex durante un segundo e incube durante 10 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Elimine el sobrenadante mediante aspiración.
7. Vuelva a suspender el sedimento celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita el paso 5.
9. Retire el sobrenadante mediante aspiración y vuelva a suspender el sedimento celular con:

- 0,5 mL o 1 mL de PBS más el 0,1 % de formaldehído si las preparaciones deben conservarse menos de 24 horas. (Se puede obtener un 0,1 % de PBS de formaldehído mediante la dilución de 12,5 µL de la solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800) a su concentración de 10x en 1 mL de PBS).
- 0,5 mL o 1 mL de PBS sin formaldehído si las preparaciones deben analizarse en un plazo de 2 horas.

Nota: En todos los casos, mantenga las preparaciones protegidas de la luz entre 2 y 8 °C.

VALORES ESPERADOS

Se trataron en nuestros laboratorios las muestras de sangre total de 25 donantes aparentemente sanos utilizando el reactivo descrito. Los resultados obtenidos del recuento de eventos de interés positivos con este reactivo se proporcionan en la siguiente tabla:

Objetivo positivo	Cantidad	Media (%)	DE	CV (%)
Linfocitos	25	67,94	11,93	17,56

Estos valores tienen carácter meramente ilustrativo. Cada laboratorio deberá establecer sus valores esperados según la población local de donantes normales.

RENDIMIENTO

Los datos de rendimiento se obtuvieron utilizando el procedimiento descrito anteriormente en muestras de sangre con menos de 24 horas desde su extracción en tubos estériles con sal de EDTA como anticoagulante. El análisis se realizó en el plazo de 2 horas desde su inmunotinción.

ESPECIFICIDAD

Las células T en humanos reconocen los antígenos extraños, en el contexto de las moléculas HLA huésped, a través del receptor para el antígeno de las células T (TCR) (5,6,7). Los TCR son complejos moleculares compuestos por dos unidades: una unidad de reconocimiento, que contiene heterodímeros α β o γ δ y que se encuentran en la superficie celular de forma mutuamente excluyente; y una unidad de transducción, el complejo CD3, común para heterodímeros α β y γ δ, que activa la célula T cuando el antígeno se encuentra en la unidad de reconocimiento.

Las unidades de reconocimiento reconocen cualquier posible antígeno extraño; la diversidad necesaria para esta función de reconocimiento se produce a través de la recombinación somática de los genes del TCR. Existen cuatro loci de genes TCR (α, β, γ e δ). Cada uno de ellos está formado por varios segmentos V (de variable), que codifican unos 90 aminoácidos, segmentos muy cortos D (de diversidad) (solamente los locus α y δ), segmentos cortos J (unión) (unos 15 aminoácidos) y uno o dos segmentos C (de constante) (8, 9).1011 El anticuerpo IP26A reconoce una proteína monomórfica diferenciadora de la cadena α/β humana del complejo TCR (12,13).

PRECISIÓN

Los valores porcentuales positivos se determinaron utilizando sangre total. Cada muestra se procesó 4 veces, dos veces al día durante 1 día en 2 instrumentos utilizando 2 lotes de reactivos de anticuerpo monoclonal Anti-TCR PAN α/β-PE. Las mediciones (% de positivos) se realizaron en un citómetro de flujo Navios. El análisis se realizó según el método EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluación del rendimiento de la precisión de los métodos de medición cuantitativos).

Nuestro criterio de aceptación depende del número de eventos positivos determinado en cada población:

- Si el número de eventos positivos es < 1500, CV < 15 %
- Si el número de eventos positivos es > 1500, CV < 10 %

Linfocitos							
Número de eventos positivos (media) = 6178							
	Entre operadores	Entre citómetros	Intralote	Entre lotes	Entre análisis	Intraanálisis	Total
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUD

La exactitud de Anti-TCR PAN α/β-PE se evaluó comparando los resultados con un reactivo de referencia como valor previsto en un conjunto de muestras de sangre total procesadas en un citómetro de flujo Navios. El sesgo entre la muestra problema y el reactivo de referencia se determinó en función de la diferencia entre los resultados de la prueba. Si el sesgo está dentro del intervalo de error permitido o el valor p indica una diferencia no significativa (> 0,05), entonces los resultados de la prueba de los dos reactivos se consideran equivalentes.

Los resultados obtenidos se resumen en la tabla que se muestra a continuación:

Número de donantes = 25				
Objetivo positivo	Δ medio	Criterios de Δ % de células	Valor p	RESULTADOS
Linfocitos	-1,26	<5	0,208	PASS

LÍMITE DE BLANCO Y LÍMITE DE DETECCIÓN

Se realizó un estudio conforme a la norma EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluación de la capacidad de detección para procedimientos de medición en laboratorios clínicos). El límite de detección (LD) es la concentración de analito más baja que se puede detectar sistemáticamente. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla siguiente:

Positive Target	Límite de Blanco (células/µL)	Límite de Detección (células/µL)
Linfocitos	4	6

LIMITACIONES

1. La citometría de flujo puede producir resultados falsos si el citómetro no se ha alineado a la perfección, si las fugas de fluorescencia no se han compensado correctamente y si las regiones no se han colocado con atención.
2. Es preferible utilizar una técnica de lisis de ERIT con un paso de lavado, ya que este reactivo no se ha optimizado para técnicas de lisis «sin lavado».
3. Se obtendrán resultados exactos y reproducibles siempre que los procedimientos utilizados sean conformes al folleto técnico y compatibles con las prácticas correctas de laboratorio.
4. El anticuerpo conjugado de este reactivo se calibra para ofrecer la mejor relación de señal específica/señal no específica. Por lo tanto, es importante cumplir la relación de volumen del reactivo/volumen de la muestra en cada prueba.
5. En caso de hiperleucocitosis, diluya la sangre en PBS para obtener un valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucocitos/L (14).

6. En algunos estados de la enfermedad, como el fallo renal grave o las hemoglobinopatías, la lisis de los eritrocitos puede ser lenta, incompleta o incluso imposible. En este caso, se recomienda aislar las células mononucleares por gradiente de densidad (por ejemplo, Ficoll) antes de la tinción (15).
7. En pacientes tratados con terapias con anticuerpos monoclonales anti-humanos, la detección de los antígenos diana específicos puede estar disminuida o ausente debido al bloqueo parcial o completo por el anticuerpo terapéutico.
8. Los resultados de Anti-TCR PAN α/β-PE deben interpretarse a la luz del cuadro clínico total del paciente, incluidos: síntomas, historial clínico, datos de pruebas adicionales y demás información pertinente.

Consulte el anexo para ver ejemplos y referencias.

MARCAS COMERCIALES

Beckman Coulter, el logotipo estilizado y las marcas de productos y servicios de Beckman Coulter aquí mencionadas son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de Beckman Coulter, Inc. en Estados Unidos y otros países.

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para pacientes/usuarios/terceros de la Unión Europea y países con el mismo régimen normativo (Reglamento 2017/746/UE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro); si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produjese un incidente grave, informe al fabricante y/o a su representante autorizado y a la autoridad nacional.

El Summary of Safety and Performance (Resumen de seguridad y rendimiento) está disponible en la base de datos EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIAL DE REVISIONES

REVISIÓN AD:	Fecha de publicación: Octubre de 2019

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AW	Febrero de 2022
Actualizaciones para cumplir con la política de etiquetado global de Beckman Coulter y conforme a los requisitos del Reglamento (UE)2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro:	
Se han añadido secciones	Número BSI 2797, Usuario previsto, Rendimiento clínico, Concentración, Precisión, Exactitud, Límite de blanco y límite de detección, Información adicional, Historial de revisiones.
Información añadida	Véase la sección Limitaciones
Actualizaciones de redacción y tipográficas	Véanse las secciones Procedimiento, Rendimiento, Limitaciones, Advertencias y precauciones, Conservación y Estabilidad.
Se han eliminado secciones	Ejemplo de aplicaciones clínicas, Reactivos, Reproducibilidad intralaboratorio, Linealidad
Se han actualizado las secciones	Uso previsto, Clasificación de material peligroso según el SGA, Signos de deterioro, Procedimiento, Anexo.

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AX	Abril 2023
Se han actualizado las secciones	Añadir kazajo
Se han actualizado las secciones	Conservación y Estabilidad

Versión revisada	AY
Fecha de revisión	Mayo 2024
Traducciones actualizadas	**Relevancia clínica:**
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Versión revisada	AZ
Fecha de revisión	Julio 2024
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Lista de símbolos

El glosario de símbolos está disponible en beckman.com/techdocs (número de documento B60062)

	Especificações
Especificidade	TCR α/β
Clone	IP26A
Hibridoma	NS1 x balb/c
Imunogénio	T cell clone
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Rato
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	R Phycoerythrin
Razão molar	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	575 nm
Tampão	PBS com pH 7,2 mais 2 mg/mL de ASB e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 testes; 1 mL, 20 µL/teste

Para fins de diagnóstico *in vitro.*

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Este anticorpo conjugado com fluorocromos permite a identificação qualitativa e não automatizada de populações de células que expressam o antigénio TCR α/β presente em amostras biológicas humanas utilizando citometria de fluxo (consulte a secção «Amostras» abaixo).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade de os anticorpos monoclonais específicos se ligarem aos determinantes antigénicos expressados por leucócitos.

A coloração específica dos leucócitos é realizada incubando a amostra com o reagente IOTest. Em seguida, os glóbulos vermelhos são removidos por lise e os leucócitos, que não são afetados por este processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citómetro de fluxo mede a difusão de luz e a fluorescência das células. Permite delimitar a população de interesse dentro da janela eletrónica definida num histograma que correlaciona a difusão ortogonal de luz (dispersão lateral ou DL) e a difusão de luz em ângulos estreitos (dispersão frontal ou DF). É possível utilizar outros histogramas que combinam dois dos vários parâmetros disponíveis no citómetro como suporte na fase de delimitação, consoante a aplicação escolhida pelo utilizador.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são apresentados como uma percentagem de eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos por meio da delimitação.

UTILIZADOR PREVISTO

Este produto destina-se a ser utilizado por profissionais de laboratório.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O Anti-TCR PAN α/β-PE é um anticorpo Anti-TCR PAN α/β utilizado para identificar e caracterizar células que expressam o antigénio TCR α/β por citometria de fluxo. Este produto, por si só, não pode e não se destina a gerar qualquer conclusão de diagnóstico.

Quando utilizado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser utilizado numa ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com alterações hematológicas, suspeitos de padecerem de neoplasia hematopoiética, e para monitorizar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.

Consulte as seguintes referências:

1; 2; 3; 4

AMOSTRAS

O sangue venoso deve ser recolhido utilizando tubos estéreis que contenham um sal de AEDT como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas à temperatura ambiente (18–25 °C) e não devem ser agitadas. As amostras devem ser homogeneizadas, agitando-as levemente, antes de a amostra de teste ser retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a punção venosa.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o Certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não utilize o reagente depois da data de validade.
2. Não congele.
3. Aguarde que fique à temperatura ambiente (18–25 °C) antes da utilização.
4. Evite a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, caso contrário, poderão ocorrer falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos que contêm azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não ingira e evite qualquer contacto com a pele, as mucosas e os olhos.

Adicionalmente, num meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazóico potencialmente perigoso. Se a sua eliminação for necessária, é recomendável que o reagente seja diluído num grande volume de água antes de ser vertido no sistema de drenagem, para evitar a acumulação de azida sódica em tubos metálicos e prevenir o risco de explosão.

7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas potencialmente infeciosas e manuseadas com cuidado (em especial, devem ser usados óculos, batas e luvas de proteção).
8. Nunca pipete com a boca e evite qualquer contacto das amostras com a pele, as mucosas e os olhos.
9. Os tubos de sangue e os materiais descartáveis utilizados para manuseamento devem ser eliminados em recipientes específicos destinados a incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Ficha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido a uma temperatura entre 2 e 8 °C e protegido da luz, antes e após a abertura do frasco.

Vida útil em frasco fechado para estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente permanece estável durante 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DEGRADAÇÃO

Uma alteração no aspeto físico dos reagentes poderá indicar deterioração, pelo que o reagente não deve ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, contacte a assistência ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou contacte o seu representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em sistemas de canalizações metálicas. Consulte o boletim do NIOSH: Explosive Azide Hazards (Perigos de explosão da azida) (16-8-76).
Para evitar a possível acumulação de compostos de azida, enxague as condutas de resíduos com água após a eliminação do reagente não diluído. A eliminação de azida sódica deve ser efetuada de acordo com os regulamentos locais adequados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostras e materiais necessários para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 20, 100 e 500 µL.
- Tubos de plástico para hemólise.
- Reagente de lise de glóbulos vermelhos com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controlo de isotipo PE de : reagente IOTest (Ref. A07796).
- Tampão (PBS: 0,01 M de fosfato de sódio; 0,145 M de cloreto de sódio; pH 7,2).
- Centrifugue.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM REAGENTE VERSALYSE

Além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controlo a cada amostra analisada, no qual as células são misturadas na presença do controlo de isotipo (Ref. A07796).

1. Adicione 20 µL de anticorpo conjugado com IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 20 µL dos controlos de isotipo a cada tubo de controlo.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos à temperatura ambiente (18–25 °C), protegido da luz.
4. Em seguida, realize a lise dos glóbulos vermelhos. Consulte o folheto VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento denominado «with concomitant fixation» (com fixação concomitante) que consiste em adicionar 1 mL da mistura de «Fixação e lise» preparada extemporaneamente. Agite imediatamente em vórtex durante um segundo e incube durante 10 minutos à temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g à temperatura ambiente.
6. Remova o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular com 3 mL de PBS.
8. Repita o passo 5.
9. Remova o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular com o seguinte:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído se as preparações se destinarem a ser mantidas por menos de 24 horas. (É possível obter PBS com 0,1% de formaldeído diluindo 12,5 µL de solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na respetiva concentração de 10X em 1 mL de SSTF).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído se as preparações se destinarem a ser analisadas no prazo de 2 horas.

Nota: Mantenha sempre as preparações entre 2 e 8 °C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Nos nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 dadores aparentemente saudáveis foram tratadas utilizando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos de interesse positivos com este reagente são fornecidos na tabela abaixo:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP	CV (%)
Linfócitos	25	67,94	11,93	17,56

Estes valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores esperados a partir da população local de dadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos utilizando o procedimento descrito acima em amostras de sangue colhidas há menos de 24 horas em tubos de amostra estéreis com sal de AEDT como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

As células T humanas reconhecem antigénios estranhos, no contexto de moléculas HLA hospedeiras através do recetor de células T para o antigénio (TcR) (5, 6, 7). Os TcR são complexos moleculares que englobam duas unidades: uma unidade de reconhecimento, composta por heterodímeros α-β ou γ-δ, presentes na superfície celular num modo mutualmente exclusivo e uma unidade de transdução, o complexo CD3, comum aos heterodímeros α-β e γ-δ, que ativa as células T quando a unidade de reconhecimento é ocupada pelo antigénio.

As unidades de reconhecimento detetam possíveis antigénios estranhos e a diversidade necessária para esta função de reconhecimento é criada através de recombinação somática dos genes TcR. Existem quatro loci do gene TcR (α, β, γ e δ). Cada um destes é composto por vários segmentos V (variável), codificação para cerca de 90 aminácidos, segmentos D (diversidade) muito curtos (apenas loci α e δ), segmentos J (junção) curtos (cerca de 15 aminoácidos) e um ou dois segmentos C (constantes) (8, 9, 10, 11). O anticorpo IP26A reconhece um determinante monomórfico da cadeia humana α/β do complexo TcR (12, 13).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados utilizando sangue total. Cada amostra foi executada quatro vezes, duas vezes ao dia, durante um dia, em dois instrumentos, utilizando dois lotes de reagentes de anticorpos monoclonais Anti-TCR PAN α/β-PE. As medições (% de positivos) foram realizadas no citómetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação do desempenho de precisão dos métodos de medição quantitativos).

Os nossos critérios de aceitação estão dependentes do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Em caso de eventos positivos <1500, CV <15%
- Em caso de eventos positivos >1500, CV <10%

Linfócitos							
Número de eventos positivos (média) = 6178							
	Interoperador	Intercitómetro	Intralote	Interlote	Interprocessamento	Intraprocessamento	Total
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do Anti-TCR PAN α/β-PE foi avaliada através da comparação dos resultados com um reagente de referência, como o equivalente num conjunto de amostras de sangue total executadas num citómetro de fluxo Navios. A tendência entre o teste e o reagente de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados do teste. Se a tendência se encontrar dentro do intervalo de erro permitido ou o valor p não indicar uma diferença significativa (>0,05), os resultados do teste de ambos os reagentes são considerados equivalentes.

Os resultados obtidos encontram-se resumidos na tabela abaixo:

Número de dadores = 25				
Alvo positivo	Δ médio	Critérios celulares de % Δ	Valor p	RESULTADOS
Linfócitos	-1,26	<5	0,208	PASS

LIMITE DO BRANCO E LIMITE DE DETEÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com o CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de deteção para procedimentos de medição em laboratórios clínicos). O Limite de deteção (LD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detetada consistentemente. Os resultados obtidos são resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite do branco (célula/µL)	Limite de deteção (célula/µL)
Linfócitos	4	6

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo poderá produzir falsos resultados se o citómetro não tiver sido perfeitamente alinhado, se as fugas de fluorescência não tiverem sido compensadas corretamente e se as regiões não tiverem sido cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível utilizar uma técnica de lise de RBC com um passo de lavagem, uma vez que este reagente não foi otimizado para técnicas de lise «sem lavagem».
3. Serão obtidos resultados exatos e reprodutíveis desde que os procedimentos utilizados estejam de acordo com o folheto técnico e cumpram as boas práticas laboratoriais.
4. O anticorpo conjugado deste reagente é calibrado para proporcionar a melhor relação entre sinal específico/sinal não específico. Por conseguinte, é importante respeitar a relação entre volume do reagente/volume da amostra em todos os testes.
5. No caso de uma hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (14).

6. Em determinados estados de doença, como insuficiência renal grave ou hemoglobinopatias, a lise de glóbulos vermelhos poderá ser lenta, incompleta ou até impossível. Neste caso, recomenda-se isolar células mononucleadas utilizando um gradiente de densidade (por exemplo, Ficoll) antes da coloração (15).
7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a deteção dos antigénios específicos visados pode ser reduzida ou inexistente devido ao bloqueio parcial ou total causado pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de Anti-TCR PAN α/β-PE devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo sintomas, historial clínico, dados de testes adicionais e outras informações relevantes.

Consulte o Anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logótipo estilizado e as marcas de produtos e serviços da Beckman Coulter mencionadas neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e noutros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/utilizador/terceiro na União Europeia e em países com um regime regulamentar idêntico (Regulamento 2017/746/UE relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico in vitro): se, durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, ocorrer um incidente grave, comunique-o ao fabricante e/ou ao respetivo representante autorizado e à autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível a partir da base de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÕES

REVISÃO AD:	Data de lançamento: Outubro de 2019

REVISÃO	**Data de lançamento**
AW	Fevereiro de 2022
Atualizações no sentido de cumprir a política de rotulagem da Beckman Coulter Global e os requisitos do regulamento IVD-R (UE)2017/746:	
Secções adicionadas	Número BSI 2797, Utilizador previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite do branco e limite de deteção, Informações adicionais, Histórico de revisões.
Informações adicionadas	Consulte as secções Limitações
Atualizações à fraseologia ou tipografia	Consulte as secções Procedimento, Realização, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Secções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Secções atualizadas	Utilização prevista, Classificação de perigo GHS, Indícios de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de lançamento**
AX	Abril 2023
Secções atualizadas	Adicionar cazaque
Secções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revista	AY
Data de revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Versão revista	AZ
Data de revisão	Julho 2024
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (número do documento B60062)

	Specifikationer
Specificitet	TCR α/β
Klon	IP26A
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	T cell clone
Immunoglobulin	IgG1
Arter	Mus
Oprensning	Affinitets-kromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin
Molarforhold	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-magnetisering	488 nm
Emissionsspids	575 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA og 0,1% NaN_3

IOTest

Konjugeret antistof Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 tests; 1 mL, 20 µL/test

Til *in vitro* diagnostisk brug.

TILSIGTET BRUG

Dette fluorokromkonjugerede antistof muliggør, ved hjælp af flowcytometri, kvalitativ og ikke-automatiseret identifikation af cellepopulationer, der udtrykker TCR α/β-antigenet, som findes i humane biologiske prøver (se afsnittet ”Prøver” forneden).

PRINCIP

Denne test er baseret på specifikke monoklonale antistoffers evne til at binde sig til de antigene determinanter, der udtrykkes af leukocytter.

Den specifikke farvning af leukocytterne udføres ved inkubation af prøven med IOTest-reagenset. Erytrocytterne fjernes derefter med lysering, og leukocytterne, som ikke påvirkes af denne proces, analyseres ved flowcytometri.

Flowcytometeret måler lysets diffusion og cellernes fluorescens. Dette gør det muligt at afgrænse interessepopulationen inden for det elektroniske vindue, der defineres på et histogram, som korrelerer den ortogonale diffusion af lys (Side Scatter (sidespredning) eller SS) og diffusionen af lys med en snæver vinkel (Forward Scatter (forlæns spredning) eller FS). Andre histogrammer, der kombinerer to af de forskellige parametre, der er til rådighed på cytometret, kan benyttes som støtte under gating-trinnet, afhængig af den af brugeren valgte applikation.

De afgrænsede cellers fluorescens analyseres med henblik på at kunne skelne de positive farvningshændelser fra de ufarvede. Resultaterne udtrykkes som en procentdel af positive hændelser i relation til alle de hændelser, som erhverves ved gatingen.

TILSIGTET BRUGER

Dette produkt er beregnet til professionel brug i laboratoriet.

KLINISK RELEVANS

Anti-TCR PAN α/β-PE er et Anti-TCR PAN α/β-antistof, der anvendes til at identificere og karakterisere celler, der udtrykker TCR α/β-antigenet ved flowcytometri. Dette produkt, anvendt alene, kan ikke og er ikke beregnet til at generere nogen diagnostisk konklusion.

Anvendt i kombination med andre markører kan dette produkt benyttes i en eller flere af følgende funktioner:

- Til hjælp ved differentialdiagnosticering af hæmatologisk unormale patienter ved formodning om hæmatopoietisk neoplasme, samt til overvågning af patienter med kendt hæmatopoietisk neoplasme.

Se følgende referencer:

1; 2; 3; 4

PRØVER

Prøver af venøst blod skal udtages i sterile prøverør, der indeholder et EDTA-salt som antikoagulant.

Prøverne skal opbevares ved stuetemperatur (18-25 °C) og må ikke rystes. Prøverne skal homogeniseres ved forsigtig omrysten før udtagning af analyseprøven.

Prøverne skal behandles inden for 24 timer efter venepunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analysecertifikat på www.beckman.com.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Brug ikke reagenset efter udløbsdatoen.
2. Må ikke nedfryses.
3. Bring det til stuetemperatur (18-25 °C) før brug.
4. Minimér eksponering for lys.
5. Undgå mikrobiel kontaminering reagenserne, idet det kan føre til fejlagtige resultater.
6. Antistofopløsninger, der indeholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsigtighed. Må ikke indtages, og undgå enhver kontakt med hud, slimhinder og øjne.

I syremedier kan natriumazid desuden danne den potentielt farlige hydrogenazid. Hvis det skal bortskaffes, anbefales det, at reagenset fortyndes i en stor mængde vand, inden det hældes i kloakken, for at undgå ophobning af natriumazid i metalrør og dermed forebygge risikoen for eksplosioner.

7. Alle blodprøver skal anses som potentielt smittefarlige og skal behandles forsigtigt (husk især at bruge beskyttelseshandsker, forklæde og beskyttelsesbriller).
8. Sug aldrig med munden, og undgå at prøverne kommer i kontakt med hud, slimhinde og øjne.
9. Blodprøvetagningsrør og engangsmateriale, der bruges i forbindelse med håndteringen, skal bortskaffes i ad hoc-beholdere, der er beregnet til bortskaffelse.
10. Reagenser og affald skal bortskaffes i henhold til gældende lokale krav.

GHS FAREKLASSIFIKATION

Ikke klassificeret som farlig

SDS Sikkerhedsdatablad er tilgængelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Dette reagens skal opbevares ved mellem 2 og 8 °C og beskyttes mod lys før og efter, at hætteglasset er åbnet.

Stabilitet i lukket hætteglas: 1095 dage.

Stabilitet i åbent hætteglas: Reagenset er stabilt i 180 dage.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Ændringer i den måde, reagenset ser ud på, kan være tegn på forringelse, og reagenset må ikke anvendes.

Ring til Beckman Coulters kundeservice på 800-742-2345 (USA eller Canada), eller kontakt den lokale Beckman Coulter-repræsentant for at få flere oplysninger, eller hvis du modtager et beskadiget produkt.

INDHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive forbindelser i drænledninger af metal. Se NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (Fare for eksplosiv azid). For at undgå en eventuel akkumulering af azidforbindelser, skylles afløbsrør med vand efter bortskaffelse af ufortyndet reagens. Natriumazid skal bortskaffes i overensstemmelse med relevante lokale forskrifter.

PÅKRÆVEDE MATERIALER, SOM IKKE LEVERES MED SÆT:

- Prøvetagningsrør og materiale, der er påkrævet til prøvetagning.
- Automatiske pipetter med engangsspidser til 20, 100 og 500 µL.
- Plasthæmolyserør.
- Reagens til lysering af erytrocytter med vaskefase efter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens til leukocytfiksering. For eksempel: IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800).
- IsotypekontrolPE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumphosphat; 0,145 M natriumchlorid; pH 7,2).
- Centrifuge
- Automatisk omrører (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MED VERSALYSE-REAGENS

Der kan tilføjes et kontrolrør for hvert prøverør, der analyseres, hvormed cellerne blandes under isotype-kontrollerne (ref. A07796).

1. Tilføj 20 µL specifikt IOTest-konjugeret antistof til hvert prøverør og, om nødvendigt, 20 µL negativ kontrol til hvert kontrolprøverør.
2. Tilføj 100 µL af prøven til hvert prøverør. Vortex rørene forsigtigt.
3. Inkubér i 15 til 20 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C), beskyttet mod lys.
4. Udfør derefter analyse af de røde celler. Se brochure fra VersaLyse (ref. A09777) og følg den foretrukne procedure kaldet “med sideløbende fiksering”, som består i at tilsætte 1 mL af blandingen “Fix-and-Lyse”, der fremstilles samtidig. Vortex øjeblikkeligt i et sekund, og inkubér i 10 minutter ved stuetemperatur, beskyttet imod lys.
5. Centrifugér i 5 minutter ved 150 x g ved stuetemperatur.
6. Fjern supernatanten via aspiration.
7. Resuspender cellepelleten med 3 mL PBS.
8. Gentag trin 5.
9. Fjern supernatanten vha. aspiration, og resuspender cellepelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyd, hvis præparaterne skal opbevares mindre end 24 timer. (En formaldehyd-PBS på 0,1% kan opnås ved fortynding af 12,5 µL af IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800) ved dets 10X koncentration i 1 mL af PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uden formaldehyd, hvis præparaterne skal analyseres inden for 2 timer.

Bemærk: Præparaterne skal under alle omstændigheder beskyttes mod lys og opbevares ved 2-8 °C.

FORVENTEDE VÆRDIER

I vores laboratorier blev fuldblodsprøver, fra 25 umiddelbart raske donorer, behandlet med det ovenfor beskrevne reagens. De opnåede resultater for optælling af relevante positive hændelser med dette reagens er angivet i nedenstående tabel:

Positivt mål	Antal	Middelværdi (%)	SD	CV (%)
Lymfocytter	25	67,94	11,93	17,56

Disse værdier er beregnet til kun at være repræsentative. Hvert laboratorium bør fastlægge deres egne forventede værdier fra den lokale population af raske donorer.

YDEEVNE

Præstationsdata opnås, når proceduren beskrevet foroven, anvendes på mindre end 24 timer gamle blodprøver, tidligere indsamlet i sterile prøverør med EDTA-salt som antikoagulant. Analyse skal foretages senest 2 timer efter immunfarvning.

SPECIFICITET

Humane T-celler genkender fremmede antigener i sammenhæng med HLA-værtsmolekyler gennem T-cellereceptoren for antigen (TcR) (5, 6, 7). TcR er molekylære komplekser, der består af to enheder: en genkendelsesenhed, der består af enten α-β- eller γ-δ-heterodimer, og som findes på celleoverfladen under gensidigt udelukkende omstændigheder, samt en omformningsenhed, CD3-komplekset, som er almindeligt forekommende i α-β- og γ-δ-heterodimer, og som udløser T-cellen, når genkendelsesenheden okkuperes af antigenet.

Genkendelsesenheden genkender ethvert muligt fremmed antigen, og den diversitet, der er nødvendig for denne genkendelsesfunktion, genereres vha. somatisk genkombinering af TcR-generne. Der findes fire TcR-genloci (α, β, γ og δ). Hvert af dem består af flere V-segmenter (dvs. variable), kodning til cirka 90 aminosyrer, meget korte D-segmenter (dvs. diversitet) (kun α- og δ-loci) og korte J-segmenter (dvs. forbindelse) (cirka 15 aminosyrer) samt et eller to C-segmenter (dvs. konstant) (8, 9, 10, 11). IP26A-antistoffet genkender en monomorfisk determinant for den humane α/β-kæde i TcR-komplekset (12, 13).

PRÆCISION

De procentvise positive værdier blev bestemt ved anvendelse af fuldblod. Hver prøve blev kørt 4 gange, to gange dagligt i 1 dag, på 2 instrumenter med Anti-TCR PAN α/β-PE monoklonale antistofreagenser fra 2 lot. Målingerne (% positive) blev foretaget på Navios-flowcytometer. Analysen blev udført i henhold til CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering af kvantitative målemetoders præcisionsevne).

Vores acceptkriterier afhænger af antallet af positive hændelser målt for hver population:

- Hvis positiv hændelse < 1500, CV < 15%
- Hvis positiv hændelse > 1500, CV < 10%

Lymfocytter							
Antal positive hændelser (middelværdi) = 6178							
	Inter-operatør	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-kørsel	Intra-kørsel	I alt
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØJAGTIGHED

Nøjagtigheden af Anti-TCR PAN α/β-PE blev vurderet ved sammenligning af resultaterne med et referencereagens som prædikat på et sæt fuldblodsprøver kørt på et Navios-flowcytometer. Bias mellem test- og referencereagens blev bestemt på basis af forskellen mellem testresultaterne. Hvis bias er inden for den tilladte fejlmargin, eller hvis p-værdien ikke indikerer nogen signifikant forskel (> 0,05), anses testresultaterne for de to reagenser for at være ækvivalente.

De opnåede resultater opsummeres i nedenstående tabel:

Antal donorer = 25				
Positivt mål	Middelværdi Δ	Δ % cellekriterie	p-værdi	RESULTATER
Lymfocytter	-1,26	<5	0,208	PASS

GRÆNSE FOR BLANK OG DETEKTIONSGRÆNSE

En undersøgelse blev gennemført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering af detektionsevne for kliniske laboratoriemåleprocedurer). Detektionsgrænsen (LOD) er den laveste koncentration af analyt, der kan detekteres konsekvent. De opnåede resultater er opsummeret i nedenstående tabel:

Positive Target	Grænse for blank (celle/µL)	Detektionsgrænse (celle/µL)
Lymfocytter	4	6

BEGRÆNSNINGER

1. Flowcytometri kan give forkerte resultater, hvis cytometeret ikke er perfekt justeret, hvis der ikke er blevet kompenseret korrekt for fluorescenslækager, eller hvis områderne ikke er blevet placeret omhyggeligt.
2. Det anbefales at anvende en RBC-lyseringsteknik med et vasketrin, da dette reagens ikke er blevet optimeret til ”no wash”-lyseringsteknikker.
3. Der genereres nøjagtige og reproducerbare resultater, så længe de anvendte procedurer er i overensstemmelse med de tekniske anvisninger på indlæsgssedlen og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerede antistof for dette reagens kalibreres for at kunne tilbyde det bedste specifikke forhold mellem signal/ikke-specifikt signal. Det er derfor vigtigt at overholde forholdet mellem reagensvolumen og prøvevolumen i hver enkelt test.
5. I tilfælde af en hyperleukocytose skal blodet fortyndes i PBS for at opnå en værdi på ca. 5×10^9 leukocytter/L (14).
6. I visse sygdomstilstande, f.eks. alvorligt nyresvigt eller hæmoglobinopatier, kan lysering af røde celler være langsom, ufuldstændig eller endog umulig. I dette tilfælde anbefales det at isolere enkernede celler ved hjælp af en densitetsgradient (f.eks. Ficoll) forud for farvningen (15).
7. Hos patienter behandlet med anti-humane monoklonale antistofterapier, kan påvisning af de respektive specifikke antigener være formindsket eller fraværende, på grund af delvis eller fuldstændig blokering af det terapeutiske antistof.
8. Anti-TCR PAN α/β-PE-resultaterne bør fortolkes i lyset af patientens samlede kliniske præsentation, herunder symptomer, sygehistorie, data fra andre tests samt anden relevant information.

Se Tillæg for eksempler og referencer.

VAREMÆRKER

Beckman Coulter, det stiliserede logo og de Beckman Coulter produkt- og servicemærker, der er omtalt heri, er varemærker eller registrerede varemærker tilhørende Beckman Coulter, Inc. i USA og andre lande.

YDERLIGERE OPLYSNINGER

For en patient/bruger/tredjepart i Den Europæiske Union og i lande med identisk lovgivningsmæssig reguleringsordning (forordning 2017/746/EU om medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik); hvis der er sket en alvorlig hændelse under brugen af dette apparat eller som et resultat af dens anvendelse, skal du rapportere den til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og til din nationale myndighed.

Summary of Safety and Performance (Sammenfatning af Sikkerhed og Ydeevne) er tilgængeligt fra EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVISION AD:	Frigivelsesdato: Oktober 2019

REVISION	**Udgivelsesdato**
AW	Februar 2022
Opdateringer for at sikre overholdelse af Beckman Coulters globale mærkningspolitik og overensstemmelse med IVD-R (EU)2017/746:	
Tilføjede afsnit	BSI 2797-nummer, Tilsigtet bruger, Klinisk relevans, Koncentration, Præcision, Nøjagtighed, Grænse for blank og detektionsgrænse, Yderligere oplysninger, Revisionshistorik.
Tilføjet information	Se afsnittet Begrænsninger
Opdatering af formulering eller typografi	Se afsnittene Procedure, Præstation, Begrænsninger, Advarsel og forholdsregler, Opbevaring og Holdbarhed.
Fjernede afsnit	Eksempel på klinisk anvendelse, Reagenser, Intra-laboratorie reproducerbarhed, Linearitet
Opdaterede afsnit	Tilsigtet brug, GHS-fareklassifikation, Tegn på forringelse, Procedure, Tillæg.

REVISION	**Udgivelsesdato**
AX	April 2023
Opdaterede afsnit	Kasakhisk er blevet tilføjet
Opdaterede afsnit	Opbevaring og holdbarhed

Revideret version	AY
Revisionsdato	Maj 2024
Opdaterede oversættelser	**Klinisk relevans:**
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Revideret version	AZ
Revisionsdato	Juli 2024
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Symbolnøgle

En ordliste over symboler findes på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Specifikationer
Specificitet	TCR α/β
Klon	IP26A
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	T cell clone
Immunglobulin	IgG1
Arter	Mus
Rening	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin
Molförhållande	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ excitering	488 nm
Emissionstopp	575 nm
Buffert	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA och 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugerad antikropp Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 tester, 1 mL, 20 µL/test

För *in vitro* diagnostiskt bruk.

AVSEDD ANVÄNDNING

Denna fluorokromkonjugerade antikropp möjliggör kvalitativ och ej automatiserad identifiering av cellpopulationer som uttrycker TCR α/β-antigenet som förekommer i humana biologiska prover med användning av flödescytometri (se avsnittet ”Prov” nedan).

PRINCIP

Detta test är baserat på förmågan hos specifika monoklonala antikroppar att bindas till de antigena determinanter som uttrycks av leukocyter.

Specifik färgning av leukocyterna utförs genom att inkubera provet med IOTest-reagenset. De röda cellerna avlägsnas sedan via lysering och leukocyterna, som inte påverkas av denna process, analyseras med flödescytometri.

Flödescytometern mäter ljusdiffusion och fluorescens av celler. Det möjliggör avgränsningen av populationen av intresse i det elektroniska fönstret definierat i ett histogram, som korrelerar den rätvinkliga ljusspridningen (sidospridning eller SS) och spridningen av snävt ljus (framåtspridning eller FS). Andra histogram som kombinerar två av de tillgängliga parametrarna på cytometern, kan användas som stöd i gating-skedet beroende på tillämpningen som användaren har valt.

Fluorescensen av de begränsade cellerna analyseras för att skilja ut positivt färgade händelser från ofärgade händelser. Resultaten uttrycks som en procentandel av positiva händelser i relation till alla händelser som samlats in med hjälp av gating.

AVSEDD ANVÄNDARE

Denna produkt är avsedd för yrkesmässig laboratorieanvändning.

KLINISK RELEVANS

Anti-TCR PAN α/β-PE är en Anti-TCR PAN α/β-antikropp som används för att identifiera och egenskapsbestämma celler som uttrycker TCR α/β-antigenen med hjälp av flödescytometri. Denna produkt kan inte och är inte avsedd för att ta fram en diagnostisk slutsats.

Vid användning i kombination med andra markörer kan denna produkt användas i en eller flera av följande funktioner:

- Som hjälp vid differentialdiagnostisering av hematologiskt onormala patienter som misstänks ha en hematopoetisk tumör eller för övervakning av patienter med känd hematopoetisk tumör.

Se följande referenser:

1; 2; 3; 4

PROV

Venblod måste tas i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant.

Proverna bör förvaras i rumstemperatur (18–25 °C) och inte skakas. Prover bör vara homogeniserade genom försiktig omrörning innan provet tas.

Proverna måste analyseras inom 24 timmar efter venpunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analyscertifikat på www.beckman.com.

VARNING OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Använd inte reagenset efter utgångsdatumet.
2. Får ej frysas.
3. Låt den komma till rumstemperatur (18–25 °C) före användning.
4. Minimera exponering för ljus.
5. Undvik mikrobiell kontaminering av reagens. Det kan leda till felaktiga resultat.
6. Antikroppslösningar som innehåller natriumazid (NaN_3) bör hanteras med försiktighet. Inta inte internt och undvik all kontakt med hud, slemhinnor och ögon.

   I syramedium kan natriumazid dessutom bilda potentiellt farlig hydrazinsyra. Om reagensen måste kasseras rekommenderar vi att den späds ut med en stor volym vatten innan den hälls ut i avloppssystemet för att undvika explosionsrisk och att natriumazid ackumuleras i metallrören.

7. Alla blodprover måste betraktas som potentiellt smittsamma och ska hanteras med försiktighet (i synnerhet vad gäller användande av skyddshandskar, rockar och skyddsglasögon).
8. Pipettera aldrig med munnen och se till att proverna inte kommer i kontakt med hud, slemhinnor och ögon.
9. Blodprovsrör och engångsmaterial som används för hantering ska kasseras i särskilda behållare avsedda för förbränning.
10. Reagens och avfall ska kasseras i enlighet med lokala krav.

RISKKLASSIFICERING ENLIGT GHS

Ej klassat som farligt

SDS Säkerhetsdatablad finns tillgängligt på beckmancoulter.com/techdocs

FÖRVARING OCH STABILITET

Detta reagens måste hållas mellan 2 och 8 °C och skyddas mot ljus, före och efter att ampullen öppnats.

Hållbarhet för sluten ampull per stabilitetsstudie: 1095 dagar.

Stabilitet i öppen ampull: reagenset är stabilt i 180 dagar.

TECKEN PÅ FÖRSÄMRING

Alla förändringar i reagensens fysiska utseende kan indikera försämring och att reagenset inte ska användas.

För mer information eller om en skadad produkt tas emot, ring Beckman Coulter kundtjänst på 800-742-2345 (USA eller Kanada) eller kontakta din lokala Beckman Coulter-representant.

INNEHÅLL

Konserveringsmedlet natriumazid kan bilda explosiva föreningar i avloppsledningar av metall. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (76-8-16) (Bulletin från den amerikanska motsvarigheten till arbetsmiljöverket: Fara för azidexplosion).
För att undvika risken för ansamling av azidföreningar ska avloppsrören spolas igenom med vatten efter att outspädda reagenser har kasserats. Kassering av natriumazid måste ske i enlighet med tillämpliga lokala regler.

MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE FÖLJER MED KITET:

- Provrör och nödvändigt material för provtagning.
- Automatiska pipetter med engångsspetsar för 20, 100 och 500 µL.
- Hemolysrör av plast.
- Lyseringsreagens för röda blodceller med tvätt efter lyseringen. Till exempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens för leukocytfixering. Till exempel: IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800).
- Isotyp-kontroll PE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffert (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Centrifugera.
- Automatisk omrörare (Vortex-typ).
- Flödescytometer.

PROCEDUR MED VERSALYSE-REAGENS

För varje analyserat prov kan förutom provröret ett kontrollprovrör läggas till i vilket cellerna blandas i närvaro av isotypkontrollerna (ref. A07796).

1. Tillsätt 20 µL av specifik IOTest-konjugerad antikropp till varje provrör och vid behov 20 µL av isotypkontroll till varje kontrollprovrör.
2. Tillsätt 100 µL av testprovet i varje provrör. Vortexblanda provrören försiktigt.
3. Inkubera i 15 till 20 minuter vid rumstemperatur (18–25 °C) och skyddat mot ljus.
4. Utför sedan lysering av de röda blodkropparna. Se bladet VersaLyse (ref. A09777) och följ företrädesvis proceduren som benämns ”med samtidig fixering”, som består av att tillsätta 1 mL av ”Fixera-och-lysera”-blandningen som beretts strax innan. Vortexblanda omedelbart i en sekund och inkubera i 10 minuter vid rumstemperatur och skyddat mot ljus.
5. Centrifugera i 5 minuter vid 150 x g vid rumstemperatur.
6. Avlägsna ytskiktet genom aspiration.
7. Återsuspendera cellpelleten med 3 mL PBS.
8. Upprepa steg 5.
9. Avlägsna ytskiktet genom aspiration och återsuspendera cellpelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL av PBS plus 0,1 % formaldehyd om preparaten är avsedda att förvaras mindre än 24 timmar. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan erhållas genom spädning av 12,5 µL av IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800) i dess 10X-koncentration i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS utan formaldehyd, om preparaten är avsedda att analyseras inom 2 timmar.

Anmärkning: Behåll i samtliga fall beredningarna vid 2 till 8 °C och skyddade från ljus.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

I våra laboratorier behandlades helblodsprov från 25 till synes friska donatorer med den reagens som beskrivs ovan. Erhållna resultat för antalet positiva händelser av intresse med denna reagens anges i tabellen nedan:

Positivt mål	Nummer	Medelvärde (%)	SD	CV (%)
Lymfocyter	25	67,94	11,93	17,56

Dessa värden är endast avsedda att vara representativa. Varje laboratorium ska fastställa sina egna förväntade värden utifrån den lokala populationen med normala donatorer.

PRESTANDA

Prestandadata erhålls med proceduren som beskrivs ovan på blodprov som är färskare än 24 timmar som tagits i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant. Analys utförs inom 2 timmar efter immunfärgning.

SPECIFICITET

Mänskliga T-celler känner igen främmande antigener, i kontexten av värd-HLA-molekyler, genom T-cell receptorn för antigen (TcR) (5, 6, 7). TcR:erna är molekylkomplex bestående av två enheter: en igenkänningsenhet, som utgörs av antingen α-β eller γ-δ -heterodimerer, vilka förekommer på cellytan på ett ömsesidigt uteslutande sätt, och en transducing-enhet, CD3-komplexet, som är gemensam för α-β eller γ-δ -heterodimerer, och som utlöser T-cellen när igenkänningsenheten binder till antigenet.

Igenkänningsenheterna igenkänner möjliga främmande antigener och den mångfald som krävs för denna igenkänningsfunktion skapas genom somatisk rekombination av TcR-generna. Det finns fyra TcR-genslokus (α, β, γ och δ). Vart och ett av dem består av flera V (variabla) segment, som kodar för cirka 90 aminosyror, mycket korta D (diversity)-segment (endast α- och δ-lokus), och korta J (joining)-segment (omkring 15 aminosyror) samt ett eller två C (constant)-segment (8, 9, 10, 11). IP26A-antikroppen känner igen en monomorfisk determinant i den mänskliga α/β-kedjan i TcR-komplexet (12, 13).

PRECISION

De positiva procentuella värdena bestämdes med helblod. Varje prov kördes 4 gånger, två gånger om dagen under 1 dag på 2 instrument med 2 loter Anti-TCR PAN α/β-PE monoklonala antikroppsreagens. Mätningar (% positiva) utfördes på Navios flödescytometer. Analys utfördes baserat på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Utvärdering av precisionsprestanda för kvantitativa mätmetoder).

Våra acceptanskriterier beror på antalet positiva händelser som uppmäts för varje population:

- Om positiv händelse < 1 500, CV < 15 %
- Om positiv händelse > 1 500, CV < 10 %

Lymfocyter							
Antal positiva händelse (medelvärde) = 6178							
	Mellan operatörer	Mellan cytometrar	Inom lot	Mellan loter	Mellan körningar	Inom körning	Totalt
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
RESULTAT	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NOGGRANNHET

Noggrannheten hos Anti-TCR PAN α/β-PE bedömdes genom att jämföra resultaten med en referensreagens som predikat på en uppsättning helblodsprov körda på en Navios flödescytometer. Bias mellan test- och referensreagens bestämdes baserat på skillnaden mellan testresultat. Om bias ligger inom tillåtet felintervall eller p-värdet anger att det inte finns någon signifikant skillnad (> 0,05), så anses testresultaten för de två reagenserna vara likvärdiga.

Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell nedan:

Antal donatorer = 25				
Positivt mål	Medelvärde Δ	Δ % cellkriterier	p-värde	RESULTAT
Lymfocyter	-1,26	<5	0,208	PASS

BLANKGRÄNS OCH DETEKTIONSGRÄNS

En studie genomfördes i enlighet med CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Utvärdering av detekteringsförmåga för kliniska laboratoriemätningsprocedurer). Detektionsgräns (LoD) är den lägsta analytkoncentrationen som konsekvent kan detekteras. Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell:

Positive Target	Blankgräns (cell/µL)	Detektionsgräns (cell/µL)
Lymfocyter	4	6

BEGRÄNSNINGAR

1. Flödescytometri kan ge falska resultat om cytometern inte har justerats perfekt, om fluorescensläckor inte har kompenserats korrekt och om regionerna inte har placerats noggrant.
2. Det är bäst att använda en RBC-lyseringsteknik med ett tvättsteg, eftersom denna reagens inte optimerats för lyseringstekniker ”utan tvätt”.
3. Noggranna och reproducerbara resultat kommer att erhållas så länge de förfaranden som används är i enlighet med den tekniska bipacksedeln och förenliga med god laboratoriepraxis.
4. Den konjugerade antikroppen för detta reagens är kalibrerad för att erbjuda det bästa specifik signal/icke-specifik signal-förhållandet. Därför är det viktigt att följa reagensvolym/provvolym-förhållandet i varje test.
5. Vid hyperleukocytos, späd blodet i PBS för att erhålla ett värde på cirka 5 x 10^9 leukocyter/L (14).
6. Vid vissa sjukdomstillstånd, såsom vid mycket svår njursvikt eller hemoglobinopatier, kan lysering av röda celler vara långsam, ofullständig eller till och med omöjlig. I detta fall är det rekommenderat att isolera mononukleära celler med användning av en densitetsgradient (till exempel Ficoll) innan färgningen (15).
7. Hos patienter som behandlas med anti-human monoklonala antikroppar kan detektering av de specifika eftersökta antigenerna minska eller utebli på grund av delvis eller fullständig blockering från behandlingens antikropp.
8. Resultat för Anti-TCR PAN α/β-PE bör tolkas med tanke på patientens totala kliniska bild, inklusive: symptom, anamnes, information från övriga test och annan lämplig information.

Se bilagan för exempel och referenser.

VARUMÄRKEN

Beckman Coulter, den stiliserade logotypen och Beckman Coulters produkt- och tjänstmärken som nämns häri är varumärken eller registrerade varumärken som tillhör Beckman Coulter, Inc. i USA eller andra länder.

YTTERLIGARE INFORMATION

För en patient/användare/tredje part inom EU och i länder med identiskt regelsystem (förordning 2017/746/EU om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik); om, vid användning av denna enhet eller som ett resultat av dess användning, en allvarlig incident inträffat ska den rapporteras till tillverkaren och/eller till dess auktoriserade representant och till den nationella myndigheten.

Summary of Safety and Performance (Sammanfattning av säkerhet och prestanda) finns tillgänglig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVIDERING AD:	Publiceringsdatum: Oktober 2019

REVISION	**Publiceringsdatum**
AW	Februari 2022
Uppdateringar för att uppfylla Beckman Coulter globala etiketteringspolicy och kraven i IVD-R (EU)2017/746:	
Tillagda avsnitt	BSI 2797 Nummer, Avsedd användare, Klinisk relevans, Koncentration, Precision, Noggrannhet, Blankgräns och detektionsgräns, Ytterligare information, Revisionshistorik.
Tillagd information	Se avsnittet Begränsningar
Ordval eller typografiska uppdateringar	Se avsnitten Procedur, Prestanda, Begränsningar, Varningar och försiktighetsåtgärder, Förvaring och stabilitet.
Borttagna avsnitt	Exempel på kliniska tillämpningar, Reagens, Reproducerbarhet inom laboratorium, Linearitet
Uppdaterade avsnitt	Avsedd användning, Faroklassificering enligt GHS, Tecken på försämring, Procedur, Bilaga.

REVISION	**Publiceringsdatum**
AX	April 2023
Uppdaterade avsnitt	Lägg till kazakiska
Uppdaterade avsnitt	Förvaring och hållbarhet

Reviderad version	AY
Datum för revidering	Maj 2024
Uppdaterade översättningar	**Klinisk relevans:**
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Reviderad version	AZ
Datum för revidering	Juli 2024
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Teckenförklaring för symboler

Ordlista för symboler finns på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Spesifikasjoner
Spesifisitet	TCR α/β
Klon	IP26A
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	T cell clone
Immunoglobulin	IgG1
Art	Mus
Rensing	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin
Molart forhold	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-eksitasjon	488 nm
Strålingstopp	575 nm
Buffer	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/mL BSA og 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugert antistoff Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 tester; 1 mL, 20 µL/test

For *in vitro*-diagnose.

TILTENKT BRUK

Dette fluorokromkonjugerte antistoffet muliggjør kvalitativ og ikke-automatisert identifisering av cellepopulasjoner som uttrykker TCR α/β-antigenet som finnes i humane biologiske prøver, ved hjelp av flowcytometri (se avsnittet «Prøver» nedenfor).

PRINSIPP

Denne testen er basert på evnen spesifikke monoklonale antistoffer har til å binde seg til antigendeterminantene uttrykt av leukocytter.

Spesifikk farging av leukocyttene utføres ved inkubering av prøven med IOTest-reagenset. De røde cellene fjernes deretter ved lysering, og leukocyttene, som er uberørt av denne prosessen, analyseres ved flowcytometri.

Flytcytometeret måler lysdiffusjon og cellenes fluorescens. Det gjør det mulig å avgrense populasjonen som skal undersøkes innenfor det elektroniske vinduet som er definert på et histogram, og som korrelerer den ortogonale lysspredningen (sidespredning eller SS) og spredningen av trangvinklet lys (foroverpredning eller FS). Andre histogrammer som kombinerer to av de ulike parametrene på cytometeret kan brukes som støtte ved gatingstadiet, avhengig av programmet som velges av brukeren.

Fluorescensen i de avgrensede cellene analyseres for å skille de positivt fargede hendelsene fra de ufargede. Resultatene er uttrykt som en prosentandel positive hendelser i forhold til alle hendelser innhentet ved gatingen.

TILTENKT BRUKER

Dette produktet skal brukes av profesjonelle brukere på laboratorier.

KLINISK RELEVANS

Anti-TCR PAN α/β-PE er et Anti-TCR PAN α/β-antistoff som brukes til å identifisere og beskrive celler som uttrykker TCR α/β-antigenet ved flowcytometri. Dette produktet skal ikke brukes som eneste grunnlag for diagnostiske konklusjoner.

Når dette produktet brukes i kombinasjon med andre markører, kan det brukes i én eller flere av følgende funksjoner:

- For å bistå ved differensialdiagnostisering av hematologisk unormale pasienter med mistenkt hematopoietisk neoplasi og følge opp pasienter med kjent hematopoietisk neoplasi.

Se følgende referanser:

1; 2; 3; 4

PRØVER

Veneblod må tas ved bruk av sterile rør som inneholder EDTA-salt som antikoagulant.

Prøvene skal oppbevares i romtemperatur (18–25 °C) og ikke ristes. Prøvene skal homogeniseres ved forsiktig risting før du tar testprøven.

Prøvene må analyseres innen 24 timer etter venepunksjon.

KONSENTRASJON

Se lot-spesifikt analysesertifikat på www.beckman.com.

ADVARSEL OG FORHOLDSREGLER

1. Reagenset må ikke brukes etter utløpsdatoen.
2. Må ikke fryses.
3. La det nå romtemperatur (18–25 °C) før bruk.
4. Bør ikke utsettes for lys.
5. Unngå mikrobiell kontaminering av reagensene, ellers kan det gi feil resultater.
6. Antistoffløsninger som inneholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsiktighet. Ikke til innvortes bruk. Unngå all kontakt med hud, slimhinner og øyne.

   Videre kan natriumazid i et syremedium danne potensielt farlig hydrogenazid. Hvis reagenset må kasseres, anbefales det at det fortynnes i store mengder vann før det tømmes i avløpssystemet, slik at man unngår opphopning av natriumazid i metallrør, og for å hindre eksplosjonsfare.

7. Alle blodprøver må betraktes som potensielt smittefarlige og må håndteres med forsiktighet (gjelder spesielt: bruk av vernehansker, laboratoriefrakk og vernebriller).
8. Pipetter aldri med munnen, og unngå at prøvene kommer i kontakt med huden, slimhinnene og øynene.
9. Blodprøverør og engangsmateriale som brukes til håndtering, skal kastes i beholdere beregnet for forbrenning.
10. Reagenser og avfall skal kastes i henhold til lokale krav.

GHS-FAREKLASSIFISERING

Ikke klassifisert som farlig

SDS Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPPBEVARING OG STABILITET

Dette reagenset må oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttes mot lys før og etter at flasken er åpnet.

Holdbarhet i lukket flaske ifølge stabilitetsstudie: 1095 dager.

Stabilitet for åpnet flaske: reagenset er stabilt i 180 dager.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Endringer i reagensenes fysiske utseende kan være tegn på redusert kvalitet, og slike reagenser skal ikke brukes.

For ytterligere informasjon eller hvis produktet mottas skadet, kan Beckman Coulter kundeservice 800-742-2345 (USA og Canada) eller den lokale Beckman Coulter-representanten kontaktes.

INNHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive blandinger i metalliske avløpsrør. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Fare for eksplosive azider) (16.8.76). For å unngå mulig opphopning av azidforbindelser må avløpsrør skylles med vann etter avhending av ufortynnet reagens. Avfallshåndtering av natriumazid må skje i samsvar med relevante lokale forskrifter.

NØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE FØLGER MED SETTET:

- Prøvetakingsrør og materiale nødvendig for prøvetaking.
- Automatiske pipetter med engangsspisser til 20, 100 og 500 µL.
- Hemolyserør av plast.
- Rød cellelyseringsreagens med vasketrinn etter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Leukocytt-fikseringsreagens. For eksempel: IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800).
- -isotypekontroll PE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Sentrifuger.
- Automatisk omrører (vortekstype).
- Flytcytometer.

PROSEDYRE MED VERSALYSE-REAGENS

For hver prøve som analyseres, kan det i tillegg til testrøret legges til ett kontrollrør hvor cellene er blandet med tilstedeværelse av isotypekontrollen (ref. A07796).

1. Tilsett 20 µL spesifikt IOTest-konjugert antistoff i hvert testrør og ved behov 20 µL av isotypekontrollen i hvert kontrollrør.
2. Tilsett 100 µL av testprøven i hvert rør. Vorteks rørene forsiktig.
3. Inkuber i 15 til 20 minutter ved romtemperatur (18–25 °C), beskyttet mot lys.
4. Utfør deretter lysering av de røde blodcellene. Les brosjyren VersaLyse (ref. A09777), og prøv å følge prosedyren kalt «with concomitant fixation» (med samtidig fiksering) som består av å tilsette 1 mL av «fikserings- og lyseringsblandingen» som klargjøres prompte. Bland på vorteksmikser umiddelbart i ett sekund, og inkuber i 10 minutter ved romtemperatur, beskyttet mot lys.
5. Sentrifugeres i 5 minutter ved 150 x g ved romtemperatur.
6. Fjern supernatanten ved aspirasjon.
7. Resuspender cellepelleten i 3 mL PBS.
8. Gjenta trinn 5.
9. Fjern supernatanten ved aspirasjon, og resuspender cellepelleten ved hjelp av:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS pluss 0,1 % formaldehyd hvis preparatene skal oppbevares i mindre enn 24 timer. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan oppnås ved å fortynne 12,5 µL IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800) ved 10X konsentrasjon i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uten formaldehyd hvis preparatene skal analyseres innen 2 timer.

Merk: I alle tilfeller skal preparatene oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttet mot lys.

FORVENTEDE VERDIER

I våre laboratorier ble fullblodsprøvene fra 25 tilsynelatende friske donorer behandlet med reagenset beskrevet over. Resultatene som ble oppnådd for telling av de aktuelle positive hendelsene med dette reagenset, er angitt i tabellen nedenfor:

Positivt mål	Nummer	Gjennomsnitt (%)	SD	VK (%)
Lymfocytter	25	67,94	11,93	17,56

Disse verdiene er bare representative. Hvert enkelt laboratorium bør fastsette egne forventede verdier ut fra den lokale populasjon av normaldonorer.

YTELSE

Ytelsesdata er fremskaffet ved bruk av prosedyren som er beskrevet ovenfor på mindre enn 24 timer gamle blodprøver som tidligere er samlet i sterile rør med EDTA-salt som antikoagulant. Analysen utføres innen 2 timer etter immunfarging.

SPESIFISITET

Menneskelige T-celler gjenkjenner fremmede antigener som presenteres av HLA-molekyler gjennom T-cellereseptoren for antigener (TCR) (5, 6, 7). TCR er molekylære komplekser som består av to enheter, en gjenkjenningsenhet, bestående av enten α-β- eller γ-δ-heterodimer, som er til stede på celleoverflaten på en gjensidig utelukkende måte samt en overførende enhet, CD3-komplekset, som er felles for α-β- og γ-δ-heterodimere, som trigger T-cellen når gjenkjenningsesenheten er okkupert av antigenet.

Gjenkjenningsenhetene gjenkjenner mulige fremmede antigener, og mangfoldet som er nødvendig for denne funksjonen for gjenkjennelse genereres av somatisk rekombinasjon av TCR-gener. Det finnes fire loci for TCR-gener (α, β, γ and δ). Hvert av dem er sammensatt av flere V- (variable) segmenter, som koder for omtrent 90 aminosyrer, meget korte D (diversity)-segmenter (kun α- og delta-loci), og korte J (joining)-segmenter (15 aminosyrer), og en eller to C- (constant) segmenter 8, 9, 10, 11). IP26A-antistoffet gjenkjenner en monomorf determinant ved de humane α/β-kjedene i TCR-komplekset. (12, 13).

PRESISJON

Prosentvise positive verdier ble bestemt ved bruk av fullblod. Hver prøve ble analysert 4 ganger, to ganger per dag på 1 dag på 2 instrumenter ved bruk av 2 loter Anti-TCR PAN α/β-PE monoklonale antistoff-reagenser. Målinger (% positive) ble utført på Navios-flytcytometer. Analyse ble utført basert på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering av presisjonsytelse for kvantitative målingsmetoder).

Våre godkjenningskriterier er avhengige av antall positive hendelser som måles for hver populasjon:

- Hvis positiv hendelse < 1 500, VK < 15 %
- Hvis positiv hendelse > 1 500, VK < 10 %

Lymfocytter							
Antall positive hendelser (gjennomsnitt) = 6178							
	Mellom operatører	Mellom cytometere	Innenfor samme lot	Mellom loter	Mellom kjøringer	Innenfor samme kjøring	Total
VK (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØYAKTIGHET

Nøyaktigheten til Anti-TCR PAN α/β-PE ble vurdert ved å sammenligne resultatene med et referansereagens som predikat på et sett med fullblodsprøver analysert på et Navios-flytcytometer. Skjevheten mellom testen og referansereagenset ble bestemt basert på differansen mellom testresultatene. Hvis skjevheten er innenfor det tillatte feilområdet eller p-verdien indikerer ingen signifikant forskjell (> 0,05), anses testresultatene for de to reagensene som ekvivalente.

De oppnådde resultatene er oppsummert i den følgende tabellen:

Antall donorer = 25				
Positivt mål	Gjennomsnittlig Δ	Δ % cellekriterier	p-verdi	RESULTATER
Lymfocytter	-1,26	<5	0,208	PASS

GRENSE FOR BLANKPRØVE OG DETEKSJONSGRENSE

En studie ble gjennomført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering av deteksjonsevne for måleprosedyrer på kliniske laboratorier). Deteksjonsgrensen (LOD) er den laveste analyttkonsentrasjonen som kan detekteres konsekvent. Resultatene som ble oppnådd, er oppsummert i tabellen nedenfor:

Positive Target	Grense for blankprøve (celle/µL)	Deteksjonsgrense (celle/µL)
Lymfocytter	4	6

BEGRENSNINGER

1. Flowcytometri kan gi falske resultater hvis cytometeret ikke har blitt justert nøyaktig, hvis fluorescenslekkasjer ikke er kompensert riktig, og hvis regionene ikke er nøye plassert.
2. Det er best å bruke en RBC-lyseringsteknikk med et vasketrinn, ettersom dette reagenset ikke er optimert for lyseringsteknikker uten vask.
3. Nøyaktige og reproduserbare resultater vil oppnås så lenge de anvendte prosedyrene er i samsvar med det tekniske pakningsvedlegget og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerte antistoffet til dette reagenset er kalibrert for å oppnå best mulig forhold mellom spesifikt signal og ikke-spesifikt signal. Derfor er det viktig å overholde forholdet mellom reagensvolum og prøvevolum i hver test.
5. Ved hyperleukocytose fortynnes blodet i PBS for å oppnå en verdi på omtrent 5 x 10^9 leukocytter/L (14).
6. Ved visse sykdomstilstander, for eksempel alvorlig nyresvikt eller hemoglobinopatier, kan lyseringen av røde celler være langsom, ufullstendig eller til og med umulig. I dette tilfellet anbefales det å isolere mononukleærerte celler ved hjelp av en densitetsgradient (for eksempel Ficoll) før farging (15).
7. Hos pasienter som behandles med antihumane, monoklonale antistoffbehandlinger, kan deteksjon av bestemte målantigener reduseres eller være fraværende på grunn av delvis eller fullstendig blokkering av det terapeutiske antistoffet.

8. Anti-TCR PAN α/β-PE-resultatene skal tolkes i lys av den totale kliniske vurderingen av pasienten, inkludert: symptomer, klinisk historie, data fra flere tester og annen aktuell informasjon.

Se vedlegget for eksempler og referanser.

VAREMERKER

Beckman Coulter, den stiliserte logoen og vare- og servicemerkene til Beckman Coulter som er omtalt her, er varemerker eller registrerte varemerker som tilhører Beckman Coulter, Inc. i USA og andre land.

TILLEGGSINFORMASJON

For pasient/bruker/tredjepart i EU og land med identisk regelverk (EUs forordning nr. 2017/746 om in vitro-diagnostisk medisinsk utstyr); hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av dette utstyret, eller som et resultat av bruken, skal dette rapporteres til produsenten og/eller den autoriserte representanten samt til nasjonal myndighet.

Summary of Safety and Performance (Sammendrag av sikkerhet og ytelse) er tilgjengelig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISJONSHISTORIE

REVISJON AD:	Utgivelsesdato: Oktober 2019

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AW	Februar 2022
Oppdateringer skal overholde de globale merkingsreglene til Beckman Coulter og være i samsvar med krav iht. IVD-R (EU)2017/746:	
Innsatte avsnitt	BSI 2797-nummer, Tiltenkt bruker, Klinisk relevans, Konsentrasjon, Presisjon, Nøyaktighet, Grense for blankprøve og deteksjonsgrense, Tilleggsinformasjon, Revisjonshistorie.
Innsatt informasjon	Se avsnittet Begrensninger
Oppdatering av formulering eller typografi	Se avsnittene Prosedyre, Ytelse, Begrensninger, Advarsler og forholdsregler, Oppbevaring og stabilitet.
Fjernede avsnitt	Eksempel på kliniske bruksområder, Reagenser, Reproduserbarhet innenfor samme laboratorium, Linearitet
Oppdaterte avsnitt	Tiltenkt bruk, GHS-fareklassifisering, Tegn på nedbryting, Prosedyre, Vedlegg.

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AX	april 2023
Oppdaterte avsnitt	Lagt til kasakhisk
Oppdaterte avsnitt	Oppbevaring og stabilitet

Revidert versjon	AY
Revisjonsdato	mai 2024
Oppdatert oversettelser	**Klinisk relevans:**
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Revidert versjon	AZ
Revisjonsdato	juli 2024
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Symbolforklaring

Symbolordliste er tilgjengelig på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Tekniset tiedot
Spesifisyys	TCR α/β
Klooni	IP26A
Hybridooma	NS1 x balb/c
Immunogeeni	T cell clone
Immunoglobuliini	IgG1
Lajit	Hiiri
Puhdistus	Affiniteettikromatografia
Fluorokromi	R Phycoerythrin
Moolisuhde	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-viritys	488 nm
Säteilyhuippu	575 nm
Puskuri	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA:ta ja 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugoitunut vasta-aine Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 testiä; 1 ml, 20 µl / testi

Diagnostiseen *in vitro* -käyttöön.

KÄYTTÖTARKOITUS

Tämän fluorokromikonjugoidun vasta-aineen avulla voidaan kvalitatiivisesti ja muilla kuin automaattisilla tavoilla tunnistaa solupopulaatioita, jotka ilmentävät ihmisen biologisissa näytteissä esiintyvää TCR α/β-antigeeniä virtaussytometriaa käyttämällä (katso jäljempää kohta Näytteet).

PERIAATE

Testi perustuu tiettyjen monoklonaalisten vasta-aineiden kykyyn sitoutua leukosyyttien ilmentämiin antigeenideterminantteihin.

Leukosyyttien spesifinen värjäys tehdään inkuboimalla näyte IOTest-reagenssilla. Punasolut poistetaan sen jälkeen lyysaamalla, ja leukosyytit, joihin tämä prosessi ei vaikuta, analysoidaan virtaussytometrialla.

Virtaussytometri mittaa valonhajontaa ja solujen fluoresenssia. Sen avulla on mahdollista rajata kiinnostuksen kohteena olevan populaatio pylväskaavioon määritetyssä elektronisessa ikkunassa, jossa ortogonaalinen valonhajonta (sivusironta eli SS) vastaa kapean kulman valonhajontaa (eteenpäinsironta eli FS). Muita sytometrin kahta eri parametria yhdistäviä pylväskaavioita voidaan käyttää rajaamisvaiheen tukena käyttäjän valitseman sovelluksen mukaan.

Rajattujen solujen fluoresenssi analysoidaan, jotta positiivisesti värjäytyneet tapahtumat voidaan erottaa värjäytymättömistä tapahtumista. Tulokset ilmaistaan positiivisten tapahtumien prosenttimääränä suhteessa kaikkiin rajauksella kerättyihin tapahtumiin.

AIOTTU KÄYTTÄJÄ

Tämä tuote on tarkoitettu ammattimaiseen laboratoriokäyttöön.

KLIININEN RELEVANSSI

Anti-TCR PAN α/β-PE on Anti-TCR PAN α/β-vasta-aine, jota käytetään TCR α/β-antigeeniä ilmentävien solujen tunnistamiseen ja määrittämiseen virtaussytometriassa. Tämä tuote yksinään ei voi eikä sen ole tarkoitus tuottaa mitään diagnostisia johtopäätöksiä.

Kun sitä käytetään yhdessä muiden merkkiaineiden kanssa, tuotetta voidaan käyttää yhteen tai useaan seuraavista toiminnoista:

- Erotusdiagnostiikan tueksi hematologisesti poikkeavilla potilailla, joilla epäillään olevan hematopoieettisia kasvaimia, ja sellaisten potilaiden seurantaan, joilla tiedetään olevan hematopoieettisia kasvaimia.

Katso seuraavat viitteet:

1; 2; 3; 4

NÄYTTEET

Laskimoverinäytteet on otettava käyttäen steriilejä putkia, joissa on antikoagulanttina EDTA-suolaa.

Näytteet on säilytettävä huoneenlämmössä (18–25 °C), eikä niitä saa ravistaa. Näytteet on homogenoitava sekoittamalla hellävaraisesti ennen testinäytteen ottamista.

Näytteet on analysoitava 24 tunnin sisällä laskimopunktiosta.

PITOISUUS

Katso eräkohtainen analyysitodistus osoitteesta www.beckman.com.

VAROITUS JA VAROTOIMET

1. Älä käytä reagenssia viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
2. Ei saa jäätyä.
3. Anna sen lämmetä huoneenlämpöiseksi (18–25 °C) ennen käyttöä.
4. Minimoi altistuminen valolle.
5. Vältä reagenssien mikrobikontaminaatiota, muutoin vaarana ovat virheelliset tulokset.
6. Natriumatsidia (NaN_3) sisältäviä vasta-aineliuoksia tulee käsitellä varoen. Sitä ei saa niellä, ja sen joutumista iholle, limakalvoille ja silmiin on vältettävä.

   Lisäksi happamassa liuoksessa natriumatsidi voi muodostaa mahdollisesti vaarallista hydratsoehappoa. Jos reagenssi on hävitettävä, se on suositeltavaa laimentaa suureen vesimäärään ennen sen kaatamista viemäriin, jotta natriumatsidia ei pääse kertymään metalliputkiin ja vältetään räjähdysvaara.

7. Kaikkia verinäytteitä on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina, ja niitä on käsiteltävä varovaisesti (erityisesti on muistettava suojakäsineiden, -pukujen ja -lasien käyttö).
8. Älä koskaan pipetoi suulla ja vältä näytteiden kaikkea kosketusta ihoon, limakalvoihin ja silmiin.
9. Veriputket ja käsittelyyn käytetyt kertakäyttöiset materiaalit on hävitettävä poltettaviksi tarkoitetuissa ad hoc -astioissa.
10. Reagenssit ja jätteet on hävitettävä paikallisten vaatimusten mukaisesti.

GHS-VAARALUOKITUS

Ei luokiteltu vaaralliseksi

SDS Käyttöturvallisuustiedote on saatavana osoitteessa beckmancoulter.com/techdocs

SÄILYTYS JA STABILITEETTI

Tätä reagensseja on säilytettävä 2–8 °C:n lämpötilassa ja suojattava valolta ennen ampullin avaamista ja sen jälkeen.

Suljetun ampullin säilyvyysaika stabiliteettitutkimuksen mukaan: 1095 päivää.

Avatun ampullin stabiliteetti: reagenssi on stabiili 180 päivän ajan.

MERKIT PILAANTUMISESTA

Mahdolliset muutokset reagenssin fyysisessä ulkonäössä voivat viitata huonontumiseen, eikä reagenssia saa tällöin käyttää.

Jos tarvitset lisätietoja tai jos sait vahingoittuneen tuotteen, soita Beckman Coulter -asiakaspalveluun numeroon 800 742 2345 (USA ja Kanada) tai ota yhteyttä Beckman Coulterin paikalliseen edustajaan.

SISÄLTÖ

Natriumatsidi-säilöntäaine saattaa muodostaa räjähtäviä yhdisteitä metallisissa viemäriputkissa. Katso NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.08.1976). Huuhtele viemäriputket vedellä laimentamattoman reagenssin poiston jälkeen mahdollisen atsidiyhdisteiden kerääntymisen estämiseksi. Hävitä natriumatsidi asianmukaisten paikallismääräysten mukaisesti.

TARVITTAVAT MATERIAALIT, JOITA EI TOIMITETA SARJAN MUKANA:

- Näytteenottoon tarvittavat näytteenottoputket ja materiaalit.
- Automaattiset pipetit, joissa kertakäyttökärjet 20, 100 ja 500 µl.
- Muoviset hemolyysiputket.
- Punasolujen lyysireagenssi ja pesuvaihe lyysin jälkeen. Esimerkiksi: VersaLyse (viite A09777).
- Leukosyyttien kiinnitysreagenssi. Esimerkiksi: IOTest 3 -fiksatiiviliuos (viite A07800).
- Isotyyppinen kontrolli PE: IOTest-reagenssi (viite A07796).
- Puskuri (PBS: 0,01 M natriumfosfaattia, 0,145 M natriumkloridia, pH 7,2).
- Sentrifugi.
- Automaattinen sekoitin (Vortex-/pyörretyyppinen).
- Virtaussytometri.

VERSALYSE-REAGENSSIN MENETTELY

Jokaiselle analysoidulle näytteelle voidaan lisätä testiputken lisäksi yksi kontrolliputki, jossa solut sekoitetaan käyttämällä isotyyppistä kontrollia (ref. A07796).

1. Lisää 20 µl spesifisiä IOTest-konjugoituja vasta-aineita jokaiseen testiputkeen ja tarvittaessa 20 µl isotyyppistä kontrollia jokaiseen kontrolliputkeen.
2. Lisää 100 µl testinäytettä kuhunkin putkeen. Sekoita putkia vorteksilla varovaisesti.
3. Inkuboi 15–20 minuuttia huoneenlämmössä (18–25 °C), valolta suojattuna.
4. Tee sitten punasolujen lyysaus. Tutustu VersaLyse (viite A09777) -selosteeseen ja noudata mieluiten menettelyä, jonka nimessä on maininta ”rinnakkaiskiinnityksen kanssa” ja johon sisältyy ohje lisätä 1 ml kiinnitys- ja lyysiseosta, joka on valmistettu kyseistä tapausta varten. Sekoita välittömästi vorteksilla yhden sekunnin ajan ja inkuboi 10 minuuttia huoneenlämmössä, valolta suojattuna.
5. Sentrifugoi 150 x g 5 minuutin ajan huoneenlämmössä.
6. Poista supernatantti aspiroimalla.
7. Suspendoi solupelletti uudelleen käyttämällä 3 ml PBS:ää.
8. Toista vaihe 5.
9. Poista supernatantti aspiroimalla ja suspendoi solupelletti käyttämällä:

- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää plus 0,1 % formaldehydiä, jos valmisteet aiotaan säilyttää alle 24 tuntia. (0,1 % formaldehydiä sisältävä PBS saadaan laimentamalla 12,5 µl IOTest 3 -fiksatiiviliuosta (viite A07800) sen 10-kertaisella pitoisuudella 1 ml:aan PBS:ää).
- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää ilman formaldehydiä, jos valmisteet tullaan analysoimaan 2 tunnin sisällä.

Huomautus: Pidä valmisteet kaikissa tapauksissa 2–8 °C:n lämpötilassa ja valolta suojattuna.

ODOTETUT ARVOT

Laboratorioissamme 25 ilmeisesti terveen luovuttajan kokoverinäytteet käsiteltiin edellä kuvatulla reagenssilla. Seuraavassa taulukossa esitetään tällä reagenssilla saadut tulokset, kun kiinnostuksen kohteena olleet positiiviset tapahtumat laskettiin:

Positiivinen kohde	Lukumäärä	Keskiarvo (%)	SD	CV (%)
Lymfosyytit	25	67,94	11,93	17,56

Nämä arvot on tarkoitettu vain esimerkeiksi. Jokaisen laboratorion tulee luoda omat odotetut arvonsa paikallisen normaalien luovuttajien populaation mukaan.

SUORITUSKYKY

Suorituskykytiedot saadaan edellä kuvatulla menetelmällä käyttämällä alle 24 tunnin ikäisistä näytteistä, jotka on aiemmin kerätty steriileihin putkiin, joissa antikoagulanttina on EDTA-suola. Analyysi suoritetaan 2 tunnin kuluessa immunovärjäyksestä.

SPESIFISYYS

Ihmisen T-solut tunnistavat vieraat antigeenit isännän HLA-molekyylien yhteydessä antigeenin T-solureseptorin (TcR) avulla (5, 6, 7). TcR-reseptorit ovat molekyylikomplekseja, jotka muodostuvat kahdesta yksiköstä: tunnistinyksiköstä, joka koostuu joko α-β- tai γ-δ-heterodimeeristä, jota on solun pinnalla toisensa poissulkevalla tavalla, ja transduktioyksiköstä eli CD3-kompleksista, joka on yhteinen α-β- ja γ-δ-heterodimeereille ja laukaisee/aktivoi T-solun, kun antigeeni on sitoutunut tunnistinyksikköön.

Tunnistusyksiköt tunnistavat mahdolliset vierasantigeenit, ja tämän tunnistustoiminnon edellyttämä diversiteetti syntyy TcR-geenien somaattisesta rekombinaatiosta. TcR-geenilokuksia on neljä (α, β, γ ja δ). Kukin niistä koostuu useista V (eng. sanasta variable eli vaihteleva) -segmenteistä, jotka koodaavat noin 90 aminohappoa, erittäin lyhyistä D (engl. sanasta diversity eli diversiteetti/monipuolisuus) -segmenteistä (vain α- ja δ-lokukset) ja lyhyistä J (engl. sanasta joining eli liittävä/yhdistävä) -segmenteistä (noin 15 aminohappoa) ja yhdestä tai kahdesta C (engl. sanasta constant eli pysyvä) -segmenteistä (8, 9, 10, 11). IP26A-vasta-aine tunnistaa TcR-kompleksin ihmis-α/β-ketjun monomorfisen determinantin (12, 13).

TARKKUUS

Prosentuaaliset positiiviset arvot määritettiin käyttämällä kokoverta. Jokainen näyte käsiteltiin 4 kertaa, kahdesti päivässä päivänä 1 2 laitteessa käyttämällä 2 erää Anti-TCR PAN α/β-PE monoklonaalisia vasta-ainereagensseja. Mittaukset (% positiivisia) tehtiin Navios-virtaussytometrillä. Analyysi tehtiin perustuen CLSI-menetelmään EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivisten mittausmenetelmien tarkkuussuorituskyvyn arviointi).

Hyväksyntäkriteerimme on riippuvainen kussakin populaatiossa mitattujen positiivisten tapahtumien määrästä:

- Jos tapahtuma on positiivinen < 1 500, CV < 15 %
- Jos tapahtuma on positiivinen > 1 500, CV < 10 %

Lymfosyytit							
Positiivisten näytteiden lukumäärä (keskiarvo) = 6178							
	Käyttäjien välinen	Sytometrin sisäinen	Erän sisäinen	Erien välinen	Ajojen välinen	Ajon sisäinen	Yhteensä
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
TULOKSET	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ULKOINEN TARKKUUS

Kohteen Anti-TCR PAN α/β-PE tarkkuus arvioitiin vertaamalla tuloksia viitereagenssiin, joka toimi Navios-virtaussytometrillä käsitellyn kokoverinäytesarjan predikaattina. Testireagenssin ja vertailureagenssin välinen poikkeama määritettiin testitulosten välisen eron perusteella. Jos poikkeama on sallitun virhealueen rajoissa tai p-arvo ei osoita merkityksellistä eroa (> 0,05), näiden kahden reagenssin testituloksia pidetään vastaavina.

Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Luovuttajien määrä = 25				
Positiivinen kohde	Keskiarvo Δ	Δ % -solukriteeri	p-arvo	TULOKSET
Lymfosyytit	-1,26	<5	0,208	PASS

NOLLAMITTAUKSEN YLÄRAJA JA MITTAUKSEN ALARAJA

Tutkimus tehtiin CLSI EP17-A2:n mukaisesti, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Detektiokyvyn arviointi kliinisissä laboratoriomittausmenettelyissä). Mittauksen alaraja (LoD) on analyytin alhaisin pitoisuus, joka voidaan havaita johdonmukaisesti. Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Positive Target	Nollamittauksen yläraja (solu/µl)	Mittauksen alaraja (solu/µl)
Lymfosyytit	4	6

RAJOITUKSET

1. Virtaussytometrialla saadut tulokset voivat olla virheellisiä, jos sytometri on kohdistettu epätarkasti, jos fluoresenssivuotoja ei ole kompensoitu oikein ja jos alueita ei ole sijoitettu tarkasti.
2. On suositeltavaa käyttää punasolujen lyysaukseen pesuvaiheen sisältävää tekniikkaa, koska tätä reagenssia ei ole optimoitu lyysaustekniikoille, joihin ei sisälly pesua.
3. Tulokset oivat tarkkoja ja toistettavissa, kunhan käytetyt menetelmät ovat teknisen selosteen mukaisia ja noudattavat hyviä laboratoriokäytäntöjä.
4. Tämän reagenssin konjugoitu vasta-aine kalibroidaan siten, että saadaan paras spesifisen signaalin ja epäspesifisen signaalin suhde. Siksi on tärkeää noudattaa reagenssin tilavuuden / näytteen suhdetta jokaisessa testissä.
5. Jos kyseessä on hyperleukosytoosi, laimenna veri PBS:ään siten, että saat arvoksi noin 5 x 10^9 leukosyyttiä/l (14).
6. Tietyissä sairaustiloissa, kuten vaikeassa munuaisten vajaatoiminnassa tai hemoglobinopatioissa, punasolujen hajoaminen voi olla hidasta, epätäydellistä tai jopa mahdotonta. Tässä tapauksessa yksitumaiset solut on suositeltavaa eristää käyttämällä tiheysgradienttia (esimerkiksi Ficoll) ennen värjäystä (15).
7. Potilailla, joita on hoidettu muun kuin ihmisen monoklonaalisilla vasta-aineilla, kohdeantigeenin havaitseminen voi heikentyä tai estyä osittain tai kokonaan hoidossa käytetyn vasta-aineen vaikutuksesta.
8. Anti-TCR PAN α/β-PE-tulosten tulkinnassa on otettava huomioon potilaan kaikki kliiniset tiedot, mukaan lukien oireet, kliininen historia, lisätestien tiedot ja muut asianmukaiset tiedot.

Katso esimerkkejä ja viitteitä liitteestä.

TAVARAMERKIT

Beckman Coulter, tyylitelty logo ja tässä mainitut Beckman Coulter -tuotteiden ja palveluiden merkit ovat Beckman Coulter, Inc:in tavaramerkkejä tai rekisteröityjä tavaramerkkejä Yhdysvalloissa ja muissa maissa.

LISÄTIETOJA

Potilaalle / käyttäjälle / kolmannelle osapuolelle Euroopan unionin alueella ja maissa, joissa on samanlainen sääntelyjärjestelmä (in vitro -diagnostiikkaan tarkoitettuja lääkinnällisiä laitteita koskeva asetus 2017/746/EU): jos tämän laitteen käytön aikana tai sen käytön seurauksena on tapahtunut vakava tapahtuma, ilmoita siitä valmistajalle ja/tai valmistajan valtuutetulle edustajalle sekä kansalliselle viranomaiselle.

Turvallisuutta ja suorituskykyä koskeva yhteenveto on saatavilla EUDAMED-tietokannasta osoitteesta ec.europa.eu/tools/eudamed.

TARKISTUSHISTORIA

VERSIO AD:	Julkaisupäivä: Lokakuu 2019

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AW	Helmikuu 2022
Päivitetty noudattamaan Beckman Coulterin maailmanlaajuista merkintämenettelyä ja IVD-R (EU)2017/746 -standardin vaatimuksia:	
Lisätyt osat	BSI 2797 -numero, Käyttötarkoituksen mukainen käyttäjä, Kliininen relevanssi, Pitoisuus, Tarkkuus, Ulkoinen tarkkuus, Nollamittauksen yläraja ja mittauksen alaraja, Lisätietoja, Tarkistushistoria.
Lisätyt tiedot	Katso kohta Rajoitukset
Sanamuodot tai typografiset päivitykset	Katso kohdat Menettely, Suorituskyky, Rajoitukset, Varoitus ja varotoimet, Säilytys ja stabiliteetti.
Poistetut osat	Esimerkki kliinisistä käyttötarkoituksista, Reagenssit, Laboratorionsisäinen toistettavuus, Lineaarisuus
Päivitetyt osat	Käyttötarkoitus, GHS-vaaraluokitus, Merkit pilaantumisesta, Menettely, Liite.

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AX	Huhtikuu 2023
Päivitetyt osat	Lisää kazakki
Päivitetyt osat	Säilytys ja stabiliteetti

Tarkistettu versio	AY
Tarkistuksen päivämäärä	Toukokuu 2024
Päivitetyt käännökset	**Kliininen merkitys:**
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Tarkistettu versio	AZ
Tarkistuksen päivämäärä	Heinäkuu 2024
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Symboliluettelo

Symbolisanasto on saatavana osoitteessa beckman.com/techdocs (asiakirjan numero B60062)

	Προδιαγραφές
Ειδικότητα	TCR α/β
Κλώνος	IP26A
Υβρίδωμα	NS1 x balb/c
Ανοσογόνο	T cell clone
Ανοσοσφαιρίνη	IgG1
Είδος	Μυς
Κάθαρση	Χρωματογραφία συγγένειας
Φθορόχρωμα	R Phycoerythrin
Γραμμομοριακή αναλογία	PE/Ig: 0,5 - 1,5
διέγερση λ	488 nm
Μέγιστη τιμή εκπομπών	575 nm
Ρυθμιστικό Διάλυμα	PBS pH 7,2 συν 2 mg/mL BSA και 0,1% NaN_3

IOTest
Συζευγμένο αντίσωμα
Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 δοκιμασίες: 1 mL,
20 µL/εξέταση

Για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Αυτό το συζευγμένο με φθοροχρώματα αντίσωμα επιτρέπει την ποιοτική και μη αυτοματοποιημένη ταυτοποίηση των κυτταρικών πληθυσμών που εκφράζουν το αντιγόνο TCR α/β που απαντάται σε ανθρώπινα βιολογικά δείγματα, με χρήση κυτταρομετρίας ροής (δείτε την παρακάτω ενότητα «Δείγματα»).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Αυτή η εξέταση βασίζεται στην ικανότητα συγκεκριμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων να δεσμεύονται στους αντιγονικούς καθοριστές που εκφράζονται από τα λευκοκύτταρα.

Η ειδική χρώση των λευκοκυττάρων πραγματοποιείται μέσω της επώασης του δείγματος με το αντιδραστήριο IOTest. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια αφαιρούνται στη συνέχεια με λύση και τα λευκοκύτταρα, τα οποία δεν επηρεάζονται από αυτήν τη διαδικασία, αναλύονται με κυτταρομετρία ροής.

Το κυτταρόμετρο ροής μετρά τη διάχυση φωτός και τον φθορισμό των κυττάρων. Καθιστά δυνατή την οριοθέτηση του πληθυσμού ενδιαφέροντος εντός του ηλεκτρονικού παραθύρου που ορίζεται σε ένα ιστόγραμμα, το οποίο συσχετίζει την ορθογώνια διάχυση φωτός (πλάγια σκέδαση ή SS) και τη διάχυση φωτός κλειστής γωνίας (πρόσθια σκέδαση ή FS). Άλλα ιστογράμματα που συνδυάζουν δύο από τις διαθέσιμες διαφορετικές παραμέτρους του κυτταρόμετρου μπορούν να χρησιμοποιηθούν υποστηρικτικά κατά το στάδιο της οριοθέτησης, ανάλογα με την εφαρμογή που επιλέγει ο χρήστης.

Ο φθορισμός των οριοθετημένων κυττάρων αναλύεται προκειμένου να είναι δυνατή η διάκριση μεταξύ των θετικά σημασμένων συμβάντων και των μη σημασμένων συμβάντων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ποσοστό των θετικών συμβάντων σε σχέση με το σύνολο των συμβάντων που ελήφθησαν από την οριοθέτηση.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΟΣ ΧΡΗΣΤΗΣ

Αυτό το προϊόν προορίζεται για επαγγελματική εργαστηριακή χρήση.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΝΑΦΕΙΑ

Το Anti-TCR PAN α/β-PE είναι ένα αντίσωμα Anti-TCR PAN α/β που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό κυττάρων που εκφράζουν το αντιγόνο TCR α/β με κυτταρομετρία ροής. Αυτό το προϊόν από μόνο του δεν μπορεί να παράγει οποιοδήποτε διαγνωστικό συμπέρασμα και δεν προορίζεται για αυτήν τη χρήση.

Όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλους δείκτες, αυτό το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μία ή περισσότερες από τις ακόλουθες λειτουργίες:

- Ως βοήθημα στη διαφορική διάγνωση μη φυσιολογικών αιματολογικά ασθενών με υποψία αιμοποιητικής νεοπλασίας και για την παρακολούθηση ασθενών με γνωστή αιμοποιητική νεοπλασία.

Δείτε τις ακόλουθες παραπομπές:

1, 2, 3, 4

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Τα δείγματα φλεβικού αίματος πρέπει να διατηρούνται σε αποστειρωμένα σωληνάρια που περιέχουν άλας EDTA ως αντιπηκτικό.

Τα δείγματα θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) και δεν θα πρέπει να ανακινούνται. Πριν από τη λήψη του δείγματος προς εξέταση, τα δείγματα πρέπει να ομογενοποιούνται με ήπια ανάδευση.

Τα δείγματα πρέπει να αναλύονται εντός 24 ωρών από τη φλεβοκέντηση.

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ

Δείτε το ειδικό για την παρτίδα πιστοποιητικό ανάλυσης στη διεύθυνση www.beckman.com.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

1. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης.
2. Μην καταψύχετε.
3. Αφήστε το να περιέλθει σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) πριν από τη χρήση.
4. Ελαχιστοποιήστε την έκθεση στο φως.

5. Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διαφορετικά ενδέχεται να προκύψουν ψευδή αποτελέσματα.
6. Να χειρίζεστε τα διαλύματα αντισωμάτων που περιέχουν αζίδιο του νατρίου (NaN_3) με προσοχή. Μην εισπνέετε και αποφεύγετε κάθε επαφή με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.

   Επιπλέον, σε όξινο μέσο, το αζίδιο του νατρίου μπορεί να σχηματίσει ένα δυνητικά επικίνδυνο υδραζωτικό οξύ. Αν χρειαστεί να απορριφθεί, συνιστάται η αραίωση του αντιδραστηρίου με μεγάλη ποσότητα νερού πριν από την έκχυση στο αποχετευτικό σύστημα, προκειμένου να αποφευχθεί η συσσώρευση αζιδίου του νατρίου στις μεταλλικές σωληνώσεις και να αποτραπεί ο κίνδυνος έκρηξης.
7. Πρέπει να θεωρείτε όλα τα δείγματα αίματος δυνητικά μολυσματικά και να τα χειρίζεστε με προσοχή (ειδικότερα: να φοράτε προστατευτικά γάντια, ποδιές και γυαλιά).
8. Μην χρησιμοποιείτε ποτέ πιπέτα με το στόμα και αποφεύγετε κάθε επαφή των δειγμάτων με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.
9. Τα σωληνάρια αίματος και το υλικό μίας χρήσης που χρησιμοποιούνται για τον χειρισμό πρέπει να απορρίπτονται σε ειδικά δοχεία που προορίζονται για αποτέφρωση.
10. Τα αντιδραστήρια και τα απόβλητα πρέπει να απομακρύνονται σύμφωνα με τις τοπικές απαιτήσεις.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ GHS

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο

SDS Το δελτίο δεδομένων ασφάλειας διατίθεται στη διεύθυνση beckmancoulter.com/techdocs

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Πρέπει να φυλάσσετε αυτό το αντιδραστήριο σε θερμοκρασία 2 έως 8 °C και να το προστατεύετε από το φως πριν και μετά το άνοιγμα του φιαλιδίου.

Διάρκεια ζωής κλειστού φιαλιδίου ανά μελέτη σταθερότητας: 1095 ημέρες.

Σταθερότητα ανοιχτού φιαλιδίου: το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό για 180 ημέρες.

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ

Οποιαδήποτε μεταβολή στην εμφάνιση των αντιδραστηρίων είναι πιθανό να υποδεικνύει αλλοίωση και το αντιδραστήριο δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται.

Για επιπλέον πληροφορίες ή σε περίπτωση παραλαβής ελαττωματικού προϊόντος, επικοινωνήστε με την υπηρεσία εξυπηρέτησης πελατών της Beckman Coulter στο 800-742-2345 (για ΗΠΑ και Καναδά) ή με τον τοπικό αντιπρόσωπο της Beckman Coulter.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Το συντηρητικό αζιδίου του νατρίου μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικές ενώσεις στους μεταλλικούς αποχετευτικούς αγωγούς. Δείτε το ενημερωτικό δελτίο του NIOSH: Explosive Azide Hazard (Κίνδυνος έκρηξης αζιδίου) (16/8/76)
Για να αποφύγετε την ενδεχόμενη συσσώρευση ενώσεων αζιδίου, να εκπλένετε τους σωλήνες αποβλήτων με νερό μετά την απόρριψη μη αραιωμένου αντιδραστηρίου. Η απόρριψη του αζιδίου του νατρίου πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους αντίστοιχους τοπικούς κανονισμούς.

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΚΙΤ:

- Σωλήνες δειγματοληψίας και υλικό που είναι απαραίτητο για τη δειγματοληψία.
- Αυτόματες πιπέτες με ρύγχη μιας χρήσης για 20, 100 και 500 µL.
- Πλαστικά σωληνάρια αιμόλυσης.
- Αντιδραστήριο λύσης ερυθροκυττάρων με στάδιο πλύσης μετά τη λύση. Για παράδειγμα: VersaLyse (Ref. A09777).
- Αντιδραστήριο μονιμοποίησης λευκοκυττάρων. Για παράδειγμα: Διάλυμα μονιμοποίησης IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ισοτυπικός μάρτυρας PE: Αντιδραστήριο IOTest (Ref. A07796).
- Ρυθμιστικό διάλυμα (PBS: 0,01 M φωσφορικό νάτριο, 0,145 M χλωριούχο νάτριο, pH 7,2).
- Φυγόκεντρος.
- Αυτόματος αναδευτήρας (τύπου περιδίνησης).
- Κυτταρόμετρο ροής.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ VERSALYSE

Για κάθε δείγμα που αναλύεται, εκτός του σωληναρίου εξέτασης, μπορεί να προστεθεί ένα σωληνάριο μάρτυρα μέσα στο οποίο αναμειγνύονται τα κύτταρα παρουσία του ισοτυπικού μάρτυρα (Ref. A07796).

1. Προσθέστε 20 µL ειδικού συζευγμένου αντισώματος IOTest σε κάθε δοκιμαστικό σωληνάριο και, εάν απαιτείται, 20 µL του ισοτυπικού μάρτυρα σε κάθε σωληνάριο μάρτυρα.
2. Προσθέστε 100 µL του αναλυόμενου δείγματος σε κάθε σωληνάριο. Περιδινήστε απαλά τα σωληνάρια.
3. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) για 15 έως 20 λεπτά, προστατεύοντας από το φως.
4. Στη συνέχεια, πραγματοποιήστε λύση των ερυθροκυττάρων. Ανατρέξτε στο φύλλο οδηγιών του VersaLyse (Ref. A09777) και ακολουθήστε κατά προτίμηση τη διαδικασία «με ταυτόχρονη μονιμοποίηση», που περιλαμβάνει την προσθήκη 1 mL μείγματος «μονιμοποίησης και λύσης», το οποίο παρασκευάστηκε πρόχειρα. Περιδινήστε αμέσως επί ένα δευτερόλεπτο και επωάστε επί 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, προστατεύοντας από το φως.
5. Φυγοκεντρήστε για 5 λεπτά στα 150 x g σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση.
7. Πραγματοποιήστε επαναιώρηση του κυτταρικού ιζήματος με 3 mL PBS.
8. Επαναλάβετε το βήμα 5.
9. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση και επαναιωρήστε το κυτταρικό ίζημα με:

- 0,5 mL ή 1 mL PBS συν 0,1% φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να φυλαχθούν για λιγότερο από 24 ώρες. (Μπορείτε να παρασκευάσετε διάλυμα 0,1% φορμαλδεΰδης/PBS με αραίωση 12,5 µL του μονιμοποιητικού διαλύματος IOTest 3 (Ref. A07800) 10πλάσιας συγκέντρωσης σε 1 mL PBS).
- 0,5 mL ή 1 mL PBS χωρίς φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να αναλυθούν εντός 2 ωρών.

Σημείωση: Σε κάθε περίπτωση, φυλάσσετε τα παρασκευάσματα προστατευμένα από το φως, σε θερμοκρασία μεταξύ 2 και 8 °C.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Στα εργαστήριά μας, τα δείγματα ολικού αίματος από 25 φαινομενικά υγιείς δότες υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με χρήση του αντιδραστηρίου που περιγράφεται παραπάνω. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν για την καταμέτρηση των θετικών συμβάντων ενδιαφέροντος με αυτό το αντιδραστήριο παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

Θετικός στόχος	Αριθμός	Μέση τιμή (%)	SD	CV (%)
Λεμφοκύτταρα	25	67,94	11,93	17,56

Οι τιμές αυτές παρέχονται αποκλειστικά για ενδεικτικούς σκοπούς. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να ορίσει τις δικές του αναμενόμενες τιμές βάσει του τοπικού πληθυσμού των φυσιολογικών δοτών.

ΑΠΟΔΟΣΗ

Τα δεδομένα απόδοσης λαμβάνονται με χρήση της διαδικασίας που περιγράφηκε παραπάνω σε δείγματα αίματος ηλικίας μικρότερης των 24 ωρών που συλλέχθηκαν προηγουμένως σε αποστειρωμένα σωληνάρια με άλας EDTA ως αντιπηκτικό. Η ανάλυση εκτελείται εντός 2 ωρών από την ανοσοχρώση.

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Τα ανθρώπινα Τ κύτταρα αναγνωρίζουν τα ξένα αντιγόνα, στη μορφή μορίων HLA του ξενιστή, μέσω του αντιγονικού υποδοχέα των Τ κυττάρων (TcR) (5, 6, 7). Οι TcR είναι μοριακά συμπλέγματα που αποτελούνται από δύο μονάδες: μία μονάδα αναγνώρισης, αποτελούμενη από ένα ετεροδιμερές είτε α-β ή γ-δ, τα οποία βρίσκονται στην κυτταρική επιφάνεια κατά αμοιβαία αποκλειστικό τρόπο, και μία μονάδα διαβίβασης, το σύμπλεγμα CD3, το οποίο απαντάται τόσο στα ετεροδιμερή α-β όσο και στα γ-δ και ενεργοποιεί το Τ κύτταρο όταν η μονάδα αναγνώρισης καταληφθεί από το αντιγόνο.

Οι μονάδες αναγνώρισης αναγνωρίζουν τα πιθανά ξένα αντιγόνα και η ποικιλότητα που απαιτείται για αυτήν τη λειτουργία αναγνώρισης επιτυγχάνεται μέσω σωματικού ανασυνδυασμού των γονιδίων TcR. Υπάρχουν τέσσερις γενετικοί τόποι TcR (α, β, γ και δ). Καθένας από αυτούς αποτελείται από αρκετά τμήματα V (variable, μεταβλητά) τα οποία κωδικοποιούν περίπου 90 αμινοξέα, από πολύ μικρά τμήματα D (diversity, ποικιλότητα) μόνο στους γενετικούς τόπους α και δ, μικρά τμήματα J (joining, συνδετικά) των 15 αμινοξέων περίπου, και ένα ή δύο τμήματα C (constant, σταθερά) (8, 9, 10, 11). Το αντίσωμα IP26A αναγνωρίζει έναν μονομορφικό καθοριστή της ανθρώπινης αλυσίδας α/β του συμπλέγματος TcR (12, 13).

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Οι ποσοστιαίες θετικές τιμές προσδιορίστηκαν με χρήση ολικού αίματος. Κάθε δείγμα αναλύθηκε 4 φορές, δύο φορές την ημέρα για 1 ημέρα σε 2 όργανα με χρήση 2 παρτίδων αντιδραστηρίων μονοκλωνικού αντισώματος Anti-TCR PAN α/β-PE. Οι μετρήσεις (% θετικές) πραγματοποιήθηκαν σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με βάση τη μέθοδο CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Αξιολόγηση της απόδοσης ακρίβειας για μεθόδους ποσοτικής μέτρησης).

Τα κριτήρια έγκρισης εξαρτώνται από τον αριθμό των θετικών συμβάντων που μετρώνται για κάθε πληθυσμό:

- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος <1.500, <15% CV
- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος >1.500, <10% CV

Λεμφοκύτταρα							
Αριθμός θετικών συμβάντων (μέσος όρος) = 6178							
	Μεταξύ χειριστών	Μεταξύ κυτταρόμετρων	Εντός παρτίδας	Μεταξύ παρτίδων	Μεταξύ αναλύσεων	Εντός ανάλυσης	Σύνολο
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ακρίβεια του Anti-TCR PAN α/β-PE αξιολογήθηκε μέσω σύγκρισης των αποτελεσμάτων με ένα αντιδραστήριο αναφοράς, ως μέσο πρόγνωσης, σε ένα σύνολο δειγμάτων ολικού αίματος που αναλύθηκαν σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Το συστηματικό σφάλμα μεταξύ εξέτασης και αντιδραστηρίου αναφοράς προσδιορίστηκε με βάση τη διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων εξέτασης. Εάν το συστηματικό σφάλμα βρίσκεται εντός του επιτρεπόμενου εύρους σφαλμάτων ή η τιμή p δεν υποδεικνύει καμία σημαντική διαφορά (> 0,05), τα αποτελέσματα εξετάσεων για τα δύο αντιδραστήρια θεωρούνται ισοδύναμα.

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον πίνακα που ακολουθεί:

Αριθμός δοτών = 25				
Θετικός στόχος	Μέση τιμή Δ	Κριτήρια κυττάρων Δ %	Τιμή p	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
Λεμφοκύτταρα	-1,26	<5	0,208	PASS

ΟΡΙΟ ΤΥΦΛΟΥ ΚΑΙ ΟΡΙΟ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

Διεξήχθη μια μελέτη με βάση τις οδηγίες του CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Αξιολόγηση της ικανότητας ανίχνευσης για διαδικασίες μέτρησης κλινικών εργαστηρίων). Το όριο ανίχνευσης (OA) είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση αναλυόμενης ουσίας που μπορεί να ανιχνευτεί σταθερά. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Positive Target	Όριο τυφλού (κύτταρο/µL)	Όριο ανίχνευσης (κύτταρο/µL)
Λεμφοκύτταρα	4	6

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Η κυτταρομετρία ροής ενδέχεται να παράγει ψευδή αποτελέσματα αν το κυτταρόμετρο δεν είναι σωστά ευθυγραμμισμένο, αν οι διαρροές φθορισμού δεν έχουν αντισταθμιστεί σωστά και αν οι περιοχές δεν έχουν τοποθετηθεί προσεκτικά.

2. Η τεχνική λύσης RBC είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται με ένα βήμα πλύσης, καθώς το συγκεκριμένο αντιδραστήριο δεν έχει βελτιστοποιηθεί για τεχνικές λύσης «χωρίς πλύση».
3. Ακριβή και επαναλήψιμα αποτελέσματα προκύπτουν στο μέτρο που οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι σύμφωνες με το ένθετο τεχνικών οδηγιών και συμβατές με τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές.
4. Το συζευγμένο αντίσωμα αυτού του αντιδραστηρίου είναι βαθμονομημένο ώστε να προσφέρει την καλύτερη αναλογία ειδικής σήμανσης/μη ειδικής σήμανσης. Γι' αυτό είναι σημαντικό να τηρείτε την αναλογία όγκου αντιδραστηρίου/όγκου δείγματος σε κάθε εξέταση.
5. Σε περίπτωση υπερλευκοκυττάρωσης, αραιώστε το αίμα σε PBS ώστε να επιτευχθεί τιμή περίπου 5 x 10^9 λευκοκύτταρα/L (14).
6. Σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις, όπως η σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια ή οι αιμοσφαιρινοπάθειες, η λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων ενδέχεται να είναι αργή, ατελής ή και ανέφικτη. Σε αυτήν την περίπτωση, συνιστάται η απομόνωση των μονοπύρηνων κυττάρων με διαβάθμιση πυκνότητας (για παράδειγμα Ficoll) πριν από τη χρώση (15).
7. Σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπείες με αντι-ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα, η ανίχνευση των ειδικών στοχευόμενων αντιγόνων ενδέχεται να είναι μειωμένη ή να απουσιάζει λόγω μερικού ή πλήρους αποκλεισμού από το θεραπευτικό αντίσωμα.
8. Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων Anti-TCR PAN α/β-PE θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η συνολική κλινική εικόνα του ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων των συμπτωμάτων, του κλινικού ιστορικού, των δεδομένων πρόσθετων εξετάσεων και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Δείτε το Παράρτημα για παραδείγματα και παραπομπές.

ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ

Η επωνυμία Beckman Coulter, το τυποποιημένο λογότυπο και τα σήματα προϊόντων και υπηρεσιών της Beckman Coulter που αναφέρονται στο παρόν είναι εμπορικά σήματα ή σήματα κατατεθέντα της Beckman Coulter, Inc. στις Ηνωμένες Πολιτείες και σε άλλες χώρες.

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Για ασθενή/χρήστη/τρίτους στην Ευρωπαϊκή Ένωση και σε χώρες με όμοιο ρυθμιστικό καθεστώς (Οδηγία 2017/746/ΕΕ σχετικά με τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα), εάν, κατά τη χρήση αυτής της συσκευής ή ως αποτέλεσμα της χρήσης της, προκύψει σοβαρό περιστατικό, πρέπει να το αναφέρετε στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στις εθνικές αρχές της χώρας στην οποία κατοικείτε.

Το Summary of Safety and Performance (Σύνοψη ασφάλειας και απόδοσης) είναι διαθέσιμο στη βάση δεδομένων EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΕΩΝ

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ AD:	Ημερομηνία έκδοσης: Οκτώβριος 2019

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AW	Φεβρουάριος 2022
Ενημερώσεις για την επίτευξη συμμόρφωσης με την παγκόσμια πολιτική σήμανσης της Beckman Coulter και σύμφωνα με τις απαιτήσεις IVD-R (ΕΕ)2017/746:	
Προσθήκη ενοτήτων	Αριθμός BSI 2797, προβλεπόμενος χρήστης, κλινική συνάφεια, συγκέντρωση, πιστότητα, ακρίβεια, όριο τυφλού και όριο ανίχνευσης, πρόσθετες πληροφορίες, ιστορικό αναθεωρήσεων.
Προσθήκη πληροφοριών	Δείτε τις ενότητες «Περιορισμοί»
Εκφραστικές ή τυπογραφικές ενημερώσεις	Δείτε τις ενότητες «Διαδικασία», «Απόδοση», «Περιορισμοί», «Προειδοποίηση και προφυλάξεις», «Αποθήκευση και σταθερότητα».
Αφαίρεση ενοτήτων	Παράδειγμα κλινικών εφαρμογών, αντιδραστήρια, διεργαστηριακή επαναληψιμότητα, γραμμικότητα
Ενημερωμένες ενότητες	Προβλεπόμενη χρήση, Ταξινόμηση επικινδυνότητας κατά GHS, Ενδείξεις αλλοίωσης, Διαδικασία, Παράρτημα.

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AX	Απρίλιος 2023
Ενημερωμένες ενότητες	Προσθήκη Καζακικών
Ενημερωμένες ενότητες	Φύλαξη και σταθερότητα

Αναθεωρημένη έκδοση	AY
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Μάιος 2024
Ενημέρωση μεταφράσεων	**Κλινική συνάφεια:**
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθεωρημένη έκδοση	AZ
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Ιούλιος 2024
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Υπόμνημα συμβόλων

Το γλωσσάριο συμβόλων είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση beckman.com/techdocs (αριθμός εγγράφου B60062)

	仕様
特異性	TCR α/β
クローン	IP26A
ハイブリドーマ	NS1 x balb/c
免疫原	T cell clone
免疫グロブリン	IgG1
動物種	マウス
精製	アフィニティークロマトグラフィー
蛍光色素	R Phycoerythrin
モル比	PE / Ig： 0.5 - 1.5
λ励起	488 nm
発光のピーク	575 nm
緩衝化剤	PBS(pH 7.2) + 2 mg/mL BSAおよび0.1% NaN_3

IOTest

コンジュゲート抗体
Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 テスト50回、1 mL, 20 µL/テスト

体外診断用。

用途

この蛍光色素結合抗体混合物により、フローサイトメトリーを用いてヒト生物検体に存在するTCR α/β抗原を発現する細胞集団の定性的かつ非自動での同定が可能になります（以下の「検体」の項を参照）。

原理

このテストは、白血球が発現する抗原決定因子に対する特異的モノクローナル抗体の結合能に基づいています。

白血球の特異的染色は、検体をIOTest試薬とインキュベートすることによって行います。次に、赤血球を溶解によって除去し、このプロセスの影響を受けない白血球をフローサイトメトリーによって分析します。

フローサイトメーターは、細胞の光拡散および蛍光を測定します。これにより、直角散乱光（側方散乱、SS）および鋭角散乱光（前方散乱、FS）と相関するヒストグラム上で規定した電子枠内で対象集団の限界設定が可能になります。ユーザーが選択したアプリケーションに依存して、サイトメーターで利用可能な種々のパラメーターの2つを組み合わせたその他のヒストグラムが、ゲーティング段階の補助として利用できます。

陽性染色イベントと未染色イベントを鑑別するために、区分した細胞の蛍光を測定します。結果は、ゲーティングで得られた全イベントに対する陽性イベントの比率として表します。

対象ユーザー

本製品は、検査室での専門的な使用を目的としています。

臨床的妥当性

Anti-TCR PAN α/β-PEは、TCR α/β抗原を発現する細胞をフローサイトメトリーで同定および特性評価するために使用するAnti-TCR PAN α/β抗体です。この製品だけで、診断の結論を下すことはできず、そのように意図されていません。

本製品は、他のマーカーと組み合わせて使用する場合、次の機能の1つまたは複数で使用できます。

- 造血系新生物が疑われる血液学的に異常な患者の鑑別診断を補助し、既知の造血系新生物を有する患者をモニタリングするため。

以下の参考文献を参照してください。

1; 2; 3; 4

検体

静脈血は、抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブを用いて採取しなければなりません。

検体は室温（18～25°C）で保管し、揺らさないようにする必要があります。検体は、テスト検体を採取する前に、穏やかな撹拌によって均質化する必要があります。

この検体は、静脈穿刺から24時間以内に分析する必要があります。

濃度

www.beckman.comでロット固有の分析証明書を参照してください。

警告および注意

1. 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
2. 凍結しないでください。
3. 使用前に室温（18～25°C）にしてください。
4. 露光をできるだけ避けてください。
5. 試薬の微生物汚染を避けてください。誤った結果の原因となる場合があります。
6. アジ化ナトリウム（NaN_3）を含む抗体溶液は慎重に扱う必要があります。体内に摂取してはならず、皮膚、粘膜および眼との接触はすべて避けてください。

また、酸性媒体では、アジ化ナトリウムから潜在的危険性のあるアジ化水素酸が生成されることがあります。アジ化ナトリウムを含む試薬を廃棄する必要がある場合、金属製のパイプにアジ化ナトリウムが蓄積しないように、また爆発の危険性を防ぐために、試薬を多量の水で希釈してから排水システムに廃棄することを推奨します。

7. すべての血液検体は感染性の可能性があるとみなして慎重に取り扱う必要があります（特に保護手袋、実験着、ゴーグルの着用）。
8. 絶対に口でピペットを吸わないでください。また、皮膚、粘膜、目に検体が接触しないようにしてください。
9. 使用済みの採血管およびディスポーザブル製品は、焼却用の専用容器に入れて廃棄してください。
10. 試薬や廃棄物は地方自治体の要件に従って廃棄してください。

GHSハザード分類

危険有害物質には分類されない

SDS　安全性データシートは、beckmancoulter.com/techdocsで入手できます。

保管および安定性

この試薬は、バイアル開封の前後に2～8℃で保管し、遮光する必要があります。

各安定性試験におけるクローズドバイアルの保存期間：1095日間

開封後のバイアル：試薬は180日間安定しています。

変質や劣化の兆候

試薬の物理的な外観の変化は劣化の徴候である場合があり、その試薬を使用してはなりません。

追加情報に関して、または損傷している製品をお受け取りになった場合、ベックマン・コールターのカスタマーサービス800-742-2345（米国またはカナダ）にお電話をくださるか、最寄りの代理店に連絡してください。

内容

保存剤のアジ化ナトリウムは、金属製排水管内で爆発性化合物を生成するおそれがあります。 NIOSH Bulletinを参照してください: アジド爆発危険性（76/8/16）
アジド化合物が蓄積する可能性を回避するため、未希釈の試薬を廃棄した後は排水管を水で洗い流します。アジ化ナトリウムは地方自治体の規定に従い適切に廃棄してください。

ご用意いただくもの:

- サンプリングに必要なサンプリングチューブと材料。
- 使い捨てチップ付き自動ピペット（100および500 µL用）。20
- プラスチックの溶血チューブ。
- 溶血処理後に洗浄操作した赤血球溶血試薬。例：VersaLyse（製品番号A09777）。
- 白血球固定試薬。例：IOTest 3固定液（製品番号A07800）。
- アイソタイプ対照PE：IOTest試薬（製品番号A07796）。
- 緩衝化剤（PBS：0.01 Mリン酸ナトリウム、0.145 M塩化ナトリウム、pH 7.2）。
- 遠心機
- 自動アジテーター（ボルテックスタイプ）。
- フローサイトメーター

VERSALYSE試薬による手順

測定する各検体について、テストチューブのほか、アイソタイプ対照存在下で細胞を混合した対照チューブ1本を追加することができます（製品番号A07796）。

1. 各テストチューブに20 µLの特異的IOTest結合抗体を加え、必要に応じて20 µLのアイソタイプ対照を各対照チューブに加えます。
2. 各チューブに100 µLのテスト検体を添加します。チューブを穏やかに攪拌します。
3. 遮光した状態で、室温（18～25°C）で15～20分間インキュベートします。
4. 次に、赤血球の溶解を行います。VersaLyse(製品番号A09777)のリーフレットを参照し、できれば「同時固定」と呼ばれる手順に従います。この手順では、その場で調製した「固定/溶解」混合液1 mLを加えます。直ちに1秒間撹拌し、室温、遮光下で10分間インキュベートします。
5. 室温で5分間遠心分離（150 x g）します。
6. 吸引により上清を除去します。
7. 3 mLのPBSを用いて細胞ペレットを懸濁します。
8. ステップ5を繰り返します。
9. 吸引により上清を除去し、以下により細胞ペレットを再懸濁します。

- 調製液の保存期間が24時間未満の場合、ホルムアルデヒド0.1％を含むPBS 0.5 mLまたは1 mL。（0.1%ホルムアルデヒドを含むPBSは、12.5 µLの10倍濃度のIOTest 3固定液（製品番号A07800）を1 mLのPBSに希釈して作製できます）。
- 調製液を2時間以内に分析する場合、ホルムアルデヒドを含まないPBS 0.5 mLまたは1 mL。

注記：いかなる場合でも、調製液は2～8°Cに保ち、遮光してください。

期待値

弊社検査室では、上記の試薬を用いて見かけ上健常なドナー25名の全血検体を処理しました。本試薬による陽性イベント数測定で得た結果を以下の表に示します。

陽性標的細胞	番号	平均（%）	SD	CV（%）
リンパ球	25	67.94	11.93	17.56

これらの値は、代表的な値であることのみを意図しています。各検査室は、正常なドナーの現地の集団から独自の期待値を確立してください。

性能

性能データは、以前に抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブに採取した24時間未満経過した血液検体を対象に、上述の手順を用いて取得しなければなりません。分析は、免疫染色後2時間以内に行います。

特異性

ヒトT細胞は、宿主HLA分子において、抗原に対するT細胞受容体（TcR）を介して、外来抗原を認識します（5, 6, 7）。TcRは、相互に排他的に細胞表面に存在するαβまたはγδヘテロダイマーのいずれかで構成される認識ユニット、および認識ユニットに抗原が結合したときにT細胞をトリガーする伝達ユニットであるCD3複合体（αβおよびγδに共通）、の2つの単位から構成される分子複合体です。

この認識ユニットはあらゆる可能性のある外来抗原を認識し、この認識機能に必要な多様性は、TcR遺伝子の体細胞遺伝子組換えによって生じます。4つのTcR遺伝子座（α、β、γ、およびδ）があります。各セグメントは複数のV（可変性のための）セグメントで構成され、約90アミノ酸の非常に短いD（多様性のための）セグメント（αおよびδ遺伝子座のみ）、短いJ（結合のための）セグメント（約15アミノ酸）、および1つまたは2つのC（定常性のための）セグメントをコードしています（8, 9, 10, 11）。IP26A抗体は、TcR複合体のヒトα/β鎖の単形性決定因子を認識します（12, 13）。

精密性

陽性値の割合は、全血を使用して決定しました。各検体について、2つの装置で各4回を1日に2回、2ロットのAnti-TCR PAN α/β-PEモノクローナル抗体試薬を使用して測定しました。測定（%陽性）はNaviosフローサイトメーターで行いました。分析は、CLSI法EP5-A2：Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（定量測定法の精度性能の評価）に基づいて行いました。

当社の判定基準は、各集団について測定された陽性イベントの数によって異なります。

- 陽性イベント< 1,500の場合、CV< 15%
- 陽性イベント> 1,500の場合、CV< 10%

リンパ球							
陽性イベント数（平均）= 6178							
	オペレータ間	血球計算器間	ロット内	ロット間	測定間	測定内	総計
CV（%）	0.22	0.36	0.72	0.34	0.21	0.65	0.87
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

正確性

Anti-TCR PAN α/β-PEの正確度は、一連の全血検体についてNaviosフローサイトメーターで測定した規準としての参照試薬と、結果を比較して評価しました。テスト試薬と参照試薬との間のバイアスは、テスト結果の差に基づいて決定しました。バイアスが許容誤差範囲内にある場合、またはp値が有意差を示さない場合（> 0.05）、2つの試薬のテスト結果は同等と見なされます。

得られた結果を、下表にまとめます。

ドナー数 = 25				
陽性標的細胞	平均Δ	Δ % 細胞基準	p値	結果
リンパ球	-1.26	<5	0.208	PASS

ブランク上限と検出限界

試験は、CLSI EP17-A2、Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（臨床検査室測定手順の検出能力の評価）に基づいて実施されました。検出限界（LoD）とは、一貫して検出可能な分析物の最小濃度です。取得した結果は、下表に表示されています。

Positive Target	ブランク上限（細胞/µL）	検出限界（細胞/µL）
リンパ球	4	6

制限事項

1. フローサイトメトリーは、血球計数器が完全に配列されていない場合、蛍光リークが正しく相殺されていない場合、および領域が慎重に配置されていない場合、誤った結果を示す可能性があります。
2. この試薬は「洗浄なし」溶解手法用に最適化されていないため、洗浄ステップでRBC溶解法を使用することをお勧めします。
3. 取扱説明書および対応する検査室の実施基準に従って作業する限り、正確かつ再現性のある結果が得られます。
4. この試薬の結合抗体は、特異的シグナル/非特異的シグナル比が最適となるようにキャリブレーションされています。そのため、各テストでは、試薬量/検体量比を順守することが重要です。
5. 白血球増加症の場合、白血球数がおよそ5 x 10^9個/Lとなるよう、血液をPBSで希釈してください（14）。
6. 重度の腎不全やヘモグロビン異常など、特定の疾患状態では、赤血球の溶解が遅くなったり、不完全になったり、あるいは溶解できないことさえあります。この場合、染色する前に密度勾配（Ficollなど）を使用して単核細胞を分離することを推奨します（15）。
7. 抗ヒトモノクローナル抗体療法で治療を受けた患者では、治療用抗体による部分的または完全な遮断により、特定の標的抗原の検出が減少または消失する場合があります。
8. Anti-TCR PAN α/β-PEの結果は、患者の総合的な臨床像、例えば諸症状、病歴、他のテストデータ、その他の該当情報などを踏まえて解釈する必要があります。

附録にある例および参考文献を参照してください。

商標

ここに記載されているBeckman Coulter、ロゴマーク、ならびにベックマン・コールターの製品およびサービスマークは、ベックマン・コールターの米国およびその他の国における商標と登録商標です。

その他

欧州連合、および規制制度が欧州連合と同一の国の患者/ユーザー/第三者（体外診断医療機器規制2017/746/EU）については、本機器の使用中または使用の結果、重大な事故が発生した場合、製造元および/または認定代理店ならびに所管の行政機関に報告してください。

「安全性および性能の概要」はEUDAMEDデータベース：ec.europa.eu/tools/eudamedより入手できます。

改訂履歴

改訂番号 AD：	発売日：2019年10月

改訂	**発行日**
AW	2022年2月
ベックマン・コールターのグローバルラベリングポリシーおよびIVD-R（EU）2017/746の要件に準拠するための更新：	
セクションの追加	BSI 2797番号、対象ユーザー、臨床関連性、濃度、精度、正確度、ブランク上限および検出限界、その他、改訂履歴。
情報を追加	「制限事項」のセクションを参照してください
言い回しまたはタイプミスの更新	「手順」、「性能」、「制限」、「警告および注意」、「保管および安定性」のセクションを参照してください。
セクションの削除	臨床応用の例、試薬、検査室内再現性、直線性
セクションの更新	用途、GHSハザード分類、変質や劣化の兆候、手順、附録。

改訂	**発行日**
AX	4月 2023
セクションの更新	カザフ語を追加
セクションの更新	コントロールの調製

改訂版	AY
改訂日	5月 2024
更新された翻訳	**臨床的妥当性：**
セクションの更新	保管および安定性

改訂版	AZ
改訂日	7月 2024
セクションの更新	保管および安定性

記号凡例

記号一覧は、beckman.com/techdocsで入手できます（文書番号B60062）

	规格
特异性	TCR α/β
克隆	IP26A
杂交瘤	NS1 x balb/c
免疫原	T cell clone
免疫球蛋白	IgG1
种类	小鼠
纯化	亲和层析色谱法
荧光染料	R Phycoerythrin
摩尔比率	PE/Ig： 0.5 - 1.5
λ 激励	488 nm
辐射峰值	575 nm
缓冲液	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 和 0.1% NaN_3

IOTest

结合抗体
Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 次检测；1 mL, 20 µL/测试

供体外诊断使用。

预期用途

此种荧光染料结合抗体可通过流式细胞术对人体生物样本中存在的 TCR α/β 抗原表达细胞群进行定性和非自动化鉴别（参阅下文“样本”部分）。

原理

该测试以特异性单克隆抗体能够与白细胞表达的抗原决定簇相结合这一特性为基础。

将样本与 IOTest 试剂一起培育，以便进行白细胞的特异性染色。然后通过裂解去除红细胞，再使用流式细胞术分析不受裂解过程影响的白细胞。

流式细胞仪可测定细胞的光漫射和荧光。这样可以限定直方图上定义的电子窗口内的感兴趣群体，直方图可以关联光的正交漫射（侧向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。细胞仪上可用的结合两个不同参数的其他直方图可以用于支持设门阶段，具体取决于用户所选的应用。

为了区分阳性染色事件和未染色事件，我们对划定细胞的荧光进行了分析。结果表示为阳性事件相对于设门获得的所有事件的百分比。

预期用户

本产品的预期用户为实验室专业人员。

临床意义

Anti-TCR PAN α/β-PE 是一种 Anti-TCR PAN α/β 抗体，用于通过流式细胞术鉴定和表征表达 TCR α/β 抗原的细胞。单独使用此产品不能产生任何诊断结论，这也并非其预期用途。

与其他标志物结合使用时，本产品可用于以下一种或多种用途：

- 对疑似有造血系统肿瘤的血液学异常患者进行辅助鉴别诊断，并对已知患有造血系统肿瘤的患者进行监测。

参阅以下参考文献：

1; 2; 3; 4

样本

必须使用含有 EDTA 盐作为抗凝血剂的无菌试管采集静脉血。

样本应保存在室温 (18-25°C) 条件下，并注意避免摇动。在吸取测试样本之前，应通过轻轻搅动使样本均质化。

样本必须在静脉采血后的 24 小时内分析。

浓度

请参阅 www.beckman.com 上的特定批次分析证书。

警告和注意事项

1. 请勿使用已过失效日期的试剂。
2. 切勿冷冻。
3. 使用前使其达到室温 (18–25°C)。
4. 尽量减少曝光。
5. 避免试剂受到微生物污染，否则可能出现错误结果。
6. 应小心处理含有叠氮化钠 (NaN_3) 的抗体溶液。请勿内服，并避免接触皮肤、粘膜和眼睛。

   此外，在中度酸性条件下，叠氮化钠可形成具有潜在危害的叠氮酸。若需要对其进行处置，建议您在将试剂倒入排污系统前用大量清水将其稀释，以避免叠氮化钠在金属管中累积并预防爆炸。
7. 所有血样都必须被视为具有潜在传染性，并且必须小心处理（具体地讲：穿戴防护手套、防护服和护目镜）。
8. 不得通过嘴巴移液，并避免样本以任何方式接触皮肤、黏膜和眼睛。
9. 用于处理的血液试管和一次性材料应丢弃于专门用于焚化的容器中。

10. 应根据当地要求处置试剂和废物。

GHS 危险等级分类

未被归为危险品

SDS 化学品安全技术说明书发布在 beckmancoulter.com/techdocs 上

存储和稳定性

在开瓶前后，必须将此试剂保存在 2-8°C 环境下，并注意避免光照。

根据稳定性研究的开封前保质期：1095 天。

已开瓶试剂的稳定性：试剂可稳定保存 180 天。

变质的迹象

试剂物理外观的任何变化都可能表明试剂变质，此时不应使用试剂。

有关其他信息，或者如果收到受损产品，请致电贝克曼库尔特公司客服：800-742-2345（美国或加拿大），或联系您当地的贝克曼库尔特代表。

目录

叠氮化钠防腐剂可在金属下水管道中形成易爆化合物。 请参阅 NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76)（美国国家职业安全与卫生研究所公报：易爆的叠氮化物危险品 [76/8/16]）。
为避免可能产生的叠氮化合物堆积，请在丢弃未经稀释的试剂后用水冲洗排污管。对叠氮化钠的丢弃必须符合当地的相关规定。

试剂盒中未提供的必需材料：

- 采样所需的采样管和材料。
- 可吸取 20100 和 500 µL 试剂的带有一次性吸头的自动移液器。
- 塑料溶血管。
- 红细胞溶解试剂在溶解后清洗。例如：VersaLyse（REF A09777）。
- 白细胞固定剂。例如：IOTest 3 固定剂（REF A07800）。
- 同型质控品 PE：IOTest 试剂（REF A07796）。
- 缓冲液（PBS：0.01 M 磷酸钠；0.145 M 氯化钠；pH 7.2）。
- 离心处理。
- 自动搅动器（旋涡型）。
- 流式细胞仪。

VERSALYSE 试剂的使用程序

对于分析的每种样本，除使用分析测试试管外，还可增加一个质控品试管，以在其中混合细胞与同型质控品（REF A07796）。

1. 将 20 µL 特异性 IOTest 结合抗体添加到每个分析测试试管中，并视需要将 20 µL 同型质控品添加到每个质控品试管中。
2. 添加 100 µL 测试样本到每个试管中。轻轻摇动试管。
3. 在室温 (18–25°C) 下避光孵育 15-20 分钟。
4. 然后进行红细胞裂解。请参阅 VersaLyse（REF A09777）说明书，最好按照名为“同时固定”的程序实施：加入 1 mL 临时配制的“固定-裂解”混合液。立即摇动 1 秒，并在室温条件下培育 10 分钟，注意避光。
5. 在室温下以 150 x g 离心处理 5 分钟。
6. 通过吸样去除上层清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新悬浮细胞微粒。
8. 重复第 5 步。
9. 通过吸样去除上层清液并使用以下溶液重新悬浮细胞微粒：

- 0.5 mL 或 1 mL PBS 与 0.1% 甲醛，若备品的保存时间低于 24 小时。（可通过在 1 mL PBS 中稀释 10 倍浓度的 12.5 µL IOTest 3 固定剂 [REF A07800] 获取含 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 0.5 mL 或 1 mL PBS，无甲醛，若制剂将在 2 小时内分析。

注释：任何情况下，制备试剂均需在 2-8°C 下避光保存。

预计值

我们在实验室中采用上述试剂处理了 25 名表观健康供体的全血样本。使用该试剂进行阳性目标颗粒计数得到的结果如下表所示：

阳性目标	数量	平均值 (%)	标准差	CV (%)
淋巴细胞	25	67.94	11.93	17.56

这些值仅供参考。各实验室应通过当地正常供体群体确定自己的预期值。

性能

使用上文描述的程序，通过分析之前采集在无菌试管（含有 EDTA 盐作为抗凝血剂）中未达 24 小时的血液样本获得了性能数据。在免疫染色后的 2 小时内进行分析。

特异性

人类 T 细胞可在宿主 HLA 分子的背景下通过抗原 T 细胞受体 (TcR) 识别外来抗原 (5, 6, 7)。TcR 是由两个单元组成的分子复合物：一个识别单元，包含 α-β 或 γ-δ 异源二聚体，其以相互排斥的方式存在于细胞表面；以及一个转导单元 CD3 复合物，其由 α-β 或 γ-δ 异源二聚体共用，可在识别单元被抗原占据时触发 T 细胞。

识别单元可识别任何可能的外来抗原，这种识别功能所需的多样性是通过 TcR 基因的体细胞重组产生的。TcR 基因有四个基因座（α、β、γ 和 δ）。每个基因座包含若干 V（可变）片段（约 90 个氨基酸的编码）、非常短的 D（多样性）片段（仅 α 和 δ 基因座）、短 J（连接）片段（约 15 个氨基酸）以及一两个 C（常量）片段 (8, 9, 10, 11)。IP26A 抗体可识别人体的单态决定簇 α/β TcR 复合体链 (12, 13)。

精度

阳性百分比值用全血测定。每份样本使用 2 个批次的 Anti-TCR PAN α/β-PE 单克隆抗体试剂，在 2 台仪器上运行 4 次，每天 2 次，持续 1 天。使用 Navios 流式细胞仪进行测量（阳性 %）。分析基于 CLSI 方法 EP5-A2：Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（定量测量方法精度性能评估）。

我们的接受限取决于针对每个群体所测得的阳性颗粒数：

- 如果阳性颗粒数 < 1,500，则 CV < 15%
- 如果阳性颗粒数 > 1,500，则 CV < 10%

淋巴细胞							
阳性颗粒数（平均值） = 6178							
	操作人员间	细胞仪间	批次内	批次间	运行间	运行内	总数
CV (%)	0.22	0.36	0.72	0.34	0.21	0.65	0.87
结果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

准确性

评估 Anti-TCR PAN α/β-PE 的准确性的方法为：将其与参考试剂分别应用于一组全血样本，然后用 Navios 流式细胞仪进行检测，之后比较结果。该测试与参考试剂之间的偏差根据测试结果的差异而确定。如果偏差在允许的错误范围内，或者 p 值没有显著差异 (> 0.05)，则认为这两种试剂的测试结果是等效的。

所得结果如下表所示：

献血人次 = 25				
阳性目标	平均值 Δ	Δ % 细胞标准	p 值	结果
淋巴细胞	-1.26	<5	0.208	PASS

空白检测限和检测限

研究人员根据 CLSI EP17-A2 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2 临床实验室测量程序检测能力的评估）进行了一项研究。检测限 (LOD) 指可被一致检出的最低分析物浓度。所得结果如下表所示：

Positive Target	空白检测限（个细胞/µL）	检测限（个细胞/µL）
淋巴细胞	4	6

限制

1. 若流式细胞术未完全校准、荧光泄漏未得到正确补偿或未在该区域谨慎定位，则流式细胞术可能会产生错误结果。
2. 最好使用包含洗涤步骤的 RBC 裂解技术，因为该试剂未针对“无洗涤”裂解技术进行优化。
3. 只要所使用的程序符合技术插页说明书并遵守实验室管理规范，就可以获得准确和可重现的结果。
4. 校准该试剂的结合抗体，以提供最佳的特异性信号/非特异性信号比率。因此，在每次测试中都务必遵从此试剂体积/样本体积比率。
5. 如果白细胞过多，请在 PBS 中稀释血液，使白细胞浓度降低到约 5 x 10^9 个/L (14)。
6. 在严重肾衰竭、血红蛋白病等特定疾病状态中，红细胞裂解会变得缓慢、不完全，甚至无法实现。在这种情况下，建议在染色前通过密度梯度（例如聚蔗糖）隔离单核细胞 (15)。
7. 接受抗人单克隆抗体治疗的患者可能会因治疗抗体的部分或完全阻断而难以或无法检测特定的靶抗原。
8. 在判读 Anti-TCR PAN α/β-PE 结果时，需参照患者的整体临床表现，包括：症状、临床病史、其他检查数据和其他适用的信息。

请参阅附录中的示例和参考文献。

商标

Beckman Coulter、标志以及文中提及的贝克曼库尔特产品和服务标记均是美国贝克曼库尔特有限公司在美国和其他国家/地区的商标或注册商标。

其他信息

对于欧盟及具有相同监管制度的国家/地区的患者/用户/第三方（Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices [有关体外诊断医疗装置的法规 2017/746/EU]）：如果在使用本装置期间或由于使用本装置而发生严重事件，请向制造商和/或其授权代表以及当地国家主管部门报告。

Summary of Safety and Performance（安全和性能摘要）提供在 EUDAMED 数据库中：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修订历史

修订版本 AD：	发布日期：2019 年 10 月

修订	**发布日期**
AW	2022 年 2 月

更新文档以符合贝克曼库尔特公司全球标签政策和 IVD-R (EU)2017/746 的要求：	
新增章节	BSI 2797 编号、预期用户、临床意义、浓度、精度、准确性、空白检测限和检测限、其他信息、修订记录。
添加了信息	参阅“限制”章节
更新了措辞或版面	参阅程序、性能、限制、警告和注意事项、储存和稳定性章节。
删除了几个章节	临床应用示例、试剂、实验室内重复性、线性度
更新后章节	预期用途、GHS 危险等级分类、变质的迹象、程序、附录。

修订	**发布日期**
AX	4 月 2023
更新后章节	添加哈萨克语
更新后章节	储存及稳定性

修订版本	AY
修订日期	5 月 2024
更新的翻译	**临床意义：**
更新后章节	修订历史

修订版本	AZ
修订日期	7 月 2024
更新后章节	修订历史

符号注解

符号词汇表发布于 beckman.com/techdocs（文档编号 B60062）

	Specifikacijos
Specifiškumas	TCR α/β
Klonas	IP26A
Hibridoma	NS1 x balb/c
Imunogenas	T cell clone
Imunoglobulinas	IgG1
Rūšis	Pelė
Išgryninimas	Gimininguмo chromatografija
Fluorochromas	R Phycoerythrin
Molinis santykis	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ žadinimas	488 nm
Spinduliuotės smailė	575 nm
Buferinis tirpalas	7,2 pH fosfato buferinis tirpalas plius 2 mg/ml GSA ir 0,1 % NaN_3

„IOTest“
Konjuguotas antikūnas Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 tyrimų; 1 ml, 20 µl vienam tyrimui

Diagnostikai *in vitro*.

NAUDOJIMO PASKIRTIS

Naudojant šį su fluorochromu konjuguotą antikūną, srauto citometrijos būdu galima kokybiškai ir neautomatizuotu būdu identifikuoti ląstelių populiacijas, išreiškiančias TCR α/β antigeną, esantį žmogaus biologiniuose mėginiuose (žr. paskesnį skyrių „Mėginiai“).

PRINCIPAS

Šis tyrimas pagrįstas specifinių monokloninių antikūnų gebėjimu jungtis prie antigenų determinantų, kuriuos ekspresuoja leukocitai.

Specifinis leukocitų dažymo procesas atliekamas mėginį inkubuojant reagentu „IOTest“. Tada lizuojant pašalinami eritrocitai ir srauto citometrijos būdu analizuojami leukocitai, kurie per šį etapą nepaveikiami.

Srauto citometru matuojama ląstelių šviesos sklaida ir fluorescencija. Šiuo būdu galima tiriamąją populiaciją apriboti histogramoje apibrėžtu elektroniniu langu, kuris koreliuoja su šviesos sklaida stačiu kampu (šonine sklaida arba ŠS) ir šviesos sklaida smailu kampu (priekine sklaida arba FS). Kitos citometre įdiegtos histogramos, kuriose derinami du skirtingi parametrai, gali būti naudojamos kaip papildoma priemonė nustatant atrankos intervalus, žiūrint, kokį naudojimo būdą pasirinko naudotojas.

Analizuojant apribotų ląstelių fluorescenciją, teigiamai nudažyti įvykiai atskiriami nuo neigiamai nudažytų. Rezultatai išreiškiami kaip teigiamų įvykių procentinė dalis visų įvykių, gautų nustačius atrankos intervalą, atžvilgiu.

NUMATOMAS NAUDOTOJAS

Šis gaminys skirtas naudoti specialistams laboratorijose.

KLINIKINĖ SVARBA

Anti-TCR PAN α/β-PE yra Anti-TCR PAN α/β antikūnas, naudojamas TCR α/β antigeną ekspresuojančioms ląstelėms identifikuoti ir charakterizuoti srauto citometrijos būdu. Naudojant vien šį gaminį negalima padaryti jokios diagnostinės išvados ir jis nėra tam skirtas.

Kartu su kitais žymenimis naudojamas šis gaminys gali būti naudojamas vienu ar keliais iš toliau nurodytų tikslų.

- Hematologiškai nenormalių pacientų, kuriems įtariama kraujodaros sistemos neoplazma, diferencinei diagnozei palengvinti ir pacientams, kuriems jau nustatyta kraujodaros sistemos neoplazma, stebėti.

Žr. šias nuorodas:

1; 2; 3; 4

MĖGINIAI

Veninio kraujo mėginius reikia imti į sterilius mėgintuvėlius su EDTA druska kaip antikoaguliantu.

Mėginius reikia laikyti kambario temperatūroje (18–25 °C) ir nekratyti. Prieš paimant tiriamąjį mėginį reikia atsargiai sujudinti mėginus, kad jie taptų vienalyčiai.

Mėginiai turi būti išanalizuoti per 24 valandas po venų punkcijos.

KONCENTRACIJA

Žr. konkrečios partijos analizės sertifikatą, pateikiamą interneto svetainėje www.beckman.com.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. Reagento nenaudoti pasibaigus galiojimo laikui.
2. Neužšaldyti.
3. Prieš naudojant reikia leisti sušilti iki kambario temperatūros (18–25 °C).
4. Laikykite kuo mažiau apšviestoje vietoje.
5. Saugokite, kad reagentai nebūtų užteršti mikrobais, nes antraip gali būti gaunami klaidingi rezultatai.
6. Su antikūnų tirpalais, kurių sudėtyje yra natrio azido (NaN_3), reikia elgtis atsargiai. Nevartokite į vidų ir saugokitės, kad nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.

Be to, rūgščioje terpėje natrio azidas gali išskirti potencialiai pavojingą hidrazo rūgštį. Jei jį reikia pašalinti, prieš pilant į nutekėjimo sistemą, reagentą rekomenduojama praskiesti dideliu vandens kiekiu, kad būtų išvengta natrio azido kaupimosi metaliniuose vamzdžiuose ir išvengta sprogimo pavojaus.

7. Visi kraujo mėginiai turi būti laikomi potencialiai užkrečiamais ir su jais turi būti elgiamasi atsargiai (itin svarbu dėvėti apsaugines pirštines, apsiaustus ir akinius).
8. Jokiu būdu nesiurbkite burna ir saugokitės, kad mėginių nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.
9. Panaudoti kraujo mėgintuvėliai ir vienkartinės medžiagos turėtų būti išmetami į sudeginamas ad hoc talpyklas.
10. Reagentai ir atliekos turi būti šalinami pagal vietinius reikalavimus.

GHS PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Neklasifikuojama kaip pavojinga

SDS Saugos duomenų lapą galima gauti interneto svetainėje beckmancoulter.com/techdocs

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Prieš atidarant ir atidarius buteliuką reagentas turi būti laikomas 2–8 °C temperatūroje ir saugomas nuo šviesos.

Uždaryto buteliuko tinkamumo naudoti laikas pagal stabilumo tyrimą: 1095 d.

Atidaryto buteliuko stabilumas: reagentas lieka stabilus 180 d.

KOKYBĖS PABLOGĖJIMO POŽYMIAI

Bet koks reagentų fizinės išvaizdos pokytis gali reikšti pablogėjusias gaminio savybes, todėl tokio reagento naudoti negalima.

Prireikus papildomos informacijos arba gavę sugadintą gaminį skambinkite į „Beckman Coulter“ klientų aptarnavimo skyrių telefonu 800-742-2345 (JAV arba Kanadoje) arba susisiekite su vietiniu „Beckman Coulter“ atstovu.

TURINYS

Natrio azido konservantas metalo vamzdynuose gali sudaryti sprogiuosius junginius. Žr. „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (Nacionalinio darbų saugos ir sveikatos instituto biuletenį: sprogstamojo azido pavojus) (76-8-16).
Norėdami išvengti galimo azido junginių susikaupimo, išpylę į kanalizacijos sistemą neatskiesto reagento, vandeniu praplaukite nutekamuosius vamzdžius. Natrio azidas turi būti šalinamas pagal taikomų vietos reglamentų reikalavimus.

REIKALINGOS, BET SU RINKINIU NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS

- Mėginiams imti reikalingi mėginių ėmimo mėgintuvėliai ir medžiagos.
- Automatinės pipetės su vienkartiniais antgaliais, skirtos 20, 100 ir 500 µl tūrio mėginiams.
- Plastikiniai hemolizės mėgintuvėliai.
- Raudonųjų kraujo kūnelių lizavimo reagentas su plovimo etapu baigus lizuoti. Pavyzdys: „VersaLyse“ (kat. nr. A09777).
- Leukocitų fiksavimo reagentas. Pavyzdys: fiksavimo tirpalas „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800).
- Izotipų kontrolinė medžiaga PE: „IOTest“ reagentas (kat. Nr. A07796).
- Buferinis tirpalas (fosfato buferinis tirpalas: 0,01 M natrio fosfato; 0,145 M natrio chlorido; pH 7,2).
- Nucentrifuguokite.
- Automatinis maišytuvas (sūkurinio tipo).
- Srauto citometras.

PROCEDŪRA NAUDOJANT REAGENTĄ „VERSALYSE“

Analizuojant kiekvieną mėginį, be tiriamojo mėgintuvėlio galima naudoti vieną kontrolinį mėgintuvėlį, kuriame ląstelės sumaišytos su izotipine kontroline medžiaga (kat. Nr. A07796).

1. Į kiekvieną tiriamąjį mėgintuvėlį įpilkite po 20 µl specifinio su „IOTest“ konjuguoto antikūno ir prireikus į kiekvieną kontrolinį mėgintuvėlį įpilkite po 20 µl kiekvieno izotipo kontrolinės medžiagos.
2. Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite po 100 µl tiriamojo mėginio. Mėgintuvėlius atsargiai išmaišykite sūkuriniu būdu.
3. 15–20 minučių inkubuokite kambario temperatūroje (18–25 °C), saugodami nuo šviesos.
4. Tai padarę sulizuokite eritrocitus. Žr. „VersaLyse“ (kat. Nr. A09777) informacinį lapelį; rekomenduojama laikytis procedūros, vadinamos „su vienalaikiu fiksavimu“, kurios metu įpilama 1 ml prieš pat naudojant paruošto fiksavimo ir lizavimo mišinio. Tuojau pat vieną sekundę maišykite sūkuriniu būdu ir 10 minučių inkubuokite kambario temperatūroje, saugodami nuo šviesos.
5. 5 minutes centrifuguokite veikiant 150 x g jėgai kambario temperatūroje.
6. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą.
7. Iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami 3 ml fosfato buferinį tirpalą.
8. Pakartokite 5 veiksmą.
9. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą ir iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami toliau nurodytas medžiagas.

- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo ir 0,1 % formaldehido, jeigu preparatai bus laikomi mažiau nei 24 val. (0,1 % formaldehido fosfato buferinio tirpalo galima gauti 12,5 µl 10X koncentracijos fiksavimo tirpalo „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800) atskiedus 1 ml fosfato buferinio tirpalo.)
- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo be formaldehido, jeigu preparatai bus analizuojami per 2 val.

Pastaba. Visais atvejais preparatus laikykite 2–8 °C temperatūroje ir saugodami nuo šviesos.

TIKĖTINOS VERTĖS

Mūsų laboratorijose 25 tariamai sveikų donorų viso kraujo mėginiai buvo apdoroti pirmiau aprašytu reagentu. Toliau pateiktoje lentelėje nurodyti dominančių teigiamų įvykių skaičiaus rezultatai, gauti naudojant šį reagentą.

Teigiamas taikinys	Skaičius	Vidurkis (%)	SN	VK (%)
Limfocitai	25	67,94	11,93	17,56

Šios vertės tėra reprezentacinės. Kiekviena laboratorija turi iš vietinės normalių donorų populiacijos nustatyti savo numatomas vertes.

VEIKIMAS

Veikimo duomenys gauti, pirmiau aprašytą procedūrą atliekant su mažiau nei 24 val. senumo mėginiais, kurie buvo anksčiau paimti į sterilius mėgintuvėlius su antikoaguliantu EDTA druska. Analizė atliekama ne vėliau kaip 2 val. po imunodažymo.

SPECIFIŠKUMAS

Žmogaus T ląstelės atpažįsta svetimus antigenus pagrindinių HLA molekulių kontekste pagal antigeno T ląstelių receptorių (TcR) (5, 6, 7). TcR yra molekulių kompleksai, sudaryti iš dviejų vienetų: atpažinimo vieneto, sudaryto iš α-β (alfa-beta) arba γ-δ (gama-delta) heterodimero, kurie yra ląstelių paviršiuje (vienoje ląstelėje negali būti abiejų skirtingų heterodimerų), ir perduodančiojo vieneto (CD3 komplekso), susijungusio su α-β (alfa-beta) arba γ-δ (gama-delta) heterodimerais, kuris suaktyvina T ląstelę, kai atpažinimo vienete yra antigenas.

Atpažinimo vienetai atpažįsta svetimą antigeną; šios atpažinimo funkcijos veiklai reikalinga įvairovė sukuriama TcR genų somatinės rekombinacijos būdu. Yra keturi TcR geno lokusai (α, β, γ ir δ). Kiekvienas jų sudarytas iš keleto V (kintančiųjų) segmentų, koduojančių maždaug 90 aminorūgščių, labai trumpo D (įvairovės) segmento (tik α ir δ lokusai), trumpų J (jungiamųjų) segmentų (maždaug 15 aminorūgščių) ir vieno arba dviejų C (pastoviųjų) segmentų (8, 9, 10, 11). IP26A antikūnas aptinka monomorfinį TcR komplekso žmogaus α / β grandinės determinantą (12, 13).

GLAUDUMAS

Procentinės teigiamosios vertės nustatytos naudojant visą kraują. Kiekvienas mėginys buvo analizuojamas 4 kartus: 1 dieną, po du kartus, naudojant 2 prietaisus ir 2 Anti-TCR PAN α/β-PE monokloninių antikūnų reagentų partijas. Matavimai (% teigiamų) buvo atlikti srauto citometru „Navios“. Analizė atlikta pagal CLSI metodą EP5-A2: „Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods“ (Kiekybinių matavimo metodų glaudumo veikimo vertinimas).

Mūsų priėmimo kriterijai priklauso nuo kiekvienoje populiacijoje nustatyto teigiamų įvykių skaičiaus:

- jeigu teigiamų įvykių < 1 500, VK < 15 %
- Jeigu teigiamų įvykių > 1 500, VK < 10 %

Limfocitai							
Teigiamų įvykių skaičius (vidurkis) = 6178							
	Skirtingų operatorių	Skirtingų citometrų	Tos pačios partijos	Skirtingų partijų	Skirtingų analizių	Tos pačios analizės	Iš viso
VK (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
REZULTATAI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TIKSLUMAS

Anti-TCR PAN α/β-PE tikslumas vertintas palyginant rezultatus su etaloniniu reagentu kaip patvirtinamąja priemone, srauto citometru „Navios“ analizuojant viso kraujo mėginių rinkinį. Bandomojo ir etaloninio reagentų paklaida nustatyta pagal tyrimo rezultatų skirtumą. Jeigu paklaida neviršija leidžiamojo paklaidų diapazono arba p reikšmė nerodo reikšmingo skirtumo (> 0,05), abiejų reagentų tyrimo rezultatai laikomi lygiaverčiais.

Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Donorų skaičius = 25				
Teigiamas taikinys	Vidurkis Δ	Δ % ląstelių kriterijai	p reikšmė	REZULTATAI
Limfocitai	-1,26	<5	0,208	PASS

RUOŠINIO RIBA IR APTIKIMO RIBA

Pagal CLSI EP17-A2 dokumentą „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Klinikinių laboratorinių matavimų procedūrų aptikimo pajėgumų vertinimas) atliktas mokslinis tyrimas. Aptikimo riba (LOD) yra mažiausioji analitės koncentracija, kurią galima nuolat aptikti. Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Positive Target	Ruošinio riba (ląst./µl)	Aptikimo riba (ląst./µl)
Limfocitai	4	6

RIBOJIMAI

1. Atliekant srauto citometriją klaidingi rezultatai gali būti gauti tuo atveju, jei citometras nebuvo tiksliai sureguliuotas, fluorescencijos nuotėkiai nebuvo tinkamai kompensuoti ar regionai nebuvo kruopščiai išdėstyti.
2. Pageidautina taikant RBC lizavimo metodą atlikti plovimo etapą, nes šis reagentas nėra optimizuotas lizavimo „be plovimo“ metodikoms.
3. Tikslūs ir atkuriami rezultatai bus gaunami tol, kol naudojamos procedūros atitiks techniniame lapelyje pateiktą informaciją ir bus atliekamos laikantis geros laboratorijos praktikos.
4. Šio reagento konjuguotas antikūnas sukalibruotas taip, kad būtų gaunamas geriausias specifinio ir nespecifinio signalų santykis. Dėl šios priežasties atliekant kiekvieną tyrimą svarbu tiksliai laikytis nurodyto reagento ir mėginio tūrių santykio.
5. Hiperleukocitozės atveju kraują atskieskite fosfato buferiniu tirpalu, kad gautumėte maždaug 5 x 10^9 leukocitų/l koncentraciją (14).
6. Sergant kai kuriomis ligomis, pavyzdžiui, sunkiu inkstų nepakankamumu arba hemoglobinopatijomis, eritrocitai gali būti lėtai arba nevisiškai sulizuojami arba jų visai neįmanoma lizuoti. Tokiu atveju rekomenduojama prieš dažant atskirti vienbranduoles ląsteles tankio gradiento būdu (pavyzdžiui, Ficollo) (15).

7. Jeigu pacientams atliekama žmogaus monokloninių antikūnų terapija, specifiniai tiksliniai antigenai gali būti aptinkami prasčiau arba visai neaptinkami dėl dalinio arba visiško terapinio antikūno blokavimo.
8. Anti-TCR PAN α/β-PE rezultatai turi būti interpretuojami remiantis bendra paciento klinikine būkle, atsižvelgiant į: simptomus, klinikinę anamnezę, papildomų tyrimų duomenis ir kitą atitinkamą informaciją.

Pavyzdžiai ir nuorodos pateikti priede.

PREKIŲ ŽENKLAI

„Beckman Coulter“, stilizuotas logotipas ir kiti šiame dokumente nurodyti „Beckman Coulter“ gaminių ir prekių ženklai yra „Beckman Coulter, Inc.“ prekių ženklai arba registruotieji prekių ženklai Jungtinėse Amerikos Valstijose ir kitose šalyse.

PAPILDOMA INFORMACIJA

Pacientams / naudotojams / trečiosioms šalims Europos Sąjungoje ir šalyse, kuriose galioja identiški reguliaciniai reikalavimai (Reglamentas (ES) 2017/746 dėl in vitro diagnostikos medicinos priemonių): jeigu naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko sunkus incidentas, apie jį praneškite gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui ir savo šalies nacionalinei institucijai.

„Summary of Safety and Performance“ (Saugos ir veikimo suvestinė) pateikiama EUDAMED interneto svetainėje ec.europa.eu/tools/eudamed.

PERŽIŪRŲ ISTORIJA

PERŽIŪRA AD:	Leidimo data: 2019 m. spalis

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AW	2022 m. vasaris
Atnaujinta pagal „Beckman Coulter“ visuotinių ženklinimo taisyklių ir IVD-R (ES)2017/746 reikalavimus.	
Pridėti skyriai	BSI 2797 numeris, „Numatomas naudotojas“, „Klinikinė svarba“, „Koncentracija“, „Glaudumas“, „Tikslumas“, „Ruošinio riba ir aptikimo riba“, „Papildoma informacija“, „Peržiūrų istorija“.
Pridėta informacija	Žr. skyrių „Ribojimai“
Frazavimo arba tipografiniai atnaujinimai	Žr. skyrius „Procedūra“, „Veikimas“, „Ribojimai“, „Įspėjimai ir atsargumo priemonės“, „Laikymas ir stabilumas“.
Pašalinti skyriai	„Klinikinio naudojimo pavyzdys“, „Reagentai“, „Laboratorijos vidaus atkartojamumas“, „Tiesiškumas“
Atnaujinti skyriai	„Paskirtis“, „Visuotiniai suderintos sistemos (GHS) pavojingumo klasifikacija“, „Kokybės pablogėjimo požymiai“, „Procedūra“, priedas.

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AX	Balandis 2023
Atnaujinti skyriai	Pridėta kazachų kalba
Atnaujinti skyriai	Laikymas ir stabilumas

Peržiūrėta versija	AY
Peržiūros data	Gegužė 2024
Atnaujintas vertimas	**Klinikinė svarba:**
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Peržiūrėta versija	AZ
Peržiūros data	Liepa 2024
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Simbolių sutartiniai ženklai

Simbolių terminų žodynas pateikiamas interneto svetainėje beckman.com/techdocs (dokumento numeris B60062).

	Specifikációk
Specificitás	TCR α/β
Klón	IP26A
Hibridóma	NS1 x balb/c
Immunogén	T cell clone
Immunglobulin	IgG1
Faj	Egér
Tisztítás	Affinitás kromatográfia
Fluorokróm	R Phycoerythrin
Moláris arány	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ gerjesztés	488 nm
Kibocsátási csúcs	575 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plusz 2 mg/mL BSA és 0,1% NaN_3

IOTest

Konjugált antitest Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 teszt; 1 mL, 20 µL/teszt

***In vitro* diagnosztikai használatra.**

RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

Ez a fluorokrómmal konjugált antitest lehetővé teszi a humán biológiai mintákban a(z) TCR α/β antigént expresszáló sejtpopulációk áramlási citometriával végzett kvalitatív és nem automatizált azonosítását (lásd a „Minták" című alábbi fejezet).

MŰKÖDÉSI ELV

A vizsgálat azon alapul, hogy a specifikus monoklonális antitestek képesek-e kötődni a leukociták által expresszált antigén-determinánsokhoz.

A leukociták specifikus festése a mintának az IOTest reagenssel való inkubálásával történik. Az eritrocitákat ezután lízissel eltávolítják, és a leukocitákat, amelyekre nincs hatással ez a művelet, analizálni lehet áramlási citometriával.

Az áramlási citométer a sejtek fényszórását és fluoreszcenciáját méri. Ez lehetővé teszi a vizsgált populáció elhatárolását egy olyan elektronikus ablakon belül, amelyet a derékszögben szórt fény (oldalszóródás vagy SS) és a hegyes szögben szórt fény (előreszóródás vagy FS) intenzitását összehasonlító hisztogramon határoztak meg. Más, a citométer által mértek közül két paramétert kombináló hisztogramok használhatók kiegészítésként a kapuzási fázisban, a felhasználó által választott alkalmazástól függően.

Az elkülönített sejtek fluoreszcenciáját a rendszer elemzi a pozitívan festődött események megkülönböztetésére a nem festődöttektől. Az eredmények kifejezése a pozitív események százalékos arányaként történik a kapuzás által regisztrált összes eseményhez képest.

CÉLFELHASZNÁLÓ

Ez a termék laboratóriumi szakemberek általi használatra készült.

KLINIKAI JELENTŐSÉG

A Anti-TCR PAN α/β-PE egy Anti-TCR PAN α/β antitest, amely a(z) TCR α/β antigént expresszáló sejtek áramlási citometriás azonosítására és jellemzésére szolgál. Ez a termék önmagában nem képes arra, hogy bármilyen diagnosztikai következtetést generáljon, és ez nem is célja.

Más markerekkel kombinált használata esetén ez a termék az alábbiak közül egy vagy több célra használható:

- Segít azon rendellenes vérképű betegek differenciáldiagnózisában, akiknél hemopoetikus neoplasia gyanítható, valamint segít az ismerten hemopoetikus neoplasiaval rendelkező betegek monitorozásában.

Lásd a következő hivatkozásokat:

1; 2; 3; 4

MINTÁK

A vénás vért steril, alvadásgátlóként EDTA sóját tartalmazó csövekbe kell gyűjteni.

A mintákat szobahőmérsékleten (18–25 °C között) kell tárolni, és nem szabad felrázni. A tesztminta vétele előtt a mintákat homogenizálni kell óvatos rázással.

A minták elemzését a vénaszúráshoz képest 24 órán belül el kell végezni.

KONCENTRÁCIÓ

Lásd: www.beckman.com, tételspecifikus analitikai bizonylat.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

1. Ne használja a reagenst a lejárati időn túl.
2. Fagyasztani tilos.
3. Használat előtt hagyja felmelegedni szobahőmérsékletre (18–25 °C).
4. Minimalizálja a fényexpozíciót.
5. Kerülje el a reagensek mikrobiális kontaminációját, ebben az esetben hamis eredményeket kaphat.
6. A nátrium-azidot (NaN_3) tartalmazó antitestoldatokat körültekintően kell kezelni. A terméket nem szabad lenyelni, és nem érintkezhet bőrrel, nyálkahártyával vagy a szemmel.

Sőt, savas közegben a nátrium-azid potenciálisan robbanékony nitrogén-hidrogénsavat képez. Ha ártalmatlanítani kell, javasolt a reagenst nagy mennyiségű vízzel hígítani a szennyvízcsatornába öntés előtt, hogy ne halmozódhasson fel nátrium-azid a fémcsövekben, és ne keletkezzen robbanásveszély.

7. Minden vérmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és óvatosan kell kezelni (azaz védőkesztyűt, köpenyt és szemüveget viselve).
8. Soha ne pipettázzon szájjal, és a minták soha ne érintkezzenek szemmel, bőrrel vagy nyálkahártyával!
9. A vércsöveket és a kezeléshez használt, egyszer használatos anyagokat olyan ad hoc tartóedényben kell kidobni, amely égetésre szolgál.
10. A reagenseket és a hulladékot a helyi követelmények szerint kell ártalmatlanítani.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Nincs veszélyes anyagként besorolva

SDS A biztonsági adatlap megtalálható a következő weboldalon: beckmancoulter.com/techdocs

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A reagenst a fiola kibontása előtt és után is 2 és 8 °C között, fénytől védve kell tárolni.

A lezárt fiola eltarthatósági ideje a stabilitási vizsgálat alapján: 1095 nap.

A felbontott fiola stabilitása: a reagens 180 napig stabil.

A MINŐSÉGROMLÁS JELEI

A reagensek fizikai megjelenésének bármilyen megváltozása megromlásra utalhat, és a reagenst nem szabad felhasználni.

További információkért, illetve sérült termék kézhezvétele esetén hívja a Beckman Coulter ügyfélszolgálatát a 800-742-2345-es számon (az Amerikai Egyesült Államokban és Kanadában), vagy lépjen kapcsolatba a Beckman Coulter területileg illetékes képviselőjével.

A CSOMAG TARTALMA

A nátrium-azid tartósítószer robbanékony vegyületeket képezhet a fém lefolyócsövekben. Lásd az alábbi NIOSH-közleményt: Explosive Azide Hazard (Robbanékony azidokkal kapcsolatos veszélyek) (76. 8. 16.).
Az azidvegyületek esetleges felhalmozódásának elkerülése érdekében a hígítatlan reagens szennyvízlefolyóba történő kiöntése után a szennyvízvezetéket vízzel át kell öblíteni. A nátrium-azid ártalmatlanítását a vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell végezni.

SZÜKSÉGES, DE A KÉSZLETTEL NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK:

- Mintacsövek és a mintavételhez használt anyagok.
- Automata pipetták eldobható hegyekkel 20, 100 és 500 µL-hez.
- Műanyag hemolíziscsövek.
- Vörösvértesteket lizáló reagens, a lízis után mosási fázissal. Például: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leukocitafixáló reagens. Például: IOTest 3 fixálóoldat (Ref. A07800).
- Izotípus-kontroll PE: IOTest reagens (Ref. A07796).
- Puffer (PBS: 0,01 M nátrium-foszfát; 0,145 M nátrium-klorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automata keverő (vortex típusú).
- Áramlási citométer.

ELJÁRÁS VERSALYSE REAGENS ESETÉN

Mindegyik analizált minta esetében a vizsgált mintacsövön kívül a vizsgálatot ki lehet egészíteni egy kontrollmintacsővel is, amelyben a sejtek az izotípus-kontroll jelenlétében vannak összekeverve (Ref. A07796).

1. Adjon mindegyik mintacsőhöz 20 µL specifikus IOTest konjugált antitestet, és szükség esetén mindegyik kontrollmintacsőhöz 20 µL izotípuskontrollt.
2. Adjon 100 µL tesztmintát mindegyik mintacsőhöz. Óvatosan vortexelje a mintacsöveket.
3. Inkubálja 15–20 percig szobahőmérsékleten (18–25 °C), fénytől védett helyen.
4. Ezután végezze el a vörösvértestek lízisét. Kövesse a VersaLyse (Ref. A09777) füzet utasításait és lehetőség szerint a „konkomittáns fixációval” nevű eljárást alkalmazza, amelynek során 1 mL, akkor és ott elkészített „Fix-and-Lyse” keveréket kell hozzáadni a mintához. Azonnal vortexelje egy másodpercig, majd inkubálja 10 percig szobahőmérsékleten, fénytől védve.
5. Centrifugálja 5 percig szobahőmérsékleten, 150 x g-vel.
6. Felszívás segítségével távolítsa el a felülúszót.
7. Reszuszpendálja a sejtpelletet 3 mL PBS-ben.
8. Ismételje meg az 5. lépést.
9. Felszívással távolítsa el a felülúszót, és reszuszpendálja a sejtpelletet az alábbi reagenssel:

- 0,1% formaldehidet tartalmazó 0,5 mL vagy 1 mL PBS, ha a készítményt kevesebb mint 24 óráig fogják tárolni. (0,1% formaldehidet tartalmazó PBS készítéséhez hígítson 12,5 µL IOTest 3 fixálóoldatot (Ref. A07800) a 10X koncentrációra 1 mL PBS-ben.)
- 0,5 mL vagy 1 mL PBS formaldehid nélkül, ha a preparátum elemzése 2 órán belül fog történni.

Megjegyzés: A készítményeket fénytől védve, 2 és 8 °C között kell tárolni.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

A laboratóriumainkban látszólag egészséges 25 donorok teljesvér-mintáit kezeltük a fent ismertetett reagenssel. Az ezzel a reagenssel kapott vizsgált pozitív események számolási eredményeit az alábbi táblázat tartalmazza:

Pozitív cél	Szám	Átlag (%)	SD	CV (%)
Limfociták	25	67,94	11,93	17,56

Ezek az értékek csak tájékoztatásul szolgálnak. Az egyes laboratóriumoknak meg kell határozniuk a saját várt értékeiket a helyi egészséges donorok populációjából.

TELJESÍTMÉNY

A teljesítményadatokat a fent leírt eljárás segítségével lehet megkapni az alvadásgátlóként EDTA-sót tartalmazó steril csövekbe levett vérmintákból a vérvételt követő kevesebb mint 24 órán belül. Az analízist az immunfestést követő 2 órán belül kell elvégezni.

SPECIFICITÁS

A humán T-sejtek felismerik az idegen antigéneket a HLA-molekulákkal együtt, az illető antigénhez való T-sejt-receptor (TcR) segítségével (5, 6, 7). A TcR egy molekulakomplexum, amely két részből áll: egy felismerő egységből, amely a sejtfelszínen található, és kizárólagosan vagy az α-β, vagy a γ-δ heterodimerekből áll, valamint egy továbbító egységből, a CD3 komplexumból, amely egyformán jelen van az α-β és a γ-δ heterodimerek esetén is, és kiváltja a T-sejt válaszát, ha antigén kötődik a felismerő egységhez.

A felismerő egységek felismerik az összes lehetséges idegen antigént; a felismerési funkcióhoz szükséges diverzitást a TcR-gének szomatikus rekombinációja hozza létre. A TcR-génjei négy lókuszon helyezkednek el (α, β, γ és δ). Ezek mindegyike tartalmaz több V (variábilis) szakaszt, amelyek körülbelül 90 aminosavat kódolnak, nagyon rövid D (diverzitási) szakaszokat (csak az α és a δ lókuszok), rövid J (joining – csatlakozási) szakaszokat (15 aminosavnyi hosszúságú) és egy vagy két C (constant – állandó) szakaszt (8, 9, 10, 11). Az IP26A antitest felismeri a humán TcR-komplexum α/β láncának egyik változatlan részét (12, 13).

PRECIZITÁS

A százalékos pozitív értékeket teljes vér felhasználásával határozták meg. Minden egyes mintát 4-szer futtattak, naponta kétszer 1 napig, 2 berendezésen, a Anti-TCR PAN α/β-PE monoklonális antitest reagensek 2 gyártási tételének felhasználásával. A méréseket (pozitív %) Navios áramlási citométerrel végezték. Az analízist a CLSI által jóváhagyott EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (A kvantitatív mérési módszerek precizitási teljesítményének értékelése) módszer alapján végezték.

Az elfogadhatósági kritériumaink az egyes populációknál mért pozitív események számától függ:

- Ha a pozitív esemény < 1500, CV < 15%
- Ha a pozitív esemény > 1500, CV < 10%

Limfociták							
Pozitív események száma (átlag) = 6178							
	Felhasználók közötti	Citométerek közötti	Egy gyártási tételen belüli	Eltérő gyártási tételek közötti	Futtatások közötti	Egy futtatáson belüli	Összes
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
EREDMÉNYEK	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PONTOSSÁG

A Anti-TCR PAN α/β-PE pontosságát úgy mérték fel, hogy összevetették az eredményeket egy referenciareagenssel egy sor Navios áramlási citométeren futtatott teljesvér-minta esetében. A teszt- és referenciareagens közötti torzítást a teszteredmények közötti különbségek alapján határozták meg. Ha a torzítás a megengedhető hibatartományon belül maradt, vagy ha a p-érték nem jelzett szignifikáns különbséget (> 0,05), akkor a két reagenssel kapott teszteredményeket egyenértékűnek tekintették.

Az eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Donorok száma = 25				
Pozitív cél	Átlag Δ	Δ % sejt kritériumok	p-érték	EREDMÉNYEK
Limfociták	-1,26	<5	0,208	PASS

VAK HATÁRÉRTÉK ÉS KIMUTATHATÓSÁGI HATÁRÉRTÉK

Vizsgálatot végeztek a CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (A klinikai laboratóriumi mérési eljárások kimutatási képességének értékelése) útmutatónak megfelelően. Kimutathatósági határérték (LOD) – a vizsgált anyag következetesen kimutatható legalacsonyabb koncentrációja. A kapott eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Positive Target	Vak határérték (sejt/µL)	Kimutathatósági határérték (sejt/µL)
Limfociták	4	6

KORLÁTOZÁSOK

1. Az áramlási citometria hamis eredményeket adhat, ha a citométert nem igazítják tökéletesen, ha nem kompenzálják megfelelően a fluoreszcenciaszivárgást és ha a régiókat nem pozicionálják elég gondosan.
2. Érdemes egy mosási lépést is tartalmazó vörösvértest lizáló módszert alkalmazni, mivel ezt a reagenst nem optimalizálták „mosás nélküli” lizáló módszerekhez.
3. Pontos és megismételhető eredmények születnek, amennyiben az eljárásokat a műszaki tájékoztató szerint és a helyes laboratóriumi gyakorlattal összhangban végzik el.

4. A reagens konjugált antitestjét úgy kalibrálták, hogy a legjobb specifikus jel/nem specifikus jel arányt produkálja. Ezért fontos, hogy minden tesztnél betartsa a reagenstérfogat/mintatérfogat arányt.
5. Emelkedett leukocitaszám esetén hígítsa a vért annyi PBS hozzáadásával, hogy a fehérvérsejtek koncentrációja körülbelül 5 x 10^9 leukocita/L legyen (14).
6. Bizonyos betegségek, például súlyos veseelégtelenség vagy hemoglobinopátiák esetében előfordulhat, hogy a vörösvértestek lízise lassú, részleges, vagy akár lehetetlen. Ilyenkor javasolt a festés előtt a mononukleáris sejtek elkülönítése egy sűrűséggradiens alapján működő eljárással (ilyen például a Ficoll) (15).
7. A humán antigén elleni monoklonális antitest terápiában részesülő betegek esetében a specifikus célantigén kimutatásának mértéke csökkenhet vagy sikertelen lehet az alkalmazott terápiás antitest által okozott részleges vagy teljes gátlás miatt.
8. Az Anti-TCR PAN α/β-PE eredményeket a beteg teljes klinikai képének fényében kell értelmezni, figyelembe véve a tüneteket, a kórtörténetet, más tesztek eredményeit és egyéb releváns adatokat.

A példákért és az irodalomjegyzékért lásd a Függeléket.

VÉDJEGYEK

A Beckman Coulter, a stilizált logó, valamint az itt említett Beckman Coulter termék- és szolgáltatásjegyek a Beckman Coulter, Inc. védjegyei vagy bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és más országokban.

TOVÁBBI INFORMÁCIÓK

Az Európai Unióban, illetve az EU-val azonos szabályozási rendszerrel (lásd: az EU 2017/746 rendelete az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökről) rendelkező országokban élő beteg/felhasználó/harmadik fél esetében: ha a jelen eszköz használata során vagy használata eredményeként súlyos váratlan esemény történik, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy hivatalos területi képviselőjének, valamint az illetékes nemzeti hatóságnak.

A Summary of Safety and Performance (A biztonság és a teljesítmény összefoglalása) című dokumentum elérhető az EUDAMED adatbázisban: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ÁTDOLGOZÁSOK

AD ÁTDOLGOZÁS:	Kiadás dátuma: 2019. október

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AW	2022. február
A Beckman Coulter globális címkézési szabályzatának megfelelő, valamint az IVD-R (EU) 2017/746 követelmények szerinti frissítések:	
Hozzáadott szakaszok	BSI 2797 szám, Célfelhasználó, Klinikai jelentőség, Koncentráció, Precizitás, Pontosság, Vak határérték és kimutathatósági határérték, További információk, Átdolgozások.
Új információk	Lásd a Korlátozások című részeket
Megfogalmazási vagy tipográfiai frissítések	Lásd az Eljárás, Teljesítmény, Korlátozások, Figyelmeztetések és óvintézkedések, Tárolás és stabilitás című részeket.
Eltávolított szakaszok	Példa klinikai alkalmazásra, Reagensek, Laboratóriumon belüli reprodukálhatóság, Linearitás
Frissített szakaszok	Rendeltetésszerű használat, GHS szerinti veszélyességi besorolás, A minőségromlás jelei, Eljárás, Függelék.

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AX	Április 2023
Frissített szakaszok	Kazak nyelv hozzáadása
Frissített szakaszok	Tárolás és stabilitás

Átdolgozott verzió	AY
Átdolgozás dátuma	Május 2024
Frissített fordítások	**Klinikai jelentőség:**
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Átdolgozott verzió	AZ
Átdolgozás dátuma	július 2024
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Szimbólumok listája

A szimbólumok jegyzéke elérhető a következő weboldalon: beckman.com/techdocs (dokumentumszám: B60062)

	Specyfikacje
Swoistość	TCR α/β
Klon	IP26A
Hybrydoma	NS1 x balb/c
Immunogen	T cell clone
Immunoglobulina	IgG1
Gatunek	Mysz
Oczyszczanie	Chromatografia powinowactwa
Fluorochrom	R Phycoerythrin
Stosunek molowy	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Wzbudzenie λ	488 nm
Pik emisji	575 nm
Bufor	PBS o pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Przeciwciało skoniugowane Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 testów; 1 mL, 20 µL / test

Do użytku diagnostycznego *in vitro*.

PRZEZNACZENIE

To przeciwciało skoniugowane z fluorochromem umożliwia jakościową i niezautomatyzowaną identyfikację populacji komórek wykazujących ekspresję antygenu TCR α/β obecnego w ludzkich próbkach biologicznych metodą cytometrii przepływowej (zobacz część „Próbki" poniżej).

ZASADA DZIAŁANIA

Ten test jest oparty na zdolności swoistych przeciwciał monoklonalnych do wiązania się z determinantami antygenowymi ekspresjonowanymi przez lekukocyty.

Barwienie swoiste leukocytów jest wykonywane poprzez inkubację próbki z odczynnikiem IOTest. Krwinki czerwone są następnie usuwane poprzez lizę, a leukocyty, na które ta liza nie wpływa, są analizowane metodą cytometrii przepływowej.

Cytometr przepływowy mierzy rozpraszanie światła i fluorescencję komórek. Umożliwia to odgraniczenie populacji zainteresowania w elektronicznym oknie zdefiniowanym na histogramie, który koreluje ortogonalne rozpraszanie światła (rozpraszanie boczne — Side Scatter, w skrócie SS) i rozpraszanie światła pod wąskim kątem (rozpraszanie do przodu, Forward Scatter, w skrócie FS). Na etapie bramkowania, w zależności od zastosowania wybranego przez użytkownika, można używać innych histogramów łączących dwa z różnych parametrów dostępnych w cytometrze.

Fluorescencja odgraniczonych komórek jest analizowana w celu odróżnienia zdarzeń barwionych dodatnio od zdarzeń nieulegających barwieniu. Wyniki są wyrażane jako odsetek zdarzeń dodatnich względem wszystkich zdarzeń zarejestrowanych poprzez bramkowanie.

UŻYTKOWNIK DOCELOWY

Produkt jest przeznaczony do profesjonalnego użytku w laboratoriach.

ZNACZENIE KLINICZNE

Anti-TCR PAN α/β-PE to przeciwciało Anti-TCR PAN α/β służące do identyfikowania i charakteryzowania komórek wykazujących ekspresję antygenu TCR α/β za pomocą cytometrii przepływowej. Ten produkt nie może samodzielnie generować i nie jest przeznaczony do generowania jakichkolwiek wniosków diagnostycznych.

W połączeniu z innymi markerami produkt ten może służyć do jednego lub kilku z następujących zastosowań:

- Do wspomagania diagnostyki różnicowej pacjentów z nieprawidłowym obrazem hematologicznym i podejrzeniem nowotworu układu krwiotwórczego oraz do monitorowania pacjentów ze stwierdzonym nowotworem układu krwiotwórczego.

Zobacz poniższe piśmiennictwo:

1; 2; 3; 4

PRÓBKI

Krew żylną należy pobierać do sterylnych probówek zawierających antykoagulant w postaci soli EDTA.

Próbki należy przechowywać w temperaturze pokojowej (18–25°C), bez wytrząsania. Przed pobraniem próbki do testu należy uzyskać jednorodną mieszaninę poprzez delikatne mieszanie.

Próbki muszą zostać zbadane w ciągu 24 godzin od pobrania krwi żylnej przez nakłucie.

STĘŻENIE

Zobacz świadectwo analizy właściwe dla serii pod adresem www.beckman.com.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Nie używać odczynników po upływie daty ważności.
2. Nie zamrażać.
3. Przed użyciem odczekać, aż osiągnie temperaturę pokojową (18–25°C).
4. Maksymalnie ograniczyć narażenie na działanie światła.
5. Nie dopuścić do skażenia mikrobiologicznego odczynników, gdyż może to spowodować uzyskanie fałszywych wyników.
6. Z roztworami przeciwciał zawierającymi azydek sodu (NaN_3) należy postępować ostrożnie. Nie spożywać i nie dopuszczać do kontaktu ze skórą, błoną śluzową oraz oczami.

Ponadto w środowisku kwaśnym azydek sodu może tworzyć potencjalnie niebezpieczny kwas azotowodorowy. W przypadku konieczności usunięcia zalecane jest rozcieńczenie odczynnika w dużej objętości wody przed wlaniem go do kanalizacji, aby uniknąć gromadzenia się azydku sodu w metalowych rurach i uniknąć ryzyka wybuchu.

7. Wszystkie próbki krwi należy uważać za potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi ostrożnie (w szczególności nosić ochronne rękawice, fartuchy i okulary).
8. Nigdy nie wolno pipetować ustami. Nie dopuszczać do kontaktu próbek ze skórą, błonami śluzowymi i oczami.
9. Probówki przeznaczone na krew i materiały jednorazowego użytku używane podczas procedury należy usuwać do pojemników ad hoc przeznaczonych do spalenia.
10. Odczynniki i odpady należy usuwać zgodnie z wymogami lokalnymi.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Produkt nie został sklasyfikowany jako niebezpieczny

SDS Karta charakterystyki jest dostępna pod adresem beckmancoulter.com/techdocs

MAGAZYNOWANIE I STABILNOŚĆ

Ten odczynnik musi być przechowywany w temperaturze 2–8°C z zapewnieniem ochrony przed światłem, zarówno przed otwarciem fiolki jak i po jej otwarciu.

W oparciu o wyniki badania stabilności dopuszczalny okres przechowywania w zamkniętej fiolce ustalono na: 1095 dni.

Stabilność otwartej fiolki: odczynnik zachowuje stabilność przez 180 dni.

OZNAKA POGORSZENIA WŁAŚCIWOŚCI

Wszelkie zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników mogą wskazywać na pogorszenie właściwości — odczynników takich nie należy używać.

W celu otrzymania dodatkowych informacji lub w przypadku otrzymania uszkodzonego produktu należy skontaktować się z działem obsługi klienta firmy Beckman Coulter pod numerem telefonu 800-742-2345 (USA lub Kanada) lub z miejscowym przedstawicielem firmy Beckman Coulter.

ZAWARTOŚĆ

Środek konserwujący, azydek sodu, może tworzyć związki wybuchowe w metalowych rurach kanalizacyjnych. Patrz NIOSH Bulletin (Biuletyn instytutu NIOSH): Explosive Azide Hazard (Niebezpieczeństwo wybuchu azydku) (16.8.76).
Po usunięciu nierozcieńczonego odczynnika należy przepłukać rury ściekowe wodą, aby uniknąć gromadzenia się azydków. Azydek sodu musi być usuwany zgodnie z odpowiednimi przepisami lokalnymi.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE Z ZESTAWEM:

- Probówki do pobierania próbek i materiały wymagane do pobierania próbek.
- Pipety automatyczne z jednorazowymi końcówkami na 20, 100 i 500 µL.
- Probówki z tworzywa sztucznego przeznaczone do hemolizy.
- Odczynnik do lizy erytrocytów, z etapem przemywania po etapie lizy. Przykład: VersaLyse (nr ref. A09777).
- Odczynnik do utrwalania limfocytów. Przykład: Roztwór utrwalający IOTest 3 (nr ref. A07800).
- Kontrola izotypowa PE: Odczynnik IOTest (nr ref. A07796).
- Bufor (PBS: 0,01 M fosforan sodu; 0,145 M chlorek sodu; pH 7,2).
- Wirówka.
- Mieszadło automatyczne (typu worteks).
- Cytometr przepływowy.

PROCEDURA Z ODCZYNNIKIEM VERSALYSE

Do każdej badanej próbki, dodatkowo oprócz probówki testowej, można dodać jedną probówkę kontrolną, w której komórki są mieszane w obecności kontroli izotypowej (nr ref. A07796).

1. Dodać po 20 µL swoistego przeciwciała skoniugowanego IOTest do każdej probówki testowej i, w razie potrzeby, po 20 µL kontroli izotypowej do każdej probówki kontrolnej.
2. Do każdej probówki dodać 100 µL próbki testowej. Łagodnie worteksować probówki.
3. Inkubować przez 15–20 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C), chroniąc przed światłem.
4. Następnie przeprowadzić lizę krwinek czerwonych. Zapoznać się z ulotką VersaLyse (nr ref. A09777). Preferowane jest postępowanie zgodnie z procedurą „z towarzyszącym utrwalaniem”, która polega na dodaniu 1 mL przygotowanej wcześniej mieszaniny do utrwalania i lizy (Fix-and-Lyse). Bezzwłocznie worteksować przez jedną sekundę i inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej, chroniąc przed światłem.
5. Wirować przez 5 minut przy 150 x g w temperaturze pokojowej.
6. Usunąć supernatant poprzez zasysanie.
7. Zawiesić osad komórkowy w 3 mL PBS.
8. Powtórzyć etap 5.
9. Usunąć supernatant poprzez zasysanie i ponownie zawiesić osad komórkowy w:

- 0,5 mL lub 1 mL PBS oraz 0,1% formaldehydu, jeśli preparaty mają być przechowywane przez mniej niż 24 godz. (0,1% roztwór formaldehydu w PBS można uzyskać, rozcieńczając 12,5 µL roztworu utrwalającego IOTest 3 (nr ref. A07800) stężonego 10X w 1 mL PBS).
- 0,5 mL lub 1 mL PBS bez formaldehydu, jeśli preparaty zostaną poddane analizie w ciągu 2 godz.

Uwaga: Niezależnie od sytuacji preparaty należy przechowywać w temperaturze 2–8°C, chroniąc je przed światłem.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

W naszych laboratoriach próbki krwi pełnej od 25 dawców niewykazujących objawów chorobowych poddano obróbce z użyciem opisanego powyżej odczynnika. Uzyskane wyniki w zakresie liczby dodatnich zdarzeń zainteresowania w przypadku tego odczynnika podano w tabeli poniżej:

Dodatnie docelowe komórki	Liczba	Średnia (%)	SD	WZ (%)
Limfocyty	25	67,94	11,93	17,56

Wartości te są przeznaczone wyłącznie do celów poglądowych. Każde laboratorium powinno ustalić własne wartości oczekiwane z użyciem próbek reprezentatywnych dla lokalnej populacji zdrowych dawców.

WYDAJNOŚĆ

Dane dotyczące wydajności uzyskano z wykorzystaniem procedury opisanej powyżej na próbkach krwi mających mniej niż 24 godziny, uprzednio pobranych do sterylnych probówek z solą EDTA jako antykoagulantem. Badanie przeprowadzono w ciągu 2 godzin po barwieniu immunologicznym.

SWOISTOŚĆ

Ludzkie komórki T rozpoznają antygeny obce w kontekście cząsteczek HLA gospodarza za pośrednictwem receptora komórek T dla antygenu (TcR) (5, 6, 7). TcR to kompleksy molekularne, które obejmują dwie jednostki: jednostkę rozpoznawczą złożoną z heterodimeru α-β lub γ-δ, które są obecne na powierzchni komórki w sposób wzajemnie wykluczający się, a także z jednostki transdukującej — kompleksu CD3 wspólnego dla heterodimerów α-β oraz γ-δ — która aktywuje komórkę T, gdy jednostka rozpoznawcza jest zajęta przez antygen.

Jednostki rozpoznawcze rozpoznają wszelkie możliwe obce antygeny, a zmienność niezbędną dla funkcji rozpoznawania zapewnia somatyczna rekombinacja genów TcR. Istnieją cztery loci genu TcR (α, β, γ oraz δ). Każdy z nich składa się z kilku odcinków V (ang. variable — zmienny) kodujących około 90 aminokwasów, bardzo krótkich odcinków D (ang. diversity — różnorodny) (tylko loci α oraz δ) i krótkich odcinków J (ang. joining — łączący) (około 15 aminokwasów) oraz jednego lub dwóch odcinków C (ang. constant — stały) (8, 9, 10, 11). Przeciwciało IP26A rozpoznaje monomorficzną determinantę ludzkiego łańcucha α/β kompleksu TcR (12, 13).

PRECYZJA

Odsetek wartości dodatnich określono przy użyciu krwi pełnej. Każdą próbkę oznaczano 4 razy, dwa razy na dobę przez 1 dzień na 2 analizatorach przy użyciu 2 serii odczynnika przeciwciała monoklonalnego Anti-TCR PAN α/β-PE. Pomiary (% dodatnich) przeprowadzono na cytometrze przepływowym Navios. Badanie przeprowadzono na podstawie metody EP5-A2 CLSI: Ocena wydajności precyzji metody pomiarów ilościowych.

Nasze kryteria akceptacji są uzależnione od liczby zdarzeń dodatnich zmierzonych w każdej populacji:

- Jeśli zdarzenie dodatnie < 1500, WZ < 15%
- Jeśli zdarzenie dodatnie > 1500, WZ < 10%

Limfocyty							
Liczba zdarzeń dodatnich (średnia) = 6178							
	Między operatorami	Między cytometrami	W ramach serii	Między seriami	Między oznaczeniami	W ramach analizy	Łącznie
WZ (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
WYNIKI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOKŁADNOŚĆ

Dokładność odczynnika Anti-TCR PAN α/β-PE oceniono porównując wyniki z odczynnikiem referencyjnym jako wyrobem predykatowym na zestawie próbek krwi pełnej oznaczanych na cytometrze przepływowym Navios. Odchylenie między odczynnikiem testowym i referencyjnym określono na podstawie różnicy wyników testu. Jeżeli odchylenie leży w obrębie dopuszczalnego zakresu błędu lub wartość p wskazuje brak istotnej różnicy (> 0,05), wyniki testu dla dwóch odczynników są uznawane za równoważne.

W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Liczba dawców = 25				
Dodatnie docelowe komórki	Średnia Δ	Kryteria Δ % komórki	Wartość p	WYNIKI
Limfocyty	-1,26	<5	0,208	PASS

GRANICA PRÓBY ŚLEPEJ I GRANICA WYKRYWALNOŚCI

Przeprowadzono badanie zgodnie z dokumentem CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zdolności wykrywania dla procedur pomiarowych w laboratoriach medycznych). Granica wykrywalności (LOD) to najniższe stężenie analitu, które może być powtarzalnie wykrywane. W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Positive Target	Granica próby ślepej (l. komórek/µL)	Granica wykrywalności (l. komórek/µL)
Limfocyty	4	6

ORGANICZENIA

1. Wyniki cytometrii przepływowej mogą być zafałszowane, jeśli osiowanie cytometru nie było dokładne, przepuszczona fluorescencja nie została prawidłowo skompensowana, a regiony nie zostały starannie upozycjonowane.
2. Preferowane jest stosowanie techniki lizy RBC z etapem przemywania, ponieważ odczynnik ten nie został zoptymalizowany dla technik lizy „bez przemywania".
3. Uzyskane wyniki będą dokładne i odtwarzalne pod warunkiem, że stosowane będą procedury zgodne z informacjami zawartymi w ulotce z danymi technicznymi oraz z dobrymi praktykami laboratoryjnymi.
4. Skoniugowane przeciwciało zawarte w tym odczynniku zostało skalibrowane tak, aby zapewniać najlepszy stosunek sygnału swoistego do nieswoistego. Dlatego ważne jest przestrzeganie stosunku objętości odczynnika do objętości próbki w każdym teście.

5. W przypadku hiperleukocytozy należy rozcieńczyć krew w PBS, aby uzyskać wartość w przybliżeniu 5 x 10^9 leukocytów/L (14).
6. W niektórych stanach chorobowych, takich jak ciężka niewydolność nerek lub hemoglobinopatie, liza krwinek czerwonych może być powolna, niepełna lub nawet niemożliwa. W takich przypadkach przed barwieniem zalecane jest wyizolowanie komórek jednojądrzastych na gradiencie gęstości (na przykład Ficoll) (15).
7. U pacjentów poddawanych terapii anty-ludzkimi przeciwciałami monoklonalnymi, wykrywanie swoistych antygenów docelowych może być osłabione lub niemożliwe z powodu częściowego lub całkowitego zablokowania przez przeciwciało terapeutyczne.
8. Wyniki oznaczenia Anti-TCR PAN α/β-PE należy interpretować w świetle ogólnego obrazu klinicznego pacjenta, w tym objawów, historii klinicznej, danych z dodatkowych testów oraz innych właściwych informacji.

Przykłady i piśmiennictwo można znaleźć w załączniku.

ZNAKI TOWAROWE

Beckman Coulter, stylizowane logo oraz wymienione w tym dokumencie znaki produktów i usług firmy Beckman Coulter są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Beckman Coulter, Inc. w Stanach Zjednoczonych i innych krajach.

DODATKOWE INFORMACJE

Dotyczy pacjentów/użytkowników/stron trzecich w Unii Europejskiej i w krajach o identycznym systemie regulacyjnym (rozporządzenie 2017/746/UE w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro) — jeśli podczas lub w wyniku korzystania z tego wyrobu wystąpi poważny incydent, należy zgłosić go producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz odpowiedniemu organowi krajowemu.

Dokument The Summary of Safety and Performance (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania) jest dostępne w bazie danych EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIA ZMIAN

WERSJA AD:	Data wydania: październik 2019 r.

WERSJA	**Data wydania**
AW	Luty 2022 r.
Aktualizacje w celu zapewnienia zgodności z globalnymi zasadami oznakowania firmy Beckman Coulter i według wymogów rozporządzenia IVD-R (UE)2017/746:	
Dodano części	Numer BSI 2797, Użytkownik docelowy, Znaczenie kliniczne, Stężenie, Precyzja, Dokładność, Granica próby ślepej i granica wykrywalności, Informacje dodatkowe, Historia zmian.
Dodano informacje	Zobacz części Ograniczenia
Aktualizacje wyrażeń lub typograficzne	Zobacz części Procedura, Wydajność, Ograniczenia, Ostrzeżenia i środki ostrożności, Magazynowanie i stabilność.
Usunięte części	Przykłady zastosowań klinicznych, Odczynniki, Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna, Liniowość
Zaktualizowane części	Przeznaczenie, Klasyfikacja zagrożeń wg GHS, Dowód pogorszenia jakości, Procedura, Załącznik.

WERSJA	**Data wydania**
AX	Kwiecień 2023
Zaktualizowane części	Dodano język kazachski
Zaktualizowane części	Przechowywanie i stabilność

Wersja zmieniona	AY
Data zmiany	Maj 2024
Zaktualizowano tłumaczenia	**Znaczenie kliniczne:**
Zaktualizowane części	Historia zmian

Wersja zmieniona	AZ
Data zmiany	Lipiec 2024
Zaktualizowane części	Historia zmian

Legenda symboli

Słowniczek symboli jest dostępny pod adresem beckman.com/techdocs (numer dokumentu B60062)

	Specifikace
Specificita	TCR α/β
Klon	IP26A
Hybridom	NS1 x balb/c
Imunogen	T cell clone
Imunoglobulin	IgG1
Druhy	Myš
Purifikace	Afinitní chromatografie
Fluorochrom	R Phycoerythrin
Molární poměr	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Excitace λ	488 nm
Emisní vrchol	575 nm
Pufr	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugovaná protilátka Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 testů; 1 ml, 20 µl/test

Pro diagnostické účely *in vitro*.

URČENÉ POUŽITÍ

Tato protilátka konjugovaná s fluorochromem umožňuje kvalitativní a neautomatizovanou identifikaci buněčných populací exprimujících antigen TCR α/β v lidských biologických vzorcích (viz část „Vzorky“ níže) pomocí průtokové cytometrie.

PRINCIP

Tento test je založen na schopnosti monoklonálních protilátek specificky se vázat na antigenní determinanty exprimované na leukocytech.

Specifické značení leukocytů se provádí inkubováním vzorku s reagencií IOTest. Červené krvinky jsou poté odstraněny provedením lýzy a bílé krvinky, jež tímto procesem nejsou ovlivněny, jsou analyzovány na průtokovém cytometru.

Průtokový cytometr měří difúzi světla a fluorescenci buněk. Umožňuje oddělit zkoumanou populaci v rámci elektronického okna definovaného na histogramu, který je v korelaci s ortogonální difúzí světla (kolmý rozptyl) a s difúzí světla v úzkém úhlu (přímý rozptyl). Jako podporu ve fázi gatování lze, v závislosti na aplikaci zvolené uživatelem, použít další histogramy s kombinací dvou různých parametrů, které jsou v cytometru k dispozici.

Fluorescence oddělených buněk je analyzována s cílem odlišit pozitivně obarvené události od neobarvených. Výsledky jsou vyjádřeny jako procentní podíl pozitivních událostí ze všech událostí zjištěných gatováním.

ZAMÝŠLENÝ UŽIVATEL

Tento produkt je určen pro profesionální laboratorní použití.

KLINICKÁ VÝZNAMNOST

Produkt Anti-TCR PAN α/β-PE je protilátka Anti-TCR PAN α/β používaná k identifikaci a charakterizaci buněk exprimujících antigen TCR α/β pomocí průtokové cytometrie. Tento produkt samotný nelze použít ke stanovení jakéhokoliv diagnostického závěru, ani není k tomuto účelu určen.

Při použití v kombinaci s dalšími markery lze tento produkt použít k jedné nebo více z následujících funkcí:

- Jako pomůcka pro diferenciální diagnostiku pacientů s hematologickými abnormalitami, u kterých je podezření na hematopoetickou neoplazii, a k monitorování pacientů se známou hematopoetickou neoplazií.

Viz následující odkazy:

1; 2; 3; 4

VZORKY

Vzorky žilní krve musejí být odebrány do sterilních zkumavek obsahujících sůl EDTA jako antikoagulační činidlo.

Vzorky by měly být uchovávány při laboratorní teplotě (18–25 °C) a neměly by se protřepávat. Vzorek by měl být před odebráním vzorku k testování homogenizován mírným promícháním.

Vzorky je nutné analyzovat do 24 hodin od venepunkce.

KONCENTRACE

Viz certifikát o analýze specifický pro šarži na www.beckman.com.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagencii nepoužívejte po datu exspirace.
2. Nezmrazujte.
3. Před použitím nechte vytemperovat na laboratorní teplotu (18–25 °C).
4. Minimalizujte expozici světlu.
5. Zabraňte mikrobiologické kontaminaci reagencií, jinak mohou být výsledky chybné.
6. S roztoky protilátek obsahujícími azid sodný (NaN_3) je třeba manipulovat opatrně. Neužívejte vnitřně a zabraňte veškerému kontaktu s pokožkou, sliznicemi a očima.

V kyselém prostředí může azid sodný navíc vytvářet potenciálně nebezpečnou kyselinu azidovodíkovou. Při likvidaci se doporučuje před vylitím do odpadu reagencii zředit velkým objemem vody, aby nedocházelo k hromadění nebezpečného azidu sodného v kovovém potrubí a předešlo se tak riziku exploze.

7. Všechny vzorky krve je nutno považovat za potenciálně infekční a je nutné manipulovat s nimi opatrně (zvláště: používat ochranné rukavice, pláště a brýle).
8. Nikdy nepipetujte ústy a zabraňte tomu, aby se vzorky dostaly do kontaktu s kůží, sliznicí ani očima.
9. Zkumavky s krví a jednorázový materiál určený pro manipulaci je třeba likvidovat v kontejnerech ad hoc určených ke spálení.
10. Reagencie a odpad by měly být odstraňovány v souladu s místními požadavky.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Není klasifikované jako nebezpečné

SDS Bezpečnostní list je k dispozici na internetové adrese beckmancoulter.com/techdocs.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Před otevřením lahvičky a po jejím otevření musí být tato reagencie uchovávána při teplotě mezi 2 a 8 °C a chráněna před světlem.

Doba použitelnosti uzavřené lahvičky podle studie stability: 1095 dnů/dní.

Stabilita již jednou otevřené lahvičky: reagencie je stabilní po dobu 180 dní.

ZNÁMKY ZHORŠENÍ KVALITY

Jakákoli změna fyzického vzhledu reagencií může znamenat jejich znehodnocení a taková reagencie by se neměla používat.

Pokud potřebujete další informace nebo jste obdrželi poškozený produkt, zavolejte na telefonní číslo zákaznické služby společnosti Beckman Coulter 800-742-2345 (USA nebo Kanada) nebo se obraťte na místního zástupce společnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervační látka azid sodný může v kovovém odpadním potrubí vytvářet výbušné sloučeniny. Viz buletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečí výbušných azidů) (16.8.76).
Po vypuštění neředěné reagencie propláchněte odpadní potrubí vodou, aby se v něm nehromadily azidové sloučeniny. Likvidace azidu sodného musí být prováděna podle příslušných místních předpisů.

MATERIÁLY POTŘEBNÉ, ALE NEDODANÉ SE SOUPRAVOU:

- Zkumavky na odběr vzorků a materiál potřebný k odběru vzorků.
- Automatické pipety s jednorázovými špičkami pro 20, 100 a 500 µl.
- Plastové zkumavky na hemolýzu.
- Reagencie pro lýzu červených krvinek s fází promývání po lýze. Například: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagencie pro fixaci leukocytů. Například: Fixační roztok IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotypová kontrola PE: Reagencie IOTest (ref. A07796).
- Pufr (PBS: 0,01 M fosforečnan sodný; 0,145 M chlorid sodný; pH 7,2).
- Odstředivka.
- Automatické míchadlo (typu vortex).
- Průtokový cytometr.

POSTUP S REAGENCIÍ VERSALYSE

Pro každý analyzovaný vzorek lze kromě testovací zkumavky přidat jednu kontrolní zkumavku, v níž jsou buňky promíchány v přítomnosti izotypové kontroly (ref. A07796).

1. Do každé z testovacích zkumavek přidejte 20 µl konjugované protilátky specifické pro IOTest a podle potřeby do každé ze zkumavek kontroly přidejte 20 µl kontroly izotypu.
2. Do každé zkumavky přidejte 100 µl testovaného vzorku. Zkumavky jemně promíchejte na vortexové míchačce.
3. Provádějte inkubaci po dobu 15 až 20 minut při laboratorní teplotě (18–25 °C), chraňte před světlem.
4. Poté lyzujte červené krvinky. Postupujte dle brožury VersaLyse (ref. A09777) a řiďte se, pokud možno, postupem nazvaným „s průvodní fixací“, který spočívá v přidání 1 ml fixační a lyzační směsi připravené bezprostředně před použitím. Ihned vortexujte po dobu jedné sekundy a inkubujte po dobu 10 minut při laboratorní teplotě, přičemž chraňte před světlem.
5. Odstřeďujte 5 minut při 150 x g při laboratorní teplotě.
6. Supernatant odsajte.
7. Resuspendujte buněčnou peletu pomocí 3 ml PBS.
8. Opakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte buněčnou peletu pomocí:

- 0,5 ml nebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, pokud mají být preparáty uchovány po dobu kratší než 24 hodin. (PBS s 0,1 % formaldehydu lze získat zředěním 12,5 µl fixačního roztoku IOTest 3 (ref. A07800) o koncentraci 10x v 1 ml PBS.)
- 0,5 ml nebo 1 ml PBS bez formaldehydu, pokud mají být preparáty analyzovány do 2 hodin.

Poznámka: Ve všech případech uchovávejte preparáty při teplotě mezi 2 a 8 °C a chraňte je před světlem.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratořích bylo 25 vzorků plné krve zjevně zdravých dárců zpracováno za použití výše popsané reagencie. Získané výsledné počty cílových pozitivních událostí s touto reagencií jsou uvedeny v následující tabulce:

Pozitivní nosič	Počet	Průměr (%)	SD (směrodatná odchylka)	VK (%)
Lymfocyty	25	67,94	11,93	17,56

Tyto hodnoty by měly být pouze reprezentativní. Každá laboratoř si musí stanovit vlastní očekávané hodnoty na základě místní populace normálních dárců.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Data o výkonu se získávají výše popsaným postupem na vzorcích krve starých méně než 24 hodin, které byly odebrány do sterilních zkumavek se solí EDTA jakožto antikoagulačním činidlem. Analýza se provádí do 2 hodin od imunobarvení.

SPECIFICITA

Lidské T-buňky rozpoznávají cizorodé antigeny v kontextu hostitelských molekul HLA prostřednictvím receptoru T-buňky pro antigen (TcR) (5, 6, 7). Receptory TcR jsou molekulární komplexy sestávající ze dvou jednotek: rozpoznávací jednotky, složené z heterodimeru α-β anebo γ-δ, jejichž přítomnost se na buněčném povrchu vzájemně vylučuje, a převodní jednotky, komplexu CD3, společného pro heterodimery α-β i γ-δ, který aktivuje buňky T, když je rozpoznávací jednotka obsazena antigenem.

Rozpoznávací jednotky rozeznají veškeré možné cizorodé antigeny, přičemž diverzita, jež je nezbytná pro tuto rozpoznávací funkci, je generována somatickou rekombinací genů TcR. Existují čtyři pozice genů TcR (α, β, γ a δ). Každá z těchto pozic se skládá z několika segmentů V, které kódují přibližně 90 aminokyselin, velmi krátkých segmentů D (pouze v pozici α a δ), krátkých spojovacích segmentů J (asi 15 aminokyselin) a jednoho nebo dvou konstantních segmentů C (8, 9, 10, 11). Protilátka IP26A rozpoznává monomorfní determinant lidského řetězce α/β komplexu TcR (12, 13).

PRECIZNOST

Procento pozitivních hodnot bylo stanoveno pomocí plné krve. Každý ze vzorků byl otestován 4krát, dvakrát za den po dobu 1 dne na 2 přístrojích pomocí 2 šarží reagencií obsahujících monoklonální protilátky Anti-TCR PAN α/β-PE. Měření (% pozitivních) byla prováděna na průtokovém cytometru Navios. Analýza byla prováděna metodou CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Hodnocení preciznosti při provádění metod kvantitativního měření).

Naše kritéria přijatelnosti závisí na počtu pozitivních událostí změřených pro každou populaci:

- Pokud pozitivní událost < 1 500, VK < 15 %
- Pokud pozitivní událost > 1 500, VK < 10 %

Lymfocyty							
Počet pozitivních událostí (průměr) = 6178							
	Mezi obslužnými pracovníky	Mezi cytometry	V rámci šarže	Mezi šaržemi	Mezi cykly	V rámci cyklu	Celkem
VK (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PŘESNOST

Přesnost testu Anti-TCR PAN α/β-PE byla posuzována podle srovnatelných výsledků pomocí referenčních reagencií jako predikátu na souboru vzorků plné krve měřených průtokovým cytometrem Navios. Odchylka mezi testovací a referenční reagencií byla stanovena podle rozdílu mezi výsledky testů. Je-li odchylka v rozmezí dovolené chyby nebo pokud p-hodnota nevykazuje žádný významný rozdíl (> 0,05), považují se výsledky testů pro dané dvě reagencie za ekvivalentní.

Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Počet dárců = 25				
Pozitivní nosič	Průměr Δ	Kritéria Δ % buněk	Hodnota p	VÝSLEDKY
Lymfocyty	-1,26	<5	0,208	PASS

MEZ PRÁZDNÉHO VZORKU A MEZ MĚŘITELNOSTI

Byla provedena studie v souladu se směrnicí CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnocení schopnosti detekce pro klinické laboratorní postupy měření). Mez měřitelnosti (LOD) je nejnižší koncentrace analytu, kterou lze spolehlivě detekovat. Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Positive Target	Mez prázdného vzorku (buňky/µl)	Mez měřitelnosti (buňky/µl)
Lymfocyty	4	6

OMEZENÍ

1. Průtoková cytometrie může přinést falešné výsledky, pokud cytometr nebyl dokonale seřízen, pokud nebyly správně kompenzovány úniky fluorescence a pokud oblasti nebyly pečlivě umístěny.
2. Je vhodné používat techniku lýzy RBC s promývacím krokem, protože tato reagencie není optimalizována pro techniku lýzy bez promývání.
3. Přesných a reprodukovatelných výsledků bude dosaženo, pokud jsou použité postupy v souladu s technickým příbalovým letákem a se správnou laboratorní praxí.
4. Konjugovaná protilátka této reagencie je kalibrována tak, aby poskytovala nejlepší možný poměr specifického signálu k nespecifickému signálu. Proto je důležité při každém testu dodržovat poměr objemu reagencie a objemu vzorku.
5. V případě hyperleukocytózy nařeďte krev v přípravku PBS tak, aby byla dosažena hodnota přibližně 5 x 10^9 leukocytů/l (14).

6. U určitých chorob, například závažného selhání ledvin či hemoglobinopatií, se může stát, že lýza červených krvinek bude probíhat pomalu, nedokončí se, nebo dokonce nebude možná. V tomto případě se před značením doporučuje izolovat mononukleární buňky s použitím hustotního gradientu (např. Ficoll) (15).
7. U pacientů léčených pomocí monoklonálních protilátek proti lidským antigenům může být detekce specificky cílených antigenů snížena nebo může chybět kvůli částečné nebo celkové blokaci terapeutickými protilátkami.
8. Výsledky analýzy Anti-TCR PAN α/β-PE je nutné interpretovat s přihlédnutím k celkovému klinickému obrazu pacienta, včetně symptomů, klinické anamnézy, údajů z dalších testů a dalších vhodných informací.

Příklady a reference jsou uvedeny v příloze.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, stylizované logo a známky produktů a služeb společnosti Beckman Coulter uvedené v tomto dokumentu jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Beckman Coulter, Inc. ve Spojených státech amerických a dalších zemích.

DALŠÍ INFORMACE

Pro pacienty, uživatele nebo třetí osoby v Evropské unii a v zemích se stejným regulačním režimem (nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro); pokud při používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání dojde k závažné nehodě, prosím ohlaste tuto nehodu výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a kompetentnímu vnitrostátnímu orgánu.

Summary of Safety and Performance (Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti) je k dispozici v databázi EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIE REVIZÍ

REVIZE AD:	Datum vydání: Říjen 2019

REVIZE	**Datum vydání**
AW	Únor 2022
Aktualizace kvůli shodě s globálními zásadami označování společnosti Beckman Coulter a dle požadavků IVD-R (EU) 2017/746:	
Přidání částí	Číslo BSI 2797, Určený uživatel, Klinická významnost, Koncentrace, Preciznost, Přesnost, Mez prázdného vzorku a mez měřitelnosti, Další informace, Historie změn.
Přidány informace	Viz část Omezení
Aktualizace formulací a typografické aktualizace	Viz části Postup, Výkon, Omezení, Varování a bezpečnostní opatření, Skladování a stabilita.
Odstranění částí	Příklad klinických použití, Reagencie, Reprodukovatelnost v rámci laboratoře, Linearita
Aktualizované části	Určené použití, Klasifikace nebezpečí podle GHS, Známky znehodnocení, Postup, Příloha.

REVIZE	**Datum vydání**
AX	duben 2023
Aktualizované části	Přidání kazašského jazyka
Aktualizované části	Skladování a stabilita

Revidovaná verze	AY
Datum revize	Květen 2024
Aktualizované překlady	**Klinická významnost:**
Aktualizované části	Historie revizí

Revidovaná verze	AZ
Datum revize	cervenec 2024
Aktualizované části	Historie revizí

Klíč k symbolům

Slovníček symbolů je k dispozici na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	Špecifikácie
Špecificita	TCR α/β
Klon	IP26A
Hybridóm	NS1 x balb/c
Imunogén	T cell clone
Imunoglobulín	IgG1
Druhy	Myš
Purifikácia	Afinita Chromatografia
Fluorochróm	R Phycoerythrin
Molárny pomer	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Excitácia λ	488 nm
Vrchol emisií	575 nm
Tlmivý roztok	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugovaná protilátka Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 testov; 1 ml, 20 µl/test

Na *in vitro* diagnostické použitie.

URČENÉ POUŽITIE

Táto protilátka konjugovaná s fluorochrómom umožňuje pomocou prietokovej cytometrie vykonávať kvalitatívnu, neautomatizovanú identifikáciu populácie buniek exprimujúcich antigén TCR α/β v ľudských biologických vzorkách (pozri časť „vzorky“ nižšie).

PRINCÍP

Tento test je založený na schopnosti špecifických monoklonálnych protilátok viazať sa na antigénne determinanty exprimované na leukocytoch.

Špecifické farbenie leukocytov sa vykoná inkubáciou vzorky s činidlom IOTest. Červené krvinky sa následne odstránia lýzou a leukocyty, na ktoré tento postup nemá vplyv, sa analyzujú prietokovou cytometriou.

Prietokový cytometer meria rozptyl svetla a fluorescenciu buniek. Umožňuje vymedzenie požadovanej populácie v rámci elektronického okna zadefinovaného v histograme znázorňujúcom koreláciu ortogonálneho rozptylu svetla (bočný rozptyl, SS) a rozptylu svetla v úzkom uhle (predný rozptyl, FS). Ostatné histogramy obsahujúce kombináciu dvoch rozličných parametrov dostupných na cytometri možno použiť na podporu vo fáze gatingu v závislosti od aplikácie zvolenej používateľom.

Fluorescencia vymedzených buniek sa analyzuje s cieľom odlíšiť pozitívne sfarbené udalosti od nesfarbených. Výsledky sú vyjadrené ako percento pozitívnych udalostí vzhľadom na všetky udalosti zaznamenané gatingom.

URČENÝ POUŽÍVATEĽ

Tento produkt je určený na profesionálne laboratórne použitie.

KLINICKÝ VÝZNAM

Anti-TCR PAN α/β-PE je protilátka proti Anti-TCR PAN α/β používaná na identifikáciu a charakterizáciu buniek exprimujúcich antigén TCR α/β pomocou prietokovej cytometrie. Tento výrobok sám osebe nemôže a ani nemá slúžiť na vyvodzovanie akýchkoľvek diagnostických záverov.

Pri použití v kombinácii s inými markermi možno tento produkt použiť na jeden alebo viac z týchto účelov:

- Ako pomôcka pri diferenciálnej diagnostike hematologicky abnormálnych pacientov s podozrením na hematopoetickú neoplazmu a na monitorovanie pacientov so známou hematopoetickou neoplazmou.

Pozrite si nasledujúce odkazy:

1; 2; 3; 4

VZORKY

Vzorky žilovej krvi musia byť odobraté do sterilných skúmaviek, ktoré obsahujú soľ EDTA ako antikoagulačné činidlo.

Vzorky by sa mali uchovávať pri izbovej teplote (18 – 25 °C) a nemalo by sa nimi triasť. Vzorky by sa mali pred odobratím testovacej vzorky homogenizovať jemným pretrepaním.

Vzorky sa musia analyzovať do 24 hodín od odberu.

KONCENTRÁCIA

Pozrite si certifikát analýzy pre konkrétnu šaržu na adrese www.beckman.com.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

1. Činidlo nepoužívajte po dátume exspirácie.
2. Nezamrazujte.
3. Pred použitím nechajte zahriať na izbovú teplotu (18 – 25 °C).
4. Minimalizujte vystavenie svetlu.
5. Zabráňte mikrobiálnej kontaminácii činidiel, inak môže dôjsť k falošným výsledkom.
6. S roztokmi protilátok obsahujúcimi azid sodný (NaN_3) by sa malo zaobchádzať opatrne. Nepožívajte ich a vyhýbajte sa akémukoľvek kontaktu s kožou, sliznicami a očami.

V médiu s obsahom kyseliny môže navyše azid sodný vytvárať potenciálne nebezpečnú kyselinu azidovodíkovú. Ak je činidlo potrebné zlikvidovať, odporúča sa ho pred vyliatím do kanalizácie zriediť vo veľkom objeme vody, aby sa predišlo riziku explózie v dôsledku hromadenia azidu sodného v kovovom potrubí.

7. Všetky vzorky krvi sa musia považovať za potenciálne infekčné, a preto sa s nimi musí narábať opatrne (predovšetkým: používajte ochranné rukavice, plášte a okuliare).
8. Nikdy nepipetujte ústami a zabráňte akémukoľvek kontaktu vzoriek s pokožkou, sliznicami a očami.
9. Skúmavky na krv a jednorazový materiál používané pri manipulácii sa musia zlikvidovať do schválených nádob určených na spálenie.
10. Činidlá a odpad by sa mali eliminovať v súlade s miestnymi požiadavkami.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Nie je klasifikované ako nebezpečné

SDS Bezpečnostný list je dostupný na adrese beckmancoulter.com/techdocs

SKLADOVANIE A STABILITA

Toto činidlo sa musí skladovať pri teplote od 2 do 8 °C a chrániť pred svetlom pred aj po otvorení fľaštičky.

Doba použiteľnosti uzavretej fľaštičky podľa štúdie stability: 1095 dní.

Stabilita otvorenej fľaštičky: činidlo je stabilné 180 dní.

ZNÁMKY ZNEHODNOTENIA

Akákoľvek zmena fyzického vzhľadu činidla môže svedčiť o zhoršení kvality a takéto činidlo by sa nemalo používať.

Ak potrebujete ďalšie informácie alebo ak je výrobok poškodený, kontaktujte stredisko zákazníckych služieb spoločnosti Beckman Coulter na telefónnom čísle 800-742-2345 (ak sa nachádzate v USA alebo Kanade) alebo kontaktujte miestneho zástupcu spoločnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervačné činidlo azid sodný môže v kovovej kanalizačnej sieti vytvárať výbušné zlúčeniny. Pozrite si informačný bulletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečenstvo výbušného azidu) (16. 8. 76).
Aby nedošlo k možnému nahromadeniu azidových zlúčenín, po likvidácii neriedeného činidla vypláchnite potrubie vodou. Likvidácia azidu sodného musí prebiehať v súlade s príslušnými miestnymi predpismi.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ NIE JE SÚČASŤOU SÚPRAVY:

- Vzorkovacie skúmavky a materiál potrebný na vzorkovanie.
- Automatické pipety s jednorazovými špičkami na dávkovanie objemov 20, 100 a 500 µl.
- Plastové hemolytické skúmavky.
- Činidlo na lýzu červených krviniek s umývacou fázou po lýze. Napríklad: VersaLyse (Ref. A09777).
- Činidlo na fixáciu leukocytov. Napríklad: fixačný roztok IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotypová kontrolaPE: činidlo IOTest (Ref. A07796).
- Tlmiaci roztok (PBS: fosforečnan sodný 0,01 M; chlorid sodný 0,145 M; pH 7,2).
- Centrifúga.
- Automatické miešadlo (typ Vortex).
- Prietokový cytometer.

POSTUP S ČINIDLOM VERSALYSE

Na každú analyzovanú vzorku je možné okrem testovacej skúmavky pridať aj jednu kontrolnú skúmavku, v ktorej sa zmiešajú bunky v prítomnosti izotypovej kontroly (Ref. A07796).

1. Pridajte 20 µl špecifickej konjugovanej protilátky IOTest do každej testovacej skúmavky a v prípade potreby 20 µl izotopovej kontroly do každej kontrolnej skúmavky.
2. Do každej skúmavky pridajte 100 µl testovanej vzorky. Skúmavky jemne vortexujte.
3. Inkubujte 15 až 20 minút pri izbovej teplote (18 – 25 °C) bez prístupu svetla.
4. Potom vykonajte lýzu červených krviniek. Postupujte podľa písomnej informácie VersaLyse (Ref. A09777) a ideálne použite postup označený ako „so sprievodnou fixáciou“, ktorý zahŕňa pridanie 1 ml bezprostredne pripravenej zmesi „na fixáciu a lýzu“. Ihneď premiešajte jednu sekundu a inkubujte 10 minút pri izbovej teplote a chráňte pred svetlom.
5. Odstreďujte 5 minút pri 150 x g pri izbovej teplote.
6. Nasatím odoberte supernatant.
7. Resuspendujte bunkový pelet použitím 3 ml PBS.
8. Zopakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte bunkový pelet použitím:

- 0,5 ml alebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, ak sa preparáty budú skladovať kratšie ako 24 hodín. (Roztok PBS s 0,1 % formaldehydu možno pripraviť zriedením 12,5 µl fixačného roztoku IOTest 3 (Ref. A07800) v 10X koncentrácii v 1 ml roztoku PBS).
- 0,5 ml alebo 1 ml PBS bez formaldehydu, ak sa preparáty budú analyzovať do 2 hodín.

Poznámka: Preparáty vždy uchovávajte pri teplote 2 až 8 °C a mimo dosahu svetla.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratóriách sa vzorky plnej krvi od 25 zjavne zdravých darcov spracovali pomocou vyššie popísaného činidla. Získané výsledky pre príslušné počty skúmaných pozitívnych udalostí s týmto činidlom sú uvedené v tabuľke nižšie:

Pozitívny cieľ	Počet	Priemer (%)	SD	CV (%)
Lymfocyty	25	67,94	11,93	17,56

Tieto hodnoty slúžia len ako reprezentatívne údaje. Každé laboratórium by si malo určiť vlastné očakávané hodnoty na základe miestnej populácie normálnych darcov.

VÝKONNOSŤ

Údaje o výkonnosti boli získané pomocou vyššie opísaného postupu z menej ako 24 hodín starých vzoriek krvi odobraných do sterilných skúmaviek so soľou EDTA ako antikoagulačným činidlom. Analýza prebehla do 2 hodín od imunologického farbenia.

ŠPECIFICITA

Ľudské T-bunky rozpoznávajú cudzie antigény v kontexte hostiteľských molekúl HLA prostredníctvom receptorov T-buniek pre dané antigény (TcR) (5, 6, 7). Molekulárne komplexy TcR sa skladajú z dvoch jednotiek: rozpoznávacej jednotky, ktorá sa skladá buď z α/β, alebo γ/δ heterodiméru, ktoré sa na povrchu bunky nachádzajú vzájomne sa vylučujúcim spôsobom, a transdukčnej jednotky, komplexu CD3, spoločného pre α/β a γ/δ heterodiméry, ktorý aktivuje T-bunku, keď je rozpoznávacia jednotka obsadená antigénom.

Rozpoznávacie jednotky rozpoznávajú cudzie antigény a diverzita potrebná pre túto rozpoznávaciu funkciu sa vytvára somatickou rekombináciou génov TcR. Existujú štyri génové lokusy TcR (α, β, γ a δ). Každý z nich sa skladá z niekoľkých segmentov V (variabilný) kódujúcich približne 90 aminokyselín, veľmi krátkych segmentov D (diverzita; len v lokusoch α a δ) a krátkych segmentov J (spájací; približne 15 aminokyselín) a jedného alebo dvoch segmentov C (konštantný) (8, 9, 10, 11). Protilátka IP26A rozpoznáva monomorfný determinant ľudského α/β reťazca komplexu TcR (12, 13).

PRESNOSŤ

Percentuálne pozitívne hodnoty boli stanovené s použitím plnej krvi. Každá vzorka bola analyzovaná 4-krát, dva razy denne počas 1 dňa na 2 prístrojoch pri použití 2 šarží činidiel s monoklonálnymi protilátkami proti Anti-TCR PAN α/β-PE. Merania (% pozitívnych) sa vykonávali na prietokovom cytometri Navios. Analýza sa vykonávala podľa metódy CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Hodnotenie zhodnosti pri metódach kvantitatívneho merania).

Naše kritériá prijateľnosti závisia od počtu pozitívnych udalostí nameraného v jednotlivých populáciách:

- Ak je pozitívnych udalostí < 1500, CV < 15 %
- Ak je pozitívnych udalostí > 1500, CV < 10 %

Lymfocyty							
Počet pozitívnych udalostí (priemer) = 6178							
	Medzi operátormi	Medzi cytometrami	V rámci jednej šarže	Medzi šaržami	Medzi analýzami	V rámci jednej analýzy	Celkovo
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRESNOSŤ

Presnosť Anti-TCR PAN α/β-PE bola vyhodnotená porovnaním výsledkov s porovnávacím referenčným činidlom na súbore vzoriek plnej krvi analyzovaných v prietokovom cytometri Navios. Odchýlka medzi testovaným a referenčným činidlom bola stanovená na základe rozdielu medzi výsledkami testov. Ak je odchýlka v medziach prípustného chybového rozsahu, alebo ak p-hodnota svedčí o nevýznamnom rozdiele (> 0,05), výsledky testovania daných dvoch činidiel sa považujú za rovnocenné.

Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Počet darcov = 25				
Pozitívny cieľ	Priemer Δ	Kritériá Δ % buniek	p-hodnota	VÝSLEDKY
Lymfocyty	-1,26	<5	0,208	PASS

MEDZA PRÁZDNEJ VZORKY A MEDZA MERATEĽNOSTI

Bola vykonaná štúdia v súlade s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnotenie detekčnej schopnosti pre postupy klinických laboratórnych meraní). Medza merateľnosti (LoD) je najnižšia koncentrácia analytu, ktorú možno konzistentne detegovať. Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Positive Target	Medza prázdnej vzorky (buniek/µl)	Medza merateľnosti (buniek/µl)
Lymfocyty	4	6

OBMEDZENIA

1. Prietoková cytometria môže vytvárať falošné výsledky, ak cytometer nie je správne zarovnaný, ak úniky fluorescencie nie sú správne kompenzované, alebo ak nie sú oblasti správne umiestnené.
2. Vhodnejšie je používať metódu lýzy RBC s krokom premývania, keďže toto činidlo nie je optimalizované na metódy lýzy „bez premývania“.
3. Presné a reprodukovateľné výsledky sa získajú len vtedy, ak sa použijú postupy v súlade s technickými údajmi v príbalovom letáku a v súlade s osvedčenou laboratórnou praxou.
4. Konjugovaná protilátka tohto činidla sa kalibruje tak, aby ponúkala najlepší pomer špecifického signálu/nešpecifického signálu. Preto je dôležité pri každom teste dodržať pomer objem činidla/objem vzorky.
5. V prípade hyperleukocytózy zrieďte krv v PBS na koncentráciu približne 5 x 10^9 leukocytov/l (14).

6. Pri niektorých chorobných stavoch, akými sú napríklad závažné zlyhanie obličiek alebo hemoglobinopatie, môže byť lýza červených krviniek pomalá, neúplná alebo dokonca nemožná. V takom prípade sa odporúča pred farbením izolovať mononukleárne bunky pomocou hustotného gradientu (napríklad Ficoll) (15).
7. U pacientov liečených monoklonálnymi protilátkami proti ľudským protilátkam môže byť detekcia špecifických cieleným antigénom znížená alebo môže úplne chýbať v dôsledku čiastočného alebo úplného blokovania terapeutickej protilátky.
8. Pri interpretácii výsledkov Anti-TCR PAN α/β-PE treba brať do úvahy celkový klinický obraz pacienta vrátane symptómov, klinickej anamnézy, výsledkov ďalších testov a iných súvisiacich informácií.

Príklady a referencie nájdete v Dodatku.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, štylizované logo a známky produktov a služieb spoločnosti Beckman Coulter spomenuté v tomto dokumente sú ochranné známky alebo registrované ochranné známky spoločnosti Beckman Coulter, Inc. v USA a ďalších krajinách.

DOPLŇUJÚCE INFORMÁCIE

Pre pacienta/používateľa/tretiu stranu v Európskej únii a v krajinách s identickým regulačným režimom (Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/746 o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro): ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne vážna nehoda, nahláste ju výrobcovi a/alebo jeho autorizovanému zástupcovi a vášmu národnému orgánu.

Summary of Safety and Performance (Súhrn informácií o bezpečnosti a výkonnosti) je k dispozícii v databáze EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRIA REVÍZIÍ

REVÍZIA AD:	Dátum vydania: Október 2019

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AW	Február 2022
Aktualizácie kvôli súladu s dokumentom Beckman Coulter Global Labelling Policy (Globálne pravidlá označovania spoločnosti Beckman Coulter) a podľa požiadaviek nariadenia IVDR (EÚ) 2017/746:	
Pridané časti	Číslo BSI 2797, Určený používateľ, Klinický význam, Koncentrácia, Zhodnosť, Presnosť, Medza prázdnej vzorky a medza merateľnosti, Doplňujúce informácie, História revízií.
Pridané informácie	Pozri časti Obmedzenia
Aktualizácie formulácií alebo typografické aktualizácie	Pozri časti Postup, Výkonnosť, Obmedzenia, Výstraha a opatrenia, Skladovanie a stabilita.
Odstránené časti	Príklad klinických aplikácií, Činidlá, Intralaboratórna reprodukovateľnosť, Linearita
Aktualizované časti	Určené použitie, Klasifikácia nebezpečenstiev podľa GHS, Známky zhoršenia kvality, Postup, Dodatok.

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AX	Apríl 2023
Aktualizované časti	Pridať kazaštinu
Aktualizované časti	Skladovanie a stabilita

Revidovaná verzia	AY
Dátum revízie	Máj 2024
Aktualizované preklady	**Klinický význam:**
Aktualizované časti	História revízií

Revidovaná verzia	AZ
Dátum revízie	Júl 2024
Aktualizované časti	História revízií

Popis symbolov

Slovník symbolov je dostupný na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	규격
특이도	TCR α/β
클론	IP26A
하이브리도마	NS1 x balb/c
면역원	T cell clone
면역글로불린	IgG1
종	생쥐
정제	친화성 크로마토그래피
형광색소	R Phycoerythrin
분자비	PE/Ig: 0.5 - 1.5
λ 자극	488 nm
방출 피크	575 nm
완충액	PBS pH 7.2 + 2mg/mL BSA 및 0.1 % NaN_3

IOTest

복합 항체

Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50회 테스트, 1mL, 20µL/검사

체외 **진단용으로 사용합니다.**

사용목적

본 형광색소 결합 항체를 사용 시 유세포 분석법으로 인간의 생물학적 검체에 있는 TCR α/β 항원을 나타내는 세포군의 정성적 동정 및 비자동 동정을 수행할 수 있습니다(아래 "검체" 섹션 참조).

원리

이 검사는 백혈구로 발현되는 항원 결정기에 특이적 단일클론 항체가 결합할 수 있는 능력에 기초합니다.

백혈구의 특이적 염색은 검체를 IOTest 시약과 함께 배양하여 수행합니다. 그런 다음 적혈구를 용해하여 제거하고 이 과정에서 영향을 받지 않은 백혈구를 유세포 분석법을 통해 분석하십시오.

유세포 분석기는 세포의 빛 확산과 형광 영역을 측정합니다. 유세포 분석기를 사용하면 빛의 직교 확산(측면 산란, SS)과 좁은 각의 광확산(전방 산란, FS)의 상호 관계를 지정하는 막대그래프상에 정의된 전자 창 내에서 관심 개체의 한계를 결정할 수 있습니다. 유세포 분석기에서 사용할 수 있는 두 가지 파라메타를 결합하는 기타 막대그래프를 사용자가 선택한 애플리케이션에 따라 게이팅 단계에서 지원 자료로 사용 가능합니다.

범위가 결정된 세포의 형광 영역을 분석하여 명확하게 염색된 이벤트와 염색되지 않은 이벤트를 구분합니다. 분석 결과는 게이팅으로 획득한 전체 이벤트와 비교한 양성 이벤트의 비율로 표현합니다.

의도된 사용자

본 제품은 실험실 전문가용입니다.

임상 관련성

Anti-TCR PAN α/β-PE은(는) 유세포 분석법으로 TCR α/β 항원을 나타내는 세포를 식별하고 특성화하는 데 사용하는 Anti-TCR PAN α/β 항체입니다. 본 제품만 사용하여 진단과 관련된 결론을 내릴 수 없으며, 해당 용도로 사용해서도 안 됩니다.

다른 표지자와 함께 사용하는 경우 이 제품은 다음 중 하나 이상의 기능에 사용할 수 있습니다.

- 조혈세포성 종양이 의심되고 혈액학적 이상을 동반하는 환자의 감별 진단을 위한 보조 수단으로 활용하거나 알려진 조혈세포성 종양을 가진 환자를 모니터링하는 데 사용합니다.

다음 참조를 살펴보십시오.

1; 2; 3; 4

검체

정맥혈은 EDTA 염을 항응고제로 포함한 무균 튜브를 사용하여 채취해야 합니다.

검체는 실온(18~25°C)에 보관해야 하며 흔들어서는 안 됩니다. 검사 검체를 채취하기 전에 부드럽게 교반하여 검체를 균질화해야 합니다.

검체는 정맥천자 후 24시간 이내에 분석해야 합니다.

농도

www.beckman.com에서 로트별 분석증명서를 확인할 수 있습니다.

경고 및 주의 사항

1. 유효 기간이 지난 시약은 사용하지 마십시오.
2. 냉동하지 마십시오.
3. 사용 전 실온(18~25°C)에 두십시오.
4. 빛 노출을 최소화하십시오.
5. 시약이 미생물에 오염되지 않도록 하십시오. 그러지 않으면 잘못된 결과를 얻을 수 있습니다.
6. 아지드화나트륨(NaN_3)을 함유한 항체 용액은 주의해서 다루어야 합니다. 흡입을 피하고 피부, 점막 및 눈에 절대 닿지 않도록 하십시오.

   또한 산성 매질에 함유된 아지드화나트륨은 잠재적 위험 물질인 히드라조산을 만들어낼 수 있습니다. 시약을 폐기할 때는 금속 파이프 내 아지드화나트륨 축적과 폭발 위험을 방지하기 위해 다량의 물에 희석한 후 배수 시설로 흘려보내야 합니다.

7. 모든 혈액 검체는 잠재적으로 전염성이 있다고 간주하고 주의해서 다루어야 합니다(특히 보호용 장갑, 가운 및 보안경 착용).
8. 피펫을 절대 입으로 사용하지 않도록 하고 검체가 피부, 점막 및 눈에 닿지 않도록 하십시오.
9. 취급에 사용한 혈액 튜브 및 일회용 물질은 소각용 특수 용기에서 폐기해야 합니다.
10. 시약 및 폐기물은 현지 요구 사항에 따라 제거해야 합니다.

GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음

SDS 안전보건자료는 beckmancoulter.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다.

보관 및 안정성

이 시약은 바이알 개봉 전후에 2~8°C로 유지하면서 빛으로부터 보호해야 합니다.

안정성 시험에 따른 밀봉 바이알 유효 기간: 1095일.

개봉한 바이알의 안정성: 시약은 180일 동안 안정적입니다.

성능 저하 증거

시약 외관에 물리적 변화가 있는 경우 성능 저하를 나타내는 것일 수 있으므로 시약을 사용해서는 안 됩니다.

자세한 정보가 필요하거나 손상된 제품을 받은 경우에는 Beckman Coulter 고객 서비스에 800-742-2345(미국 또는 캐나다)로 또는 현지 Beckman Coulter 담당자에게 문의하십시오.

목차

소디움 아자이드 보존제는 금속 배수관에서 폭발성 화합물을 형성할 수 있습니다. NIOSH 게시판을 참조하십시오. Explosive Azide Hazard(폭발성 아지드 유해물질)(76/8/16)
아지드 화합물의 축적 가능성을 방지하려면 희석되지 않은 시약을 폐기한 다음 폐기 파이프를 물로 세척하십시오. 소디움 아자이드의 폐기는 해당 지역 규정을 따라야 합니다.

필요하지만 키트와 함께 제공되지 않는 품목:

- 검체 튜브와 검체 채취에 필요한 물질.
- 20, 100 및 500µL용 일회용 팁이 있는 자동 피펫.
- 플라스틱 용혈 튜브.
- 용해 후 세척 단계의 적혈구 용해 시약. 예: VersaLyse(참조 A09777).
- 백혈구 고정 시약. 예: IOTest 3 고정액(참조 A07800).
- 동형 정도관리물질PE: IOTest 시약(참조 A07796).
- 완충액(PBS: 0.01M 인산나트륨, 0.145M 염화나트륨, pH 7.2).
- 원심분리기.
- 자동 교반기(교반 유형).
- 유세포 분석기.

VERSALYSE 시약을 이용한 절차

분석할 각 검체마다 검사 튜브와 더불어 동형 대조물질이 있는 상태에서 세포를 혼합하는 하나의 정도관리물질 튜브를 추가할 수 있습니다(참조 A07796).

1. 20µL의 특정 IOTest 결합 항체를 각 검사 튜브에 첨가하고, 필요에 따라 20µL의 동형 정도관리물질을 각 정도관리물질 튜브에 첨가합니다.
2. 100µL의 검사 검체를 각 튜브에 첨가합니다. 튜브를 부드럽게 교반합니다.
3. 실온(18~25°C)에서 빛을 피해 15~20분 동안 배양하십시오.
4. 그런 다음 적혈구 용해를 수행합니다. VersaLyse(참조 A09777) 책자 내용을 참조하여 즉석에서 준비한 1mL의 "고정 및 세포 용해" 혼합물을 첨가하는 "수반 고정" 절차를 따릅니다. 즉시 1초 동안 교반한 후 직사광선을 피해 상온에서 10분 동안 배양합니다.
5. 상온에서 150 x g로 5분 동안 원심분리합니다.
6. 흡입 시 상청액을 제거하십시오.
7. 3mL의 PBS를 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.
8. 5단계를 반복합니다.
9. 그런 다음 흡입 방식으로 상등액을 제거하고 다음을 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.

- 조제 물질을 24시간 미만으로 보관하려는 경우 0.1 %의 포름알데히드가 함유된 0.5mL 또는 1mL의 PBS. (0.1 % 포름알데히드 PBS는 12.5µL의 IOTest 3 고정액(참조 A07800)을 1mL의 PBS에 10X 농도로 희석하여 얻을 수 있습니다).
- 조제 물질을 2시간 이내에 분석하려는 경우 포름알데히드가 없는 0.5mL 또는 1mL의 PBS.

참고: 조제물은 항상 빛을 피해 2~8°C로 유지하십시오.

예상 수치

실험실에서 25명의 건강한 공여자의 전혈 검체를 위에 설명된 시약을 사용하여 처리했습니다. 이 시약에서 관심 대상의 양성 이벤트 수 계산을 위해 얻은 결과는 아래 표와 같습니다.

양성 표적	번호	평균(%)	표준편차	CV(%)
림프구	25	67.94	11.93	17.56

위 값은 전형적인 값으로만 참고해야 합니다. 각 실험실은 소재 지역의 정상 공여자 집단을 통해 고유한 예상값을 설정해야 합니다.

성능

성능 데이터는 위에 설명한 절차를 이용하여 이전에 EDTA 염을 항응고제로 하여 무균 튜브에서 수집한 지 24시간 미만인 혈액 검체로 획득합니다. 분석은 면역염색 후 2시간 이내에 수행됩니다.

특이도

인간 T 세포는 항원에 대한 T-세포 수용체(TcR)를 통해 숙주 HLA 분자 맥락에서 외래 항원을 인식합니다(5, 6, 7). TCR은 상호 배타적인 방법으로 세포 표면에 존재하는 α-β 또는 γ-δ 이질이합체로 구성된 인식 단위와, 항원이 인식 단위를 점유할 때 T 세포를 촉발하며 α-β 및 γ-δ 이질이합체에 공통되는 형질도입 단위 CD3 복합체의 두 가지 단위로 구성된 분자 복합체입니다.

인식 단위는 가능한 외래 항원을 인식하며, 이러한 인식 기능에 필요한 다양성은 TcR 유전자의 체세포 재조합을 통해 생성됩니다. TcR 유전자자리는 4가지가 있습니다(α, β, γ 및 δ). 각 유전자자리는 여러 V(가변) 분절, 약 90개 아미노산의 코드, 아주 짧은 D(다양성) 분절(α 및 δ 유전자자리만 해당), 짧은 J(연결) 분절(약 15개 아미노산) 및 1~2개의 C(상수) 분절로 구성됩니다(8, 9, 10, 11). IP26A 항체는 인간 TcR 복합체 α/β 사슬의 단형 결정인자를 인식합니다(12, 13).

정밀도

양성 비율 값은 전혈을 사용하여 측정되었습니다. 각 검체는 2개의 Anti-TCR PAN α/β-PE 단일 클론 항체 시약 로트를 사용하여 2개의 장비에서 하루 동안 일일 2회씩 4번 실행되었습니다. 측정값(양성 비율)은 Navios 유세포 분석기로 도출했습니다. 분석은 CLSI 방법 EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods(정량적 측정 방법의 정밀도 성능 평가)를 기반으로 수행했습니다.

허용 기준은 각 집단에서 측정한 양성 이벤트 수에 따라 다릅니다.

- 양성 이벤트 수가 < 1,500인 경우 CV < 15 %
- 양성 이벤트 수가 > 1,500인 경우 CV < 10 %

림프구							
양성 이벤트 수(평균) = 6178							
	작업자 간	유세포 분석기 간	로트 내	로트 간	실행 간	실행 내	총계
CV(%)	0.22	0.36	0.72	0.34	0.21	0.65	0.87
결과	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

정확도

Anti-TCR PAN α/β-PE의 정확도는 그 결과를 Navios 유세포 분석기로 처리된 전혈 세포 검체에 공인 참조 시약을 가한 값과 비교하여 평가했습니다. 검사 시약과 참조 시약 간 바이어스는 검사 결과 간 차이를 기반으로 지정되었습니다. 바이어스가 허용 가능한 오차 범위 내에 있거나 p-값이 유의한 차이를 나타내지 않는 경우(> 0.05) 두 시약의 검사 결과는 동일한 것으로 간주됩니다.

얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

공여자 수 = 25				
양성 표적	평균 Δ	Δ % 세포 기준	p-값	결과
림프구	-1.26	<5	0.208	PASS

공시료 최저 검출한계 및 검출한계

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures(CLSI EP17-A2, 임상 실험실 측정 절차에 대한 검출 능력 평가)에 따라 연구를 실시했습니다. 검출한계(LoD)는 일관되게 검출 가능한 분석물질의 최저 농도입니다. 얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

Positive Target	공시료 최저 검출한계(세포/µL)	검출한계(세포/µL)
림프구	4	6

한계

1. 유세포 분석기가 완벽하게 정렬되지 않은 경우, 형광 누출이 올바르게 보정되지 않은 경우 또는 영역 위치를 신중하게 지정하지 않은 경우 유세포 분석법에서 잘못된 결과가 나올 수 있습니다.
2. 이 시약은 "비세척" 용해 기법에 최적화되지 않았으므로 세척 단계를 포함한 적혈구 용해법을 사용하는 것이 바람직합니다.
3. 사용한 절차가 동봉된 기술 책자의 내용을 따르고 실험실 모범 사례와 호환되는 경우 정확하고 재현 가능한 결과를 얻을 수 있습니다.
4. 이 시약의 결합 항체는 최상의 특이/비특이 신호비를 제공하도록 보정됩니다. 그러므로 모든 검사에서 시약의 용적/검체 용적 비율을 준수하는 것이 중요합니다.
5. 과백혈구 증가증의 경우 혈액을 PBS에 희석하여 대략 백혈구 5 x 10^9개/L 값을 얻어야 합니다(14).
6. 심한 신부전 또는 혈색소병증 같은 특정 질병 상태에서 적혈구의 용해는 느리거나 불완전하거나 심지어는 불가능할 수도 있습니다. 이러한 경우 염색 전에 밀도 구배(예: Ficoll)를 사용하여 단핵구 세포를 분리하는 것이 좋습니다(15).
7. 항 인간 단일 클론 항체 요법으로 치료받은 환자에서, 특이 표적 항원의 검출이 치료 항체에 의한 일부 또는 전체 차단으로 인해 감소하거나 이루어지지 않을 수 있습니다.
8. Anti-TCR PAN α/β-PE 결과는 증상, 병력, 추가 검사 데이터, 기타 적절한 정보 등 환자의 모든 임상 증상을 고려하여 해석해야 합니다.

예시와 참고 자료는 부록을 참조하십시오.

상표

본 문서에 포함된 Beckman Coulter, 스타일 로고, Beckman Coulter 제품 및 서비스 마크는 미국 및 기타 국가에서 Beckman Coulter, Inc.의 상표이거나 등록 상표입니다.

추가 정보

유럽 연합 및 이와 동일한 규정 체제(EU 규정 2017/746, 체외 진단용 의료 기기 관련)를 사용하는 국가에 거주하는 환자/사용자/타사의 경우, 이 장치의 사용 중이나 사용으로 인해 심각한 상황이 발생했다면 제조업체 및/또는 공인 담당자와 해당 국가의 담당 기관에 신고하십시오.

Summary of Safety and Performance(안전성 및 성능에 관한 개요)는 ec.europa.eu/tools/eudamed 주소의 EUDAMED 데이터베이스에서 확인할 수 있습니다.

개정 이력

개정판 AD:	출시일: 2019년 10월

개정	**발행 날짜**
AW	2022년 2월
Beckman Coulter 글로벌 라벨 지정 정책 및 IVD-R (EU) 2017/746 요건에 따라 업데이트했습니다.	
추가된 섹션	BSI 2797 번호, 대상 사용자, 임상적 관련성, 농도, 정밀도, 정확도, 공시료 최저 검출한계 및 검출한계, 추가 정보, 개정 이력.
추가된 정보	한계 섹션 참조
언어적 표현이나 글자 배치를 업데이트했습니다.	절차, 성능, 한계, 경고 및 주의 사항, 보관 및 안정성 섹션을 참조하십시오.
삭제된 섹션	임상 용도의 예, 시약, 실험실 내 재현성, 직선성
업데이트된 섹션	사용목적, GHS 유해물질 등급, 성능 저하 증거, 절차, 부록.

개정	**발행 날짜**
AX	4월 2023
업데이트된 섹션	카자흐어 추가
업데이트된 섹션	보관 및 안정성

개정된 버전	AY
개정 날짜	5월 2024
업데이트된 번역	**임상적 관련성:**
업데이트된 섹션	개정 이력

개정된 버전	AZ
개정 날짜	7월 2024
업데이트된 섹션	개정 이력

기호 목록

기호 용어집은 beckman.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다(문서 번호 B60062)

	Spesifikasyonlar
Özgüllük	TCR α/β
Klon	IP26A
Hibridoma	NS1 x balb/c
İmmünojen	T cell clone
Immunoglobulin	IgG1
Türler	Fare
Arıtma	Afinite kromatografisi
Florokrom	R Phycoerythrin
Molar oran	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ eksitasyonu	488 nm
Emisyon piki	575 nm
Tampon	PBS pH 7,2 artı 2 mg/mL BSA ve %0,1 NaN_3

IOTest
Konjuge Antikor
Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 test; 1 mL, 20 µL/test

***İn vitro* diagnostik kullanım içindir.**

KULLANIM AMACI

Bu florokrom konjuge antikor, akış sitometrisi kullanılarak insan biyolojik örneklerinde var olan TCR α/β antijenini eksprese eden hücre popülasyonlarının otomatik olmayan ve kalitatif tanımlamasına olanak tanır (aşağıdaki "Örnekler" bölümüne bakın).

İLKE

Bu test, spesifik monoklonal antikorların lökositler tarafından eksprese edilen antijenik belirleyicilere bağlanabilmesine dayanmaktadır.

Lökositlerin spesifik boyaması, örnek, IOTest reaktifi ile inkübe edilerek gerçekleştirilir. Sonra kırmızı hücreler parçalanarak giderilir ve bu işlemden etkilenmeyen lökositler, akış sitometrisi ile analiz edilir.

Akış sitometrisi ışık difüzyonunu ve hücre floresanını ölçer. Bu durum, ilgili popülasyonun, ışığın ortogonal difüzyonu (Yana Yayılma veya SS) ve dar açılı ışığın difüzyonu (İleri Yayılma veya FS) ile ilişkilendirilen histogram üzerinde tanımlanmış elektronik pencerede sınırlanmasını sağlar. Sitometredeki farklı parametrelerden ikisini birleştiren diğer histogramlar, kullanıcının seçtiği uygulamaya bağlı olarak kapılama aşamasında destek olarak kullanılabilir.

Sınırlı hücrelerin floresanı analiz edilerek pozitif boyalı olaylar boyasızlardan ayrılır. Sonuçlar pozitif olayların geçiş ile edinilmiş tüm olaylara yüzdesi olarak ifade edilir.

HEDEF KULLANICI

Bu ürün, laboratuvarda profesyonel kullanım için tasarlanmıştır.

KLİNİK GEÇERLİLİK

Anti-TCR PAN α/β-PE, akış sitometrisiyle TCR α/β antijenini eksprese eden hücreleri tanımlamak ve karakterize etmek amacıyla kullanılan bir Anti-TCR PAN α/β antikorudur. Bu ürün tek başına, herhangi bir tanı sonucu oluşturamaz ve tanı sonucu oluşturmak üzere tasarlanmamıştır.

Bu ürün, diğer belirteçlerle birlikte kullanıldığında aşağıdaki işlevlerden biri veya daha fazlası için kullanılabilir:

- Hematopoetik neoplazmı olduğundan şüphelenilen hematolojik olarak anormal hastalarda ayırıcı tanıya yardımcı olmak ve bilinen hematopoetik neoplazmı olan hastaları izlemek için.

Şu referanslara bakın:

1; 2; 3; 4

ÖRNEKLER

Antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüpler kullanılarak venöz kan alınmalıdır.

Örnekler oda sıcaklığında (18-25°C) tutulmalı ve çalkalanmamalıdır. Örnekler test örneği alınmadan önce hafifçe çalkalanarak homojenize edilmelidir.

Örnekler venipunktür sonrası 24 saat içinde analiz edilmelidir.

KONSANTRASYON

Lota özel Analiz Sertifikası için www.beckman.com adresine bakın.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. Reaktifi son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
2. Dondurmayın.
3. Kullanmadan önce oda sıcaklığına (18-25°C) getirin.
4. Işığa maruz kalmasını en aza indirin.
5. Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonundan kaçının yoksa yanlış sonuçlar oluşabilir.
6. Sodyum azid (NaN_3) içeren antikor solüsyonları dikkatle işlenmelidir. Yutmayın ve cilt, mukoza ve gözlerle temasından kaçının.

   Ayrıca, asit ortamında, sodyum azid potansiyel olarak tehlikeli hidrazoik asit oluşturabilir. Atılması gerekiyorsa, metal borularda sodyum azid birikmesini ve patlama riskini önlemek için, reaktifin drenaj sistemine dökülmeden önce çok miktarda suyla seyreltilmesi önerilmektedir.
7. Tüm kan örnekleri potansiyel olarak bulaşıcı olarak kabul edilmeli ve dikkatle ele alınmalıdır (özellikle koruyucu eldiven, önlük ve gözlük takılmalıdır).

8. Asla ağızla pipetleme yapmayın ve örneklerin cilt, mukoza veya gözle herhangi bir şekilde temas etmesini önleyin.
9. Taşıma için kullanılan kan tüpleri ve tek kullanımlık malzeme, yakma amacıyla özel kaplara atılmalıdır.
10. Reaktifler ve atıklar yerel gereksinimlere göre elimine edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır

SDS Güvenlik Bilgi Formuna beckmancoulter.com/techdocs adresinden ulaşılabilir

SAKLAMA VE STABİLİTE

Bu reaktifin, şişe açılmadan önce ve açıldıktan sonra 2 ile 8°C arasında tutulması ve ışıktan korunması gereklidir.

Stabilite çalışması için şişe raf ömrü: 1095 gün.

Açılan şişenin stabilitesi: reaktif 180 gün stabildir.

BOZULMA GÖSTERGESİ

Reaktiflerin fiziksel görünümündeki herhangi bir değişiklik bozulmayı gösterebilir ve reaktif kullanılmamalıdır.

Ek bilgi almak isterseniz veya aldığınız ürün hasarlı çıktıysa, 800-742-2345 numaralı telefondan (ABD veya Kanada) Beckman Coulter Müşteri Hizmetlerini arayın veya yerel Beckman Coulter Temsilcinizle temas kurun.

İÇİNDEKİLER

Sodyum azid koruyucu maddesi metal kanalizasyon hatlarında patlayıcı bileşimler oluşturabilir. NIOSH Bültenine bakın: Explosive Azide Hazard (Patlayıcı Azide Tehlikesi) (16.8.76).
Azid bileşenlerinin olası birikimini engellemek amacıyla, seyreltilmemiş reaktifi çöpe attıktan sonra atık borularını bol suyla yıkayın. Sodyum azid, uygun yerel düzenlemelere göre çöpe atılmalıdır.

GEREKLİ OLAN ANCAK KİT İLE BİRLİKTE VERİLMEYEN MALZEMELER:

- Numune alma tüpleri ve numune alma için gerekli malzemeler.
- 20, 100 ve 500 µL için tek kullanımlık uçlu otomatik pipetler.
- Plastik hemoliz tüpleri.
- Lizis sonrası yıkama aşamasıyla birlikte eritrosit lizis reaktifi. Örneğin: VersaLyse (Ref. A09777).
- Lökosit fiksasyon reaktifi. Örneğin: IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonu (Ref. A07800).
- İzotip kontrolüPE: IOTest reaktifi (Ref. A07796).
- Tampon (PBS: 0,01 M sodyum fosfat; 0,145 M sodyum klorür; pH 7,2).
- Santrifüjleyin.
- Otomatik karıştırıcı (Vorteks tipi).
- Akış sitometresi.

VERSALYSE REAKTİFİ İLE PROSEDÜR

Analiz edilen her örnek için test tüpüne ek olarak, hücrelerin izotip kontrolü varlığında karıştırıldığı bir kontrol tüpü eklenebilir (Ref. A07796).

1. Her test tüpüne 20 µL spesifik IOTest konjuge antikor ve gerekirse, her kontrol tüpüne, 20 µL izotip kontrolü ekleyin.
2. Her bir tüpe 100 µL test örneği ekleyin. Tüpleri yavaşça vorteksleyin.
3. Oda sıcaklığında (18-25°C) ışıktan koruyarak 15-20 dakika boyunca inkübe edin.
4. Ardından kırmızı hücrelerin lizisini gerçekleştirin. VersaLyse (Ref. A09777) broşürüne bakın ve tercihen "birlikte kullanılan fiksasyon ile" adlı, doğaçlama hazırlanan 1 mL "Fiksasyon ve Lizis" karışımını eklemeyi içeren prosedürü izleyin. Hemen bir saniye boyunca vorteksleyin ve ışıktan koruyarak, 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
5. Oda sıcaklığında 5 dakika 150 x g hızda santrifüjleyin.
6. Aspirasyon ile üst fazı alın.
7. 3 mL PBS kullanarak hücre peletini yeniden süspanse edin.
8. Adım 5'i tekrarlayın.
9. Yüzer maddeyi aspirasyonla alın ve hücre topağını şunu kullanarak yeniden süspanse edin:

- Preparatlar 24 saatten az tutulacaksa, 0,5 mL veya 1 mL PBS'nin yanı sıra %0,1 formaldehit. (%0,1 formaldehit PBS, 1 mL PBS içinde 10X konsantre IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonundan (Ref. A07800) 12,5 µL seyreltilerek elde edilebilir).
- 0,5 mL veya 1 mL PBS formaldehidsiz, preparatlar 2 saat içinde analiz edilmelidir.

Not: Tüm durumlarda, preperatlar 2 ile 8°C arasında tutulmalı ve ışıktan korunmalıdır.

BEKLENEN DEĞERLER

Laboratuvarlarımızda, yukarıda açıklanan reaktif kullanılarak sağlıklı görünen 25 donörün tam kan örnekleri işlenmiştir. Bu reaktif ile ilgi konusu pozitif olayların sayısı için elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir:

Pozitif Hedef	Sayı	Ortalama (%)	SS	VK (%)
Lenfositler	25	67,94	11,93	17,56

Bu değerlerin sadece temsili olması amaçlanmaktadır. Her laboratuvar normal donörlerden oluşan yerel popülasyonunda kendi beklenen değerlerini oluşturmalıdır.

PERFORMANS

Performans verileri, antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüplerde daha önce toplanan, 24 saatten eski olmayan kan örnekleri üzerinde yukarıdaki prosedür kullanılarak elde edilmiştir. İmmün boyamayı takiben 2 saat içinde analiz gerçekleştirilir.

ÖZGÜLLÜK

İnsan T hücreleri, antijene yönelik T hücre reseptörü (TcR) aracılığıyla konak HLA molekülleri bağlamında yabancı antijenleri tanır (5, 6, 7). TcR'ler iki birimden oluşan moleküler komplekslerdir: hücre yüzeyinde birbirini dışlayan şekilde bulunan α-β veya γ-δ heterodimerinden oluşan bir tanıma ünitesi ve tanıma ünitesine antijen bağlandığı zaman T hücresini tetikleyen, α-β veya γ-δ heterodimerleri için ortak CD3 kompleksi olan bir transdüksiyon ünitesi.

Tanıma üniteleri olası yabancı antijeni tanır ve bu tanıma fonksiyonu için gerekli olan çeşitlilik, TcR genlerinin somatik rekombinasyonu ile elde edilir. Dört TcR gen lokusu mevcuttur (α, β, γ ve δ). Her biri, yaklaşık 90 amino asidi kodlayan çeşitli V (değişken yerine) segmentleri, çok kısa D (farklılık yerine) segmentleri (yalnızca α ve δ loci) ve kısa J (birleşme yerine) segmentleri (yaklaşık 15 amino asit) ile bir ya da iki C (sabit yerine) segmentinden oluşur (8, 9).1011 IP26A antikoru, TcR kompleksinin insan α/β zincirinin bir monomorfik determinantını tanır (12, 13).

KESİNLİK

Yüzde pozitif değerler, Tam Kan kullanılarak belirlenmiştir. Her örnek, 2 lot Anti-TCR PAN α/β-PE Monoklonal Antikor Reaktifleri kullanılarak 2 cihazda 1 gün için günde iki kez olmak üzere 4 kez çalışılmıştır. Ölçümler (% pozitif) Navios akış sitometresinde yapılmıştır. Analiz, CLSI yöntemi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kantitatif Ölçüm Yöntemlerinin Kesinlik Performansına İlişkin Değerlendirme) temelinde yürütülmüştür.

Kabul kriterlerimiz, her popülasyon için ölçülen pozitif olay sayısına bağlıdır:

- Pozitif olay <1.500, VK <%15 ise
- Pozitif olay >1.500, VK <%10 ise

Lenfositler							
Pozitif olay sayısı (Ortalama)=6178							
	Kullanıcılar arası	Sitometreler arası	Lot içi	Lotlar arası	Çalışmalar arası	Çalışma içi	Total
VK (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
SONUÇLAR	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOĞRULUK

Anti-TCR PAN α/β-PE doğruluğu, bir Navios akış sitometresinde çalışılan tam kan örnekleri grubunda esas alınan bir referans reaktifle sonuçlar karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Test ve referans reaktif arasındaki sapma, test sonuçları arasındaki fark temelinde belirlenmiştir. Sapma, izin verilen hata aralığı dahilindeyse veya p değeri anlamlı fark göstermediğinde (>0,05), iki reaktif için test sonuçlarının eşdeğer olduğu kabul edilir.

Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Donör sayısı=25				
Pozitif Hedef	Ortalama Δ	Δ % Hücre kriteri	p değeri	SONUÇLAR
Lenfositler	-1,26	<5	0,208	PASS

KÖR LİMİTİ VE TESPİT LİMİTİ

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klinik Laboratuvar Ölçüm Prosedürleri için Tespit Kabiliyetinin Değerlendirilmesi) ile uyumlu bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Tespit Limiti (LOD), tutarlı olarak tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonudur. Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Positive Target	Kör Limiti (hücre/µL)	Tespit Limiti (hücre/µL)
Lenfositler	4	6

SINIRLAMALAR

1. Akış sitometrisi, sitometre mükemmel şekilde hizalanmadıysa, floresan sızıntıları doğru şekilde telafi edilmediyse ve bölgeler dikkatli bir şekilde konumlandırılmadıysa yanlış sonuçlar üretebilir.
2. Bu reaktif "yıkamasız" parçalama teknikleri için optimize edilmediğinden, yıkama adımı içeren bir RBC parçalama tekniği kullanılması tercih edilir.
3. Kullanılan prosedürler teknik bilgi broşürüne uygun olduğu ve iyi laboratuvar uygulamalarına uygun olduğu sürece doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilecektir.
4. Bu reaktifin konjugat antikoru, en iyi spesifik sinyal/spesifik olmayan sinyal oranını sunacak şekilde kalibre edilir. Bu nedenle her testte reaktif hacmi/örnek hacmi oranına bağlı kalmak önemlidir.
5. Hiperlökositoz durumunda yaklaşık 5 x 10^9 lökosit/L (14) değerini elde etmek için kanı PBS içinde seyreltin.
6. Şiddetli böbrek yetmezliği veya hemoglobinopatiler gibi bazı hastalık durumlarında, eritrosit lizisi yavaş, eksik ve hatta imkansız olabilir. Bu durumda mononükleotidli hücrelerin boyama öncesinde yoğunluk gradyanı (örneğin Ficoll) kullanılarak izole edilmesi önerilmektedir (15).
7. Anti-insan monoklonal antikor terapisi ile tedavi edilen hastalarda, terapötik antikorun kısmi veya tam engellemesi nedeniyle spesifik hedeflenen antijenlerin tespiti azalabilir veya yapılamayabilir.
8. Anti-TCR PAN α/β-PE sonuçları; semptomlar, klinik öykü, ilave testlerden elde edilen veriler ve diğer uygun bilgiler dahil olmak üzere hastanın genel klinik tablosu dikkate alınarak yorumlanmalıdır.

Örnekler ve referanslar için Ek'e bakın.

TİCARİ MARKALAR

Bu belgede belirtilen Beckman Coulter, stilize logo ve Beckman Coulter ürün ve hizmet markaları, Beckman Coulter, Inc. firmasının ABD'de ve diğer ülkelerdeki ticari veya tescilli ticari markalarıdır.

EK BİLGİLER

Avrupa Birliği'nde ve aynı düzenleme rejiminin olduğu ülkelerdeki (In Vitro Diagnostik Tıbbi Cihazlar hakkında 2017/746/EU sayılı Yönetmelik) hasta/kullanıcı/üçüncü taraflar için; bu cihazın kullanımı sırasında veya cihazın kullanımının bir sonucu olarak ciddi bir olay meydana gelirse lütfen olayı üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makamınıza bildirin.

Summary of Safety and Performance (Güvenlik ve Performans Özeti) EUDAMED veritabanında mevcuttur: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVİZYON GEÇMİŞİ

REVİZYON AD:	Yayınlanma tarihi: Ekim 2019

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AW	Şubat 2022
Beckman Coulter Global Etiketleme Politikasıyla uyumluluk sağlamak için ve IVD-R (AB)2017/746 gerekliliklerine göre güncellemeler yapıldı:	
Bölümler eklendi	BSI 2797 Numarası, Hedef Kullanıcı, Klinik Anlam, Konsantrasyon, Kesinlik, Doğruluk, Kör limiti ve tespit limiti, Ek Bilgiler, Revizyon Geçmişi.
Bilgi eklendi	Sınırlamalar bölümlerine bakın
İfade veya yazım güncellemeleri	Prosedür, Performans, Sınırlamalar, Uyarılar ve Önlemler, Saklama ve Stabilite bölümlerine bakın.
Bölümler kaldırıldı	Klinik uygulama örneği, Reaktifler, Laboratuvar içi yeniden üretilebilirlik, Linearite
Güncellenmiş bölümler	Kullanım Amacı, GHS Tehlike Sınıflandırması, Bozulma Göstergesi, Prosedür, Ek.

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AX	Nisan 2023
Güncellenmiş bölümler	Kazakça ekle
Güncellenmiş bölümler	Saklama ve stabilite

Düzeltilmiş Sürüm	AY
Revizyon Tarihi	Mayıs 2024
Güncellenmiş Çeviriler	**Klinik önemi:**
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Düzeltilmiş Sürüm	AZ
Revizyon Tarihi	Temmuz 2024
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Sembol Anahtarı

Semboller Sözlüğü beckman.com/techdocs adresinde bulunabilir (belge numarası B60062)

	Спецификации
Специфичность	TCR α/β
Клон	IP26A
Гибридома	NS1 x balb/c
Иммуноген	T cell clone
Иммуноглобулин	IgG1
Вид	Мышь
Очистка	Аффинная хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin
Молярное отношение	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Возбуждение λ	488 nm
Пик эмиссии	575 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 мг/мл БСА и 0,1% NaN_3

Конъюгированное антитело IOTest Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 тестов, 1 мл, 20 мкл/тест

Для диагностики *in vitro*.

НАЗНАЧЕНИЕ

Это конъюгированное с флуорохромом антитело позволяет с использованием проточной цитометрии выполнить качественное и не автоматизированное определение клеточных популяций, экспрессирующих антиген TCR α/β, который присутствует в биологических пробах человека (см. раздел «Пробы» ниже).

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Данный тест основан на способности специфических моноклональных антител связывать антигенные детерминанты, экспрессированные лейкоцитами.

Специфическое окрашивание лейкоцитов выполняется путем инкубирования пробы с реагентом IOTest. Затем методом лизиса удаляются эритроциты, и выполняется анализ лейкоцитов, не затронутых этим процессом, методом проточной цитометрии.

Проточный цитометр измеряет светорассеяние и флуоресценцию клеток. Это дает возможность разграничения интересующей популяции в электронном окне, определенном на гистограмме, что коррелирует с ортогональным светорассеянием (боковое рассеяние, или SS) и рассеянием света под острым углом (прямое рассеяние, или FS). Другие гистограммы, сочетающие два из других параметров, доступных на цитометре, могут использоваться как вспомогательные на стадии селекции, в зависимости от приложения, выбранного пользователем.

Флуоресценцию разграниченных клеток анализируют с целью различения положительно-окрашенных и неокрашенных событий. Результаты выражаются в виде процентного отношения положительных событий ко всем событиям, полученным в ходе селекции.

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ

Изделие предназначено для использования в лаборатории персоналом с профессиональной подготовкой.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Anti-TCR PAN α/β-PE представляет собой антитело к Anti-TCR PAN α/β, используемое для идентификации и определения характеристик клеток, экспрессирующих антиген TCR α/β, методом проточной цитометрии. Этот продукт отдельно от других исследований не может приводить к принятию каких-либо диагностических решений и не предназначен для этого.

При использовании в сочетании с другими маркерами этот продукт может использоваться в следующих целях.

- Для использования при дифференциальной диагностике пациентов с отклонениями гематологических результатов (при подозрении на наличие гематопоэтических новообразований), а также для мониторинга пациентов с известным гематопоэтическим новообразованием.

См. следующие ссылки:

1; 2; 3; 4

ПРОБЫ

При взятии образца венозной крови необходимо использовать стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта.

Пробы следует хранить при комнатной температуре (18–25°C), не встряхивая. Пробы следует гомогенизировать, осторожно перемешав, до отбора тестовой пробы.

Пробы требуется проанализировать в течение 24 ч после венипункции.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

См. специфический для партии сертификат анализа на веб-сайте www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Не используйте реагенты после истечения срока годности.
2. Не замораживать.
3. Перед использованием довести до комнатной температуры (18–25°C).
4. Минимизируют воздействие света.
5. Во избежание получения ошибочных результатов не допускайте микробной контаминации реагентов.
6. Следует с осторожностью обращаться с растворами антител, содержащими натрия азид (NaN_3). Не принимайте внутрь и избегайте любого контакта с кожей, слизистыми оболочками и глазами.

Кроме того, в кислой среде натрия азид может образовывать потенциально опасную азотистоводородную кислоту. Если требуется утилизация, рекомендуется разводить реагент в большом объеме воды, прежде чем выливать его в канализацию, чтобы избежать накопления натрия азида в металлических трубах и исключить возможность взрыва.

7. Все пробы крови должны считаться потенциально инфицированными, при обращении с ними необходимо соблюдать осторожность (в частности, использовать защитные перчатки, одежду и очки).
8. Никогда не пипетируйте ртом и избегайте любого контакта проб с кожей, слизистыми и глазами.
9. При утилизации пробирок и одноразовых материалов следует использовать специальные предназначенные для сжигания контейнеры.
10. При утилизации реагентов и отходов необходимо следовать требованиям местного законодательства.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Не классифицируется как опасное вещество

SDS Паспорт безопасности доступен на сайте beckmancoulter.com/techdocs

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Этот реагент требуется хранить при температуре от 2 до 8°C, защищая от света, до и после вскрытия флакона.

Срок хранения закрытого флакона согласно исследованию стабильности: 1095 день.

Стабильность в открытом флаконе: реагент сохраняет стабильность в течение 180 дн.

ПРИЗНАКИ ПОРЧИ

Любые изменения внешнего вида реагентов могут говорить о порче, использовать такой реагент не следует.

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь со своим местным представителем Beckman Coulter.

СОДЕРЖАНИЕ

Консервант с содержанием азида натрия может образовывать взрывоопасные соединения в металлической водопроводной арматуре. См. бюллетень Национального института по охране труда и промышленной гигиене (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Взрывоопасные азиды) (16.8.76). Чтобы избежать накопления азидных соединений, промывайте сливные трубы водой после сброса неразбавленного реагента. Утилизацию азида натрия следует проводить в соответствии с соответствующими местными нормами.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, КОТОРЫЕ НЕ ВХОДЯТ В НАБОР:

- Необходимые для взятия проб пробирки и материалы.
- Автоматические пипетки с одноразовыми наконечниками для 20, 100 и 500 мкл.
- Пластиковые пробирки для гемолиза.
- Реагент для лизиса эритроцитов с этапом промывки после лизиса. Например: VersaLyse (ссылочный номер A09777).
- Реагент для фиксации лейкоцитов. Например: IOTest 3 Fixative Solution (фиксирующий раствор) (ссылочный номер A07800).
- Изотипический контроль -PE: Реагент IOTest (ссылочный номер A07796).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрия фосфата; 0,145 M натрия хлорида; pH 7,2).
- Центрифугируйте.
- Автоматическая мешалка (вортексная)
- Проточный цитометр.

ПРОЦЕДУРА С РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для каждой анализируемой пробы в дополнение к тестовой пробирке можно добавить одну контрольную пробирку, в которой клетки смешаны в присутствии изотипического контроля (ссылочный номер A07796).

1. В каждую тестовую пробирку добавьте по 20 мкл специфического конъюгированного антитела IOTest, а в каждую контрольную пробирку — по 20 мкл изотипического контроля, если необходимо.
2. Добавьте 100 мкл тестовой пробы в каждую пробирку. Аккуратно перемешайте пробирки на вортексе.
3. Инкубируют при комнатной температуре (18–25°C) в течение 15-20 мин, в защищенном от света месте.
4. Затем выполняют лизис эритроцитов. См. вкладыш VersaLyse (ссылочный номер A09777) и, предпочтительно, следуйте процедуре с названием «с сопутствующей фиксацией», которая заключается в добавлении 1 мл смеси «Фиксирующей и лизирующей», приготовленной для немедленного применения. Немедленно перемешивают на вортексе в течение одной секунды и инкубируют в течение 10 минут при комнатной температуре, защищая от света.
5. Центрифугируют в течение 5 минут при 150 g при комнатной температуре.
6. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации.
7. Ресуспендируют осадок клеток, используя 3 мл PBS.
8. Повторите шаг 5.
9. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации и ресуспендируют осадок клеток, используя:

- 0,5 мл или 1 мл PBS плюс 0,1% формальдегида, если препараты следует хранить менее 24 ч. (PBS с 0,1% формальдегида можно получить путем разведения 12,5 мкл фиксирующего раствора IOTest 3 (ссылочный номер A07800) в 10-кратной концентрации в 1 мл PBS).
- 0,5 мл или 1 мл PBS без формальдегида, если препараты следует проанализировать в течение 2 ч.

Примечание. В обязательном порядке защищайте подготавливаемые материалы от солнечного света, храните их при температуре от 2 до 8°C.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В наших лабораториях пробы цельной крови от клинически здоровых доноров (количество доноров: 25) были обработаны с использованием описанного выше реагента. Результаты, полученные для количества положительных интересующих явлений с этим реагентом, приводятся в таблице ниже:

Положительная мишень	Число	Среднее (%)	SD	CV (%)
Лимфоциты	25	67,94	11,93	17,56

Эти значения используются только в качестве примера. В каждой лаборатории должны быть установлены собственные диапазоны ожидаемых значений с учетом проб нормальных доноров из числа местного населения.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Рабочие характеристики получены с использованием описанной выше процедуры на пробах, собранных не ранее чем за 24 часа до анализа в стерильные пробирки с солью ЭДТА как антикоагулянтом. Анализ проводится в течение 2 часов после иммуноокрашивания.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Т-клетки человека распознают посторонние антигены в контексте принимающих HLA-молекул через Т-клеточный рецептор для антигена (TcR) (5, 6, 7). TcR – это молекулярные комплексы, которые содержат две единицы: распознающую, состоящую из α-β или из γ-δ гетеродимеров, присутствующих на поверхности клеток взаимно исключающим образом, и трансдуцирующую единицу, комплекс CD3, общий для α-β и γ-δ гетеродимеров, инициирующий Т-клетки, когда распознающая единица занимается антигеном.

Распознающие единицы распознают возможные инородные антигены, и разнообразие, необходимое для этой функции распознавания, создается соматической рекомбинацией генов TcR. Существуют четыре генных локуса TcR (α, β, γ и δ). Каждый из них состоит из нескольких сегментов V (для обеспечения вариабельности), кодирующих приблизительно 90 аминокислот, очень коротких сегментов D (отвечающих за разнообразие) (только локусы α и δ) и коротких сегментов J (связывающих) (около 15 аминокислот) и одного или двух сегментов C (постоянных) (8, 9, 10, 11). Антитело IP26A распознает мономорфный детерминант цепочки α/β человека из комплекса TcR(12, 13).

ПРЕЦИЗИОННОСТЬ

Процент положительных результатов был установлен с использованием цельной крови. Каждую пробу измеряли 4 раза, два раза в день в течение 1 дня на 2 приборах, с использованием 2 партий реагентов моноклональных антител Anti-TCR PAN α/β-PE. Измерения (% положительных) выполняли на проточном цитометре Navios. Анализ проводился на основе метода CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оценка точности количественных методик измерения).

Наши критерии принятия зависят от количества положительных событий, измеренных для каждой популяции:

- Если положительных событий <1 500, CV <15%
- Если положительных событий >1 500, CV <10%

Лимфоциты							
Количество положительных событий (среднее) = 6178							
	Между операторами	Между цитометрами	Внутри партии	Между партиями	Между анализами	Внутри анализа	Итого
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
РЕЗУЛЬТАТЫ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТЬ

Точность Anti-TCR PAN α/β-PE оценивалась путем сравнения результатов с результатами по референсному реагенту как предикатом. Анализ выполняли на проточном цитометре Navios с использованием набора проб цельной крови. Систематическая ошибка оценки между тестовым и референсным реагентами была определена на основании различий между результатами теста. Если систематическая ошибка оценки находится в пределах допустимого диапазона ошибки или если p-значение указывает на отсутствие значительного различия (>0,05), тогда результаты теста для двух реагентов рассматриваются как эквивалентные.

Полученные результаты обобщены в таблице далее.

Количество доноров = 25				
Положительная мишень	Среднее значение Δ	Критерии Δ % клеток	p-значение	РЕЗУЛЬТАТЫ
Лимфоциты	-1,26	<5	0,208	PASS

ПРЕДЕЛ БЛАНКА И ПРЕДЕЛ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Исследование было проведено в соответствии с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Оценка способности обнаружения для методик измерения клинической лаборатории). Предел чувствительности (LOD) — наименьшая концентрация аналита, которая может последовательно обнаруживаться. Полученные результаты обобщены в таблице ниже.

Positive Target	Предел бланка (клеток/мкл)	Предел чувствительности (клеток/мкл)
Лимфоциты	4	6

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. При проведении проточной цитометрии возможно получение ложных результатов, если цитометр не был идеально позиционирован, не была проведена правильная компенсация утечек флуоресцентного агента или точное позиционирование областей.
2. Предпочтительно использовать технику лизиса RBC с шагом промывки, так как этот реагент не был оптимизирован для техник лизиса «без промывки».

3. Для получения точных и повторяемых результатов необходимо выполнять процедуры в соответствии с инструкцией-вкладышем и требованиями надлежащей лабораторной практики.
4. Выполняется калибровка конъюгированного антитела этого реагента с целью получения наилучшего для данной конкретной задачи соотношения специфичного и неспецифичного сигнала. Поэтому при каждом тесте важно придерживаться правильного соотношения объема реагента и пробы.
5. При гиперлейкоцитозе, разбавляют кровь PBS до приблизительно 5 x 10^9 лейкоцитов/л (14).
6. При определенных заболеваниях, таких как острая почечная недостаточность или гемоглобинопатии, лизис эритроцитов может протекать медленно, быть неполным или даже невозможным. В таком случае рекомендуется изолировать одноядерные клетки, используя градиент плотности (например, фиколл), перед окрашиванием (15).
7. У пациентов, получавших лечение античеловеческими моноклональными антителами, обнаружение специфических целевых антител может быть снижено или может отсутствовать вследствие частичной или полной блокировки терапевтическими антителами.
8. Результаты Anti-TCR PAN α/β-PE должны интерпретироваться с учетом общих клинических проявлений пациента, включая симптомы, историю болезни, данные дополнительных тестирований и прочую информацию.

Примеры и ссылки см. в Приложении.

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

Beckman Coulter, стилизованный логотип и упоминаемые здесь знаки продукции и услуг Beckman Coulter являются товарными знаками или зарегистрированными товарными знаками корпорации Beckman Coulter, Inc. в Соединенных Штатах и других странах.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для пациента / пользователя / третьей стороны в Европейском Союзе и в странах с идентичным регуляторным режимом (Регламент 2017/746/EC в отношении медицинских изделий для in vitro диагностики); если, во время использования этого изделия или в результате его использования произошел серьезный инцидент, сообщите о нем производителю и/или его уполномоченному представителю и своему национальному органу регулирования.

Summary of Safety and Performance (Сводные данные по безопасности и функциональным характеристикам) доступны в Европейской базе данных изделий медицинского назначения (EUDAMED): ec.europa.eu/tools/eudamed.

СВЕДЕНИЯ О ВЕРСИЯХ

ВЕРСИЯ AD:	Дата выпуска: Октябрь 2019 г.

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AW	Февраль 2022 г.
Обновления с целью приведения в соответствие политике международной маркировки Beckman Coulter и для выполнения требований IVD-R (EC)2017/746:	
Добавлены разделы	Номер BSI 2797, «Предполагаемый пользователь», «Клиническая значимость», «Концентрация», «Прецизионность», «Точность», «Предел бланка и предел чувствительности», «Дополнительная информация», «Сведения о версиях».
Добавлена информация	См. раздел «Ограничения»
Обновлены формулировки или исправлены опечатки	См. разделы «Процедура», «Эксплуатационные характеристики», «Ограничения», «Предупреждения и меры предосторожности», «Хранение и стабильность».
Удалены разделы	«Примеры клинических областей применения», «Реагенты», «Внутрилабораторная сходимость», «Линейность»
Обновленные разделы	«Назначение», «Классификация опасностей по системе СГС», «Признаки порчи», «Процедура», «Приложение».

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AX	Апрель 2023
Обновленные разделы	Добавить казахский язык
Обновленные разделы	Хранение и стабильность

Пересмотренная версия	AY
Дата пересмотра	Май 2024
Обновленные переводы	**Клиническая значимость:**
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Пересмотренная версия	AZ
Дата пересмотра	Июль 2024
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Определения символов

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (номер документа B60062)

	Spetsifikatsioonid
Spetsiifilisus	TCR α/β
Kloon	IP26A
Hübridoom	NS1 x balb/c
Immunogeen	T cell clone
Immunoglobuliin	IgG1
Liigid	Hiir
Puhastamine	Afiinsuskromotograafia
Fluorokroom	R Phycoerythrin
Molaarsuhe	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ergastumine	488 nm
Emission Peak	575 nm
Puhver	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/ml BSA ja 0,1% NaN_3

IOTest
konjugeeritud antikeha
Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 analüüsi; 1 ml, 20 µl / analüüs

***In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks.**

KASUTUSOTSTARVE

See fluorokroomiga konjugeeritud antikeha võimaldab voolutsütomeetriaga kvalitatiivselt ja mitteautomatiseeritult tuvastada rakupopulatsioone, mis esitavad inimese bioloogilistes proovides antigeeni TCR α/β (vt allpool osa „Proovid“).

PÕHIMÕTE

Analüüs põhineb spetsiifiliste monoklonaalsete antikehade võimel seonduda leukotsüütide sünteesitavate antigeensete determinantidega.

Leukotsüütide eriomaseks värvimiseks tuleb proovi koos tootesarja IOTest reagendiga inkubeerida. Seejärel eemaldatakse erütrotsüüdid lüüsimisega ja pärast seda analüüsitakse voolutsütomeetriaga leukotsüüte, mida see protsess ei mõjuta.

Läbivoolutsütomeeter mõõdab valguse hajumist ja rakkude fluorestsentsi. See muudab võimalikuks huvialuse populatsiooni piiristamise histogrammil määratud elektroonilisel alal. Histogramm korreleerib valguse ortogonaalset hajumist (külghajumine ehk KH) ja kitsasnurga valguse hajumist (edasihajumine ehk EH). Teisi histogramme, kus ühendatakse tsütomeetrias saadaolevat kahte parameetrit, võib kasutada lüüsimisetapis olenevalt kasutaja valitud rakendusest.

Piiritletud rakkude fluorestsentsi analüüsitakse, et eristada positiivselt värvitud sündmusi värvimata sündmustest. Tulemusi kajastatakse positiivsete sündmuste protsentuaalse osakaaluna kõigi väravdamisega hõivatud sündmuste suhtes.

SIHTKASUTAJA

See toode on ette nähtud laboratoorseks kasutamiseks.

KLIINILINE TÄHTSUS

Anti-TCR PAN α/β-PE on Anti-TCR PAN α/β antikeha, mida kasutatakse antigeeni TCR α/β ekspresseerivate rakkude tuvastamiseks ja kirjeldamiseks voolutsütomeetriaga. See toode üksi ei suuda ega ole mõeldud mis tahes diagnostiliste järelduste tegemiseks.

Koos teiste markeritega kasutades saab seda toodet kasutada ühes või mitmes järgmistest funktsioonidest:

- Lihtsustamaks diferentsiaaldiagnoosi panemist hematoloogiliste ebanormaalsustega patsientidele, kellel kahtlustatakse vereloome neoplasmi esinemist, ja teadaoleva vereloome neoplasmiga patsientide monitoorimiseks.

Vt järgmisi viiteid.

1; 2; 3; 4

PROOVID

Veeniverd tuleb võtta steriilsete katsutitega, mis sisaldavad antikoagulandina etüleendiamiintetraatsetaadi (EDTA) soola.

Proove tuleb hoida toatemperatuuril (18–25 °C) ja neid ei tohi raputada. Proove tuleb ühtlustada seda enne näidisproovi võtmist ettevaatlikult loksutades.

Proove tuleb analüüsida 24 tunni jooksul alates veenipunktsioonist.

KONTSENTRATSIOON

Vt partiispetsiifilist analüüsi sertifikaati veebilehelt www.beckman.com.

HOIATUS JA ETTEVAATUSABINÕUD

1. Ärge kasutage reagenti pärast aegumiskuupäeva.
2. Ärge külmutage.
3. Enne kasutamist laske tasakaalustuda toatemperatuuriga (18–25 °C).
4. Minimeerige kokkupuudet valgusega.
5. Vältige reagentide mikroobidega saastumist, vastasel juhul võite saada valed tulemused.
6. Antikehade lahuseid, mis sisaldavad naatriumasiidi (NaN_3), tuleb käsitseda ettevaatlikult. See pole mõeldud seespidiseks kasutamiseks. Vältige kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.

Lisaks võib naatriumasiid moodustada happelises keskkonnas potentsiaalselt ohtliku hüdrasoonhappe. Kui see tuleb kõrvaldada, on soovitatav lahjendada reagenti suure hulga veega, enne kui see äravoolusüsteemi valada, et vältida plahvatusohtu ja naatriumasiidi kogunemist metalltorudesse.

7. Kõiki vereproove tuleb pidada potentsiaalselt nakkusohtlikuks ja käsitseda ettevaatusega (kasutage kaitsekindaid, kitlit ning kaitseprille).
8. Ärge kunagi pipettige suuga ja vältige proovide kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.
9. Verekatsutid ja käitlemiseks kasutatav ühekordselt kasutatav materjal tuleb hävitada põletamiseks ettenähtud spetsiaalsetes konteinerites.
10. Reagendid ja jäätmed tuleb kõrvaldada vastavalt kohalikele nõuetele.

GHS-I OHUKLASSIFIKATSIOON

Ei ole klassifitseeritud ohtlikuks

SDS Ohutuskaart on saadaval saidil beckmancoulter.com/techdocs

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Seda reagenti tuleb enne ja pärast viaali avamist hoida temperatuuril 2–8 °C ning valguse eest kaitstult.

Suletud viaali säilivusaeg stabiilsusuuringu põhjal: 1095 päeva.

Avatud viaali stabiilsus: reagent on stabiilne 180 päeva.

RIKNEMISE TUNNUSED

Igasugune muutus reagentide füüsilises välimuses võib viidata reagendi riknemisele ja seda ei tohi kasutada.

Lisateabe hankimiseks või kahjustatud toote saamisel helistage Beckman Coulteri klienditeenindusse numbril 800-742-2345 (USA või Kanada) või võtke ühendust kohaliku Beckman Coulteri esindajaga.

SISU

Naatriumasiidist konservant võib moodustada metallist kanalisatsioonitorudes plahvatusohtlikke ühendeid. Vt asutuse NIOSH teadaannet. Explosive Azide Hazard (Plahvatusohtliku asiidi oht) (16.8.76).
Vältimaks võimalikku asiidiühendite akumuleerimist, loputage äravoolutorusid pärast lahjendamata reagendi kõrvaldamist. Naatriumasiidi kõrvaldamine peab olema kooskõlas asjakohaste kohalike eeskirjadega.

VAJALIKUD, KUID KOMPLEKTI MITTEKUULUVAD MATERJALID

- Proovide kogumiseks vajalikud proovivõtukatsutid ja vahendid.
- Automaatpipetid ühekordselt kasutatavate otsakutega, mis võimaldavad teisaldada 20, 100 ja 500 µl.
- Plastist hemolüüsi katsutid.
- Erütrotsüütide lüüsireagent koos pesemisetapiga pärast lüüsi. Analüüsinäide VersaLyse (viitenr A09777).
- Leukotsüütide fikseerimisreagent. Näide Tootesarja IOTest 3 fikseerimisreagent (viitenr A07800).
- Isotüübi kontrollPE: Tootesarja IOTest reagent (viitenr A07796).
- Puhver (PBS: 0,01 M naatriumfosfaat; 0,145 M naatriumkloriid; pH 7,2).
- Tsentrifuugige.
- Automaatsegisti (vibratsioonsegamise tüüpi).
- Voolutsütomeeter.

PROTSEDUUR REAGENDIGA VERSALYSE

Iga analüüsitud proovi kohta võib lisaks analüüsikatsutile lisada ühe kontrollkatsuti, milles rakud segatakse isotüübi kontrolliga (viitenr A07796).

1. Lisage igasse analüüsikatsutisse 20 µl spetsiifilist tootesarja IOTest konjugeeritud antikeha ja vajaduse korral igasse kontrollkatsutisse 20 µl isotüüpset kontrolli.
2. Lisage igasse katsutisse 100 µl analüüsiproovi. Vibratsioonsegage ettevaatlikult katsuteid.
3. Inkubeerige valguse eest kaitstult 15–20 minutit toatemperatuuril (18–25 °C).
4. Seejärel lüüsige erütrotsüüdid. Lugege VersaLyse'i (viitenr A09777) teabelehte ja järgige eelistatavalt protseduuri nimega „samaaegse fikseerimisega", mis põhineb ekstemporaalselt ettevalmistatud 1 ml segu „Fix-and-Lyse" lisamisel. Vibratsioonsegage kohe üks sekund ja inkubeerige 10 minutit toatemperatuuril valguse eest kaitstult.
5. Tsentrifuugige 5 minutit toatemperatuuril kasutades sätet 150 x g.
6. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus.
7. Taassuspendeerige rakusade PBS-is, mille kogus on 3 ml.
8. Korrake etappi 5.
9. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus ja taassuspendeerige rakugraanuleid vahendiga:

- 0,5 ml või 1 ml PBS-i ja 0,1% formaldehüüdi, kui preparaate tuleb hoida vähem kui 24 tundi. (0,1% formaldehüüdi sisaldava PBS-i saamiseks võite lahjendada 12,5 µl tootesarja IOTest 3 10x kontsentratsioonil fikseerimislahust (viitenr A07800) PBS-is, mille kogus on) 1 ml.
- 0,5 ml või 1 ml formaldehüüdita PBS-iga, kui valmissegusid analüüsitakse 2 tunni jooksul.

Märkus Preparaate tuleb alati hoida temperatuuril 2–8 °C ja valguse eest kaitstult.

OODATUD VÄÄRTUSED

Ettevõttesisestes laborites töödeldi ülalkirjeldatud reagendiga täisvere proove, mis koguti 25 tõenäoliselt tervelt doonoritelt. Alljärgnev tabel annab ülevaate selle reagendiga saadud positiivsete huvipakkuvate sündmuste loendustulemustest:

Positiivne siht	Arv	Keskmine (%)	SH	CV (%)
Lümfotsüüdid	25	67,94	11,93	17,56

Need väärtused on mõeldud üksnes näitlikena. Iga laboratoorium peaks kindlaks määrama oma oodatavad vahemikud kohaliku tavapäraste doonorite populatsiooni alusel.

TOIMIMINE

Toimimisandmed saadakse kasutades ülalkirjeldatud protseduuri vähem kui 24 tundi vanadel antikoagulandi EDTA naatriumsoolaga steriilsetesse katsutitesse kogutud vereproovidel. Analüüs tehakse 2 tunni jooksul pärast immuunovärvimist.

SPETSIIFILISUS

Inimese T-rakud tuvastavad võõrantigeenid vastuvõtvate HLA molekulide kontekstis läbi antigeeni (TcR) T-raku retseptori (5, 6, 7). TcR-id on molekulaarsed kompleksid, mis koosnevad kahest üksusest. Tuvastamisüksus koosneb kas α-β või γ-δ heterodimeeridest, mis esinevad raku pinnal üksteist välistaval viisil ning transduktsiooniüksus, CD3 kompleks, mis on levinud α-β ja γ-δ heterodimeeride puhul ja mis käivitab T-raku, kui antigeen on tuvastamisühiku hõivanud.

Tuvastamisüksus tuvastab võimalikud võõrantigeenid ja selleks tuvastusfunktsiooniks vajaliku mitmekesisuse loob TcR-geenide somaatiline rekombinatsioon. Olemas on neli TcR-geeni lookust (α, β, γ ja δ). Neist igaüks koosneb mitmest V (muutuja) segmendist, umbes 90 aminohappe kodeeringust, väga lühikestest D (mitmekesisus) segmentidest (ainult α ja δ lookus), lühikestest J (liitumine) segmentidest (umbes 15 aminohapet) ja ühest või kahest C (konstantne) segmendist (8, 9, 10, 11). See IP26A antikeha tuvastab inimese TcR-kompleksi α/β ahela monomorfse määraja (12, 13).

TÄPSUS

Positiivsete väärtuste protsent määrati täisverest. Igat proovi testiti neli korda, kaks korda päevas ühe päeva jooksul kahel analüsaatoril kahe monoklonaalsete antikehade reagentide Anti-TCR PAN α/β-PE partiiga. Mõõtmised (positiivsete %) tehti voolutsütomeetril Navios. Analüüs tehti CLSI-meetodi EP5-A2 alusel: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivsete mõõtmismeetodite toimivuse mõõtetäpsuse hindamine).

Meie sobivuskriteeriumid sõltuvad iga populatsiooni kohta mõõdetud positiivsete sündmuste arvust:

- Positiivse sündmuse korral < 1500, CV < 15%
- Positiivse sündmuse korral > 1500, CV < 10%

Lümfotsüüdid							
Positiivsete sündmuste arv (keskmine) = 6178							
	Kasutajatevaheline	Tsütomeetritevaheline	Partiisisene	Partiidevaheline	Testidevaheline	Testisisene	Kokku
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
TULEMUSED	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

MÕÕTETÄPSUS

Analüüsi Anti-TCR PAN α/β-PE mõõtetäpsust hinnati tulemuste võrdlemisel referentsreagendiga täisvere proovide kogumiga, mida analüüsiti voolutsütomeetriga Navios. Analüüsi ja referentsreagendi vaheline nihe määrati testitulemuste erinevuste põhjal. Kui nihe jääb lubatud vea piiridesse või p-väärtus ei näita statistiliselt olulist erinevust (> 0,05), peetakse kahe reagendi testitulemusi samaväärseteks.

Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis.

Doonorite arv = 25				
Positiivne siht	Keskmine Δ	Δ% raku kriteeriumid	p-väärtus	TULEMUSED
Lümfotsüüdid	-1,26	<5	0,208	PASS

NULLPIIR JA TUVASTUSPIIR

Uuriti vastavalt CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Kliinilise labori mõõtmisprotseduuride avastamisvõime hindamise) nõuetele. Tuvastuspiir (LOD) on väikseim analüüdi kontsentratsioon, mida saab järjekindlalt määrata. Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis:

Positive Target	Nullpiir (rakku/µl)	Tuvastuspiir (rakku/µl)
Lümfotsüüdid	4	6

PIIRANGUD

1. Voolutsütomeetria võib anda valed tulemused, kui tsütomeeter ei ole ideaalselt joondatud, kui fluorestsentsi lekkeid ei ole õigesti kompenseeritud ja kui piirkonnad ei ole hoolikalt paigutatud.
2. Eelistatav on kasutada pesemisetapiga RBC lüüsi tehnikat, kuna seda reagenti pole optimeeritud „pesemiseta“ lüüsi tehnikate jaoks.
3. Täpsed ja korratavad tulemused saadakse, kui kasutatavad protseduurid on kooskõlas tehnilise teabelehe ja heade laboritavadega.
4. Selle reagendi pööratud antikeha kalibreeritakse nii, et tagatud oleks parim spetsiifilise/mittespetsiifilise signaali suhe. Seetõttu on igas analüüsis oluline järgida reagendi- ja proovimahu suhet.
5. Hüperleukotsütoosi korral lahjendage verd PBS-is nii, et saadav väärtus oleks ligikaudu 5 x 10^9 leukotsüüti/l kohta (14).
6. Teatud haigusseisundite (näiteks raske neerupuudulikkuse või hemoglobinopaatia) korral võib erütrotsüütide lüüsimine olla aeglane, mittetäielik või isegi võimatu. Sellisel juhul on enne värvimist soovitatav mononukleaarsete rakkude isoleerimine tihedusgradiendi (näiteks Ficoll-gradiendi) abil (15).
7. Inimesevastaste monoklonaalsete antikehadega ravitud patsientidel võib spetsiifiliste antigeenide tuvastamise võime väheneda või puududa, sest need on terapeutiliste antikehade poolt osaliselt või täielikult blokeeritud.
8. Anti-TCR PAN α/β-PE tulemuste tõlgendamisel tuleb arvestada patsiendi terviklikku kliinilist pilti, sh sümptomeid, kliinilist anamneesi, lisaanalüüside andmeid ja muud asjakohast teavet.

Vt näiteid ja viiteid lisast.

KAUBAMÄRGID

Beckman Coulter, stiliseeritud logo ning selles juhendis nimetatud ettevõtte Beckman Coulter toote- ja teenusemärgid on ettevõtte Beckman Coulter, Inc. kaubamärgid või registreeritud kaubamärgid Ameerika Ühendriikides ja teistes riikides.

LISATEAVE

Patsiendile / kasutajale / muule osapoolele Euroopa Liidus ja identse regulatsioonirežiimiga riikides (määrus (EL) nr 2017/746 in vitro diagnostikameditsiiniseadmete kohta), kui selle seadme kasutamise ajal või selle kasutamise tagajärjel on toimunud tõsine vahejuhtum, teatage sellest tootjale ja/või tema volitatud esindajale ning teie riiklikult pädevale asutusele.

Summary of Safety and Performance (Ohutuse ja kliinilise toimivuse kokkuvõte) on EUDAMED-andmebaasis: ec.europa.eu/tools/eudamed.

VERSIOONI AJALUGU

REVISION AD:	Avaldamise kuupäev: oktoober 2019

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AW	Veebruar 2022
Värskendused, mis vastavad Beckman Coulteri ülemaailmse märgistamise poliitikale ja IVD-R (EL) 2017/746 nõuetele:	
Lisatud osad	BSI 2797 number, sihtkasutaja, kliiniline tähtsus, kontsentratsioon, täpsus, mõõtetäpsus, nullpiir ja tuvastuspiir, lisateave, versiooni ajalugu.
Lisatud informatsioon	Vaata osa „Piirangud“
Fraseerimine või tüpograafiline värskendamine	Vaata osasid Protseduur, Toimimine, Piirangud, Hoiatus ja ettevaatusabinõud, Säilitamine ja stabiilsus.
Eemaldatud osad	Kasutusotstarvete, reagentide, laborisisese korratavuse, lineaarsuse näited
Uuendatud jaotised	Kasutusotstarve, GHS-i ohuklassifikatsioon, Riknemise tunnused, Protseduur, Lisa.

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AX	aprill 2023
Uuendatud jaotised	Lisada kasahhi keel
Uuendatud jaotised	Säilitamine ja stabiilsus

Muudetud versioon	AY
Muutmise kuupäev	mai 2024
Värskendatud tõlked	**Kliiniline tähtsus:**
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Muudetud versioon	AZ
Muutmise kuupäev	juuli 2024
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Sümboli tähis

Sümbolite mõisted on kättesaadavad veebilehel beckman.com/techdocs (dokument nr B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	TCR α/β
Klon	IP26A
Hibridom	NS1 x balb/c
Imunogen	T cell clone
Imunoglobulin	IgG1
Vrsta	Miš
Pročišćavanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	R Phycoerythrin
Molarni omjer	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna emisija	575 nm
Pufer	PBS pH 7,2 uz 2 mg/mL BSA i 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano antitijelo Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 testiranja; 1 mL, 20 µL/test

Za *in vitro* dijagnostičku uporabu.

NAMJENA

To fluorokromom konjugirano antitijelo omogućuje kvalitativno i neautomatizirano prepoznavanje populacija stanica koje eksprimiraju antigen TCR α/β prisutan u humanim biološkim uzorcima uz pomoć protočne citometrije (pogledajte odjeljak „Uzorci" u nastavku).

NAČELO

Ovaj je test utemeljen na mogućnosti vezivanja specifičnih monoklonskih antitijela na antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično se bojenje leukocita izvodi inkubacijom uzorka s reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utječe, analiziraju se protočnom citometrijom.

Citometar toka mjeri difuziju svjetlosti i fluorescenciju stanica. Omogućuje razgraničavanje promatrane populacije unutar elektroničkog prozora definiranog na histogramu, koji stvara korelaciju između ortogonalne difuzije svjetlosti (bočnog raspršenja (BR)) i difuzije uskokutne svjetlosti (prednjeg raspršenja (PR)). Drugi histogrami koji kombiniraju dva od više različitih parametara dostupnih na citometru mogu se upotrebljavati kao pomoć u fazi ograđivanja ovisno o primjeni koju je odabrao korisnik.

Analizira se fluorescencija ograničenih stanica da bi se pozitivno obojeni događaji odvojili od neobojenih. Rezultati se izražavaju kao postotak pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobivene ograđivanjem.

PREDVIĐENI KORISNIK

Proizvod je namijenjen za profesionalnu laboratorijsku uporabu.

KLINIČKA RELEVANTNOST

Anti-TCR PAN α/β-PE antitijelo je na Anti-TCR PAN α/β koje se koristi za prepoznavanje i karakteriziranje stanica koje eksprimiraju antigen TCR α/β protočnom citometrijom. Samo na temelju primjene ovog proizvoda ne može se donositi dijagnostičke zaključke niti je on tome namijenjen.

Kada se upotrebljava u kombinaciji s drugim markerima, ovaj se proizvod može upotrebljavati u jednoj ili više sljedećih funkcija:

- Kao pomoć prilikom postavljanja diferencijalne dijagnoze u hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu te za praćenje pacijenata s poznatom hematopoetskom neoplazmom.

Pogledajte sljedeće reference:

1; 2; 3; 4

UZORCI

Venska krv mora se uzeti sterilnim epruvetama koje kao antikoagulans sadrže EDTA sol.

Uzorke držite na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C) i nemojte ih tresti. Prije uzimanja testnog uzorka potrebno je homogenizirati uzorke pažljivim mućkanjem.

Uzorci venske krvi moraju se analizirati u roku od 24 sata od njihova uzimanja.

KONCENTRACIJA

Na web-mjestu www.beckman.com pogledajte Certifikat o analizi specifičan za lot koji upotrebljavate.

UPOZORENJE I MJERE OPREZA

1. Reagens nemojte upotrebljavati nakon isteka roka trajanja.
2. Nemojte zamrzavati.
3. Prije upotrebe pustite da dosegne sobnu temperaturu (18 – 25 °C).
4. Smanjite izlaganje svjetlu.
5. Izbjegavajte mikrobnu kontaminaciju reagensa ili može doći do netočnih rezultata.
6. Otopinama antitijela koje sadrže natrijev azid (NaN_3) potrebno je rukovati oprezno. Ne gutajte i izbjegavajte dodir s kožom, sluznicom i očima.

   Štoviše, natrijev azid u kiselom mediju može formirati potencijalno opasnu hidrazoičnu kiselinu. Ako je reagens potrebno odložiti u otpad, preporučuje se da ga razrijedite u velikoj količini vode prije nego što ga izlijete u odvodni sustav da biste izbjegli nakupljanje natrijeva azida u metalnim cijevima i spriječili opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno zaraznima te je njima potrebno rukovati oprezno (odnosno nositi zaštitne rukavice, odjeću i naočale).
8. Nikada ne pipetirajte ustima te izbjegavajte doticaj uzoraka s kožom, sluznicom i očima.
9. Epruvete s krvlju i otpadni materijal za rukovanje treba odložiti u jednokratne spremnike namijenjene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad potrebno je ukloniti u skladu s lokalnim zahtjevima.

KLASIFIKACIJA OPASNOSTI PREMA GHS-U

Nije klasificiran kao opasan

SDS Sigurnosni list dostupan je na adresi beckmancoulter.com/techdocs

POHRANA I STABILNOST

Reagens se mora čuvati na temperaturi između 2 i 8 °C te zaštićen od svjetlosti, kako prije, tako i poslije otvaranja bočice.

Vijek trajanja zatvorene bočice prema ispitivanju stabilnosti: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dana.

DOKAZ PROPADANJA

Svaka promjena fizičkog izgleda reagensa može upućivati na propadanje te se reagens ne smije upotrebljavati.

Ako su vam potrebne dodatne informacije ili ste primili oštećen proizvod, nazovite korisnički servis tvrtke Beckman Coulter na 800-742-2345 (u SAD-u ili Kanadi) ili se obratite lokalnom predstavniku tvrtke Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans s natrijevim azidom može stvoriti eksplozivne spojeve u metalnim cjevovodima. Pogledajte bilten NIOSH: Explosive Azide Hazard (Opasnost od eksplozije azida) (16. 8. 76.).
Da biste spriječili moguće taloženje komponenata azida, prilikom odlaganja nerazrijeđenog reagensa u otpad odvodne cijevi isperite vodom. Odlaganje natrijeva azida u otpad mora biti u skladu s odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU DIO KOMPLETA:

- Epruvete za uzorke i materijal potreban za uzimanje uzoraka.
- Automatske pipete s jednokratnim nastavcima za 20, 100 i 500 µL.
- Plastične hemolitičke epruvete.
- Reagens za liziranje eritrocita s fazom pranja nakon liziranja. Na primjer: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primjer: Otopina za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotipska kontrola PE: reagens IOTest (ref. A07796).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijeva fosfata, 0,145 M natrijeva klorida, pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska miješalica (tip vorteks).
- Citometar toka.

POSTUPAK S REAGENSOM VERSALYSE

Za svaki uzorak koji se analizira može se uz testnu epruvetu dodati jedna kontrolna epruveta u kojoj su stanice pomiješane u prisutnosti izotipskih kontrola (ref. A07796).

1. Dodajte 20 µL konjugiranog antitijela specifičnog za IOTest u svaku testnu epruvetu i, ako je potrebno, 20 µL izotipske kontrole u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µL testnog uzorka u svaku epruvetu. Epruvete polako promiješajte u vorteks-miješalici.
3. Inkubirajte od 15 do 20 min na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C), zaštićeno od svjetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje eritrocita. Pogledajte brošuru VersaLyse (ref. A09777) i po mogućnosti slijedite postupak „uz istovremeno fiksiranje" koji se sastoji od dodavanja 1 mL svježe pripremljene mješavine za fiksiranje i liziranje. Odmah promiješajte u vorteks-miješalici jednu sekundu i inkubirajte 10 min pri sobnoj temperaturi, zaštićeno od svjetlosti.
5. Centrifugirajte 5 min pri 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću 3 mL PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Uklonite supernatant aspiracijom i stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću:

- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a plus 0,1 % formaldehida ako se pripravke planira čuvati manje od 24 sati. (PBS s 0,1 % formaldehida možete pripremiti razrjeđivanjem 12,5 µL otopine za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800) pri njezinoj 10X koncentraciji u 1 mL PBS-a).
- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a bez formaldehida, ako pripravak treba analizirati u roku od 2 sati.

Napomena: U svakom slučaju pripravke čuvajte zaštićene od svjetlosti na temperaturi između 2 i 8 °C.

OČEKIVANE VRIJEDNOSTI

U našim su laboratorijima obrađeni uzorci pune krvi naizgled zdravih donora (njih 25) pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati prikupljeni pomoću tog reagensa u svrhu brojanja pozitivnih relevantnih događaja navedeni su u tablici u nastavku:

Pozitivna ciljna vrijednost	Broj	Srednja vrijednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti	25	67,94	11,93	17,56

Te su vrijednosti samo okvirne. Svaki laboratorij mora utvrditi vlastite očekivane vrijednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o performansama dobivaju se prethodno opisanim postupkom na manje od 24 sata starim uzorcima krvi prethodno prikupljenima u sterilne epruvete uz EDTA sol kao antikoagulans. Analiza se provodi u roku od 2 sata nakon imunobojenja.

SPECIFIČNOST

Humane T-stanice prepoznaju strane antigene u kontekstu HLA molekula domaćina preko receptora T-stanica za antigen (TcR) (5, 6, 7). TcR-ovi su molekularni kompleksi koji se sastoje od dviju jedinica: jedinice za prepoznavanje, sastavljene od α-β ili γ-δ heterodimera prisutnih na površini stanice na način koji je međusobno isključiv i jedinice za pretvaranje – kompleksa CD3 – zajedničkog α-β i γ-δ heterodimerima, koji aktivira T-stanicu ako jedinicu za prepoznavanje zauzima antigen.

Jedinice za prepoznavanje prepoznaju sva moguća strana antitijela i raznolikost potrebnu da se funkcija prepoznavanja pokrene somatskom rekombinacijom TcR gena. Četiri su lokusa TcR gena (α, β, γ i δ). Svaki se sastoji od nekoliko V (varijabilnih) segmenata, kodiranja za oko 90 aminokiselina, vrlo kratkih D (raznolikih) segmenata (samo lokusi α and δ) i kratkih J (spojnih) segmenata (oko 15 aminokiselina) te jednog ili dva C (konstantna) segmenta (8, 9, 10, 11). Antitijelo IP26A prepoznaje monomorfnu determinantu humanog α/β lanca TcR kompleksa (12, 13).

PRECIZNOST

Postotne pozitivne vrijednosti utvrđene su pomoću pune krvi. Svaki je uzorak obrađen 4 puta, dvaput dnevno tijekom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 serije reagensa s monoklonskim antitijelima Anti-TCR PAN α/β-PE. Mjerenja (postotna pozitivna) provedena su na protočnom citometru Navios. Analiza je provedena na temelju metode EP5-A2 instituta CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procjena radnih značajki preciznosti metoda kvantitativnog mjerenja).

Naši kriteriji prihvatljivosti ovise o broju pozitivnih događaja izmjerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivni događaj < 1500, CV < 15 %
- Ako je pozitivni događaj > 1500, CV < 10 %

Limfociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrijednost) = 6178							
	Među operatorima	Među citometrima	Unutar lota	Među lotovima	Među obradama	Unutar obrade	Ukupno
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost mjerenja Anti-TCR PAN α/β-PE procijenjena je usporedbom rezultata s referentnim reagensom kao predikatom na skupu uzoraka pune krvi obrađenima na protočnom citometru Navios. Odstupanje između testa i referentnog reagensa utvrđeno je na temelju razlike između rezultata testa. Ako je odstupanje unutar dopuštenog raspona pogreške ili ako p-vrijednost upućuje na to da nema značajne razlike (> 0,05), rezultati testa za dva reagensa smatraju se istovjetnima.

Dobiveni rezultati sažeti su u tablici u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivna ciljna vrijednost	Srednja vrijednost Δ	Kriterij stanica Δ %	p-vrijednost	REZULTATI
Limfociti	-1,26	<5	0,208	PASS

GRANICA SLIJEPE PROBE I GRANICA DETEKCIJE

Ispitivanje je izvedeno u skladu s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Procjena sposobnosti otkrivanja za postupke mjerenja u kliničkim laboratorijima). Granica detekcije (LOD) – najniža koncentracija analita koja se može dosljedno otkriti. Dobiveni rezultati sažeti su u sljedećoj tablici:

Positive Target	Granica slijepe probe (stanica/µL)	Granica detekcije (stanica/µL)
Limfociti	4	6

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti pogrešne rezultate ako citometar nije savršeno poravnat, ako fluorescentna curenja nisu pravilno kompenzirana i ako regije nisu pažljivo pozicionirane.
2. Poželjno je upotrebljavati tehniku liziranja pomoću RBC-a uz korak pranja jer ovaj reagens nije optimiziran za tehnike liziranja „bez pranja”.
3. Točni i ponovljivi rezultati dobivat će se sve dok se postupci izvode u skladu s tehničkom brošurom i u skladu s dobrim laboratorijskim praksama.
4. Konjugirano antitijelo tog reagensa kalibrirano je tako da pruža najbolji omjer specifičnog i nespecifičnog signala. Zato je važno pridržavati se omjera volumena reagensa i volumena uzorka prilikom svakog testiranja.
5. U slučaju hiperleukocitoze razrijedite uzorak u PBS-u da biste dobili vrijednost od približno 5 x 10^9 leukocita/L (14).
6. Pri određenim bolestima, kao što je ozbiljno zatajenje bubrega ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak i nemoguće. U tom se slučaju prije bojenja preporučuje izoliranje jednojezgrenih stanica s pomoću gradijenta gustoće (na primjer, Ficoll) (15).
7. U pacijenata koji primaju terapiju monoklonskim antihumanim antitijelima detekcija određenih ciljanih antigena može biti smanjena ili nepostojeća zbog djelomičnog ili potpunog blokiranja terapijskih antitijela.

8. Rezultate Anti-TCR PAN α/β-PE treba tumačiti u kontekstu ukupne kliničke slike pacijenta, uključujući simptome, anamnezu, podatke iz dodatnih testova i druge odgovarajuće informacije.

Za primjere i reference pogledajte Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizirani logotip te oznake proizvoda i usluga tvrtke Beckman Coulter žigovi su ili registrirani žigovi tvrtke Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim državama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta / korisnika / treću stranu u Europskoj uniji i u državama s identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskim proizvodima za in vitro dijagnostiku): ako tijekom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe dođe do ozbiljnog štetnog događaja, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovu ovlaštenom zastupniku te nadležnom nacionalnom tijelu.

Summary of Safety and Performance (Sažetak podataka o sigurnosti i performansama) potražite u bazi podataka EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

POVIJEST REVIZIJA

REVIZIJA AD:	Datum objave: listopad 2019.

REVIZIJA	**Datum objave**
AW	Veljača 2022.
Ažuriranja radi usklađivanja s pravilnikom o globalnom označavanju tvrtke Beckman Coulter i u skladu sa zahtjevima uredbe (EU)2017/746 o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima (IVD-R):	
Dodani odjeljci	Broj BSI 2797, Ciljni korisnik, Klinička relevantnost, Koncentracija, Preciznost, Točnost, Granica slijepe probe i granica detekcije, Dodatne informacije, Povijest revizija.
Dodane informacije	Pogledajte odjeljke Ograničenja
Preformuliranje ili tipografska ažuriranja	Pogledajte odjeljke Postupak, Performanse, Ograničenja, Upozorenje i mjere opreza, Pohrana i stabilnost.
Uklonjeni odjeljci	Primjer kliničkih primjena, Reagensi, Unutarlaboratorijska obnovljivost, Linearnost
Ažurirani odjeljci	Namjena, Klasifikacija opasnosti prema GHS-u, Dokaz pogoršanja stanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum objave**
AX	Travanj 2023
Ažurirani odjeljci	Dodati kazaški
Ažurirani odjeljci	Čuvanje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Svibanj 2024
Ažurirani prijevodi	**Klinička relevantnost:**
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Srpanj 2024
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Pojmovnik simbola

Pojmovnik simbola dostupan je na web-mjestu beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Спецификации
Специфичност	TCR α/β
Клонинг	IP26A
Хибридома	NS1 x balb/c
Имуноген	T cell clone
Имуноглобулин	IgG1
Вид	Мишка
Пречистване	Афинитетна хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin
Моларно съотношение	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ възбуждане	488 nm
Емисионен пик	575 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 mg/mL BSA и 0,1 % NaN_3

IOTest
Конюгирано антитяло
Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 теста; 1 mL, 20 µL/тест

За *in vitro* диагностика.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Това флуорохром-конюгирано антитяло позволява качествена и неавтоматизирана идентификация с помощта на поточна цитометрия на клетъчни популации, експресиращи TCR α/β антиген, присъстващ в човешки биологични проби (вижте раздел „Проби“ по-долу).

ПРИНЦИП

Този тест се базира на способността на специфични моноклонални антитела да се свързват с антигенни детерминанти, експресирани от левкоцитите.

Специфично оцветяване на левкоцитите се извършва чрез инкубиране на пробата с реактива IOTest. След това червените кръвни телца се отстраняват чрез лизиране, а левкоцитите, които не се повлияват от този процес, се анализират чрез поточна цитометрия.

Поточният цитометър измерва разсейването на светлината и флуоресценцията на клетките. Това прави възможно разграничаването на популацията, която се изследва, в електронния прозорец, дефиниран на една хистограма, която корелира с ортогоналната дифузия на светлината (странично разсейване) и дифузията на тесноъгълна светлина (предно разсейване). Други хистограми, комбиниращи два от различните параметри на разположение на цитометъра, могат да бъдат използвани като основа в етапа на определяне на област за анализ в зависимост от приложението, избрано от потребителя.

Флуоресценцията на разграничените клетки се анализира, за да се разграничат позитивно оцветените събития от неоцветените такива. Резултатите се изразяват като процент на положителни събития във връзка с всички събития, получени от определянето на областта за анализ.

ПРЕДВИДЕН ПОТРЕБИТЕЛ

Този продукт е предназначен само за лабораторна професионална употреба.

КЛИНИЧНА ЗНАЧИМОСТ

Anti-TCR PAN α/β-PE е антитяло Anti-TCR PAN α/β, използвано за идентифициране и характеризиране чрез поточна цитометрия на клетки, експресиращи TCR α/β антиген. Този продукт не може и не е предназначен самостоятелно да генерира каквото и да е диагностично заключение.

Когато се използва в комбинация с други маркери, този продукт може да се използва в една или повече от следните функции:

- Като помощно средство при поставяне на диференциална диагноза на хематологично абнормни пациенти, суспектни за хематопоетично новообразуване, и за проследяване на пациенти с известно хематопоетично новообразуване.

Вижте следните справки:

1; 2; 3; 4

ПРОБИ

Венозна кръв трябва да се взема в стерилни епруветки, съдържащи сол EDTA като антикоагулант.

Пробите трябва да бъдат съхранявани при стайна температура (18–25°C) и не трябва да се разклащат. Пробите трябва да бъдат хомогенизирани чрез внимателно смесване, преди да се вземе пробата за теста.

Пробите трябва да бъдат анализирани в рамките на 24 часа от венопункturата.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Вижте Сертификата за анализ за конкретната партида на www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Не използвайте реактива след изтичане на срока на годност.
2. Не замразявайте.
3. Оставете на стайна температура (18–25°C) преди употреба.
4. Минимизирайте излагането на светлина.
5. Избягвайте микробно замърсяване на реактивите, в противен случай е възможно да се получат погрешни резултати.

6. С разтворите на антитела, съдържащи натриев азид (NaN_3), трябва да се работи внимателно. Не приемайте вътрешно и избягвайте всякакъв контакт с кожата, лигавицата и очите.

   В допълнение, в киселинна среда натриевият азид може да образува потенциално опасната хидразоена киселина. Ако тя трябва да се изхвърли, препоръчва се реактивът да се разреди в голям обем вода, преди да се излее в дренажната система, за да се избегне натрупването на натриев азид в металните тръби и да се предотврати риск от експлозия.

7. Всички кръвни проби трябва да се считат за потенциално заразни и с тях трябва да се борави внимателно (по-специално: носене на защитни ръкавици, облекло и очила).
8. Никога не пипетирайте с уста и избягвайте всякакви контакти между пробите и Вашата кожа, лигавица и очи.
9. Епруветките за кръв и материалите за еднократна употреба, използвани за боравене, трябва да се изхвърлят във временни контейнери, предназначени за изгаряне.
10. Реактивите и отпадъците трябва да бъдат елиминирани в съответствие с местните изисквания.

КЛАСИФИЦИЯ НА ОПАСНОСТИТЕ ПО GHS

Не е класифициран като опасен

SDS Информационният лист за безопасност е наличен на адрес beckmancoulter.com/techdocs

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Този реактив трябва да се съхранява при температури между 2 и 8°C и да бъде защитен от светлина преди и след отваряне на флакона.

Изследване на срок на годност при затворена епруветка и стабилност: 1095 дни.

Стабилност на отворен флакон: реактивът е стабилен за 180 дни.

ДАННИ ЗА ВЛОШАВАНЕ

Всяка промяна във физическия изглед на реактивите може да е признак за влошаване и реактивът не трябва да бъде използван.

За допълнителна информация или при получаване на повреден продукт се свържете с отдела за обслужване на клиенти на Beckman Coulter на тел. 800-742-2345 (САЩ или Канада) или се свържете с местния представител на Beckman Coulter.

СЪДЪРЖАНИЕ

Консервантът натриев азид може да образува експлозивни съединения в метални отводнителни тръбопроводи. Вижте Бюлетина на NIOSH: Explosive Azide Hazard (Бюлетин на Националния институт по безопасност и хигиена на труда: Опасност от експлозия на азид) (16/8/76).
За да избегнете възможно натрупване на азидни съединения, промивайте канализационните тръби с вода след изхвърляне на неразтворен реактив. Изхвърлянето на натриев азид трябва да бъде в съответствие с местните разпоредби.

НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СА ДОСТАВЕНИ С КОМПЛЕКТА:

- Епруветки за проби и материали, необходими за вземане на проби.
- Автоматични пипети с накрайници за еднократна употреба за 20, 100 и 500 µL.
- Пластмасови хемолизни епруветки.
- Реактив за лизис на червени кръвни телца с етап на отмиване след лизис. Например: VersaLyse (Реф. A09777).
- Реактив за левкоцитна фиксация. Например: IOTest 3 фиксиращ разтвор (Реф. A07800).
- Изотипна контрола PE: Реактив IOTest (Реф. № A07796).
- Буфер (PBS: 0,01 M натриев фосфат; 0,145 M натриев хлорид; pH 7,2).
- Центрофугирайте.
- Автоматичен агитатор (тип вортекс).
- Поточен цитометър.

ПРОЦЕДУРА С РЕАКТИВ VERSALYSE

За всяка анализирана проба освен тестовата епруветка може да се добави и една контролна епруветка, в която клетките да са смесени в присъствието на изотипната контрола (Реф. A07796).

1. Добавете 20 µL специфично IOTest конюгирано антитяло във всяка тестова епруветка и, ако е необходимо, 20 µL изотипна контрола във всяка контролна епруветка.
2. Добавете 100 µL от тестовата проба във всяка епруветка. Внимателно разбъркайте във вортекс епруветките.
3. Инкубирайте за 15 до 20 минути при стайна температура (18–25°C), като предпазвате от светлина.
4. След това се изпълнява лизиране на червените кръвни телца. Вижте брошурата на VersaLyse (Реф. A09777) и изпълнете за предпочитане процедурата, наречена „със съпътстващо фиксиране“, която се състои от добавяне на 1 mL от сместа „Фиксиране и лизиране“, приготвена за незабавно приложение. Незабавно завъртете епруветките с вортекс за една секунда и инкубирайте за 10 минути при стайна температура на защитено от светлина място.
5. Центрофугирайте 5 минути при 150 x g при стайна температура.
6. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация.
7. Разтворете отново клетъчната утайка, като използвате 3 mL PBS.
8. Повторете стъпка 5.
9. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация и ресуспендирайте клетъчната утайка с:

- 0,5 mL или 1 mL PBS плюс 0,1 % формалдехид, ако препаратите трябва да бъдат съхранявани по-малко от 24 часа. (Може да се получи 0,1 % формалдехид PBS чрез разреждане на 12,5 µL разтвор за фиксиране IOTest 3 (Реф. A07800) при 10X концентрация в 1 mL PBS).

- 0,5 mL или 1 mL PBS без формалдехид, ако препаратите ще бъдат анализирани в рамките на 2 часа.

Забележка: Във всички случаи съхранявайте препаратите при температури между 2 и 8°C и защитени от светлина.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

В нашите лаборатории бяха третирани пробите цялостна кръв на 25 видимо здрави донори с описания по-горе реактив. Получените с този реактив резултати за броя на положителните събития, които са от значение, са дадени в таблицата по-долу:

Положителна цел	Брой	Средна (%)	SD	CV (%)
Лимфоцити	25	67,94	11,93	17,56

Тези стойности са само представителни. Всяка лаборатория трябва да установи свои очаквани стойности от местната популация нормални донори.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данните за ефективността се получават с помощта на описаната по-горе процедура за кръвни проби до 24 часа, предварително събрани в стерилни епруветки със сол EDTA като антикоагулант. Анализ се извършва в рамките на 2 часа след имуноцветяване.

СПЕЦИФИЧНОСТ

Човешките Т-клетки разпознават чуждите антигени в контекста на HLA молекулите домакин чрез рецептора на Т-клетката за антиген (TcR) (5, 6, 7). TcR са молекулярни комплекси, които се състоят от две единици: разпознаваща единица, съставена или от α-β, или от γ-δ хетеродимер, които се представят върху клетъчната повърхност по взаимно изключващ се начин, и трансдуцираща единица, комплекса CD3, обичаен за α-β и γ-δ хетеродимери, който активира Т-клетката, когато към разпознаващата единица се свърже антигенът.

Разпознаващите единици разпознават всеки възможен чужд антиген и многообразието, необходимо за тази функция на разпознаването, се генерира от соматична рекомбинация на TcR гени. Има четири генни локуса на TcR (α, β, γ и δ). Всеки от тях е съставен от няколко V (вариабилни) сегмента, кодиращи около 90 аминокиселини, много къси D (многообразни) сегменти (само за α и δ локуси) и къси J (свързващи) сегменти (около 15 аминокиселини), и един или два C (константни) сегмента (8, 9, 10, 11). IP26A антитялото разпознава мономорфична детерминанта на α/β веригата на човешкия TcR комплекс (12, 13).

ТОЧНОСТ

Процентните положителни стойности са определени посредством цялостна кръв. Всяка проба е обработена 4 пъти, два пъти на ден за 1 ден на 2 инструмента, като са използвани 2 партиди реактиви с Anti-TCR PAN α/β-PE моноклонално антитяло. Измерванията (% положителни) са направени на поточен цитометър Navios. Анализът е проведен на базата на метода EP5-A2 на CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оценка на прецизната работа на методите за количествено измерване).

Нашите критерии за приемливост зависят от броя положителни събития, измерени за всяка популация:

- Ако положителните събития са < 1500, CV < 15 %
- Ако положителните събития са > 1500, CV < 10 %

Лимфоцити							
Брой положителни събития (средно) = 6178							
	Между оператори	Между цитометри	Вътрепартидна	Между партиди	Между цикли	В рамките на цикъл	Общо
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
РЕЗУЛТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТ

Точността на Anti-TCR PAN α/β-PE е оценена чрез сравняване на резултатите с референтен реактив като потвърждение върху група от проби от цялостна кръв, обработени на поточен цитометър Navios. Отклонението между тестовия и референтния реактив е определено чрез разликата между резултатите от теста. Ако отклонението е в рамките на допустимия диапазон на грешка или p-стойността не показва значима разлика (> 0,05), резултатите от теста за двата реактива се считат за еквивалентни.

Получените резултати са обобщени в таблицата, дадена по-долу:

Брой донори = 25				
Положителна цел	Средна Δ	Критерии Δ % клетки	p-стойност	РЕЗУЛТАТИ
Лимфоцити	-1,26	<5	0,208	PASS

ГРАНИЦА НА СЛЯПА ПРОБА И ГРАНИЦА НА ОТКРИВАНЕ

Проведено е проучване в съответствие с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оценка на възможността за детекция за измервателни процедури в клинични лаборатории). Границата на откриване (LOD) е най-ниската концентрация на аналита, която може да бъде стабилно открита. Получените резултати са обобщени в следващата таблица:

Positive Target	Граница на сляпата проба (клетки/µL)	Граница на откриване (клетки/µL)
Лимфоцити	4	6

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Поточната цитометрия може да даде неточни резултати, ако цитометърът не е бил идеално приравнен, ако течове на флуоресценция не са били правилно компенсирани или ако регионите не са били внимателно позиционирани.
2. Предпочита се използването на техника за лизиране на червени кръвни клетки със стъпка за промиване, тъй като този реактив не е оптимизиран за техники за лизиране „без промиване“.
3. Ще бъдат получени точни и възпроизводими резултати, при условие, че използваните процедури са в съответствие с техническата листовка и са съвместими с добрите лабораторни практики.

4. Конюгираното антитяло на този реактив е калибрирано, за да се осигури най-доброто съотношение между специфичен сигнал/неспецифичен сигнал. Затова е важно да се придържате към съотношението обем на реактива/обем на пробата във всеки тест.
5. В случай на хиперлевкоцитоза кръвта се разрежда в PBS, така че да се получи стойност приблизително 5 x 10^9 левкоцити/L (14).
6. При определени болестни състояния, например тежка бъбречна недостатъчност или хемоглобинопатии, лизирането на червените кръвни телца може да бъде бавно, непълно или дори невъзможно. В този случай се препоръчва да се изолират мононуклеарни клетки, като се използва градиент на плътността (Ficoll например) преди оцветяване (15).
7. При пациенти, лекувани с терапии с античовешко моноклонално антитяло, отриването на специфични целеви антигени може да бъде занижено или да липсват поради частично или цялостно блокиране от терапевтичното антитяло.
8. Резултатите от Anti-TCR PAN α/β-PE трябва да се интерпретират спрямо общото клинично представяне на пациента, включващо: симптоми, клинична анамнеза, данни от допълнителни тестове и друга съответстваща информация.

Вижте Приложението за примери и справки.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ

Beckman Coulter, стилизираното лого и марките на продуктите и услугите на Beckman Coulter, присъстващи в този документ, са търговски марки или регистрирани търговски марки на Beckman Coulter, Inc. в САЩ и в други държави.

ДОПЪЛНИТЕЛНА ИНФОРМАЦИЯ

За пациенти/потребители/трети лица в Европейския съюз и в страни с идентичен регулаторен режим (Регламент 2017/746/ЕС относно ин витро диагностичните медицински изделия); ако по време на използването на това изделие или в резултат на използването му е настъпил сериозен инцидент, моля, съобщете за това на производителя и/или неговия упълномощен представител и на Вашия национален орган.

Summary of Safety and Performance (Обобщение на безопасността и работата) е налично в базата данни EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ХРОНОЛОГИЯ НА РЕДАКЦИИТЕ

РЕДАКЦИЯ AD:	Дата на издаване: октомври 2019 г.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AW	февруари 2022 г.
Актуализации с цел съответствие с Глобалната политика за етикетиране на Beckman Coulter и съгласно изискванията на Регламент (ЕС) 2017/746 за медицинските изделия за ин витро диагностика (IVD-R):	
Добавени раздели	Номер 2797 на BSI, Предвиден потребител, Клинична значимост, Концентрация, Прецизност, Точност, Граница на сляпата проба и граница на откриване, Допълнителна информация, Хронология на редакциите.
Добавена информация	Вижте разделите „Ограничения“
Актуализации във формулировките или типографията	Вижте раздели „Процедура“, „Работни характеристики“, „Ограничения“, „Предупреждения и предпазни мерки“, „Съхранение и стабилност“.
Премахнати раздели	Пример за клинични приложения, Реактиви, Вътрешнолабораторна възпроизводимост, Линейност
Актуализирани раздели	Предвидена употреба, Класификация на опасностите по GHS, Признаци за влошаване, Процедура, Приложение.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AX	Април 2023
Актуализирани раздели	Добавен е казахски
Актуализирани раздели	Съхранение и стабилност

Редактирана версия	AY
Редактирана дата	Май 2024
Актуализирани преводи	**Клинична значимост:**
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Редактирана версия	AZ
Редактирана дата	Юли 2024
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Легенда на символите

Речник на символите е наличен на beckman.com/techdocs (номер на документа B60062)

	規格
專一性	TCR α/β
轉殖	IP26A
融合瘤	NS1 x balb/c
免疫原	T cell clone
免疫球蛋白	IgG1
物種	小鼠
純化	親和層析法
螢光染料	R Phycoerythrin
莫耳比率	PE/Ig： 0.5 - 1.5
λ 激發	488 nm
發射峰	575 nm
緩衝劑	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 及 0.1% NaN_3

IOTest

結合抗體
Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 次測試；1 mL, 20 µL/測試

***體外*診斷用。**

預期用途

使用此螢光染料結合的抗體，能夠以流式細胞分析儀器對人體生物檢體中出現的表現 TCR α/β 抗原之細胞群進行非自動化定性鑑別（請參閱下列「檢體」部分）。

原理

本測試的基礎在於特異性單株抗體結合由白血球表現之抗原決定簇的能力。

以 IOTest 試劑與檢體反應，對白血球進行特異性染色。然後以溶解作用去除紅血球，而白血球不受此程序影響，並可透過流式細胞分析儀器進行分析。

流式細胞分析儀器可測量細胞的光漫射和螢光。這樣可以界定直方圖上定義的電子窗口內的目標群體，直方圖可以關聯光的正交漫射（側向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。細胞分析儀器上可用之結合兩個不同參數的其他直方圖，可用於支持圈選階段，這取決於使用者所選的應用。

為了區分陽性染色事件和未染色事件，對劃定細胞的螢光進行了分析。結果表示為陽性事件相對於圈選所得全部事件的百分比。

預期使用者

本產品應當用於實驗室內的專業用途。

臨床相關性

Anti-TCR PAN α/β-PE 是用於識別和分類以流式細胞術表現 TCR α/β 抗原的細胞的 Anti-TCR PAN α/β 抗體。單獨使用這個產品無法也不預期可產生任何診斷結論。

本產品搭配其他標誌物使用時，可用於以下一或多個功能：

- 可輔助疑似罹患造血組織腫瘤之血液異常患者的鑑別診斷，並可監測已知罹患造血組織腫瘤的患者。

請參閱下列參考資料：

1; 2; 3; 4

檢體

靜脈血必須使用無菌試管抽取，此無菌試管中含有 EDTA 鹽作為抗凝劑。

檢體應存放在室溫 (18~25°C)，且不得搖晃。取用測試檢體前，應將檢體輕輕攪動，使之均勻化。

檢體必須在靜脈穿刺後 24 小時內進行分析。

濃度

請參閱 www.beckman.com 參閱各批次專屬的分析證書。

警告和預防措施

1. 請勿使用過期試劑。
2. 切勿冷凍。
3. 使用前，請將其恢復至室溫 (18~25°C)。
4. 儘量避免陽光直射。
5. 請避免試劑受到微生物污染，否則可能會出現錯誤結果。
6. 含有疊氮化鈉 (NaN_3) 的抗體溶液應謹慎處理。請勿內服，並避免接觸皮膚、黏膜和眼睛。

   此外，在酸性介質中，疊氮化鈉可形成具有潛在危害的疊氮酸。若需要對其進行處置，建議在試劑倒入排水系統前以大量清水稀釋，避免疊氮化鈉在金屬管道中累積並預防爆炸。
7. 所有血液檢體必須視為具有潛在傳染性，且必須小心處理（務必穿戴防護手套、防護衣和護目鏡）。
8. 切勿用嘴吸液，並避免檢體接觸皮膚、黏膜和眼睛。
9. 用於處理的血液試管和一次性材料應放入焚化專用的特殊容器中處置。

10. 應根據當地要求清除試劑和廢棄物。

GHS 危害分類

未歸類為危險物質

SDS 安全性資料表載於 beckmancoulter.com/techdocs

存儲和穩定性

在打開試劑瓶前後，試劑必須避光保存於 2~8°C。

穩定性研究的封閉式藥瓶有效期限：1095 天。

開瓶後穩定性：試劑穩定性可維持 180 天。

變質的證據

試劑外觀的任何變化表示可能發生變質，因此不應使用該試劑。

如需瞭解其他資訊，或如果收到已損壞的產品，請撥打 800-742-2345（美國或加拿大）聯絡貝克曼庫爾特客戶服務部，或聯絡您當地的貝克曼庫爾特代表。

內容物

疊氮化鈉防腐劑可能會在金屬排水管道中形成爆炸性化合物。 請參閱 NIOSH Bulletin： Explosive Azide Hazard（爆炸性疊氮化物危害）(76/8/16)。為防止疊氮化合物可能累積，丟棄未稀釋的試劑後請用水沖洗污水管。必須依照相關當地法規丟棄疊氮化鈉。

試劑盒未提供但卻需要的材料：

- 採樣時需要採樣試管和材料。
- 帶有可吸取 20、100 和 500 µL 一次性吸頭的自動移液器。
- 塑膠溶血試管。
- 用於溶解後洗滌階段的紅血球溶解試劑。舉例：VersaLyse (參考 A09777)。
- 白血球固定試劑。舉例：IOTest 3 固定液 (參考 A07800)。
- 同型品管劑 PE：IOTest 試劑 (參考 A07796)。
- 緩衝劑 (PBS：0.01 M 磷酸鈉；0.145 M 氯化鈉；pH 7.2）。
- 離心機。
- 自動攪拌器（漩渦型）。
- 流式細胞分析儀器。

使用 VERSALYSE 試劑的程序

對於已分析的每項檢體，除使用測試試管外，可再增加一個品管劑試管，以在其中混合細胞與同型品管劑 (參考 A07796)。

1. 向每個測試試管添加 20 µL 特異性 IOTest 結合抗體，如果需要，向每個質控試管添加 20 µL 同型質控品。
2. 向每個試管中添加 100 µL 測試檢體。輕輕漩渦振盪試管。
3. 在室溫 (18~25°C) 下避光反應 15~20 分鐘。
4. 然後將紅血球溶解。請參閱 VersaLyse (參考 A09777) 的手冊，最好按照名為「共伴固定」的程序操作，其包含添加臨時製備的 1 mL「固定加溶解」混合物。立即震盪 1 秒後，在室溫下避光反應 10 分鐘。
5. 在室溫下以 150 x g 離心 5 分鐘。
6. 吸除上清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新懸浮細胞團塊。
8. 重複第 5 步。
9. 吸除上清液並按照以下方式重新懸浮細胞團塊：

- 若製劑存放時間不超過 24 小時，則以 0.5 mL 或 1 mL PBS 加 0.1% 甲醛。（可在 1 mL PBS 中稀釋 10X 濃度的 12.5 µL IOTest 3 固定液 (參考 A07800)，得到含有 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 若製劑將在 2 小時內分析，使用 0.5 mL 或 1 mL PBS（無甲醛）。

註：在所有情況下，將製劑在 2~8°C 避光保存。

預期值

在我們的實驗室中，採用上述試劑處理 25 名明顯健康的捐贈者的全血檢體。使用該試劑進行陽性目標事件計數得到的結果如下表所示：

陽性目標	數量	平均值 (%)	SD	CV (%)
淋巴球	25	67.94	11.93	17.56

這些數值是具代表性的參考值。每個實驗室都應運用當地正常捐贈者族群的檢測結果，自行確立適用的預期值。

性能

對於之前採集在無菌試管（含有 EDTA 鹽作為抗凝劑）中短於 24 小時的血液檢體，使用上面描述的程序獲取了性能資料。在免疫染色後的 2 小時內進行分析。

專一性

人 T 細胞可以在寄主 HLA 分子的背景下透過 T 細胞抗原受體 (TcR) 識別外來抗原 (5, 6, 7)。TcR 為分子複合體，其包含兩個單元：一個為識別單元，由 α-β 或 γ-δ 異二聚體組成，它們以相互排斥的方式存在於細胞表面；另一個為轉換單元，即 CD3 複合體，為 α-β 及 γ-δ 異二聚體共用，當識別單元被抗原佔用時，轉換單元會觸發 T 細胞。

識別單元可以識別任何可能的外來抗原，該識別功能所必需的多樣性由 TcR 基因的體細胞重組產生。有四種 TcR 基因座（α、β、γ 和 δ）。每種基因座均由幾個 V（可變）片段（編碼約 90 個氨基酸）、非常短的 D（多樣性）片段（僅 α 和 δ 基因座）、短 J（連接）片段（約 15 個氨基酸）以及一個或兩個 C（恆定）片段組成 (8, 9, 10, 11)。IP26A 抗體可識別人 TcR 複合體 α/β 鏈的單態決定體 (12, 13)。

準確度

陽性百分比值是使用全血決定的。每個檢體會檢驗 4 次，一天兩次，使用 2 批次的 Anti-TCR PAN α/β-PE 單株抗體試劑在 2 種儀器上進行 1 天。測量（陽性 %）會在 Navios 流式細胞分析儀器上完成。分析會根據 CLSI 方法 EP5-A2 進行：Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（定量測量方法的精確度性能評估）。

我們的接受標準視各族群所檢測的陽性事件數量而定：

- 若陽性事件數量 < 1,500，則 CV < 15%
- 若陽性事件數量 > 1,500，則 CV < 10%

淋巴球							
陽性事件數量（平均值）= 6178							
	各操作者間	各台細胞分析儀器間	批內	批間	各次執行間	各次執行內	總計
CV (%)	0.22	0.36	0.72	0.34	0.21	0.65	0.87
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

準確性

Anti-TCR PAN α/β-PE 的精確度是透過將結果和參考試劑比較後進行評估，可預測在 Navios 流式細胞分析儀器上分析一組全血檢體的結果。測試和參考試劑之間的偏差值會根據測試結果間的差異來判定。如果偏差值在可允許的錯誤範圍內或是 p 值指出沒有重大差異（> 0.05），則兩種試劑的測試結果會視為相同。

所得結果總結於下表：

捐贈者數量 = 25				
陽性目標	平均值差	細胞標準 Δ %	P 值	結果
淋巴球	-1.26	<5	0.208	PASS

空白檢體的偵測極限與偵測極限

按照 CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2，臨床實驗室測定程序的偵測能力評估）開展了一項試驗。偵測極限 (LOD) 是指可始終被偵測出的最低分析物濃度。所得結果總結於下表：

Positive Target	空白檢體的偵測極限（細胞數/µL）	偵測極限（細胞數/µL）
淋巴球	4	6

限制條件

1. 流式細胞分析儀器在下列情況下可能產生錯誤結果：細胞分析儀器未正確校正、螢光洩漏未正確補償、相關區域並未仔細定位。
2. 最好採用帶洗滌步驟的 RBC 溶解方法，因該試劑不能在「無洗滌」溶解方法中取得最佳效果。
3. 按照技術手冊採用相關流程並遵循優良實驗室操作規範，便可得到準確且可重複的結果。
4. 此試劑的結合抗體已經過校正，以提供最佳的特異性訊號/非特異性訊號比率。因此，在每次測試中遵守試劑體積/檢體體積比率很重要。
5. 如果白血球過多，請在 PBS 中稀釋血液，使白血球濃度約為 5 x 10^9 顆/L (14)。
6. 在嚴重腎衰竭、血色素病變等特定疾病狀態中，紅血球溶解可能會變得緩慢、不完全，甚至無法溶解。在這種情況下，建議在染色前使用密度梯度（例如聚蔗糖）分離單核球 (15)。
7. 使用抗人單株抗體療法治療患者時，由於治療抗體的部分或完全阻斷，偵測到的特定目標抗原可能會減少或完全偵測不到。
8. Anti-TCR PAN α/β-PE 結果的判讀應結合患者的整體臨床表徵，包括：症狀、臨床病史、其他測試的資料以及其他相關資訊。

請參閱附錄以閱讀舉例和參考文獻。

商標

Beckman Coulter、徽標以及本文述及的貝克曼庫爾特公司產品和服務標記是美國貝克曼庫爾特有限公司在美國和其他國家的商標或註冊商標。

其他資訊

對於患者/使用者/第三方（在歐盟和有相同監管制度（體外診斷醫療裝置法規，2017/746/EU）的國家）；如果在使用中或由於使用而導致嚴重事件，請將情況回報製造商和/或授權代表，以及貴國主管機關。

Summary of Safety and Performance（安全與性能）的摘要請參見 EUDAMED 資料庫：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修訂歷程記錄

修訂版 AD：	發佈日期：2019 年 10 月

修訂	**發行日期**
AW	2022 年 2 月

更新以遵守貝克曼庫爾特公司全球標籤政策以及 IVD-R (EU)2017/746 規定：	
已新增部分	BSI 2797 編號、預期使用者、臨床相關性、濃度、精密度、準確性、空白檢體的偵測極限和偵測極限、其他資訊、修訂記錄。
已新增資訊	請參閱「限制」部分
修辭或印刷更新	請參閱「程序」、「性能」、「限制」、「警告和預防措施」、「存儲和穩定性」等部分。
已移除的部分	臨床應用範例、試劑、實驗室內再現性、線性
已更新部分	預期用途、GHS 危害分類、變質的證據、程序、附錄。

修訂	**發行日期**
AX	4 月 2023
已更新部分	新增哈薩克語
已更新部分	存儲和穩定性

修訂版本	AY
修訂日期	5 月 2024
已更新的譯文	**臨床關聯性**：
已更新部分	修訂歷史

修訂版本	AZ
修訂日期	7 月 2024
已更新部分	修訂歷史

符號釋義

符號術語表請參見網站：beckman.com/techdocs（文件編號 B60062）

	Specificații
Specificitate	TCR α/β
Clonă	IP26A
Hibridom	NS1 x balb/c
Imunogen	T cell clone
Imunoglobulină	IgG1
Specie	Șoarece
Purificare	Cromatografia afinităților
Fluorocrom	R Phycoerythrin
Raport molar	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Excitare λ	488 nm
Vârful de emisie	575 nm
Soluție tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA și 0,1% NaN_3

IOTest
Anticorp conjugat
Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 de teste; 1 ml, 20 µl/test

Pentru utilizare în diagnosticarea *in vitro*.

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

Acest anticorp conjugat cu fluorocrom permite identificarea calitativă și non-automată a populațiilor celulare care exprimă antigenul TCR α/β prezent în probele biologice umane prin citometrie în flux (consultați secțiunea „probe" de mai jos).

PRINCIPIU

Acest test se bazează pe abilitatea anticorpilor monoclonali specifici de a se lega de determinanții antigenici exprimați de leucocite.

Colorarea specifică a leucocitelor este efectuată prin incubarea probei cu reactivul IOTest. Eritrocitele sunt ulterior îndepărtate prin liză, iar leucocitele, care nu sunt afectate de acest proces, sunt analizate prin citometrie în flux.

Citometrul în flux măsoară difuzia luminii și fluorescența celulelor. Acesta face posibilă delimitarea populațiilor de interes în fereastra electronică definită pe o histogramă, care corelează difuzia ortogonală a luminii (Dispersia perpendiculară sau SS – Side Scatter) și difuzia luminii sub un unghi ascuțit (Dispersia pe direcția înainte sau FS – Forward Scatter). Alte histograme care combină doi dintre parametrii diferiți disponibili pe citometru pot fi utilizate ca suporturi în faza de stabilire a porților (gating) în funcție de aplicația aleasă de către utilizator.

Fluorescența celulelor delimitate se analizează pentru distingerea evenimentelor colorate pozitiv de cele necolorate. Rezultatele sunt exprimate ca procentaj de evenimente pozitive în raport cu toate evenimentele obținute de gating.

UTILIZATOR PRECONIZAT

Acest produs este destinat utilizării profesionale în laborator.

RELEVANȚĂ CLINICĂ

Anti-TCR PAN α/β-PE este un anticorp Anti-TCR PAN α/β utilizat pentru a identifica și caracteriza celulele care exprimă antigenul TCR α/β prin citometrie în flux. Acest produs în sine nu poate și nu este conceput pentru a genera concluzii cu rol de diagnostic.

Atunci când este utilizat în combinație cu alți markeri, acest produs poate fi utilizat pentru una sau mai multe dintre următoarele funcții:

- Pentru a ajuta la obținerea unui diagnostic diferențial pentru pacienții cu anormalități hematologice suspecți de neoplasm hematopoietic și la monitorizarea pacienților cu neoplasm hematopoietic diagnosticat.

Consultați următoarele referințe:

1; 2; 3; 4

PROBE

Sângele venos trebuie recoltat utilizând eprubete sterile care conțin o sare de EDTA drept anticoagulant.

Se recomandă păstrarea probelor la temperatura camerei (18–25°C). Acestea nu se vor scutura. Se recomandă omogenizarea probelor prin agitare ușoară înainte de recoltarea probei de test.

Proba trebuie analizată în decurs de 24 de ore de la puncția venoasă.

CONCENTRAȚIE

Consultați certificatul de analiză specific lotului la adresa www.beckman.com.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Nu utilizați reactivul după data expirării.
2. Nu congelați.
3. Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei (18–25°C).
4. Reduceți la minimum expunerea la lumină.
5. Evitați contaminarea microbiană a reactivilor. În caz contrar, se pot obține rezultate false.
6. Soluțiile de anticorpi care conțin azidă de sodiu (NaN_3) trebuie manipulate cu atenție. A nu se ingera și a se evita contactul cu pielea, mucoasele și ochii.

În plus, într-un mediu acid, azida de sodiu poate forma acid hidrazoic, un compus potențial periculos. Dacă este necesară eliminarea reactivului, se recomandă ca acesta să fie diluat într-un volum mare de apă înainte de a fi vărsat în sistemul de canalizare pentru a evita acumularea de azidă de sodiu în conductele metalice și pentru a preveni riscul de explozie.

7. Toate probele de sânge trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie manipulate cu grijă (în special: purtarea de mănuși de protecție, halate și ochelari de protecție).
8. Nu pipetați niciodată cu gura și evitați contactul probelor cu pielea, mucoasele și ochii.
9. Eprubetele pentru sânge și materialele de unică folosință utilizate pentru manipulare trebuie eliminate în recipiente ad-hoc destinate incinerării.
10. Reactivii și deșeurile trebuie eliminați în conformitate cu cerințele locale.

CLASIFICAREA RISCURILOR ÎN SISTEMUL GHS

Nu este clasificat ca periculos

SDS Fișa tehnică de securitate este disponibilă la beckmancoulter.com/techdocs

DEPOZITAREA ȘI STABILITATEA

Înainte și după desigilarea fiolei, acest reactiv trebuie păstrat la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C într-un loc ferit de lumină.

Perioada de valabilitate în fiolă închisă în conformitate cu studiul de stabilitate: 1095 zile.

Stabilitatea fiolei desigilate: reactivul este stabil timp de 180 (de) zile.

DOVADĂ DE DETERIORARE

Orice modificare a aspectului fizic al reactivilor poate indica degradarea. În acest caz, nu se recomandă utilizarea reactivului.

Pentru informații suplimentare sau dacă s-a primit un produs deteriorat, sunați la Serviciul Clienți Beckman Coulter la 800-742-2345 (SUA sau Canada) sau contactați-vă reprezentantul Beckman Coulter local.

CONȚINUT

Azida de sodiu folosită drept conservant poate forma compuși cu risc de explozie în conductele de drenaj metalice. Consultați buletinul informativ al NIOSH: Explosive Azide Hazard (Azidă cu risc de explozie) (08/16/76).
Pentru a evita posibila acumulare de compuși de azidă, spălați cu apă conductele pentru evacuarea deșeurilor după eliminarea reactivului nediluat. Eliminarea azidei de sodiu trebuie realizată în conformitate cu reglementările locale aplicabile.

MATERIALE NECESARE, DAR NEFURNIZATE CU SETUL:

- Eprubete pentru probe și materiale necesare pentru prelevarea probelor.
- Pipete automate cu vârfuri de unică folosință pentru 20, 100 și 500 µl.
- Eprubete din plastic pentru hemoliză.
- Reactiv de liză a eritrocitelor cu faza de spălare după liză. De exemplu: VersaLyse (ref. A09777).
- Reactiv de fixare a leucocitelor. De exemplu: Soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800).
- Ser de control izotipic PE: Reactiv IOTest (ref. A07796).
- Soluție tampon (PBS: 0,01 mol de fosfat de sodiu; 0,145 mol de clorură de sodiu; pH 7,2).
- Centrifugați.
- Agitator automat (tip Vortex).
- Citometru de flux.

PROCEDURA CU REACTIVUL VERSALYSE

Pentru fiecare probă analizată, în afară de eprubeta de testare, poate fi adăugată o eprubetă de ser de control în care celulele sunt amestecate în prezența serurilor de control izotipic (ref. A07796).

1. Adăugați 20 µl de anticorp conjugat IOTest specific în fiecare eprubetă de test și, dacă este necesar, 20 µl de ser de control izotipic în fiecare eprubetă cu ser de control.
2. Adăugați 100 µl de probă de test în fiecare eprubetă. Amestecați cu grijă eprubetele în agitatorul vortex.
3. Incubați timp de 15–20 de minute la temperatura camerei (18–25°C) într-un loc ferit de lumină.
4. Apoi efectuați liza eritrocitelor. Consultați prospectul VersaLyse (ref. A09777) și urmați, de preferat, procedura denumită „cu fixare concomitentă”, care constă în adăugarea a 1 ml de amestec „Fixare și liză” preparat extemporaneu. Amestecați imediat în agitatorul vortex timp de o secundă și incubați timp de 10 minute la temperatura camerei, într-un loc ferit de lumină.
5. Centrifugați timp de 5 minute la 150 x g la temperatura camerei.
6. Îndepărtați supernatantul prin aspirare.
7. Resuspendați peleta de celule utilizând 3 ml de PBS.
8. Repetați pasul 5.
9. Îndepărtați supernatantul prin aspirare și resuspendați peleta de celule utilizând:

- 0,5 ml sau 1 ml de PBS plus 0,1% formaldehidă dacă preparatele trebuie păstrate mai puțin de 24 (de) ore. (O soluție PBS cu 0,1% formaldehidă poate fi obținută prin diluarea unei cantități de 12,5 µl de soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800) la concentrația sa de 10X în 1 ml de PBS).
- 0,5 ml sau 1 ml de PBS fără formaldehidă, dacă preparatele trebuie analizate în decurs de 2 (de) ore.

Observație: În toate cazurile, păstrați preparatele la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C, în locuri ferite de lumină.

VALORI PRECONIZATE

În laboratoarele noastre, probele de sânge integral de la 25 donatori aparent sănătoși au fost tratate utilizându-se reactivul descris mai sus. Rezultatele obținute pentru numărul de evenimente pozitive de interes cu acest reactiv sunt date în tabelul de mai jos:

Ținta pozitivă	Număr	Medie (%)	SD (deviație standard)	CV (%)
Limfocite	25	67,94	11,93	17,56

Aceste valori au doar caracter exemplificativ. Fiecare laborator trebuie să stabilească propriile valori așteptate de la populația locală de donatori normali.

PERFORMANȚĂ

Datele de performanță se obțin folosindu-se procedeul descris mai sus pe probe de sânge cu o vechime mai mică de 24 de ore recoltate anterior în eprubete sterile cu sare EDTA ca anticoagulant. Analiza se efectuează în decurs de 2 ore de la imunocolorare.

SPECIFICITATE

Celulele T umane recunosc antigenii străini, în acest context molecule HLA gazdă, prin receptorul de celule T pentru antigen (TcR) (5, 6, 7). TcR este un complex molecular care are două unități: o unitate de recunoaștere, compusă dintr-un heterodimer α-β sau γ-δ, prezentă la suprafața celulei într-o manieră mutual exclusivă, și o unitate transductoare, complexul CD3, comună heterodimerilor α-β și γ-δ, care declanșează celula T atunci când unitatea de recunoaștere este ocupată de un antigen.

Unitățile de recunoaștere recunosc antigenii străini, iar diversitatea necesară acestei funcții de recunoaștere este generată de recombinarea somatică a genelor TcR. Există patru loci de gene TcR (α, β, γ și δ). Fiecare dintre acestea este compus din mai multe segmente V (adică „variabile”), codând aproximativ 90 de aminoacizi, segmente D („diversitate”) foarte scurte (numai pentru locii α și δ) și segmente J („joining”) scurte (aproximativ 15 aminoacizi) și unul sau două segmente C („constante”) (8, 9).1011 Anticorpul IP26A recunoaște un determinant monomorfic al lanțului α/β uman al complexului TcR (12, 13).

PRECIZIE

Valorile procentuale pozitive au fost stabilite folosind sânge integral. Fiecare probă a fost analizată de 4 ori, de două ori pe zi timp de 1 zi, pe 2 instrumente, folosind 2 loturi de reactivi cu anticorp monoclonal Anti-TCR PAN α/β-PE. Măsurătorile (% pozitive) au fost efectuate pe un citometru în flux Navios. Analiza a fost efectuată în conformitate cu metoda CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluarea performanței de precizie a metodelor de măsurare cantitativă).

Criteriile noastre de acceptare depind de numărul de evenimente pozitive măsurate pentru fiecare populație:

- Dacă evenimentul pozitiv < 1500, CV < 15%
- Dacă evenimentul pozitiv > 1500, CV < 10%

Limfocite							
Număr de evenimente pozitive (medie) = 6178							
	Inter-operator	Inter-citometru	Intra-lot	Inter-lot	Inter-ciclu	Intra-testare	Total
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
REZULTATE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACURATEȚE

Acuratețea Anti-TCR PAN α/β-PE a fost evaluată prin compararea rezultatelor cu un reactiv de referință ca predicat pe un set de probe de sânge integral analizate cu un citometru în flux Navios. Eroarea sistematică dintre test și reactivul de referință a fost determinată în funcție de diferența dintre rezultatele testului. Dacă eroarea sistematică se încadrează în intervalul de eroare permis sau dacă valoarea p nu indică o diferență semnificativă (> 0,05), rezultatele testului pentru cei doi reactivi sunt considerate ca fiind echivalente.

Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul de mai jos:

Număr de donatori = 25				
Ținta pozitivă	Medie Δ	Criterii celulă Δ%	Valoarea p	REZULTATE
Limfocite	-1,26	<5	0,208	PASS

LIMITA DE BLANC ȘI LIMITA DE DETECȚIE

A fost realizat un studiu în conformitate cu documentul CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluarea capacității de detecție în cazul procedurilor de măsurare din laborator). Limita de detecție (LOD) este cea mai redusă concentrație de analit care poate fi detectată în mod constant. Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul următor:

Positive Target	Limită de blanc (celulă/µl)	Limită de detecție (celulă/µl)
Limfocite	4	6

LIMITĂRI

1. Citometria în flux poate furniza rezultate false dacă citometrul nu a fost aliniat perfect, dacă scurgerile de fluorescență nu au fost compensate corect și dacă regiunile nu au fost poziționate corect.
2. Este de preferat să se utilizeze o tehnică de liză a eritrocitelor (RBC) cu o etapă de spălare, deoarece acest reactiv nu a fost optimizat pentru tehnici de liză „fără spălare”.
3. Se vor obține rezultate corecte și reproductibile dacă procedurile utilizate respectă prospectul tehnic și bunele practici de laborator.
4. Anticorpul conjugat din acest reactiv este calibrat astfel încât să ofere cel mai bun raport semnal specific/semnal nespecific. Prin urmare, este important ca la fiecare test să se respecte raportul volum de reactiv/volum de probă.
5. În cazul unei hiperleucocitoze, diluați sângele în PBS astfel încât să obțineți o valoare de aproximativ 5 x 10^9 leucocite/l (14).
6. În anumite stări patologice, cum ar fi insuficiența renală severă sau hemoglobinopatiile, liza eritrocitelor poate fi lentă, incompletă sau chiar imposibilă. În acest caz, se recomandă izolarea celulelor mononucleare cu ajutorul unui gradient de densitate (de exemplu, Ficoll), înainte de colorare (15).
7. În cazul pacienților tratați cu terapii cu anticorp monoclonal anti-uman, detecția antigenilor specifici țintiți poate fi diminuată sau absentă din cauza blocării parțiale sau complete asigurată de anticorpul terapeutic.

8. Rezultatele Anti-TCR PAN α/β-PE trebuie interpretate în lumina prezentării clinice integrale a pacientului, inclusiv: simptome, istoric clinic, date din teste suplimentare și alte informații corespunzătoare.

Consultați Anexa pentru exemple și referințe.

MĂRCI COMERCIALE

Beckman Coulter, logoul stilizat și mărcile de produse și servicii Beckman Coulter menționate aici sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Beckman Coulter, Inc. în Statele Unite și în alte țări.

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

În cazul unui pacient/utilizator/terț aflat în Uniunea Europeană sau în țări cu un regim de reglementare identic (Regulamentul 2017/746/UE privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro); dacă, în timpul utilizării acestui dispozitiv sau în urma utilizării acestuia, are loc un incident grav, raportați acest incident către producător și/sau reprezentantul său autorizat și către autoritatea națională din țara dvs.

Rezumatul secțiunilor Siguranță și Performanță este disponibil din baza de date EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORICUL REVIZUIRILOR

REVIZIA AD:	Data publicării: Octombrie 2019

REVIZIE	**Data publicării**
AW	Februarie 2022
Se actualizează pentru a respecta politica globală de etichetare Beckman Coulter și cerințele regulamentului IVD-R (UE) 2017/746:	
Secțiuni adăugate	Număr BSI 2797, Utilizator propus, Relevanță clinică, Concentrație, Precizie, Acuratețe, Limita de blanc și limita de detecție, Informații suplimentare, Istoric revizuiri.
Informații adăugate	Consultați secțiunile Limitări
Actualizări referitoare la frazare și tipografice	Consultați secțiunile Procedură, Performanță, Limitări, Avertizări și măsuri de precauție, Depozitare și stabilitate.
Secțiuni eliminate	Exemplu de utilizări clinice, Reactivi, Reproductibilitate intralaborator, Liniaritate
Secțiuni actualizate	Utilizare propusă, Clasificarea riscurilor în sistemul GHS, Dovadă de deteriorare, Procedură, Anexă.

REVIZIE	**Data publicării**
AX	Aprilie 2023
Secțiuni actualizate	A fost adăugată limba kazahă
Secțiuni actualizate	Depozitare și stabilitate

Versiunea revizuită	AY
Data revizuirii	Mai 2024
Au fost actualizate traducerile	**Relevanță clinică:**
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Versiunea revizuită	AZ
Data revizuirii	Iulie 2024
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Cheie simboluri

Glosarul de simboluri este disponibil la beckman.com/techdocs (număr document B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	TCR α/β
Klon	IP26A
Hibridom	NS1 x balb/c
Imunogen	T cell clone
Imunoglobulin	IgG1
Vrsta	Miš
Prečiščevanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	R Phycoerythrin
Molarno razmerje	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisij	575 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA in 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano protitelo Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 testov; 1 ml, 20 µl/test

Za diagnostično uporabo *in vitro*.

NAMEN UPORABE

To protitelo, konjugirano s fluorokromi, omogoča kvalitativno in neavtomatizirano identifikacijo celičnih populacij, ki izražajo antigen TCR α/β, prisoten v človeških bioloških vzorcih, z uporabo pretočne citometrije (oglejte si poglavje »Vzorci« spodaj).

NAČELO

Ta test temelji na sposobnosti specifičnih monoklonskih protiteles, da se vežejo na antigenske determinante, ki jih izražajo levkociti.

Specifično barvanje levkocitov izvedemo z inkubacijo vzorca z reagentom IOTest. Rdeče krvničke nato odstranimo z lizo, levkocite, na katere ta proces ne vpliva, pa analiziramo s pretočno citometrijo.

Pretočni citometer meri difuzijo svetlobe in fluorescenco celic. Omogoča razmejitev opazovane populacije v elektronskem oknu, opredeljenem v histogramu, ki je povezan z ortogonalno difuzijo svetlobe (stransko sipanje ali SS) in difuzijo svetlobe pri majhnemu kotu (sipanje naprej ali FS). Glede na uporabo, ki jo izbere uporabnik, lahko druge histograme, ki uporabljajo kombinacijo dveh različnih parametrov, ki so na voljo na citometru, uporabimo kot nosilce v fazi uokvirjanja.

Fluorescenco razmejenih celic analiziramo z namenom razlikovanja med pozitivno obarvanimi dogodki in tistimi, ki niso obarvani. Rezultati so izraženi kot odstotek pozitivnih dogodkov glede na vse dogodke, pridobljene z uokviranjem.

PREDVIDENI UPORABNIK

Izdelek je namenjen profesionalni laboratorijski uporabi.

KLINIČNI POMEN

Anti-TCR PAN α/β-PE je protiteloAnti-TCR PAN α/β, ki se uporablja za identifikacijo in karakterizacijo celic, ki izražajo antigen TCR α/β s pomočjo pretočne citometrije. Ta izdelek sam ne more ustvariti in ni namenjen za ustvarjanje kakršnih koli diagnostičnih zaključkov.

Če se izdelek uporablja v kombinaciji z drugimi označevalci, se lahko uporablja pri eni ali več naslednjih funkcij:

- Uporablja se kot pripomoček pri diferencialnem diagnosticiranju hematološko neobičajnih bolnikov, pri katerih obstaja sum, da imajo hematopoetsko neoplazmo, in za spremljanje bolnikov z znano hematopoetsko neoplazmo.

Oglejte si naslednje reference:

1; 2; 3; 4

VZORCI

Pri jemanju venske krvi je treba uporabiti sterilne epruvete, ki vsebujejo sol EDTA kot antikoagulant.

Vzorce je treba hraniti pri sobni temperaturi (18–25 °C) in jih ni dovoljeno pretresati. Vzorce je treba homogenizirati z rahlim stresanjem pred odvzemom testnega vzorca.

Vzorce je treba analizirati v 24 urah po venepunkciji.

KONCENTRACIJA

Oglejte si ustrezen certifikat o analizi za izbrano serijo na spletni strani www.beckman.com.

OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI

1. Ne uporabljajte reagenta po izteku roka uporabnosti.
2. Ne zamrzujte.
3. Pred uporabo počakajte, da se ogrejejo na sobno temperaturo (18–25 °C).
4. Čim manj izpostavljajte svetlobi.
5. Preprečite mikrobno kontaminacijo reagentov, sicer lahko pride do napačnih rezultatov.
6. Z raztopinami protiteles, ki vsebujejo natrijev azid (NaN_3), je treba ravnati previdno. Ne zaužijte in se izogibajte vsakršnemu stiku s kožo, sluznico in očmi.

Poleg tega lahko natrijev azid v kislem mediju tvori potencialno nevaren vodikov azid. Če ga je treba odstraniti, je reagent priporočljivo razredčiti z veliko količino vode pred izlivanjem v kanalizacijo, da bi se izognili kopičenju natrijevega azida v kovinskih ceveh in preprečili nevarnost eksplozije.

7. Vse vzorce krvi je treba obravnavati kot potencialno kužne in je treba z njimi ravnati previdno (predvsem je treba nositi zaščitne rokavice, halje in očala).
8. Nikoli ne pipetirajte z usti in se izogibajte vsakršnemu stiku vzorcev s kožo, sluznico in očmi.
9. Epruvete za kri in material za enkratno uporabo je treba odstraniti v zabojnike na licu mesta, namenjene sežigu.
10. Reagente in odpadke je treba odstraniti skladno z lokalnimi predpisi.

KLASIFIKACIJA NEVARNOSTI PO GHS

Ni razvrščeno kot nevarno

SDS Varnostni list je na voljo na povezavi beckmancoulter.com/techdocs

SHRANJEVANJE IN OBSTOJNOST

Ta reagent je treba shranjevati pri temperaturi od 2 do 8 °C in zaščiteno pred svetlobo pred odprtjem vial in po njem.

Rok uporabnosti zaprte viale po študiji stabilnosti: 1095 dni.

Stabilnost odprte stekleničke: reagent je stabilen 180 dni.

DOKAZ O POSLABŠANJU STANJA

Vsaka sprememba fizičnega videza reagentov lahko kaže na poslabšanje stanja in reagenta ni dovoljeno uporabljati.

Za dodatne informacije ali ob prejemu poškodovanega izdelka pokličite službo za pomoč strankam družbe Beckman Coulter na številko 800-742-2345 (ZDA ali Kanada) ali se obrnite na lokalnega predstavnika podjetja Beckman Coulter.

VSEBINA

Konzervans iz natrijevega azida lahko tvori eksplozivne spojine v kovinskih odvodnih ceveh. Oglejte si NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16. 8. 76) (Nevarnost eksplozivnih azidov).
Da bi se izognili morebitnemu kopičenju azidnih spojin, po odstranjevanju nerazredčenega reagenta sperite odtočne cevi z vodo. Odstranjevanje natrijevega azida mora biti skladno z ustreznimi lokalnimi predpisi.

POTREBEN MATERIAL, KI NI PRILOŽEN V KOMPLETU:

- Epruvete za vzorčenje in material, potreben za vzorčenje.
- Samodejne pipete s konicami za enkratno uporabo za 20, 100 in 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizo.
- Reagent za lizo rdečih krvničk z izpiranjem po lizi. Na primer: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagent za fiksacijo levkocitov. Na primer: fiksirna raztopina IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotipska kontrola PE: Reagent IOTest (Ref. A07796).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijev fosfat; 0,145 M natrijev klorid; pH 7,2).
- Centrifugirajte.
- Samodejni stresalnik (za stresanje).
- Pretočni citometer.

POSTOPEK Z REAGENTOM VERSALYSE

Za vsak analizirani vzorec lahko poleg testne epruvete dodamo še kontrolno epruveto, v kateri so celice pomešane v prisotnosti izotipskih kontrol (Ref. A07796).

1. V vsako testno epruveto dodajte 20 µl konjugiranih protiteles IOTest, po potrebi pa 20 µl izotipske kontrole v vsako kontrolno epruveto.
2. V vsako epruveto dodajte 100 µl testnega vzorca. Epruvete nežno stresajte.
3. Inkubirajte ga 15 do 20 minut pri sobni temperaturi (18–25 °C), zaščitenega pred svetlobo.
4. Nato izvedite lizo rdečih celic. Oglejte si brošuro VersaLyse (Ref. A09777) in po možnosti upoštevajte postopek, imenovan »s hkratno fiksacijo«, po katerem je treba dodati 1 ml mešanice »Fix-and-Lyse«, pripravljene sprotno. Takoj stresajte eno sekundo in inkubirajte 10 minut pri sobni temperaturi, zaščiteno pred svetlobo.
5. Centrifugirajte 5 minut pri 150 x g na sobni temperaturi.
6. Supernatant odstranite z aspiracijo.
7. Celično usedlino znova suspendirajte z uporabo 3 ml PBS.
8. Ponovite 5. korak.
9. Supernatant odstranite z aspiracijo in znova suspendirajte celično usedlino z uporabo:

- 0,5 ml ali 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehida, če je pripravke treba hraniti manj kot 24 ur. (0,1-% formaldehid PBS lahko dobimo z redčenjem 12,5 µl fiksirne raztopine IOTest 3 (Ref. A07800) pri njeni 10X koncentraciji v 1 ml PBS).
- 0,5 ml ali 1 ml PBS brez formaldehida, če je pripravke treba analizirati v 2 urah.

Opomba: v vseh primerih pripravke hranite na temperaturi od 2 do 8 °C in zaščitite pred svetlobo.

PRIČAKOVANE VREDNOSTI

V naših laboratorijih smo z zgoraj opisanim reagentom obdelali vzorce polne krvi 25 na videz zdravih darovalcev. Rezultati, pridobljeni s štetjem pozitivnih dogodkov, ki nas zanimajo v zvezi s tem reagentom, so navedeni v spodnjih preglednicah:

Pozitivna tarča	Številka	Povprečje (%)	SD (SO)	CV (%)
Limfociti	25	67,94	11,93	17,56

Te vrednosti so zgolj reprezentativne. Vsak laboratorij mora določiti lastne pričakovane vrednosti za lokalno populacijo običajnih darovalcev.

USPEŠNOST

Podatke o zmogljivosti pridobimo z zgoraj opisanim postopkom na vzorcih krvi, starih manj kot 24 ur, ki so bili predhodno zbrani v sterilnih epruvetah s soljo EDTA kot antikoagulantom. Analizo se izvede v 2 urah po imunohistokemičnem barvanju.

SPECIFIČNOST

Človeške celice T prepoznajo tuje antigene v kontekstu molekul gostiteljic HLA s pomočjo T-celičnega receptorja za antigen (TcR) (5, 6, 7). TcR-ji so molekularni kompleksi, ki jih sestavljata dve enoti: enota za prepoznavanje, ki jo sestavlja heterodimer α-β ali γ-δ, ki so prisotni na celični površini na medsebojno izključujoč način, in pretvorna enota, kompleks CD3, ki je skupen heterodimerom α-β in γ-δ, ki sproži celico T, ko je enota za prepoznavanje zasedena z antigenom.

Enote za prepoznavanje prepoznajo morebitne tuje antigene in potrebno diverziteto za to funkcijo, ali pa se prepoznavanje ustvari s pomočjo somatske rekombinacije genov TcR. Obstajajo štirje genski lokusi TcR (α, β, γ in δ). Vsakega od njih sestavlja več segmentov V (oznaka za spremenljivko, »variable«), ki se jih kodira za približno 90 aminokislin, zelo kratkih segmentov D (oznaka za diverziteto, »diversity«) (le na lokusih α in δ) in kratkih segmentov J (oznaka za pridruževanje, »joining«) (približno 15 aminokislin) ter en ali dva segmenta C (oznaka za konstanto, »constant«) (8, 9, 10, 11). Protitelo IP26A prepozna monomorfično determinanto človeške verige α/β kompleksa TcR (12,13).

NATANČNOST

Odstotke pozitivnih vrednosti smo določili z uporabo polne krvi. Vsak vzorec je bil obravnavan štirikrat, dvakrat dnevno en dan na dveh napravah z uporabo dveh serij reagentov z monoklonskimi protitelesi Anti-TCR PAN α/β-PE. Meritve (% pozitivnih) so bile opravljene na pretočnem citometru Navios. Analiza je bila izvedena na podlagi metode CLSI EP5-A2: Vrednotenje natančnosti kvantitativnih merilnih metod.

Naša merila sprejemljivosti so odvisna od števila pozitivnih dogodkov, izmerjenih za vsako populacijo:

- Če je pozitiven dogodek < 1.500, je CV < 15 %
- Če je pozitiven dogodek > 1.500, je CV < 10 %

Limfociti							
Število pozitivnih dogodkov (povprečje) = 6178							
	Med upravljavci	Med citometri	Znotraj serije	Med serijami	Med postopki	Znotraj postopka	Skupaj
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost Anti-TCR PAN α/β-PE smo ocenili s primerjavo rezultatov z referenčnim reagentom kot reagentom s potrjeno skladnostjo na nizu vzorcev polne krvi, obogatene s pozitivnimi celicami, obdelanimi na pretočnem citometru Navios. Odstopanje med preskusnim in referenčnim reagentom je bilo določeno na podlagi razlike med rezultati testa. Če je odstopanje znotraj dovoljenega območja napake ali vrednost p ne kaže pomembne razlike (> 0,05), se rezultati preskusov za oba reagenta štejejo za enakovredne.

Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Število darovalcev = 25				
Pozitivna tarča	Povprečje Δ	Δ % celičnega kriterija	vrednost p	REZULTATI
Limfociti	-1,26	<5	0,208	PASS

MEJA SLEPEGA VZORCA IN MEJA ZAZNAVANJA

Študija je bila izvedena skladno z metodo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zmogljivosti zaznavanja za merilne postopke v kliničnih laboratorijih). Meja zaznavanja (LOD) je najnižja koncentracija analita, ki jo je mogoče dosledno zaznati. Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Positive Target	Meja slepega vzorca (celic/µl)	Meja zaznavanja (celic/µl)
Limfociti	4	6

OMEJITVE

1. S pretočno citometrijo lahko pride do napačnih rezultatov, če citometer ni bil točno nameščen, če puščanje fluorescence ni bilo ustrezno izravnano in če območja niso bila natančno pozicionirana.
2. Priporočljivo je uporabiti tehniko liziranja RBC s korakom pranja, saj ta reagent ni optimiziran za tehnike liziranja »brez pranja«.
3. Točne in ponovljive rezultate se bo doseglo, če se bo uporabilo postopke, ki so skladni s priloženim tehničnim listom in z načeli dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugirano protitelo tega reagenta je umerjeno, tako da zagotavlja najboljše razmerje med specifičnim/nespecifičnim signalnim razmerjem. Zato je pomembno, da pri vsakem testu upoštevamo razmerje med količino reagenta/količino vzorca.
5. V primeru hiperlevkocitoze razredčite kri v PBS, da se tako dobi vrednost približno 5 x 10^9 levkocitov/l (14).
6. Pri nekaterih bolezenskih stanjih, kot je huda ledvična odpoved ali hemoglobinopatije, je lahko liza rdečih krvničk počasna, nepopolna ali celo nemogoča. V tem primeru je priporočljivo izolirati mononuklearne celice z uporabo gradienta gostote (na primer Ficoll) pred barvanjem (15).

7. Pri bolnikih, ki se zdravijo s terapijo z antihumanimi monoklonskimi protitelesi, je lahko odkrivanje specifičnih ciljnih antigenov zmanjšano ali pa ga sploh ni zaradi delnega ali popolnega blokiranja s strani terapevtskega protitelesa.
8. Rezultate Anti-TCR PAN α/β-PE je treba razlagati v luči celotne klinične slike bolnika, vključno s: simptomi, anamnezo, podatki dodatnih testov in drugimi ustreznimi podatki.

Primere in reference si oglejte v prilogi.

BLAGOVNE ZNAMKE

Beckman Coulter, stiliziran logotip ter znamke izdelkov in storitev podjetja Beckman Coulter, omenjene v tem dokumentu, so blagovne znamke ali registrirane blagovne znamke podjetja Beckman Coulter, Inc. v Združenih državah Amerike in drugih državah.

DRUGI PODATKI

Za bolnike/uporabnike/tretje osebe v Evropski uniji in v državah z enakim regulativnim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskih pripomočkih za in vitro diagnostiko): če med uporabo tega pripomočka ali kot rezultat njegove uporabe pride do resnega incidenta, o tem poročajte proizvajalcu in/ali njegovemu pooblaščenemu predstavniku in svojemu nacionalnemu organu.

Summary of Safety and Performance (Povzetek o varnosti in zmogljivosti) je na voljo v bazi podatkov EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ZGODOVINA REVIZIJ

REVIDIRANA IZDAJA AD:	Datum izdaje: Oktober 2019

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AW	Februar 2022
Posodobitve za skladnost z globalno politiko označevanja Beckman Coulter in v skladu z zahtevami IVD-R (EU) 2017/746:	
Dodana poglavja	Številka BSI 2797, predvideni uporabnik, klinični pomen, koncentracija, točnost, natančnost, meja slepega vzorca in meja zaznavanja, dodatne informacije, zgodovina revizij.
Dodatne informacije	Oglejte si poglavja Omejitve
Izrazne ali tipografske posodobitve	Oglejte si poglavja Postopek, Zmogljivost, Omejitve, Opozorila in previdnostni ukrepi, Shranjevanje in stabilnost.
Odstranjena poglavja	Primer klinične uporabe, reagenti, ponovljivost znotraj laboratorija, linearnost
Posodobljena poglavja	Predvidena uporaba, Klasifikacija nevarnosti po GHS, Dokaz o poslabšanju stanja, Postopek, Priloga.

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AX	April 2023
Posodobljena poglavja	Dodaj kazaščino
Posodobljena poglavja	Shranjevanje in stabilnost

Revidirana različica	AY
Revidiran datum	Maj 2024
Posodobljeni prevodi	**Klinični pomen:**
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Revidirana različica	AZ
Revidiran datum	Julij 2024
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Seznam simbolov

Glosar simbolov je na voljo na beckman.com/techdocs (številka dokumenta B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	TCR α/β
Klon	IP26A
Hibridom	NS1 x balb/c
Imunogen	T cell clone
Imunoglobulin	IgG1
Vrste	Miš
Prečišćavanje	Afinitetna hromatografija
Fluorohrom	R Phycoerythrin
Molarni odnos	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisije	575 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Konjugovano antitelo Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 testova; 1 ml, 20 µl/testu

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.

NAMENA

Ovo fluorohromno-konjugovano antitelo omogućava kvalitativnu i neautomatizovanu identifikaciju ćelijskih populacija koje eksprimiraju TCR α/β antigen prisutnih u humanim biološkim uzorcima pomoću protočne citometrije (pogledati odeljak „Uzorci“ u nastavku).

PRINCIP

Ovaj test se zasniva na sposobnosti određenih monoklonskih antitela da se vežu za antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično bojenje leukocita se obavlja inkubiranjem uzorka sa reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utiče, analiziraju se protočnom citometrijom.

Protočni citometar meri difuziju svetlosti i fluorescenciju ćelija. On omogućava razgraničenje populacije od interesa u okviru elektronskog prozora definisanog na histogramu, što je u korelaciji sa ortogonalnom difuzijom svetlosti (bočno rasejanje ili SS) i difuzijom uskougaone svetlosti (prednje rasejanje ili FS). Drugi histogrami koji kombinuju dva različita parametra koja postoje na citometru mogu se koristiti kao podrška u fazi regulacije, u zavisnosti od primene koju je korisnik odabrao.

Fluorescencija ograničenih ćelija se analizira kako bi se razlikovali pozitivno obojeni događaji od neobojenih događaja. Rezultati su prikazani kao procenat pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobijene regulacijom.

PREDVIĐENI KORISNIK

Ovaj proizvod je namenjen za upotrebu od strane laboratorijskih stručnjaka.

KLINIČKI ZNAČAJ

Anti-TCR PAN α/β-PE je antitelo Anti-TCR PAN α/β koje se koristi za identifikovanje i karakterisanje ćelija koje izražavaju antigen TCR α/β putem protočne citometrije. Ovaj proizvod ne može samostalno da proizvede dijagnostičke zaključke i nije namenjen za to.

Kada se koristi u kombinaciji sa drugim markerima, ovaj proizvod može da se koristi kod jedne ili više od sledećih funkcija:

- Kao pomoć u diferencijalnoj dijagnozi kod hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu i za nadgledanje pacijenata sa poznatom hematopoetskom neoplazmom.

Pogledajte sledeće reference:

1; 2; 3; 4

UZORCI

Uzorci iz venske krvi moraju se uzimati sterilnim epruvetama koje sadrže EDTA so kao antikoagulans.

Uzorke treba čuvati na sobnoj temperaturi (18–25°C) i ne tresti. Uzorke treba pre uzimanja uzorka za testiranje homogenizovati blagim mešanjem.

Uzorci se moraju analizirati u roku od 24 sati od venepunkcije.

KONCENTRACIJA

Pogledajte dokument „Certificate of Analysis“ (Sertifikat analize) za određeni lot na veb-sajtu www.beckman.com.

UPOZORENJE I MERE OPREZA

1. Ne koristite reagense nakon isteka roka trajanja.
2. Ne zamrzavajte.
3. Pre upotrebe sačekajte da se približi sobnoj temperaturi (18–25°C).
4. Izbegavati izloženost svetlosti.
5. Sprečite mikrobsku kontaminaciju reagenasa ili se mogu javiti netačni rezultati.
6. Rastvorima antitela koji sadrže natrijum azid (NaN_3) treba pažljivo rukovati. Ne uzimajte interno i izbegavajte svaki dodir sa kožom, sluzokožom i očima.

   Pored toga, u kiseloj sredini, natrijum azid može formirati potencijalno opasnu hidrazoinsku kiselinu. Ako je potrebno da se odloži u otpad, preporučuje se da se reagens razblaži u velikoj zapremini vode pre sipanja u sistem kanalizacije kako bi se izbeglo taloženje natrijum azida u metalnim cevima i sprečila opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno infektivnim i njima se mora pažljivo rukovati (posebno: nošenje zaštitnih rukavica, odeće i zaštitnih naočara).
8. Nikada ne pipetirajte ustima i izbegavajte svaki kontakt uzoraka sa kožom, sluzokožom i očima.
9. Epruvete za uzorak krvi i potrošni materijal koji je korišćen za rukovanje treba odložiti u ad hoc kontejnere predviđene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad treba ukloniti prema lokalnim zahtevima.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno

SDS Dokument „Bezbednosni list“ dostupan je na internet stranici beckmancoulter.com/techdocs

SKLADIŠTENJE I STABILNOST

Ovaj reagens se mora čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C i zaštićen od svetlosti, pre i posle otvaranja bočice.

Ispitivanje roka trajanja zatvorene bočice u odnosu na stabilnost: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dan(a).

DOKAZI POGORŠANJA

Bilo koja promena u fizičkom izgledu reagensa može ukazivati na pogoršanje i reagens ne treba koristiti.

Za dodatne informacije ili ako dobijete oštećen proizvod, pozovite korisnički servis kompanije Beckman Coulter na broj 800-742-2345 (SAD ili Kanada) ili pozovite svog lokalnog predstavnika kompanije Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans sa natrijum azidom može formirati eksplozivna jedinjenja u metalnim odvodnim vodovima. Pogledajte „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (16.8.76.) (Bilten Nacionalnog instituta za bezbednost i zdravlje na radu: Opasnost od eksplozivnih azida).
Da biste sprečili moguće taloženje jedinjenja azida, isperite cevi za otpad vodom nakon odlaganja u otpad nerazblaženog reagensa. Odlaganje u otpad natrijum azida mora biti u skladu sa odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI SE NE ISPORUČUJU UZ KOMPLET:

- Epruvete za uzorkovanje i materijal potreban za uzorkovanje.
- Automatske pipete sa nastavcima za jednokratnu upotrebu za 20 100 µl i 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizu.
- Reagens za liziranje eritrocita sa fazom ispiranja nakon liziranja. Na primer: VersaLyse (referentni broj A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primer: IOTest 3 fiksativni rastvor (referentni broj A07800).
- Izotipska kontrola PE: IOTest reagens (referentni broj A07796).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijum-fosfat; 0,145 M natrijum-hlorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska mešalica (vrtložnog tipa).
- Protočni citometar.

POSTUPAK SA VERSALYSE REAGENSOM

Za svaki analiziran uzorak je pored epruvete za uzorak moguće dodati i jednu kontrolnu epruvetu u kojoj se ćelije mešaju u prisustvu izotipske kontrole (referentni broj A07796).

1. Dodajte 20 µl specifičnog IOTest konjugovanog antitela u svaku epruvetu za uzorak i, ako je to potrebno, 20 µl kontrole izotipa u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µl uzorka za testiranje u svaku epruvetu za uzorak. Pažljivo izmešajte epruvete u vrtložnoj mešalici.
3. Inkubirajte 15 do 20 minuta na sobnoj temperaturi (18–25°C), zaštićeno od svetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje crvenih ćelija. Pogledajte VersaLyse (referentni broj A09777) letak i poželjno pratite postupak pod nazivom „sa istovremenom fiksacijom“, koji se sastoji od dodavanja 1 ml nezavisno pripremljene smeše za fiksiranje i liziranje („Fix-and-Lyse“). Odmah izmešajte u vrtložnoj mešalici jednu sekundu i inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi, zaštićeno od svetlosti.
5. Centrifugirajte 5 minuta na 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Ponovo suspendujte talog ćelija u 3 ml PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Aspiracijom uklonite supernatant i ponovo suspendujte talog ćelija u:

- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a plus 0,1% formaldehida ako će se preparati čuvati kraće od ovog broja sati: 24. (PBS sa 0,1% formaldehida može se dobiti razblaživanjem 12,5 µl IOTest 3 rastvora za fiksiranje (referentni broj A07800) u 10X koncentraciji u 1 ml PBS-a).
- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a bez formaldehida ako će se preparati analizirati u roku od ovog broja sati – 2.

Napomena: U svim slučajevima preparate čuvajte na temperaturi između 2°C i 8°C i zaštićene od svetlosti.

OČEKIVANE VREDNOSTI

U našim laboratorijama, uzorci pune krvi 25 očigledno zdravih donora tretirani su pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati dobijeni za broj pozitivnih događaja od interesa sa ovim reagensom navedeni su u tabeli u nastavku:

Pozitivan cilj	Broj	Srednja vrednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti	25	67,94	11,93	17,56

Ove vrednosti treba da služe samo kao reprezentativne vrednosti. Svaka laboratorija treba da uspostavi sopstvene očekivane vrednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o delovanju dobijeni su pomoću prethodno opisanog postupka na manje od 24 sata starim uzorcima krvi koji su prethodno prikupljeni sterilnim epruvetama za uzorke sa EDTA solju kao antikoagulansom. Analiza se vrši u roku od 2 sata od imunobojenja.

SPECIFIČNOST

Humane T ćelije prepoznaju strane antigene, u kontekstu domaćih HLA molekula preko T-ćelijskog receptora za antigen (TcR) (5, 6, 7). TcR receptori su molekulski kompleksi koji se sastoje od dve jedinice: jedinice za prepoznavanje, sastavljene ili od α-β ili od γ-δ heterodimera, koji su prisutni na površini ćelije na međusobno isključujući način, i prenosne jedinice, CD3 kompleksa, koja je uobičajena za α-β i γ-δ heterodimere, koja aktivira T ćeliju kada je jedinica za prepoznavanje zauzeta antigenom.

Jedinice za prepoznavanje prepoznaju bilo koji eventualni strani antigen a raznovrsnost potrebna za ovu funkciju prepoznavanja generiše se somatskom rekombinacijom TcR gena. Postoje četiri položaja TcR gena (α, β, γ i δ). Svaki od njih se sastoji od nekoliko V (za promenljivu) segmenata, kodiranja za oko 90 aminokiselina, veoma kratkih D (za različitost) segmenata (samo α i δ položaji) i kratkih J (za spajanje) segmenata (oko 15 aminokiselina) i jednog ili dva C (za konstantno) segmenta (8, 9, 10, 11). IP26A antitelo prepoznaje monomorfnu determinantu humanog α/β lanca TcR kompleksa (12, 13).

PRECIZNOST

Pozitivne vrednosti procenta su utvrđene korišćenjem pune krvi. Svaki uzorak je analiziran 4 puta, dva puta dnevno tokom 1 dana na 2 instrumenta uz korišćenje 2 partije reagenasa za monoklonsko antitelo Anti-TCR PAN α/β-PE. Merenja (pozitivni %) napravljena su na protočnom citometru Navios. Analiza je izvršena na osnovu CLSI metoda EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluacija preciznog utvrđivanja performansi kvantitativnih metoda merenja).

Naši kriterijumi prihvatljivosti zavise od broja pozitivnih događaja izmerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivan događaj <1.500, CV <15%
- Ako je pozitivan događaj >1.500, CV <10%

Limfociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrednost) = 6178							
	Između više operatera	Između više citometara	Unutar jednog lota	Između više lotova	Između više analiziranja	Unutar jednog analiziranja	Ukupno
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TAČNOST

Tačnost za Anti-TCR PAN α/β-PE je utvrđena poređenjem rezultata sa referentnim reagensom kao iskazom na nizu uzoraka pune krvi koji su analizirani na protočnom citometru Navios. Odstupanje između testa i referentnog reagensa utvrđeno je na osnovu razlike između rezultata testova. Ako je odstupanje u okvirima dozvoljenog opsega greške ili p-vrednost ne ukazuje na značajnu razliku (>0,05), onda se rezultati testova za dva reagensa smatraju ekvivalentnim.

Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivan cilj	Srednja vrednost Δ	Δ % ćelijskih kriterijuma	p-vrednost	REZULTATI
Limfociti	-1,26	<5	0,208	PASS

LIMIT SLEPE PROBE I LIMIT DETEKCIJE

Izvršeno je ispitivanje u skladu s protokolom CLSI EP17-A2, „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Procena sposobnosti detekcije za postupke merenja u kliničkoj laboratoriji). Limit detekcije (LoD) je najniža koncentracija analita koja se može dosledno detektovati. Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli:

Positive Target	Limit slepe probe (ćelija/µl)	Limit detekcije (ćelija/µl)
Limfociti	4	6

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti netačne rezultate ako citometar nije pravilno postavljen, ako fluorescentna curenja nisu ispravno kompenzirana ili ako regioni nisu pažljivo postavljeni.
2. Poželjno je koristiti tehniku liziranja RBC sa korakom ispiranja jer ovaj reagens nije optimizovan za tehnike liziranja „bez pranja“.
3. Tačni i ponovljivi rezultati će se dobijati sve dok su korišćeni postupci u skladu sa listom sa tehničkim podacima i postupci kompatibilni sa smernicama dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugovano antitelo ovog reagensa je kalibrisano tako da ponudi najbolji odnos specifičnog i nespecifičnog signala. Prema tome, važno je u svakom testu koristiti utvrđeni odnos zapremine reagensa i zapremine uzorka.
5. U slučaju hiperleukocitoze, razredite krv u PBS-u kako biste dobili vrednost od približno 5×10^9 leukocita/l (14).
6. U određenim stanjima bolesti, kao što su teška bubrežna insuficijencija ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak nemoguće. U tom slučaju se pre bojenja preporučuje izoliranje mononuklearnih ćelija upotrebom gradijenta gustine (na primer, fikol) (15).
7. Kod pacijenata lečenih terapijama antihumanim monoklonskim antitelima, detekcija specifičnih ciljanih antigena može biti umanjena ili odsutna usled delimične ili potpune blokade od strane terapijskog antitela.

8. Rezultate Anti-TCR PAN α/β-PE testa treba tumačiti u svetlu celokupne kliničke slike pacijenta, uključujući: simptome, kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i druge prikladne informacije.

Za primere i referentne materijale pogledati Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizovani logotip i Beckman Coulter robni i servisni žigovi koji se navode u ovom dokumentu jesu žigovi ili registrovani žigovi kompanije Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim zemljama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta/korisnika/treću stranu u Evropskoj uniji i zemljama sa identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o in vitro dijagnostičkim medicinskim sredstvima); ako je tokom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe došlo do ozbiljnog incidenta, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlašćenom predstavniku i svom nacionalnom organu.

Dokument Summary of Safety and Performance (Sažetak informacija o bezbednosti i učinku) dostupan je u EUDAMED bazi podataka: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORIJA REVIZIJA

REVIZIJA AD:	Datum izdavanja: Oktobar, 2019.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AW	Februar 2022.
Ažurirano radi usklađenosti sa smernicama za globalno obeležavanje kompanije Beckman Coulter u skladu sa zahtevima IVD-R (EU)2017/746:	
Dodati odeljci	BSI 2797 broj, Predviđeni korisnik, Klinički značaj, Koncentracija, Preciznost, Tačnost, Limit slepe probe i limit detekcije, Dodatne informacije, Istorija revizija.
Dodate informacije	Pogledati odeljke Ograničenja
Ažuriranje formulacija ili tipografije	Pogledati odeljke Postupak, Učinak, Ograničenja, Upozorenja i mere opreza, Čuvanje i stabilnost.
Uklonjeni odeljci	Primeri kliničkih primena, Reagensi, Intralaboratorijska reproducibilnost, Linearnost
Dopunjeni odeljci	Namena, GHS klasifikacija opasnosti, Dokaz propadanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AX	April 2023
Dopunjeni odeljci	Dodajte kazaški
Dopunjeni odeljci	Skladištenje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Maj 2024
Ažurirani prevodi	**Klinički značaj:**
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Jul 2024
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Ključ za simbole

Rečnik simbola je dostupan na adresi beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Specifikācijas
Specifika	TCR α/β
Klons	IP26A
Hibridoma	NS1 x balb/c
Imunogēns	T cell clone
Imūnglobulīns	IgG1
Suga	Pele
Attīrīšana	Radniecības noteikšanas hromatogrāfija
Fluorohroms	R Phycoerythrin
Molārā attiecība	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ierosme	488 nm
Izstarojuma lielākā vērtība	575 nm
Buferšķīdums	PBS pH 7,2 ar 2 mg/ml BSA un 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugētā antiviela
Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 testi; 1 ml, 20 µl uz testu

***In vitro* diagnostikas lietošanai.**

PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

Ar fluorohromu konjugētā antiviela nodrošina tādu šūnu populāciju kvalitatīvo un neautomatizēto noteikšanu, kam ir TCR α/β antigēna ekspresija un kas ir cilvēka bioloģiskajos paraugos, izmantojot plūsmas citometriju (skatīt tālāk sadaļu „Paraugi").

PRINCIPS

Šī testa pamatā ir specifisku monoklonālu antivielu spēja saistīties ar leikocītu izdalītām antigēnu determinantēm.

Leikocītu specifiskā iekrāsošana tiek veikta, inkubējot paraugu ar IOTest reaģentu. Pēc tam eritrocīti tiek atdalīti lizēšanas procesā, un leikocīti, ko šis process neietekmē, tiek analizēti, izmantojot plūsmas citometriju.

Plūsmas citometrs mēra gaismas difūziju un šūnu fluorescenci. Tādēļ ir iespējama interesējošās populācijas ierobežošana elektroniskajā logā, kas definēts histogrammā, kas korelē ar gaismas ortogonālo difūziju (sānu izkliede jeb SS) un šaurleņķa gaismas difūziju (priekšējā izkliede jeb FS). Kā papildu metodes sinhronizācijas procesā iespējams izmantot citas histogrammas, kurās iespējams kombinēt divus dažādus citometrā pieejamos parametrus atkarībā no lietotāja izvēlētā izmantojuma.

Tiek analizēta atdalīto šūnu fluorescence, lai atšķirtu pozitīvi iekrāsotos notikumus no neiekrāsotajiem. Rezultāti tiek izteikti kā procentuālais lielums no pozitīviem notikumiem attiecībā pret visiem notikumiem, kas iegūti selekcijā.

PAREDZĒTAIS LIETOTĀJS

Šis produkts ir paredzēts profesionālai lietošanai laboratorijā.

KLĪNISKAIS NOZĪMĪGUMS

Anti-TCR PAN α/β-PE ir Anti-TCR PAN α/β antiviela, kas tiek izmantota, lai ar plūsmas citometriju noteiktu un raksturotu šūnas, kas ekspresē TCR α/β antigēnus. Ar vienu pašu šo produktu nevar iegūt nekādu diagnostisku secinājumu, un tas nav tam paredzēts.

Izmantojot kopā ar citiem marķieriem, šo izstrādājumu var lietot vienai vai vairākām tālāk norādītajām funkcijām.

- Lai palīdzētu veikt diferenciāldiagnostiku pacientiem ar hematoloģiskām patoloģijām, kuriem, iespējams, ir asinsrades neoplazma, un lai kontrolētu pacientus ar zināmu asinsrades neoplazmu.

Skatiet tālāk sniegtās atsauces.

1; 2; 3; 4

PARAUGI

Venozās asinis jāņem, izmantojot sterilas mēģenes, kurās kā antikoagulants ir izmantots EDTA sāls.

Paraugi ir jāuzglabā istabas temperatūrā (18–25 °C), un tos nedrīkst sakratīt. Pirms testa parauga ņemšanas ir jāveic paraugu homogenizācija, viegli saskalojot paraugus.

Paraugu analīze ir jāveic 24 stundu laikā pēc vēnas punkcijas.

KONCENTRĀCIJA

Konkrētai partijai atbilstošo analīzes sertifikātu skatiet vietnē www.beckman.com.

BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

1. Neizmantojiet reaģentu pēc derīguma termiņa beigām.
2. Nedrīkst sasaldēt.
3. Pirms izmantošanas ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai (18–25 °C).
4. Minimizējiet ekspozīciju gaismas iedarbībai.
5. Izvairieties no reaģentu bakteriālas kontaminācijas, jo iespējami viltus rezultāti.
6. Strādājot ar antivielu šķīdumiem, kuru sastāvā ir nātrija azīds (NaN_3), jāievēro piesardzība. Neizmantojiet iekšķīgi un nepieļaujiet saskari ar ādu, gļotādu un acīm.

   Turklāt skābā vidē nātrija azīds var radīt potenciāli bīstamo hidrazoīdskābi. Ja to nepieciešams izmest, reaģentu ieteicams šķīdināt lielā daudzumā ūdens un izliet to kanalizācijas sistēmā, lai novērstu nātrija azīda uzkrāšanos metāla caurulēs un novērstu sprādziena risku.
7. Visi asins paraugi ir jāuzskata par potenciāli infekcioziem, un ar tiem jārīkojas, ievērojot piesardzību (respektīvi, jāvalkā aizsargcimdi, aizsargtērpi un brilles).

8. Nekādā gadījumā neizmantojiet muti, lai darbotos ar pipeti. Paraugi nekādā gadījumā nedrīkst saskarties ar ādu, gļotādu un acīm.
9. Darbā izmantotās asiņu mēģenes un vienreizlietojamie materiāli ir jāizmet ad hoc konteineros, kas paredzēti sadedzināšanai.
10. Ir jāveic reaģentu un atkritumu utilizācija atbilstoši vietējām prasībām.

ĶĪMISKO VIELU KLASIFICĒŠANAS UN MARĶĒŠANAS VISPĀRĒJI SASKAŅOTĀS SISTĒMAS BĪSTAMĪBAS KLASIFIKĀCIJA

Nav klasificēts kā bīstams

SDS Drošības datu lapa ir pieejama vietnē beckmancoulter.com/techdocs

GLABĀŠANA UN STABILITĀTE

Reaģents ir jāuzglabā 2–8 °C temperatūrā un jāsargā no gaismas pirms un pēc flakona atvēršanas.

Aizvērta flakona glabāšanas laiks saskaņā ar stabilitātes pētījumu: 1095 dienas.

Atvērta flakona stabilitāte: reaģents ir stabils 180 dienas.

SADALĪŠANĀS PAZĪMES

Jebkuras reaģentu pazīmju izmaiņas var norādīt, ka reaģents sadalās un to nedrīkst izmantot.

Lai iegūtu papildu informāciju vai arī ja saņemtais izstrādājums ir bojāts, zvaniet Beckman Coulter klientu servisam pa tālruni 800-742-2345 (ASV vai Kanāda) vai sazinieties ar vietējo Beckman Coulter pārstāvi.

SATURS

Nātrija azīda konservants var izveidot sprādzienbīstamus savienojumus metāla notekcaurulēs. Skatīt NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (NIOSH biļetens: Azīdu sprādzienbīstamība) (16.8.76.).
Lai nepieļautu iespējamo azīda savienojumu uzkrāšanos, pēc neatšķaidītā reaģenta izmešanas izskalojiet kanalizācijas caurules ar ūdeni. Nātrija azīda izmešana ir jāveic saskaņā ar atbilstošajiem vietējiem noteikumiem.

NEPIECIEŠAMIE MATERIĀLI, KAS NEIETILPST KOMPLEKTĀ

- Paraugu ņemšanai nepieciešamās mēģenes un materiāli.
- Automātiskās pipetes ar vienreizlietojamiem uzgaļiem, kas paredzētas 20, 100 un 500 µl.
- Plastmasas hemolīzes mēģenes.
- Eritrocītu lizēšanas reaģents ar mazgāšanas fāzi pēc lizēšanas. Piemērs: VersaLyse (ats. A09777).
- Leikocītu fiksācijas reaģents. Piemērs: IOTest 3 fiksatīvais šķīdums (ats. A07800).
- Izotipa kontrole PE: IOTest reaģents (ats. A07796).
- Buferšķīdums (PBS: 0,01 M nātrija fosfāta; 0,145 M nātrija hlorīda; pH 7,2).
- Centrifugējiet.
- Automātisks maisītājs (samaisīšanas tipa).
- Plūsmas citometrs.

PROCEDŪRA AR REAĢENTU VERSALYSE

Katram analizētajam paraugam papildus testa mēģenei var izmantot vienu kontroles mēģeni, kurā šūnas tiek sajauktas izotipu kontroles klātbūtnē (ats. A07796).

1. Katrai testa mēģenei pievienojiet 20 µl specifiskas IOTest konjugētas antivielas un, ja nepieciešams, katrai kontroles mēģenei pievienojiet 20 µl izotipa kontroles.
2. Pievienojiet 100 µl testa parauga katrai mēģenei. Saudzīgi samaisiet mēģenes.
3. Inkubējiet 15–20 minūtes istabas temperatūrā (18–25 °C), sargājot no gaismas.
4. Pēc tam veiciet eritrocītu lizēšanu. Skatiet VersaLyse (ats. A09777) lietošanas instrukciju, un ir vēlams izmantot procedūru ar nosaukumu „ar vienlaicīgu fiksāciju", kas tiek veikta, pievienojot 1 ml ekstemporāli izgatavota „Fix-and-Lyse" maisījuma. Nekavējoties samaisiet uz vienu sekundi un inkubējiet mēģeni 10 minūtes istabas temperatūrā, sargājot to no gaismas iedarbības.
5. Centrifugējiet 5 minūtes istabas temperatūrā, izmantojot 150 x g.
6. Aspirējot noņemiet virsējo slāni.
7. Atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu ar 3 ml PBS.
8. Atkārtojiet 5. darbību.
9. Aspirējot noņemiet virsējo slāni un atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu, izmantojot:

- 0,5 ml vai 1 ml PBS ar 0,1 % formaldehīda, ja preparātus ir paredzēts uzglabāt mazāk nekā 24 stundas. (0,1 % formaldehīda PBS var iegūt, atšķaidot 12,5 µl IOTest 3 fiksācijas šķīduma (ats. A07800) 10X koncentrācijā ar 1 ml PBS).
- 0,5 ml vai 1 ml PBS bez formaldehīda, ja ir paredzēts analizēt sagataves 2 stundu laikā.

Piezīme. Sagatavotos maisījums vienmēr uzglabājiet 2–8 °C temperatūrā un sargājiet no gaismas.

PAREDZAMĀS VĒRTĪBAS

Mūsu laboratorijās tika apstrādāti 25 acīmredzami veselu donoru pilnasins paraugi, izmantojot iepriekš aprakstīto reaģentu. Ar šo reaģentu iegūtie interesējošo pozitīvo notikumu rezultāti skaitliskā veidā ir sniegti tālāk tabulā.

Pozitīvais mērķis	Numurs	Aritmētiskais vidējais (%)	SN	Variācijas koeficients (%)
Limfocīti	25	67,94	11,93	17,56

Šīm vērtībām ir tikai raksturojošs nolūks. Katrai laboratorijai jānosaka savas paredzamās vērtības, kas iegūtas no veseliem vietējās populācijas donoriem.

VEIKTSPĒJA

Veiktspējas dati tiek iegūti, izmantojot iepriekš aprakstīto procedūru mazāk nekā 24 stundu veciem asins paraugiem, kas iepriekš paņemti sterilās mēģenēs ar EDTA sāli kā antikoagulantu. Analīze tiek veikta 2 stundu laikā pēc imūnkrāsošanas metodes izmantošanas.

SPECIFIKA

Cilvēka T šūnas atpazīst svešus antigēnus, ņemot vērā saimnieka HLA molekulas caur antigēna T šūnu receptoriem (TcR) (5, 6, 7). TcR ir molekulu kompleksi, kas aptver divas vienības: atpazīšanas vienību, kas sastāv vai nu no α-β, vai γ-δ heterodimēra, kas atrodas uz šūnu virsmas savstarpēji izslēdzošā veidā, un transdukcijas vienību, CD3 kompleksu, kas raksturīgs α-β un γ-δ heterodimēriem, kas aktivizē T šūnu, kad atpazīšanas vienībā ir antigēns.

Atpazīšanas vienības atpazīst jebkādus iesējamos svešos antigēnus, un šai atpazīšanas funkcijai nepieciešamo dažādību rada T šūnu receptoru gēnu somatiskā rekombinācija. Pastāv četri T šūnu receptoru gēnu lokusi (α, β, γ un δ). Katrs no tiem veido vairākus V (mainīgajam) segmentus, kodu apmēram 90 aminoskābēm, ļoti īsus D (daudzveidībai) segmentus (tikai α un δ lokusiem) un īsus J (savienošanai) segmentus (apmēram 15 aminoskābes), un vienu vai abus C (nemainīgajam lielumam) segmentus (8,9,10,11). IP26A antiviela atpazīst monomorfo determinantu T šūnu receptoru kompleksa cilvēka α vai β ķēdē (12,13).

PRECIZITĀTE

Procentuālās pozitīvās vērtības tika noteiktas, izmantojot pilnasinis. Katrs paraugs tika analizēts 4 reizes: divreiz dienā 1 dienu 2 instrumentos, izmantojot 2 partijas Anti-TCR PAN α/β-PE monoklonālu antivielu reaģentu. Mērījumi (% pozitīvs) tika veikti Navios plūsmas citometrā. Analīze tika veikta, pamatojoties uz CLSI metodi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatīvo mērīšanas metožu precizitātes veiktspējas novērtēšana).

Mūsu pieņemšanas kritēriji ir atkarīgi no katrai populācijai noteikto pozitīvo notikumu skaita.

- Ja pozitīvs notikums < 1500, variācijas koeficients < 15 %
- Ja pozitīvs notikums > 1500, variācijas koeficients < 10 %

Limfocīti							
Pozitīvo notikumu skaits (aritmētiskais vidējais) = 6178							
	Starp operatoriem	Starp citometriem	Partijā	Starp partijām	Starp analīzēm	Analīzē	Kopā
Variācijas koeficients (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
REZULTĀTI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRECIZITĀTE

Anti-TCR PAN α/β-PE precizitāte tika novērtēta, rezultātus no pilnasins paraugu kopas, kas analizēti Navios plūsmas citometrā, salīdzinot ar atsauces reaģentu kā predikātu. Novirze starp testa un atsauces reaģentu tika noteikta, pamatojoties uz testu rezultātu atšķirību. Ja novirze atbilst pieļaujamajam kļūdas diapazonam vai p vērtība neliecina par nozīmīgu atšķirību (> 0,05), tad abu reaģentu testu rezultāti uzskatāmi par līdzvērtīgiem.

Iegūtie rezultāti ir apkopoti nākamajā tabulā.

Donoru skaits = 25				
Pozitīvais mērķis	Aritmētiskais vidējais Δ	Δ % šūnu kritēriji	p vērtība	REZULTĀTI
Limfocīti	-1,26	<5	0,208	PASS

TUKŠO PARAUGU ROBEŽVĒRTĪBA UN NOTEIKŠANAS ROBEŽVERTĪBA

Pētījums tika veikts saskaņā ar CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klīniskās laboratorijas mērījumu procedūru noteikšanas spēju izvērtējums). Noteikšanas robežvērtība (NR) ir zemākā analīta koncentrācija, ko iespējams konsekventi noteikt. Iegūtie rezultāti ir apkopoti tālāk tabulā.

Positive Target	Tukšo paraugu robežvērtība (šūnas/µl)	Noteikšanas robežvērtība (šūnas/µl)
Limfocīti	4	6

IEROBEŽOJUMI

1. Ja citometrs nav novietots precīzi līdzeni, ja nav pareizi kompensētas fluorescences noplūdes un ja reģioni nav uzmanīgi novietoti, plūsmas citometrija var radīt viltus rezultātus.
2. Ir ieteicams izmantot RBC lizēšanas paņēmienu ar mazgāšanas darbību, jo šis reaģents nav optimizēts izmantošanai lizēšanas paņēmienā „bez mazgāšanas".
3. Iegūtie rezultāti ir precīzi un reproducējami, ja visas izmantotās procedūras tiek izpildītas atbilstoši tehniskajai lietošanas instrukcijai un ir saskaņā ar labu laboratorijas praksi.
4. Šī reaģenta konjugētā antiviela ir kalibrēta tā, lai nodrošinātu labāko specifiska signāla/nespecifiska signāla attiecību. Tāpēc ir ļoti svarīgi ievērot reaģenta tilpuma/parauga tilpuma attiecību katrā testā.
5. Hiperleikocitozes gadījumā atšķaidiet asinis ar PBS, lai iegūtā vērtība būtu apmēram 5 x 10^9 leikocīti/l (14).
6. Dažos slimību stāvokļos, piemēram, izteiktas nieru mazspējas vai hemoglobinopātijas gadījumā, eritrocītu lizēšana var būt lēna, nepilnīga vai pat neiespējama. Šajā gadījumā pirms iekrāsošanas ir ieteicams izolēt mononukleārās šūnas, izmantojot blīvuma gradientu (piemēram, Ficoll) (15).
7. Pacientiem, ko ārstē ar anti-cilvēka monoklonālas antivielas līdzekļiem, specifisku mērķa antigēnu noteikšana var būt pasliktināta vai tās var nebūt, jo to daļēji vai pilnībā bloķē terapeitiskā antiviela.
8. Anti-TCR PAN α/β-PE rezultāti jāinterpretē, ņemot vērā pacienta kopējo klīnisko stāvokli, tajā skaitā simptomus, klīnisko vēsturi, papildu testu rādītājus un citu atbilstošu informāciju.

Pielikumā skatiet piemērus un atsauces.

PREČU ZĪMES

Beckman Coulter, stilizētais logotips un Beckman Coulter preču un pakalpojumu zīmes, kas minētas šeit, ir Beckman Coulter, Inc. preču zīmes vai reģistrētas preču zīmes Amerikas Savienotajās Valstīs un citās valstīs.

PAPILDINFORMĀCIJA

Attiecībā uz pacientiem/lietotājiem/trešajām personām Eiropas Savienībā vai valstīs ar identisku regulatīvo režīmu (Regula (ES) 2017/746 par in vitro diagnostikas medicīniskām ierīcēm); ja ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā rodas nopietns negadījums, informējiet par to ražotāju un/vai tā pilnvaroto pārstāvi, kā arī valsts iestādi.

Summary of Safety and Performance (Drošuma un veiktspējas kopsavilkums) ir pieejams EUDAMED datubāzē: ec.europa.eu/tools/eudamed.

PĀRSKATĪŠANAS VĒSTURE

AD VERSIJA:	Laidiena datums: 2019. gada oktobris

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AW	2022. gada februāris
Atjauninājumi atbilst Beckman Coulter vispārējai marķēšanas politikai un IVD-R (ES)2017/746 prasībām:	
Pievienotas iedaļas	BSI 2797 numurs, Paredzētais lietotājs, Klīniskais nozīmīgums, Koncentrācija, Precizitāte, Precizitāte, Tukšo paraugu robežvērtība un noteikšanas robežvērtība, Papildinformācija, Pārskatīšanas vēsture.
Pievienota informācija	Skatīt iedaļas Ierobežojumi.
Formulējuma vai tipogrāfiski atjauninājumi	Skatīt iedaļas Procedūra, Veiktspēja, Ierobežojumi, Brīdinājumi un piesardzības pasākumi, Glabāšana un Stabilitāte.
Izņemtās iedaļas	Klīniskā lietojuma piemērs, reaģenti, reproducējamība laboratorijā, linearitāte.
Atjauninātās sadaļas	Paredzētā lietošana, Ķīmisko vielu klasificēšanas un marķēšanas vispārēji saskaņotās sistēmas bīstamības klasifikācija, Sadalīšanās pazīmes, Procedūra, Pielikums.

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AX	Aprīlis 2023
Atjauninātās sadaļas	Pievienot kazahu valodu
Atjauninātās sadaļas	Glabāšana un stabilitāte

Pārskatītā versija	AY
Pārskatītā izdevuma datums	Maijs 2024
Atjauninātie tulkojumi	**Klīniskais nozīmīgums:**
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Pārskatītā versija	AZ
Pārskatītā izdevuma datums	Jūlijs 2024
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Simbolu skaidrojumi

Simbolu glosārijs ir pieejams vietnē beckman.com/techdocs (dokumenta numurs B60062)

	Специфікації
Специфічність	TCR α/β
Клон	IP26A
Гібридома	NS1 x balb/c
Імуноген	T cell clone
Імуноглобулін	IgG1
Вид	Миша
Очищення	Афінна хроматографія
Флуорохром	R Phycoerythrin
Молярне співвідношення	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-збудження	488 нм
Пік випромінювання	575 нм
Буфер	Розчин ФСБ pH 7,2 плюс бичачий сироватковий альбумін (БСА) 2 мг/мл та 0,1% NaN_3

Кон'юговане антитіло IOTest Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 тестів; 1 мл, 20 мкл/тест

Для діагностики *in vitro*.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Ці антитіла, кон'юговані з флуорохромом, забезпечують якісну та неавтоматизовану ідентифікацію популяцій клітин, що експресують антиген TCR α/β, присутніх у біологічних пробах людини, за допомогою проточної цитометрії (див. розділ «Проби» нижче).

ПРИНЦИП

Цей тест базується на здатності специфічних моноклональних антитіл зв'язуватися з антигенними детермінантами, які експресуються лейкоцитами.

Специфічне забарвлення лейкоцитів здійснюється через інкубацію проби з реагентом IOTest. Еритроцити далі видаляють за допомогою лізису, а лейкоцити, на які не впливає цей процес, досліджують методом проточної цитометрії.

Проточний цитометр вимірює розсіювання світла та флуоресценцію клітин. Це робить можливим розмежування досліджуваної популяції всередині електронного вікна, що визначається на гістограмі, яка співвідносить ортогональне розсіювання світла (бічне розсіювання або Side Scatter — SS) і вузькокутове розсіювання світла (пряме розсіювання або Forward Scatter — FS). Інші гістограми, що поєднують два різні параметри, доступні на цитометрі, можна використовувати для допомоги на етапі гейтингу залежно від програми, вибраної користувачем.

Флуоресценція обмеженої популяції клітин аналізується, щоб розрізнити події з позитивно забарвленими клітинами й незабарвленими. Результати виражаються як відсоток позитивних подій відносно всіх подій, зареєстрованих за допомогою гейтингу.

ПЕРЕДБАЧУВАНИЙ КОРИСТУВАЧ

Цей продукт призначений для професійного використання в лабораторії.

КЛІНІЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ

Anti-TCR PAN α/β-PE — це Anti-TCR PAN α/β антитіло, що використовується для ідентифікації та характеристики клітин, що експресують антиген TCR α/β, за допомогою проточної цитометрії. Цей продукт сам по собі не може генерувати жоден діагностичний висновок і не призначений для цього.

Під час використання разом з іншими маркерами цей продукт можна використовувати в одному або декількох з нижченаведених застосувань.

- Як допоміжний засіб під час проведення диференціальної діагностики в пацієнтів з відхиленнями в результатах гематологічних досліджень із підозрою на наявність гематопоетичного новоутворення, а також для моніторингу пацієнтів з відомим гематопоетичним новоутворенням.

Див. такі посилання:

1; 2; 3; 4

ПРОБИ

Венозну кров потрібно брати в стерильні пробірки, що містять ангикоагулянт — сіль ЕДТА.

Проби слід зберігати за кімнатної температури (18–25°C), і їх не слід струшувати. Перш ніж узяти пробу для тестування, проби потрібно гомогенізувати за допомогою обережного перемішування.

Проби потрібно проаналізувати не пізніше ніж через 24 години після венепункції.

КОНЦЕНТРАЦІЯ

Див. сертифікат аналізу для серії на вебсайті www.beckman.com.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.
2. Не заморожуйте.
3. Доведіть до кімнатної температури (18–25°C) перед використанням.
4. Зведіть до мінімуму вплив світла.
5. Уникайте мікробної контамінації реагентів, інакше можуть бути отримані помилкові результати.
6. Розчини антитіл, які містять азид натрію (NaN_3), треба обробляти обережно. Не приймайте внутрішньо й уникайте будь-якого контакту зі шкірою, слизовими оболонками та очима.

Крім того, у кислому середовищі азид натрію може утворити потенційно небезпечну азотистоводневу кислоту. Якщо його потрібно утилізувати, рекомендується розвести реагент у великій кількості води перед зливанням у водостічну систему, щоб уникнути накопичення азиду натрію на поверхні металевих труб і запобігти небезпеці вибуху.

7. Усі проби крові слід розглядати як потенційно інфекційні та поводитися з ними обережно (зокрема, використовуючи захисні рукавички, халати й окуляри).
8. У жодному разі не піпетуйте ротом та уникайте потрапляння проб на шкіру, слизові оболонки та в очі.
9. Пробірки для крові та одноразові матеріали, які використовуються для оброблення, слід викидати в спеціальні контейнери, вміст яких призначений для спалювання.
10. Реагенти та відходи потрібно утилізувати відповідно до місцевих вимог.

КЛАСИФІКАЦІЯ НЕБЕЗПЕКИ ЗА СИСТЕМОЮ GHS

Не класифікуються як небезпечні

SDS Паспорт безпеки доступний на сторінці beckmancoulter.com/techdocs

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Цей реагент потрібно зберігати за температури від 2 до 8°C у захищеному від світла місці, як до, так і після відкриття флакона.

Термін придатності вмісту закритого флакону відповідно до дослідження стабільності: 1095 день.

Стабільність після відкриття флакона: реагент стабільний 180 діб.

ОЗНАКИ ПСУВАННЯ

Будь-яка зміна зовнішнього вигляду реагентів може вказувати на псування, і реагент не слід використовувати.

Щоб отримати додаткову інформацію або повідомити про отримання пошкодженого продукту, зателефонуйте до Служби обслуговування клієнтів Beckman Coulter за номером 800-742-2345 (США або Канада) чи зверніться до місцевого представника компанії Beckman Coulter.

ЗМІСТ

Консервант азид натрію може утворювати вибухонебезпечні сполуки в металевих зливних трубопроводах. Див. Бюлетень Національного інституту з охорони праці та промислової гігієни (NIOSH) Explosive Azide Hazard (Вибухонебезпечні азиди) (16.8.76).
Щоб уникнути можливого утворення сполук азиду, промийте зливні труби водою відразу після утилізації нерозведеного реагенту. Реагенти, що містять азид натрію, треба утилізувати з дотриманням відповідних місцевих норм.

ПОТРІБНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ У КОМПЛЕКТ

- Пробірки для проб і матеріали, потрібні для забору проб.
- Автоматичні піпетки з одноразовими наконечниками на 20, 100 і 500 мкл.
- Пластикові пробірки для гемолізу.
- Реагент для лізису еритроцитів з етапом промивання після лізису. Наприклад: VersaLyse (Ref. A09777).
- Реагент для фіксації лейкоцитів. Наприклад: розчин для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ізотипічний контроль PE: реагент IOTest (Ref. A07796).
- Буфер (ФСБ: 0,01 моль фосфату натрію; 0,145 моль хлориду натрію; pH 7,2).
- Центрифугування.
- Автоматичний змішувач (типу вортекс).
- Проточний цитометр.

ПРОЦЕДУРА З РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для кожної аналізованої проби на додачу до тест-пробірки може бути використана одна контрольна пробірка, у якій клітини змішано в присутності ізотипічного контролю (Ref. A07796).

1. Додайте до кожної тестової пробірки 20 мкл специфічних кон'югованих антитіл IOTest, і, якщо потрібно, 20 мкл ізотипічного контролю до кожної контрольної пробірки.
2. Додайте 100 мкл проби для тестування в кожну пробірку. Обережно змішайте вміст пробірок вихровим способом.
3. Витримайте протягом 15–20 хвилин за кімнатної температури (18–25°C) у захищеному від світла місці.
4. Потім виконують лізис еритроцитів. Перегляньте вкладний листок VersaLyse (Ref. A09777) і за можливості дотримуйтеся процедури з одночасною фіксацією, яка полягає в додаванні 1 мл суміші Fix-and-Lyse, приготованої безпосередньо перед використанням. Відразу змішайте вихровим способом упродовж однієї секунди й витримайте протягом 10 хвилин за кімнатної температури в захищеному від світла місці.
5. Центрифугуйте за кімнатної температури протягом 5 хвилин зі швидкістю 150 g.
6. Видаліть надосадову рідину аспіратором.
7. Ресуспендуйте осад клітин у 3 мл ФСБ.
8. Повторіть крок 5.
9. Видаліть надосадову рідину аспіратором і ресуспендуйте осад клітин, використовуючи наведене далі.

- 0,5 мл або 1 мл ФСБ плюс 0,1% формальдегіду, якщо препарати передбачається зберігати менше ніж 24 годин. (Розчин ФСБ, що містить 0,1% формальдегіду, можна отримати за допомогою розведення 12,5 мкл розчину для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800) за його 10-кратної концентрації в 1 мл ФСБ).
- 0,5 мл або 1 мл ФСБ без формальдегіду, якщо препарати будуть аналізувати впродовж наступних 2 годин.

Примітка. У всіх випадках препарати слід зберігати в захищеному від світла місці за температури 2–8°C.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

У наших лабораторіях проби цільної крові 25 практично здорових донорів обробляли з використанням реагенту, описаного вище. Отримані результати підрахунку позитивних подій, які досліджуються, з використанням цього реагенту наведено в таблиці нижче:

Цільова позитивна популяція	Число	Середнє значення (%)	СВ	КВ (%)
Лімфоцити	25	67,94	11,93	17,56

Ці значення призначені лише для репрезентативних цілей. Кожна лабораторія має встановити власний діапазон очікуваних значень серед місцевої популяції здорових донорів.

ЕФЕКТИВНІСТЬ

Робочі показники ефективності отримуються з використанням процедури, описаної вище, на пробах крові, які були відібрані в стерильні пробірки із сіллю ЕДТА як антикоагулянтом, а також зберігалися менше ніж 24 години. Аналіз проводиться впродовж 2 годин після імунного фарбування.

СПЕЦИФІЧНІСТЬ

Людські Т-клітини розпізнають чужорідні антигени в контексті молекул HLA господаря через Т-клітинний рецептор до антигену (TcR) (5,6,7). TCR є молекулярними комплексами, що містять дві одиниці: одиницю розпізнавання, що складається з α-β або γ-δ гетеродимеру, що взаємовиключно присутні на поверхні клітини, а також одиницю трансдукції, CD3 комплекс, загальний для α-β і γ-δ гетеродимерів, який приводить у дію Т-клітини, коли одиниця розпізнавання зайнята антигеном.

Одиниця розпізнавання розпізнає будь-який можливий чужорідний антиген, і розмаїття, необхідне для цієї функції розпізнавання, створюється через соматичну рекомбінацію генів TcR. Є чотири локуси гена TcR (α, β, γ і δ). Кожен з них складається з декількох V-сегментів (варіабельних сегментів), що кодують близько 90 амінокислот, дуже коротких D-сегментів (різноманітних сегментів) (тільки локуси α і δ) і коротких J-пептидів (з'єднувальних пептидів) (близько 15 амінокислот), а також одного або двох C-сегментів (постійні сегменти) (8,9,10,11). Антитіло IP26A розпізнає мономорфну детермінанту людського α/β ланцюга комплексу TCR (12,13).

ПРЕЦИЗІЙНІСТЬ

Відсоток позитивних значень визначали з використанням цільної крові. Кожну пробу аналізували 4 рази, двічі на день впродовж 1 дня на 2 приладах, використовуючи 2 партії реагентів Anti-TCR PAN α/β-PE моноклональних антитіл. Вимірювання (% позитивних значень) були виконані на проточному цитометрі Navios. Аналіз проводився на основі методу CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оцінка прецизійності кількісних методів вимірювання).

Наші критерії прийнятності залежать від кількості позитивних подій, виміряних для кожної популяції.

- Якщо кількість позитивних подій < 1500, КВ < 15%
- Якщо кількість позитивних подій > 1500, КВ < 10%

Лімфоцити							
Кількість позитивних подій (середнє значення) = 6178							
	Між операторами	Між цитометрами	У межах однієї серії	Між серіями	Між серіями вимірювань	У межах однієї серії вимірювань	Усього
КВ (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
РЕЗУЛЬТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНІСТЬ

Точність Anti-TCR PAN α/β-PE оцінювали шляхом порівняння результатів з еталонним реагентом як контролем якості для набору проб цільної крові, аналізованих на проточному цитометрі Navios. Зсув між тестованим і контрольним реагентами визначали на підставі різниці між результатами тесту. Якщо зсув знаходиться в межах допустимого діапазону помилок або p-значення вказує на відсутність суттєвої відмінності (> 0,05), то результати вимірювань для двох реагентів вважаються еквівалентними.

Отримані результати підсумовано в таблиці, наведеній нижче.

Кількість донорів = 25				
Цільова позитивна популяція	Середня Δ	Критерії Δ % клітин	p-значення	РЕЗУЛЬТАТИ
Лімфоцити	-1,26	<5	0,208	PASS

МЕЖА ХОЛОСТОЇ ПРОБИ Й МЕЖА ВИЯВЛЕННЯ

Дослідження проводилося відповідно до рекомендацій CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оцінювання можливості виявлення для методик клінічних лабораторних вимірювань). Межа виявлення (LOD) — це найнижча концентрація аналіту, яку стабільно можна виявити. Отримані результати підсумовано в наведеній нижче таблиці.

Positive Target	Межа холостої проби (клітин/мкл)	Межа виявлення (клітин/мкл)
Лімфоцити	4	6

ОБМЕЖЕННЯ

1. Результати проточної цитометрії можуть бути помилковими, якщо вказане нижче не було виконано належним чином: вирівняно цитометр, скомпенсовано витік флуоресценції, здійснено позиціонування ділянок.
2. Бажано використовувати метод лізису еритроцитів з етапом промивання, оскільки цей реагент не оптимізовано для методів лізису «без промивання».

3. Буде отримано точні й відтворювані результати, якщо процедури застосовуються відповідно до технічної інструкції, що додається, і стандартів належної лабораторної практики.
4. Кон'юговані антитіла цього реагенту відкалібровано таким чином, щоб забезпечити краще співвідношення специфічного сигналу та неспецифічного сигналу. Тому важливо дотримуватися співвідношення об'єму реагенту та об'єму проби в кожному тесті.
5. У разі гіперлейкоцитозу кров слід розводити у ФСБ так, щоб отримати концентрацію приблизно 5×10^9 лейкоцитів/л (14).
6. У разі деяких захворювань або станів, як-от тяжка ниркова недостатність або гемоглобінопатії, лізис еритроцитів може бути повільним, неповним або навіть неможливим. У цьому разі рекомендується виділяти мононуклеарні клітини за градієнтом щільності (наприклад, з використанням фіколу) перед фарбуванням (15).
7. У пацієнтів, які отримують лікування антилюдськими моноклональними антитілами, виявлення специфічних цільових антигенів може бути зниженим або відсутнім через часткове або повне блокування терапевтичним антитілом.
8. Результати Anti-TCR PAN α/β-PE слід інтерпретувати у світлі загальної клінічної картини пацієнта, включно із симптомами, клінічним анамнезом, даними додаткових тестів та іншою відповідною інформацією.

Див. приклади й посилання в додатку.

ТОРГОВЕЛЬНІ МАРКИ

Beckman Coulter, стилізований логотип, товарні знаки й сервісні марки Beckman Coulter, вказані тут, є торговельними марками або зареєстрованими торговельними марками компанії Beckman Coulter, Inc. у Сполучених Штатах Америки й інших країнах.

ДОДАТКОВА ІНФОРМАЦІЯ

Для пацієнта / користувача / третьої сторони в Європейському Союзі та в країнах з ідентичною системою нормативного регулювання (Регламент 2017/746/ЄС про медичні вироби для діагностики in vitro); якщо під час використання цього пристрою або в результаті його використання стався серйозний інцидент, повідомте про це виробнику й (або) його уповноваженому представнику та місцевому національному органу.

The Summary of Safety and Performance (Огляд безпеки та основних характеристик) доступний у базі даних EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ІСТОРІЯ ЗМІН

РЕДАКЦІЯ AD	Дата випуску: Жовтень 2019 р.

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AW	Лютий 2022 р.
Оновлення мають відповідати Глобальній політиці щодо маркування компанії Beckman Coulter і вимогам IVD-R (ЄС)2017/746:	
Додані розділи	«Номер BSI 2797», «Цільовий користувач», «Клінічна значущість», «Концентрація», «Прецизійність», «Точність», «Межа холостої проби й межа виявлення», «Додаткова інформація», «Історія змін».
Додана інформація	Див. розділ «Обмеження»
Оновлення формулювання або типографічні оновлення	Див. розділи «Процедура», «Робочі показники», «Обмеження», «Попередження та застереження», «Зберігання та стабільність».
Видалені розділи	«Приклад клінічного застосування», «Реагенти», «Міжлабораторна відтворюваність», «Лінійність»
Оновлені розділи	«Призначення», «Класифікація небезпек GHS», «Ознаки погіршення характеристик», «Процедура», «Додаток».

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AX	Квітень 2023
Оновлені розділи	Додано казахську мову
Оновлені розділи	Зберігання й стабільність

Переглянута версія	AY
Дата перегляду	Травень 2024
Оновлені переклади	**Клінічна значущість:**
Оновлені розділи	Історія змін

Переглянута версія	AZ
Дата перегляду	Липень 2024
Оновлені розділи	Історія змін

Список символів

Глосарій символів доступний на сайті beckman.com/techdocs (документ № B60062)

	Especificações
Especificidade	TCR α/β
Clone	IP26A
Hibridoma	NS1 x balb/c
Imunógeno	T cell clone
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Camundongo
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	R Phycoerythrin
Razão molar	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	575 nm
Tampão	PBS com pH de 7,2 mais 2 mg/mL de BSA e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 testes; 1 mL, 20 µL/teste

Para uso em diagnóstico *in vitro.*

USO PREVISTO

Esse anticorpo conjugado com fluorocromo permite a identificação qualitativa e não automatizada das populações de células que expressam o antígeno TCR α/β presente em amostras biológicas humanas utilizando a citometria de fluxo (consulte a seção “Amostras” a seguir).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade que os anticorpos monoclonais específicos têm de se ligarem aos determinantes antigênicos expressos por leucócitos.

A coloração específica de leucócitos é realizada incubando-se a amostra com o reagente IOTest. As hemácias são então removidas por lise e os leucócitos, que não são afetados por esse processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citômetro de fluxo mede a difusão da luz e a fluorescência das células. Ele possibilita a delimitação da população de interesse na janela eletrônica definida por um histograma, que correlaciona a difusão ortogonal da luz (dispersão lateral ou SS) e a difusão da luz em ângulo estreito (dispersão frontal ou FS). Outros histogramas que combinam dois dos diferentes parâmetros disponíveis no citômetro podem ser utilizados como auxílio no estágio de delimitação, dependendo da aplicação escolhida pelo usuário.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são expressos como uma porcentagem dos eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos pela delimitação.

USUÁRIO PREVISTO

Este produto destina-se ao uso laboratorial profissional.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O Anti-TCR PAN α/β-PE é um anticorpo para Anti-TCR PAN α/β usado para identificar e caraterizar, por citometria de fluxo, as células que expressam o antígeno TCR α/β. Este produto por si só não pode e não se destina a originar qualquer conclusão diagnóstica.

Quando usado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser usado com uma ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com anormalidades hematológicas com suspeita de terem neoplasia hematopoiética e para monitorar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.

Consulte as referências a seguir:

1; 2; 3; 4

AMOSTRAS

Sangue venoso deve ser coletado usando tubos estéreis contendo um sal de EDTA como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas em temperatura ambiente (18-25°C) e não devem ser agitadas. A amostra deve ser homogeneizada por agitação suave antes que a amostra para teste seja retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a coleta.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não use o reagente após o prazo de validade.
2. Não congele.
3. Deixe atingir a temperatura ambiente antes de usar (18-25°C).
4. Minimize a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, pois isso pode gerar falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos contendo azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não utilize internamente e evite o contato com a pele, mucosas e olhos.

Além disso, em um meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazoico potencialmente perigoso. Se precisar descartar essa substância, recomenda-se que o reagente seja diluído em um grande volume de água antes de despejá-lo no sistema de drenagem para evitar o acúmulo de azida sódica nos canos de metal e o risco de explosão.

7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas como potencialmente infecciosas e devem ser manipuladas com cuidado (em particular: uso de luvas, jalecos e óculos de proteção).
8. Nunca coloque a pipeta na boca e evite qualquer contato das amostras com a pele, mucosas e olhos.
9. Os tubos de sangue e o material descartável utilizado para manuseio deve ser descartado em recipientes ad hoc destinados à incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO DO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Folha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido entre 2 e 8°C e protegido da luz, antes e depois do frasco ter sido aberto.

Validade do frasco fechado de acordo com o estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente é estável por 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DETERIORAÇÃO

Qualquer alteração no aspecto físico dos reagentes poderá indicar deterioração e o reagente não deverá ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, entre em contato com o serviço de atendimento ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou entre em contato com o representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em canos de escoamento metálicos. Consulte o Boletim do NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health [Instituto de segurança e saúde ocupacional dos EUA]): Explosive Azide Hazard (Perigos de explosão de azida) (16/8/76).
Para evitar o possível acúmulo de compostos de azida, enxágue os canos de escoamento com água após o descarte do reagente não diluído. O descarte da azida sódica deve ser efetuado de acordo com as normas locais apropriadas.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostra e material necessário para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 20, 100 e 500 µL.
- Tubos plásticos de hemólise.
- Reagente de lise de hemácias com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: Reagente VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: Solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controle do isótipo PE: reagente IOTest (Ref. A07796).
- Tampão (PBS: fosfato de sódio a 0,01 M; cloreto de sódio a 0,145 M; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citômetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM O REAGENTE VERSALYSE

Para cada amostra analisada, além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controle no qual as células são misturadas na presença do controle de isótipo (Ref. A07796).

1. Adicione 20 µL de anticorpo conjugado IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 20 µL do controle do isótipo a cada tubo de controle.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos em temperatura ambiente (18-25°C), protegido da luz.
4. Em seguida, faça a lise das hemácias. Consulte o folheto da VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento chamado “with concomitant fixation (com fixação concomitante)”, que consiste em adicionar 1 mL da mistura de fixação e lise preparada extemporaneamente. Agite em vórtex imediatamente durante um segundo e incube durante 10 minutos em temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue por 5 minutos a 150 x g em temperatura ambiente.
6. Retire o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita a etapa 5.
9. Retire o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular usando:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído, se as preparações forem mantidas por um prazo inferior a 24 horas. (É possível obter uma solução PBS com 0,1% de formaldeído diluindo-se 12,5 µL de Solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na concentração de 10X em 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído, se as preparações forem analisadas dentro de 2 horas.

Nota: Em qualquer dos casos, mantenha as preparações entre 2 e 8°C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Em nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 doadores aparentemente saudáveis foram tratadas usando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos positivos de interesse com esse reagente são fornecidos na tabela a seguir:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP (Desvio padrão)	CV (%)
Linfócitos	25	67,94	11,93	17,56

Esses valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores esperados da população local de doadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos usando o procedimento descrito anteriormente em amostras de sangue com menos de 24 horas, coletadas previamente em tubos estéreis com sal de EDTA como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

As células T humanas reconhecem antígenos estranhos, no contexto de moléculas HLA hospedeiras através do receptor de células T para o antígeno (TcR) (5, 6, 7). Os TcRs são complexos moleculares que englobam duas unidades: uma unidade de reconhecimento, composta por heterodímeros α-β ou γ-δ, presentes na superfície celular de maneira mutualmente exclusiva, e uma unidade de transdução, o complexo CD3, comum aos heterodímeros α-β e γ-δ, que ativa as células T quando a unidade de reconhecimento é ocupada pelo antígeno.

As unidades de reconhecimento reconhecem todos os possíveis antígenos estranhos, e a diversidade necessária para essa função de reconhecimento é gerada através da recombinação somática dos genes TcR. Existem quatro loci dos genes TcR (α, β, γ e δ). Cada um deles é composto por vários segmentos V (variável), que codificam cerca de 90 aminoácidos, segmentos D (diversidade) muito curtos (apenas loci α e δ), segmentos J (junção) curtos (cerca de 15 aminoácidos) e um ou dois segmentos C (constantes) (8, 9, 10, 11). O anticorpo IP26A reconhece um determinante monomórfico da cadeia humana α/β do complexo TcR (12, 13).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados usando-se sangue total. Cada amostra foi processada 4 vezes, duas vezes por dia durante 1 dia em 2 instrumentos, usando 2 lotes de reagentes de anticorpo monoclonal para Anti-TCR PAN α/β-PE. As medições (% de positivos) foram realizadas no citômetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação de desempenho de precisão de métodos de medição quantitativos).

Nossos critérios de aceitação dependem do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Se eventos positivos <1.500, CV <15%
- Se eventos positivos >1.500, CV <10%

Linfócitos							
Número de eventos positivos (média) = 6178							
	Entre operadores	Entre citômetros	Dentro do lote	Entre lotes	Entre processamentos	Dentro do processamento	Total
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do Anti-TCR PAN α/β-PE foi avaliada comparando-se os resultados com um reagente de referência como o predicado em um conjunto de amostras de sangue total processadas em um citômetro de fluxo Navios. O viés entre o reagente de teste e o de referência foi determinado com base na diferença entre os resultados dos testes. Se o viés estiver dentro da faixa de erro aceitável ou o valor p não indicar diferenças significativas (>0,05), então os resultados dos testes para os dois reagentes são considerados equivalentes.

Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Número de doadores = 25				
Alvo positivo	Δ média	Critérios de Δ % de células	valor p	RESULTADOS
Linfócitos	-1,26	<5	0,208	PASS

LIMITE DE BRANCO E LIMITE DE DETECÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com a diretriz EP17-A2 do CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de detecção para procedimentos de medição de laboratório clínico). O Limite de detecção (LOD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detectada consistentemente. Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite de branco (células/µL)	Limite de detecção (células/µL)
Linfócitos	4	6

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo pode produzir resultados falsos se o citômetro não for alinhado perfeitamente, se os vazamentos de fluorescência não forem corretamente compensados e se as regiões não forem cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível usar uma técnica de lise de RBC com uma etapa de lavagem, já que esse reagente não foi otimizado para técnicas de lise “sem lavagem”.
3. Serão obtidos resultados exatos e reproduzíveis desde que os procedimentos utilizados estejam em conformidade com o folheto técnico e sejam compatíveis com as boas práticas de laboratório.
4. O anticorpo conjugado desse reagente é calibrado para oferecer a melhor razão entre sinal específico e sinal não específico. Por isso, é importante manter a razão entre volume do reagente e volume da amostra em cada teste.
5. No caso de hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5×10^9 leucócitos/L (14).

6. Em certos estados da doença, como insuficiência renal grave e hemoglobinopatias, a lise das hemácias pode ser lenta, incompleta ou até mesmo impossível. Nesse caso, recomenda-se isolar as células mononucleadas usando um gradiente de densidade (Ficoll, por exemplo) antes da coloração (15).
7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a detecção dos antígenos-alvo específicos pode ser diminuída ou não ocorrer devido ao bloqueio parcial ou total pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de Anti-TCR PAN α/β-PE devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, histórico clínico, dados de testes adicionais e outras informações apropriadas.

Consulte o anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logotipo estilizado e as marcas dos produtos e serviços da Beckman Coulter mencionados neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registradas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e em outros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/usuário/terceiro na União Europeia e em países com regime regulatório idêntico (Regulamentação 2017/746/UE sobre In vitro Diagnostic Medical Devices [Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro]), se, durante o uso deste dispositivo ou como resultado de seu uso, ocorrer um incidente grave, relate-o ao fabricante e/ou ao seu representante autorizado e à sua autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível no banco de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO AD:	Data de publicação: outubro de 2019

REVISÃO	**Data de publicação**
AW	Fevereiro de 2022
Atualizações para o cumprimento da Global labelling Policy (Política de rotulagem global) da Beckman Coulter e de acordo com os requisitos da IVD-R (UE)2017/746:	
Seções adicionadas	Número BSI 2797, Usuário previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite de branco e limite de detecção, Informações adicionais, Histórico de revisão.
Informações adicionadas	Consulte as seções: Limitações
Atualizações tipográficas ou de fraseado	Consulte as seções Procedimento, Desempenho, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Seções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Seções atualizadas	Uso previsto, Classificação de perigo do GHS, Evidência de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de publicação**
AX	Abril 2023
Seções atualizadas	Adicionar cazaque
Seções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revisada	AY
Data da revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Versão revisada	AZ
Data da revisão	Julho 2024
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (documento número B60062)

	Specificaties
Specificiteit	TCR α/β
Kloon	IP26A
Hybridoom	NS1 x balb/c
Immunogeen	T cell clone
Immunoglobuline	IgG1
Soort	Muis
Purificatie	Affiniteitschromatografie
Fluorochroom	R Phycoerythrin
Molaire verhouding	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ excitatie	488 nm
Emissiepiek	575 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA en 0,1% NaN_3

IOTest
Geconjugeerd antilichaam
Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 tests; 1 mL, 20 µL/test

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

BEOOGD GEBRUIK

Met dit fluorochroom-geconjugeerde antilichaam kunnen celpopulaties die het TCR α/β-antigeen tot expressie brengen, kwalitatief en niet-geautomatiseerd worden geïdentificeerd in menselijke biologische monsters met behulp van flowcytometrie (zie het gedeelte 'Monsters' hieronder).

PRINCIPE

Deze test is gebaseerd op het vermogen van specifieke monoklonale antilichamen om zich te binden aan de antigene determinanten die tot expressie worden gebracht door leukocyten.

Specifieke kleuring van de leukocyten wordt uitgevoerd door het monster te incuberen met het IOTest -reagens. De rode cellen worden vervolgens via lysering verwijderd en de leukocyten (die ongevoelig zijn voor dit proces) worden geanalyseerd voor middel van flowcytometrie.

De flowcytometer meet de lichtdiffusie en de fluorescentie van cellen. Het maakt de afbakening van de betrokken populatie mogelijk binnen het elektronische venster gedefinieerd op een histogram, wat de orthogonale verspreiding van licht (zijwaartse verstrooiing of ZV) in verband brengt met de verspreiding van smalhoekig licht (voorwaartse verstrooiing of VV). Andere histogrammen die twee van de verschillende beschikbare parameters op de cytometer combineren, kunnen worden gebruikt als ondersteuning bij de gating-fase, afhankelijk van de door de gebruiker gekozen toepassing.

De fluorescentie van de afgeperkte cellen wordt geanalyseerd om de positief-gekleurde gebeurtenissen te onderscheiden van de niet-gekleurde. De resultaten worden uitgedrukt als een percentage van positieve gebeurtenissen ten opzichte van alle gebeurtenissen verzameld door de gating.

BEOOGDE GEBRUIKER

Dit product is bedoeld voor professioneel gebruik in het laboratorium.

KLINISCHE RELEVANTIE

Het Anti-TCR PAN α/β-PE is een Anti-TCR PAN α/β-antilichaam dat wordt gebruikt om cellen die het TCR α/β-antigeen tot expressie brengen te identificeren en te karakteriseren met behulp van flowcytometrie. Dit product alleen kan niet worden gebruikt voor de totstandbrenging van diagnostische conclusies en hier is het ook niet voor bedoeld.

Bij gebruik in combinatie met andere markers kan dit product worden gebruikt voor een of meer van de volgende functies:

- Ter ondersteuning van de differentiaaldiagnostiek bij patiënten met een hematologische afwijking met verdenking op het hebben van een hematopoiëtisch neoplasma en ter controle van patiënten met een bekend hematopoiëtisch neoplasma.

Zie de volgende referenties:

1; 2; 3; 4

MONSTERS

Veneus bloed moet worden afgenomen met steriele buisjes die EDTA-zout bevatten als anticoagulans.

De monsters moeten op kamertemperatuur (18-25 °C) worden gehouden en mogen niet worden geschud. De monsters moeten gehomogeniseerd worden door licht te schudden voordat het testmonster wordt afgenomen.

De monsters moeten worden geanalyseerd binnen 24 uur van venapunctie.

CONCENTRATIE

Zie batch-specifiek analysecertificaat op www.beckman.com.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Gebruik het reagens niet na de uiterste houdbaarheidsdatum.
2. Niet invriezen.
3. Laat het op kamertemperatuur (18-25 °C) komen voor gebruik.
4. Beperk de blootstelling aan licht.
5. Vermijd microbiële verontreiniging van de reagentia, anders kunnen verkeerde resultaten optreden.

6. Antilichaamoplossingen die natriumazide (NaN_3) bevatten moeten voorzichtig gehanteerd worden. Niet innemen en elk contact met huid, slijmvliezen en ogen vermijden.

   In een zuur medium kan natriumazide bovendien de potentieel gevaarlijke waterstofazide vormen. Indien verwijdering nodig is, wordt het aanbevolen om het reagens te verdunnen in een groot volume water voordat het in het afvoersysteem wordt gegoten, om de accumulatie van natriumazide in metalen buizen en explosiegevaar te vermijden.
7. Alle bloedmonsters moeten worden beschouwd als mogelijk besmettelijk en moeten voorzichtig worden gehanteerd (met name: veiligheidshandschoenen, -jas en -bril dragen).
8. Pipetteer nooit met de mond en vermijd elk contact van de monster met huid, slijmvliezen en ogen.
9. Bloedbuisjes en wegwerpmateriaal die gebruikt zijn, moeten verwijderd worden in afvalcontainers bestemd voor verbranding.
10. Reagentia en afval moeten verwijderd worden volgens de plaatselijke voorschriften.

GHS GEVARENCLASSIFICATIE

Niet geclassificeerd als gevaarlijk

SDS Het veiligheidsinformatieblad is beschikbaar op beckmancoulter.com/techdocs

OPSLAG EN STABILITEIT

Dit reagens moet tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht worden bewaard, voor- en nadat het buisje wordt geopend.

Houdbaarheidsdatum van ongeopend buisje volgens stabiliteitsstudie: 1095 dagen.

Stabiliteit van geopend buisje: het reagens is stabiel gedurende 180 dagen.

BEWIJS VAN BEDERF

Elke wijziging in de fysieke verschijning van de reagentia kan wijzen op aantasting; het reagens mag dan niet langer gebruikt worden.

Bel voor meer informatie, of als het product beschadigd is, met de klantenservice van Beckman Coulter op 800-742-2345 (VS of Canada) of neem contact op met uw plaatselijke vertegenwoordiger van Beckman Coulter.

INHOUD

Een conserveringsmiddel van natriumazide kan explosieve verbindingen vormen in metalen afvoerleidingen. Zie NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (Explosiegevaar van azide, 16-08-1976).
Om de ophoping van azideverbindingen te vermijden, spoelt u de afvoerbuizen met water na verwijdering van onverdund reagens. Natriumazide moet worden verwijderd volgens de toepasselijke plaatselijke voorschriften.

BENODIGD MATERIAAL DAT NIET IS MEEGELEVERD IN DE KIT:

- Monsterbuisjes en materiaal vereist voor monsterneming.
- Automatische pipetten met wegwerppunten voor 20, 100 en 500 µL.
- Plastic hemolysebuisjes.
- Ontbindingsreagens voor rode cellen met spoelfase na de lysis. Bijvoorbeeld: VersaLyse (ref. A09777).
- Fixatiereagens voor leukocyten. Bijvoorbeeld: IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800).
- Isotypecontrole PE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfaat; 0,145 M natriumchloride; pH 7,2).
- Centrifugeer.
- Automatische schudder (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MET VERSALYSE-REAGENS

Voor elk geanalyseerd monster kan, naast het testbuisje, één controlebuisje worden toegevoegd waarin de cellen worden gemengd in aanwezigheid van de isotypecontrole (ref. A07796).

1. Voeg 20 µL specifiek IOTest-geconjugeerd antilichaam toe aan elk testbuisje en, indien nodig, 20 µL isotypecontrole aan elk controlebuisje.
2. Voeg 100 µL van het testmonster toe aan elk buisje. Wervel de buisjes voorzichtig.
3. Incubeer 15 tot 20 minuten op kamertemperatuur (18-25 °C), beschermd tegen licht.
4. Lyseer vervolgens de rode cellen. Raadpleeg de VersaLyse-bijsluiter (ref. A09777) en volg bij voorkeur de procedure genaamd 'met gelijktijdige fixatie', die bestaat uit het toevoegen van 1 mL 'fixeer-en-lyseer'-oplossing die ex tempore wordt bereid. Wervel onmiddellijk gedurende één seconde en incubeer 10 minuten op kamertemperatuur, beschermd tegen licht.
5. Centrifugeer gedurende 5 minuten bij 150 x g op kamertemperatuur.
6. Verwijder het supernatant door opzuiging.
7. Suspendeer de celpellet opnieuw met 3 mL van PBS.
8. Herhaal stap 5.
9. Verwijder het supernatant door opzuiging en suspendeer de celpellet opnieuw met:

- 0,5 mL of 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyde, indien de bereidingen minder dan 24 uur worden bewaard. (Een PBS met 0,1% formaldehyde kan worden verkregen door 12,5 µL IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800) bij de 10X-concentratie te verdunnen in 1 mL PBS).
- 0,5 mL of 1 mL PBS zonder formaldehyde, indien de bereidingen moeten worden geanalyseerd binnen 2 uur.

Opmerking: houd de bereidingen in alle gevallen tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht.

VERWACHTE WAARDEN

In onze laboratoria werden de volbloedmonsters van 25 ogenschijnlijk gezonde donoren behandeld met het hierboven beschreven reagens. De verkregen resultaten voor de telling van de relevante positieve gebeurtenissen voor dit reagens worden in de onderstaande tabel weergegeven:

Positieve target	Nummer	Gemiddeld (%)	SD	VC (%)
Lymfocyten	25	67,94	11,93	17,56

Deze waarden zijn uitsluitend bedoeld als referentie. Elk laboratorium moet zijn eigen verwachte waarden bepalen op basis van de lokale populatie van normale donoren.

PRESTATIES

Prestatiegegevens worden verkregen met de hierboven beschreven procedure op minder dan 24 uur oude bloedmonsters die eerder zijn verzameld in steriele buisjes met EDTA-zout als anticoagulans. De analyse wordt uitgevoerd binnen 2 uur na immunokleuring.

SPECIFICITEIT

Menselijke T-cellen herkennen vreemde antigeen in de context van gastheer-HLA-moleculen via de T-celreceptor voor antigeen (TcR) (5, 6, 7). De TcR's zijn moleculair complexen die bestaan uit twee eenheden: een herkenningseenheid die bestaat uit α-β of γ-δ heterodimeer dat aanwezig is op het celoppervlak op een wederzijds uitsluitende manier, en een transductie-eenheid, het CD3-complex, dat gemeenschappelijk is aan α-β en γ-δ heterodimeren en dat de T-cel activeert wanneer de herkenningseenheid wordt bezet door het antigeen.

De herkenningseenheden herkennen alle mogelijke vreemde antigenen en de diversiteit die voor deze herkenningsfunctie vereist is, wordt gegenereerd door de somatische recombinatie van de TcR-genen. Er zijn vier loci voor TcR-genen (α, β, γ en δ). Elk van deze bestaat uit verschillende V (voor variabele)-segmenten die coderen voor ongeveer 90 aminozuren, erg korte D (voor diversiteit)-segmenten (alleen α en δ loci) en korte J (voor 'joining' [samenvoegende])-segmenten (ongeveer 15 aminozuren) en een of twee C (voor constante) segmenten (8, 9, 10, 11). Het IP26A-antilichaam herkent een monomorfische determinant van de menselijke α/β-keten van het TcR-complex (12, 13).

PRECISIE

De procentuele positieve waarden werden bepaald met behulp van volbloed. Elk monster werd 4 maal getest, tweemaal per dag gedurende 1 dag op 2 instrumenten, waarbij gebruik werd gemaakt van 2 batches Anti-TCR PAN α/β-PE monoklonale antilichaamreagentia. Metingen (% positief) werden uitgevoerd op de Navios-flowcytometer. Analyse werd uitgevoerd op basis van de CLSI-methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluatie van de precisie van kwantitatieve meetmethoden).

Onze acceptatiecriteria zijn afhankelijk van het aantal positieve gebeurtenissen dat voor elke populatie wordt gemeten:

- In het geval van een positieve gebeurtenis <1500, VC <15%
- In het geval van een positieve gebeurtenis >1500, VC <10%

Lymfocyten							
Aantal positieve gebeurtenissen (gemiddelde) = 6178							
	Tussen gebruikers	Tussen cytometers	Van dezelfde batch	Tussen batches	Tussen runs	Tijdens run	Totaal
VC (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
RESULTATEN	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NAUWKEURIGHEID

De nauwkeurigheid van Anti-TCR PAN α/β-PE werd beoordeeld door de resultaten te vergelijken met een referentiereagens als het vergelijkbare hulpmiddel op een reeks volbloedmonsters die op een Navios-flowcytometer werden uitgevoerd. De afwijking tussen test- en referentiereagens werd bepaald op basis van het verschil tussen de testresultaten. Als de afwijking binnen het toegestane foutbereik ligt of de p-waarde geen significant verschil (>0,05) aangeeft, worden de testresultaten voor de twee reagentia als gelijkwaardig beschouwd.

De resultaten worden samengevat in de onderstaande tabel:

Aantal donoren = 25				
Positieve target	Gemiddelde Δ	Δ % Celcriteria	p-waarde	RESULTATEN
Lymfocyten	-1,26	<5	0,208	PASS

BLANCOLIMIET EN DETECTIELIMIET

Een studie is uitgevoerd in overeenstemming met CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluatie van detectiecapaciteit voor meetprocedures in klinische laboratoria). Het detectielimiet (LOD) is de laagste concentratie analiet die consistent kan worden gedetecteerd. De verkregen resultaten worden samengevat in de volgende tabel:

Positive Target	Blancolimiet (cel/µL)	Detectielimiet (cel/µL)
Lymfocyten	4	6

BEPERKINGEN

1. Flowcytometrie kan leiden tot verkeerde resultaten indien de cytometer niet perfect is uitgelijnd, indien fluorescentielekken niet juist zijn gecompenseerd en indien de gebieden niet zorgvuldig zijn gepositioneerd.
2. Gebruik bij voorkeur een RBC-lyseertechniek met een wasstap, aangezien dit reagens niet is geoptimaliseerd voor lyseertechnieken zonder wassen.
3. Nauwkeurige en reproduceerbare resultaten worden verkregen zolang de gebruikte procedures in overeenstemming zijn met de technische brochure en compatibel met goede laboratoriumpraktijken.
4. Het geconjugeerde antilichaam van dit reagens wordt gekalibreerd om de beste verhouding van specifiek signaal/niet-specifiek signaal te bieden. Daarom is het belangrijk dat de verhouding van reagensvolume/monstervolume in acht wordt genomen bij elke test.
5. In het geval van een hyperleukocytose verdunt u het bloed in PBS om een waarde van ongeveer 5 x 10^9 leukocyten/L te verkrijgen (14).

6. In sommige stadia van een aandoening, zoals ernstig nierfalen of hemoglobinopathieën, kan de ontbinding van rode cellen traag verlopen, onvolledig of zelfs onmogelijk zijn. In dit geval wordt het aanbevolen om cellen met één kern te isoleren met een dichtheidsgradiënt (bijvoorbeeld Ficoll) voorafgaand aan de kleuring (15).
7. Bij patiënten die worden behandeld met anti-humane monoklonale antilichaamtherapieën kan de detectie van de specifieke doelantigenen verminderd of afwezig zijn als gevolg van een gedeeltelijke of volledige blokkering door het therapeutische antilichaam.
8. De Anti-TCR PAN α/β-PE-resultaten moeten worden geïnterpreteerd in het licht van het totale klinische beeld van de patiënt, met onder meer: symptomen, klinische anamnese, gegevens van aanvullende tests en andere relevante informatie.

Zie de bijlage voor voorbeelden en referenties.

Handelsmerken

Beckman Coulter, het gestileerde logo en de merken van Beckman Coulter-producten en -services in dit document zijn handelsmerken of gedeponeerde handelsmerken van Beckman Coulter, Inc. in de Verenigde Staten en andere landen.

AANVULLENDE INFORMATIE

Voor patiënten/gebruikers/derden in de EU en in landen met soortgelijke regelgeving (Verordening 2017/746/EU inzake in-vitro diagnostische medische apparaten); als er zich tijdens of als gevolg van het gebruik van dit apparaat een ernstig incident voordoet, dient u dit te melden bij de fabrikant en/of diens bevoegde vertegenwoordiger en bij uw nationale autoriteiten.

Het overzicht van de veiligheid en prestaties is beschikbaar in de database EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed

REVISIEGESCHIEDENIS

REVISIE AD:	Uitgiftedatum: Oktober 2019

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AW	Februari 2022
Bijgewerkt om te voldoen aan het wereldwijde etiketteringsbeleid van Beckman Coulter en volgens de vereisten van IVD-R (EU)2017/746:	
Toegevoegde paragrafen	BSI 2797-nummer, Beoogde gebruiker, Klinische relevantie, Concentratie, Precisie, Nauwkeurigheid, Blancolimiet en detectiegrens, Aanvullende informatie, Revisiegeschiedenis.
Toegevoegde informatie	Zie paragraaf Beperkingen
Bijgewerkte formulering of typografie	Zie paragrafen Procedure, Prestaties, Beperkingen, Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen, Opslag en Stabiliteit.
Verwijderde paragrafen	Voorbeeld van klinische toepassingen, Reagentia, Reproduceerbaarheid intra-laboratoria, Lineariteit
Bijgewerkte paragrafen	Beoogd gebruik, GHS-gevarenclassificatie, Bewijs van bederf, Procedure, Bijlage.

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AX	April 2023
Bijgewerkte paragrafen	Toevoegen Kazachs
Bijgewerkte paragrafen	Opslag en stabiliteit

Bijgewerkte versie	AY
Herzieningsdatum	Mei 2024
Bijgewerkte vertalingen	**Klinische relevantie:**
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Bijgewerkte versie	AZ
Herzieningsdatum	Juli 2024
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Verklaring van symbolen

Overzicht met verklaring van symbolen is beschikbaar op beckman.com/techdocs (documentnummer B60062)

	Thông số kỹ thuật
Độ đặc hiệu	TCR α/β
Dòng vô tính	IP26A
Tế bào lai	NS1 x balb/c
Chất sinh miễn dịch	T cell clone
Globulin miễn dịch	IgG1
Các loài	Chuột
Tinh chế	Sắc ký ái lực
Chất nhuộm huỳnh quang	R Phycoerythrin
Tỷ lệ mol	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Kích thích λ	488 nM
Đỉnh phát xạ	575 nM
Dung dịch đệm	PBS pH 7,2 cộng với 2 mg/mL BSA và 0,1% NaN_3

Kháng thể cộng hợp IOTest
Kháng TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 xét nghiệm; 1 mL, 20 µL/xét nghiệm

Dùng cho chẩn đoán *in vitro*.

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Kháng thể cộng hợp chất nhuộm huỳnh quang này cho phép xác định theo phương thức định tính và không tự động các quần thể tế bào biểu hiện kháng nguyên TCR α/β có trong mẫu sinh học của người bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy (xem phần "Mẫu" bên dưới).

NGUYÊN TẮC

Xét nghiệm này dựa trên khả năng liên kết của kháng thể đơn dòng đặc hiệu với yếu tố quyết định kháng nguyên biểu hiện bởi bạch cầu.

Nhuộm đặc hiệu bạch cầu bằng cách ủ mẫu với thuốc thử IOTest. Sau đó, loại bỏ tế bào hồng cầu bằng cách ly giải và tế bào bạch cầu không bị ảnh hưởng bởi quá trình này sẽ được phân tích bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy.

Máy đếm tế bào dòng chảy đo mức khuếch tán ánh sáng và phát huỳnh quang của các tế bào. Điều này giúp phân định được quần thể quan tâm trong cửa sổ điện tử được xác định trên biểu đồ, tương quan với sự khuếch tán trực giao ánh sáng (Tán xạ góc bên hay SS) và khuếch tán ánh sáng góc hẹp (Tán xạ góc thẳng hay FS). Có thể dùng các biểu đồ khác (kết hợp hai trong các thông số có sẵn trên máy đếm tế bào) để hỗ trợ trong giai đoạn khoanh vùng tùy thuộc vào ứng dụng mà người dùng chọn.

Huỳnh quang của các tế bào đã phân định được phân tích để phân biệt các sự kiện nhuộm dương tính với các sự kiện không nhuộm. Kết quả được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm số sự kiện dương tính so với tất cả sự kiện thu được từ việc khoanh vùng.

ĐỐI TƯỢNG SỬ DỤNG

Sản phẩm này chỉ dùng cho mục đích chuyên môn trong phòng xét nghiệm.

TÍNH THÍCH HỢP VỀ LÂM SÀNG

Anti-TCR PAN α/β-PE là một kháng thể Anti-TCR PAN α/β dùng để xác định và xác định đặc điểm của các tế bào biểu hiện kháng nguyên TCR α/β bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy. Chỉ riêng sản phẩm này không thể và không nhằm tạo ra bất kỳ kết luận chẩn đoán nào.

Khi kết hợp với các chỉ dấu khác, có thể dùng sản phẩm này trong một hoặc nhiều chức năng sau:

- Để hỗ trợ chẩn đoán phân biệt những bệnh nhân bị bất thường về huyết học nghi ngờ mắc ung thư máu và để theo dõi những bệnh nhân đã được xác định là mắc ung thư máu.

Xem tài liệu tham khảo sau đây:

1; 2; 3; 4

MẪU

Phải lấy mẫu máu tĩnh mạch vào ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA.

Phải bảo quản mẫu ở nhiệt độ phòng (18–25°C) và không lắc mẫu. Phải khuấy nhẹ mẫu trước khi lấy mẫu xét nghiệm để mẫu có trạng thái đồng nhất.

Phải phân tích các mẫu trong vòng 24 giờ sau khi lấy từ tĩnh mạch.

NỒNG ĐỘ

Xem Giấy chứng nhận phân tích theo lô cụ thể tại www.beckman.com.

CẢNH BÁO VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG NGỪA

1. Không dùng thuốc thử đã hết hạn sử dụng.
2. Không làm đông lạnh.
3. Để dung dịch trở về nhiệt độ phòng (18–25°C) trước khi sử dụng.
4. Giảm thiểu tiếp xúc với ánh sáng.
5. Tránh làm thuốc thử bị nhiễm khuẩn, nếu không, có thể dẫn đến kết quả sai.
6. Phải xử lý cẩn thận dung dịch kháng thể chứa natri azit (NaN_3). Không được uống và tránh mọi tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.

Ngoài ra, trong môi trường axit, natri azit có thể tạo thành axit hydrazoic nguy hiểm. Nếu cần phải thải bỏ, bạn nên pha loãng thuốc thử trong nhiều nước trước khi thải vào hệ thống thoát nước để tránh tích tụ natri azide trong ống kim loại và để tránh nguy cơ nổ.

7. Phải coi tất cả mẫu máu là có nguy cơ lây nhiễm và xử lý cẩn thận (cụ thể: đeo găng tay, mặc áo choàng và đeo kính bảo vệ).
8. Tuyệt đối không dùng pipet bằng miệng và tránh để mẫu tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.
9. Phải bỏ ống máu và vật liệu dùng một lần đã dùng để xử lý trong thùng chứa đặc biệt cho mục đích thiêu hủy.
10. Phải thải bỏ thuốc thử và chất thải theo yêu cầu của địa phương.

PHÂN LOẠI MỐI NGUY HIỂM THEO GHS

Không được phân loại là chất nguy hiểm

SDS Phiếu dữ liệu an toàn có sẵn tại beckmancoulter.com/techdocs

BẢO QUẢN VÀ ĐỘ ỔN ĐỊNH

Phải bảo quản thuốc thử này ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng, trước và sau khi mở ống.

Hạn sử dụng của ống khi chưa mở nắp theo nghiên cứu về độ ổn định: 1095 ngày.

Độ ổn định của ống đã mở: thuốc thử ổn định trong 180 ngày.

BẰNG CHỨNG BIẾN CHẤT

Mọi sự biến đổi về vẻ ngoài của thuốc thử có thể là dấu hiệu suy giảm chất lượng và bạn không nên dùng thuốc thử đó.

Để biết thêm thông tin hoặc nếu bạn nhận được sản phẩm bị hỏng, hãy gọi điện cho Dịch vụ khách hàng của Beckman Coulter theo số 8007422345 (Hoa Kỳ hoặc Canada) hoặc liên hệ với Đại diện của Beckman Coulter tại địa phương bạn.

HÀM LƯỢNG

Chất bảo quản natri azit có thể hình thành hợp chất nổ trong ống dẫn bằng kim loại. Xem Thông Báo của Viện quốc gia về an toàn và sức khỏe nghề nghiệp (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Nguy cơ nổ azit) (16/8/76).
Để tránh khả năng tích tụ hợp chất azit, hãy xả sạch các ống thải bằng nước sau khi xử lý vứt bỏ thuốc thử chưa pha loãng. Phải xử lý vứt bỏ natri azit theo đúng quy định sở tại.

VẬT LIỆU CẦN DÙNG (KHÔNG KÈM THEO BỘ THUỐC THỬ):

- Ống lấy mẫu và vật liệu cần dùng để lấy mẫu.
- Pipet tự động có đầu hút dùng một lần để lấy mẫu có thể tích 20, 100 và 500 µL.
- Ống chứa mẫu tan huyết bằng nhựa.
- Thuốc thử ly giải hồng cầu với bước rửa sau khi ly giải. Ví dụ: VersaLyse (Số tham chiếu A09777).
- Thuốc thử cố định Leucocyte. Ví dụ: Dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800).
- Mẫu chứng âm PE: Thuốc thử IOTest (Số tham chiếu: A07796).
- Dung dịch đệm (PBS: 0,01 Mol natri photphat; 0,145 Mol natri clorua; pH 7,2).
- Máy ly tâm.
- Máy trộn tự động (loại khuấy).
- Máy đếm tế bào dòng chảy.

QUY TRÌNH VỚI THUỐC THỬ VERSALYSE

Đối với mỗi mẫu phân tích, ngoài ống xét nghiệm, có thể thêm một ống kiểm chuẩn, trong đó tế bào được trộn với mẫu chứng âm (Số tham chiếu A07796).

1. Thêm 20 µL kháng thể cộng hợp IOTest đặc hiệu vào mỗi ống xét nghiệm và nếu cần, 20 µL mẫu chứng âm vào từng ống kiểm chuẩn.
2. Thêm 100 µL mẫu xét nghiệm vào từng ống. Lắc nhẹ các ống.
3. Ủ trong 15 đến 20 phút ở nhiệt độ phòng (18–25°C), tránh ánh sáng.
4. Sau đó, ly giải hồng cầu. Tham khảo tờ hướng dẫn về VersaLyse (Số tham chiếu A09777) và tốt nhất là làm theo quy trình tên là “có cố định đồng thời”, bao gồm thêm 1 mL hỗn hợp “Cố định và ly giải” được chuẩn bị tùy ứng. Lắc ngay trong một giây và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.
5. Quay ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 150 x g tại nhiệt độ phòng.
6. Hút bỏ dịch nổi.
7. Tái huyền phù viên tế bào bằng 3 mL PBS.
8. Lặp lại bước 5.
9. Hút bỏ dịch nổi và tái huyền phù viên tế bào bằng:

- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS cộng với 0,1% formaldehyde nếu sử dụng chế phẩm trong vòng chưa đến 24 giờ. (Có thể thu được PBS chứa 0,1% formaldehyde bằng cách pha loãng 12,5 µL dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800) ở nồng độ 10X trong 1 mL PBS).
- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS không có formaldehyde, nếu phân tích các chế phẩm trong vòng 2 giờ.

Ghi chú: Trong mọi trường hợp, phải bảo quản chế phẩm ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng.

GIÁ TRỊ DỰ KIẾN

Trong phòng xét nghiệm của chúng tôi, mẫu máu toàn phần của 25 người hiến khỏe mạnh được điều trị bằng thuốc thử mô tả ở trên. Bảng dưới đây trình bày kết quả đếm số lượng sự kiện dương tính quan tâm với thuốc thử này:

Mục tiêu dương tính	Số	Giá trị trung bình (%)	SD	CV (%)
Tế bào lympho	25	67,94	11,93	17,56

Các giá trị sau chỉ có tính chất đại diện. Mỗi phòng xét nghiệm phải thiết lập giá trị dự kiến riêng từ quần thể người hiến bình thường của mình.

HIỆU SUẤT

Dữ liệu hiệu suất thu được bằng cách sử dụng quy trình mô tả ở trên với các mẫu máu được thu thập dưới 24 giờ trong các ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA. Phân tích trong vòng 2 giờ sau khi nhuộm hóa mô miễn dịch.

ĐỘ ĐẶC HIỆU

Tế bào T của người nhận ra các kháng nguyên lạ liên quan đến các phân tử HLA của vật chủ thông qua thụ thể tế bào T đối với kháng nguyên (TcR) (5, 6, 7). TcR là các phức hợp phân tử bao gồm hai đơn vị: một đơn vị nhận dạng, bao gồm dị dimer α-β hoặc γ-δ, hiện diện trên bề mặt tế bào theo cách loại trừ lẫn nhau, và một đơn vị tải nạp, phức hợp CD3, phổ biến với dị dimer α-β và γ-δ, kích hoạt tế bào T khi đơn vị nhận dạng bị kháng nguyên chiếm giữ.

Các đơn vị nhận dạng nhận ra bất kỳ kháng nguyên lạ nào có thể có và các gen TcR tái tổ hợp soma tạo ra sự đa dạng cần thiết cho chức năng nhận dạng này. Có bốn locus gen TcR (α, β, γ và δ). Mỗi locus gen bao gồm một số đoạn V (biến đổi) mã hóa cho khoảng 90 axit amin, đoạn D rất ngắn (đa dạng) (chỉ locus α và δ), đoạn ngắn J (liên kết) (khoảng 15 axit amin) và một hoặc hai đoạn C (bất biến) (8, 9, 10, 11). Kháng thể IP26A nhận ra một yếu tố quyết định đơn hình của chuỗi α/β trong phức hợp TcR ở người (12, 13).

ĐỘ CHỤM

Tỷ lệ phần trăm của các giá trị dương tính được xác định bằng cách sử dụng máu toàn phần. Mỗi mẫu được chạy 4 lần, hai lần một ngày trong 1 ngày trên 2 thiết bị sử dụng 2 lô thuốc thử kháng thể đơn dòng Anti-TCR PAN α/β-PE. Các phép đo (% dương tính) được thực hiện trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Phân tích được tiến hành theo phương pháp EP5-A2 của CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Đánh giá hiệu suất độ chụm của phương pháp đo định lượng).

Tiêu chí chấp nhận của chúng tôi phụ thuộc vào số lượng sự kiện dương tính đo được cho mỗi quần thể:

- Nếu sự kiện dương tính <1.500, CV <15%
- Nếu sự kiện dương tính >1.500, CV <10%

Tế bào lympho							
Số sự kiện dương tính (Giá trị trung bình) = 6178							
	Giữa những người thao tác	Giữa các máy đếm tế bào	Trong lô	Giữa các lô	Giữa các lần chạy	Trong lần chạy	Toàn phần
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
KẾT QUẢ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ĐỘ CHÍNH XÁC

Độ chính xác của Anti-TCR PAN α/β-PE được đánh giá bằng cách so sánh kết quả với thuốc thử tham chiếu để khẳng định trên một tập hợp các mẫu máu toàn phần chạy trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Sự chênh lệch giữa xét nghiệm và thuốc thử tham chiếu được xác định dựa trên sự chênh lệch giữa các kết quả xét nghiệm. Nếu sự chênh lệch nằm trong phạm vi sai số cho phép hoặc giá trị p cho thấy không có sự khác biệt đáng kể (>0,05), thì kết quả xét nghiệm cho hai thuốc thử được coi là tương đương.

Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Số người hiến = 25				
Mục tiêu dương tính	Giá trị trung bình Δ	Tiêu chí tế bào Δ %	giá trị p	KẾT QUẢ
Tế bào lympho	-1,26	<5	0,208	PASS

GIỚI HẠN TRỐNG VÀ GIỚI HẠN PHÁT HIỆN

Một nghiên cứu đã được thực hiện theo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Đánh giá khả năng phát hiện cho các quy trình đo lường trong phòng xét nghiệm lâm sàng). Giới hạn phát hiện (LOD) là nồng độ thấp nhất của chất phân tích có thể phát hiện một cách nhất quán. Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Positive Target	Giới hạn trống (tế bào/µL)	Giới hạn phát hiện (tế bào/µL)
Tế bào lympho	4	6

GIỚI HẠN

1. Phương pháp đếm tế bào dòng chảy có thể cho kết quả sai nếu điều chỉnh máy đếm tế bào không phù hợp, nếu mức bù huỳnh quang rò rỉ không phù hợp và nếu định vị các vùng không cẩn thận.
2. Tốt nhất là sử dụng kỹ thuật ly giải RBC có bước rửa vì thuốc thử này chưa được tối ưu hóa cho các kỹ thuật ly giải "không rửa".
3. Sẽ thu được kết quả chính xác và có thể tái lặp nếu sử dụng quy trình theo tờ hướng dẫn kỹ thuật và phù hợp với biện pháp xét nghiệm hợp lý.
4. Kháng thể cộng hợp của thuốc thử này được hiệu chuẩn để đưa ra tỷ lệ tín hiệu đặc hiệu/tín hiệu không đặc hiệu tốt nhất. Do đó, điều quan trọng là phải tuân thủ tỷ lệ thể tích thuốc thử/thể tích mẫu trong mỗi xét nghiệm.
5. Trong trường hợp tăng bạch cầu, hãy pha loãng máu trong PBS để thu được giá trị xấp xỉ 5 x 10^9 bạch cầu/L (14).
6. Trong một số tình trạng bệnh, chẳng hạn như suy thận nặng hoặc bệnh rối loạn máu, hồng cầu có thể ly giải chậm, ly giải không hoàn toàn, hoặc thậm chí là không thể ly giải. Trong trường hợp này, bạn nên phân lập tế bào đơn nhân bằng phương pháp ly tâm phân lớp theo tỷ trọng (ví dụ: Ficoll) trước khi nhuộm (15).
7. Ở những bệnh nhân được điều trị bằng các liệu pháp kháng thể đơn dòng kháng người, khả năng phát hiện các kháng nguyên mục tiêu đặc hiệu có thể giảm đi hoặc không xảy ra do bị kháng thể điều trị chặn một phần hoặc toàn bộ.

8. Phải diễn giải kết quả Anti-TCR PAN α/β-PE dựa trên toàn bộ các dấu hiệu lâm sàng của bệnh nhân, bao gồm: triệu chứng, tiền sử lâm sàng, dữ liệu từ các xét nghiệm khác và thông tin thích hợp khác.

Xem Phụ lục để biết ví dụ và tài liệu tham khảo.

NHÃN HIỆU

Beckman Coulter, logo cách điệu và các nhãn hiệu sản phẩm cũng như dịch vụ của Beckman Coulter nêu trong tài liệu này là nhãn hiệu hoặc nhãn hiệu đã đăng ký của Beckman Coulter, Inc. ở Hoa Kỳ và các quốc gia khác.

THÔNG TIN BỔ SUNG

Đối với bệnh nhân/người dùng/bên thứ ba tại Liên minh Châu Âu và ở các quốc gia có chế độ quản lý giống nhau (Quy định 2017/746/EU về Thiết bị y tế chẩn đoán In vitro); nếu xảy ra sự cố nghiêm trọng trong quá trình sử dụng thiết bị này hoặc do sử dụng thiết bị này, vui lòng báo cáo cho nhà sản xuất và/hoặc đại diện ủy quyền của nhà sản xuất cũng như cơ quan có thẩm quyền tại quốc gia của bạn.

Summary of Safety and Performance (Tóm tắt về an toàn và hiệu suất) có trong cơ sở dữ liệu EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

LỊCH SỬ SỬA ĐỔI

PHIÊN BẢN AD:	Ngày phát hành: Tháng 10 năm 2019

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AW	Tháng 02 năm 2022
Cập nhật để tuân thủ Chính sách ghi nhãn toàn cầu của Beckman Coulter và theo các yêu cầu IVD-R (EU) 2017/746:	
Bổ sung các phần	Số BSI 2797, Đối tượng sử dụng, Tính thích hợp về lâm sàng, Nồng độ, Độ chụm, Độ chính xác, Giới hạn trống và giới hạn phát hiện, Thông tin bổ sung, Lịch sử sửa đổi.
Bổ sung thông tin	Xem các phần Giới hạn
Cập nhật cách diễn đạt hoặc câu chữ	Xem các phần Quy trình, Hiệu suất, Giới hạn, Cảnh báo và Biện pháp phòng ngừa, Bảo quản và Độ ổn định.
Các phần bị xóa	Ví dụ về các ứng dụng lâm sàng, Thuốc thử, Khả năng tái lập trong phòng xét nghiệm, Độ tuyến tính
Các phần cập nhật	Mục đích sử dụng, Phân loại mối nguy hiểm theo GHS, Bằng chứng biến chất, Quy trình, Phụ lục.

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AX	Tháng 4 2023
Các phần cập nhật	Thêm tiếng Kazakh
Các phần cập nhật	Bảo quản và độ ổn định

Phiên bản sửa đổi	AY
Ngày sửa đổi	Tháng 5 2024
Đã cập nhật bản dịch	**Tính thích hợp về lâm sàng:**
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Phiên bản sửa đổi	AZ
Ngày sửa đổi	Tháng 7 2024
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Bảng chú giải các ký hiệu

Danh mục thuật ngữ ký hiệu có sẵn tại beckman.com/techdocs (số tài liệu B60062)

	Сипаттамалары
Ерекшелік	TCR α/β
Клон	IP26A
Гибридома	NS1 x balb/c
Иммуноген	T cell clone
Иммунды глобулин	IgG1
Түрлері	Тышқан
Тазарту	Үйірлік хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin
Молярлық қатынасы	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ қозу	488 нм
Эмиссияның жоғарғы шегі	575 нм
Буфер	PBS pH 7,2 + 2 мг / мл BSA және 0,1% NaN_3

Конъюгацияланған
IOTest антиденесі
Anti-TCR PAN α/β-PE

REF B49177 50 сынақ; 1 мл, 20 мкл / сынақ

***In vitro* диагностикасында пайдалануға арналған.**

ПАЙДАЛАНУ МАҚСАТЫ

Бұл флуорохроммен конъюгацияланған антидене адамның биологиялық үлгілерінде TCR α/β антигеннің болуын көрсететін жасуша популяциясын ағын цитометриясы көмегімен сапалы және автоматтандырылмаған анықтауға мүмкіндік береді (төмендегі «Үлгілер» бөлімін қараңыз).

ҚАҒИДА

Бұл сынақ нақты моноклоналды антиденелердің лейкоциттер айқындайтын антигендік детерминанттармен байланысу қабілетіне негізделген.

Лейкоциттердің арнайы бояуы үлгіні IOTest реагентімен инкубациялау арқылы жүзеге асады. Сол кезде эритроциттер лизис арқылы шығарылады, ал осы процесс әсер етпейтін лейкоциттерге ағын цитометриясы арқылы талдау жасалады.

Ағын цитометрі жарық диффузиясы мен жасушалардың флуоресценттенуін өлшейді. Бұл гистограммада анықталған электронды терезеде қызығушылық популяциясын ажыратуға мүмкіндік береді, ол жарықтың ортогональды диффузиясын (бүйірлік шашырау немесе SS) және тар бұрышты жарықтың диффузиясын (тікелей шашырау немесе FS) байланыстырады. Цитометрде қолжетімді екі түрлі параметрді біріктіретін басқа гистограммаларды пайдаланушы таңдаған қолданбаға байланысты гейтинг кезеңінде тірек ретінде пайдалануға болады.

Оң боялған оқиғаларды боялмаған оқиғалардан ажырату үшін шектеулі жасушалардың флуоресценттенуіне талдау жүргізілді. Оның нәтижесі оң оқиғалардың гейтинг арқылы алынған барлық оқиғаларға қатынасының пайыздық көрсеткіші ретінде көрсетіледі.

МАҚСАТТЫ ПАЙДАЛАНУШЫ

Бұл өнім зертханалық жағдайда кәсіби пайдалануға арналған.

КЛИНИКАЛЫҚ МАҢЫЗЫ

Anti-TCR PAN α/β-PE – ағын цитометриясы арқылы TCR α/β антигенін экспрессиялайтын жасушаларды сәйкестендіру және сипаттау үшін пайдаланылатын Anti-TCR PAN α/β антиденесі. Бұл өнім жалғыз өзі қандай да бір диагностикалық қорытынды жасай алмайды және оған арналмаған.

Басқа маркерлермен бірлесіп пайдаланылғанда, бұл өнімді келесі функциялардың біреуінде немесе бірнешеуінде пайдалануға болады:

- Гемопоэтикалық неоплазмаға күдікті гематологиялық аномальды пациенттерді дифференциалды диагностикалауға көмектесу және белгілі гемопоэтикалық неоплазмасы бар пациенттерді бақылау үшін.

Келесі анықтамаларды қараңыз:

1; 2; 3; 4

ҮЛГІЛЕР

Көктамыр қанын антикоагулянт ретінде EDTA тұзы бар стерильді түтіктердің көмегімен алу керек.

Үлгілерді бөлме температурасында (18–25°C) сақтау керек және оларды шайқауға болмайды. Үлгілерді сынақ үлгісін алмастан бұрын жеңіл араластыру жолымен гомогендеу керек.

Үлгілерді көк тамырды тескен соң 24 сағат ішінде талдау қажет.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Нақты топтама бойынша талдау сертификатын мына сайттан қараңыз www.beckman.com.

ЕСКЕРТУ ЖӘНЕ САҚТЫҚ ШАРАЛАРЫ

1. Жарамдылық мерзімі өткеннен кейін реагентті қолдануға болмайды.
2. Қатыруға болмайды.
3. Оны пайдаланбас бұрын, температурасының бөлме температурасына (18–25°C) жетуін күтіңіз.
4. Жарық әсерін азайтыңыз.
5. Реагенттердің микробтармен ластануына жол бермеңіз немесе жалған нәтижелер орын алуы мүмкін.

6. Құрамында натрий азиды бар антидене ерітінділермен (NaN_3) жұмыс істегенде абай болу керек. Ішке қабылдамаңыз. Теріге, шырышты қабыққа және көзге тиігізбеңіз.

   Оған қоса, қышқылды ортада натрий азиды ықтимал қауіпті азотты сутек қышқылын түзуі мүмкін. Оны жою қажет болған жағдайда реагентті алдымен судың көп мөлшерінде сұйылтып, артынан кәріз жүйесіне төгуге кеңес беріледі. Осылайша, натрий азидының металл құбырларда жиналуын болдырмай, жарылыс қаупінің алдын алуға болады.

7. Қанның барлық үлгілері ықтимал жұқпалы деп есептелуі және сақтықпен өңделуі (атап айтқанда: қорғаныс қолғабын, халат және көзілдірік кию) керек.
8. Ешқашан оны аузыңызға құймаңыз және үлгілерді теріге, шырышты қабыққа және көзге тигізбеңіз.
9. Өңдеу үшін пайдаланылатын қан түтіктері мен бір реттік материалдарды өртеуге арналған арнайы контейнерлерге тастау керек.
10. Реагенттер мен қалдықтар жергілікті талаптарға сәйкес жойылуы тиіс.

GHS ҚАУІПТЕР КЛАССИФИКАЦИЯСЫ

Қауіпті деп жіктелмейді

SDS Қауіпсіздік парағы beckmancoulter.com/techdocs мекенжайы бойынша қолжетімді

САҚТАУ ЖӘНЕ ТҰРАҚТЫЛЫҚ

Құтыны ашпай тұрып және оны ашқаннан кейін, бұл реагентті 2–8°C температурада жарықтан қорғалған жерде сақтау керек.

Тұрақтылық зерттеуіне сәйкес жабық күйіндегі сауыт сөресінің жарамдылық мерзімі: 1095 күндер.

Ашық құтының тұрақтылығы: реагент 180 күн бойы тұрақты болады.

ЗАҚЫМДАЛУ БЕЛГІЛЕРІ

Реагенттердің сыртқы түрінің кез келген өзгерісі олардың зақымдалғандығын көрсетуі мүмкін және реагентті пайдаланбаған жөн.

Қосымша ақпарат алу үшін немесе зақымдалған өнімді алған жағдайда 800-742-2345 (АҚШ немесе Канада) арқылы Beckman Coulter тұтынушыларға қызмет көрсету орталығына қоңырау шалыңыз немесе жергілікті Beckman Coulter компаниясының өкіліне хабарласыңыз.

МАЗМҰНЫ

Натрий азиді консерванты металдан жасалған құбыр желілерінде жарылғыш қосылыстар түзуі мүмкін. NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76) (NIOSH бюллетенін қараңыз: азидтердің жарылу қаупі (16.08.1976)).
Азид қосылыстарының ықтимал түзілуін болдырмау үшін сұйылтылмаған реагентті жойғаннан кейін су құбырларын шайыңыз. Натрий азидін жою тиісті жергілікті ережелерге сәйкес жүзеге асырылуы тиіс.

ҚАЖЕТТІ, БІРАҚ ЖИНАҚПЕН БІРГЕ ЖЕТКІЗІЛМЕГЕН МАТЕРИАЛДАР

- Үлгі алу түтіктері және үлгі алу үшін қажетті материал.
- 20, 100 және 500 мкл ерітінділерге арналған бір реттік ұшы бар автоматты тамызғыштар.
- Эритроциттер гемолизіне арналған пластикалық түтіктер.
- Лизистен кейін жуу әдісі пайдаланылатын эритроцит лизисінің реагенті. Мысалы: VersaLyse (Сілт A09777).
- Лейкоцит фиксация реагенті. Мысалы: IOTest 3 бекіту ерітіндісі (A07800 қараңыз).
- Изотиптік бақылау PE: IOTest реагенті (анық. A07796).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрий фосфаты; 0,145 M натрий хлориді; pH 7,2).
- Центрифугалау
- Автоматты араластырғыш (араластырғыш түрі).
- Ағын цитометрі.

VERSALYSE РЕАГЕНТІ КӨМЕГІМЕН ОРЫНДАЛАТЫН ПРОЦЕДУРА

Әрбір талданатын үлгі үшін сынақ түтігіне қосымша, жасушалар изотиптік бақылаудың қатысуымен араласатын бір бақылау түтігін пайдалану ұсынылады (анық. A07796).

1. Әрбір түтікке 20 мкл арнайы конъюгацияланған IOTest антиденесін және, қажет болса, әрбір сынақ түтігіне 20 мкл изотиптік бақылауды қосыңыз.
2. Әр түтікке сынақ үлгісінің 100 мкл қосыңыз. Түтіктерді абайлап араластырыңыз.
3. Жарықтан қорғалған бөлме температурасында (18–25°C) 15–20 минут инкубациялаңыз.
4. Содан соң қызыл жасушалардың лизисін орындаңыз. VersaLyse (анық. A09777) парақшасын қарап, жоспардан тыс дайындалған 1 мл «Бекіту және еріту» қоспасын қосудан тұратын «ілеспе бекітумен» деп аталатын процедураны орындаңыз. Бір секунд дереу араластырыңыз және жарықтан қорғалған бөлме температурасында 10 минут бойы инкубациялаңыз.
5. 150 x г шамасында 5 минут бойы бөлме температурасында центрифугалаңыз.
6. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастаңыз.
7. 3 мл PBS ерітіндісін пайдаланып, жасуша массасын қайта ерітіңіз.
8. 5-қадамды қайталаңыз.
9. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастап, жасуша массасын төмендегіні қолдану арқылы қайта ерітіңіз:

- Егер препараттар 24 сағаттан аз сақталатын болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне 0,1% формальдегид қосылады. (0,1% формальдегидті PBS ерітіндісі 12,5 мкл IOTest 3 бекіту ерітіндісін (анық. A07800) 10 еселік концентрациясында 1 мл PBS ерітіндісін сұйылту арқылы алуға болады).

- Егер 2 сағат ішінде талдануы керек болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне формальдегид қосылмайды.

Ескертпе: барлық жағдайда препараттарды 2–8°C температурада, күн көзінен алыс жерде сақтау керек.

КҮТІЛЕТІН МӘНДЕР

Біздің зертханаларда 25 тиісті дені сау донорлардан жаңа алынған қан үлгілері жоғарыда сипатталған реагентпен өңделді. Осы реагентпен қызығушылық тудыратын оң оқиғаларды санау үшін алынған нәтижелер төмендегі кестеде келтірілген:

Оңтайлы нысана	Сан	Орташа мән (%)	SD	CV (%)
Лимфоциттер	25	67,94	11,93	17,56

Бұл мәндер тек ұсыну үшін арналған. Әр зертхана қалыпты донорлардың жергілікті популяциясынан күтілетін өзіндік мәндерді белгілеуі керек.

ӨНІМДІЛІК

Өнімділік жөніндегі деректер 24 сағаттық үлгілерді пайдаланып, жоғарыда сипатталған процедура арқылы алынады. Бұл үлгілер алдын ала антикоагулянт ретінде EDTA тұзы арқылы стерильді түтіктерге жиналады. Талдау иммундық бояудан соң 2 сағат ішінде жасалады.

ЕРЕКШЕЛІГІ

Адамның Т жасушалары ізашар HLA молекулалары контекстінде бөгде антигендерді Т-жасушалық антиген рецепторы (TcR) арқылы таниды (5, 6, 7). TcR – бұл екі бірліктен тұратын молекулалық кешендер: жасуша бетінде бірін-бірі жоққа шығаратын түрде болатын α-β немесе γ-δ гетеродимерінен тұратын тану бірлігі және тану бірлігі антигенмен бос емес кезде Т жасушаларын қоздыратын α-β және γ-δ гетеродимерлеріне ортақ CD3 кешенінің түрлендіру бірлігі.

Тану бірліктері кез келген ықтимал бөгде антигенді таниды және бұл тану функциясына қажетті әртүрлілік TcR гендерінің соматикалық рекомбинациясы арқылы жасалады. TcR генінің төрт локусы бар (α, β, γ және δ). Олардың әрқайсысы 90-ға жуық амин қышқылын кодтайтын бірнеше V (түрленгіш үшін) сегменттерінен, өте қысқа D (әртүрлілік үшін) сегменттерінен (тек α және δ локустары) және қысқа J (қосылу үшін) сегменттерінен (шамамен 15 амин қышқылы) және бір немесе екі C (тұрақтылар үшін) сегменттерін тұрады (8, 9, 10, 11). IP26A антиденесі TcR кешеніндегі адамның α/β тізбегінің мономорфты детерминантын таниды (12, 13).

ДӘЛДІК

Оң мәндердің пайызы жаңа алынған қанды қолдану арқылы анықталды. Әрбір үлгі Anti-TCR PAN α/β-PE моноклоналды антидене реагентерінің 2 топтамасын пайдаланып 2 құралда 1 күн бойы күніне екі реттен 4 рет талданды. Өлшемдер (% оң) Navios ағын цитометрінде жүргізілді. Талдау EP5-A2 CLSI әдісі негізінде жүргізілді: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Сандық өлшеу әдістерінің дәлдік өнімділігін бағалау).

Біздің қабылдау критерийлері әрбір популяция үшін өлшенген оң оқиғалардың санына байланысты:

- Оң оқиға болса <1500, CV <15%
- Оң оқиға болса >1500, CV <10%

Лимфоциттер							
Оң оқиғалар саны (Орташа мән) = 6178							
	Аралық оператор	Цитометрараралық	Топтама ішілік	Топтама аралық	Жүгіру арасында	Жүгіру ішінде	Жалпы
CV (%)	0,22	0,36	0,72	0,34	0,21	0,65	0,87
НӘТИЖЕЛЕР	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ДҰРЫСТЫҚ

Anti-TCR PAN α/β-PE дұрыстығы Navios ағын цитометрінде өңделген жаңа алынған қан үлгілерінің жинағындағы, предикат ретінде анықтамалық реагентпен нәтижелерді салыстыру арқылы бағаланған. Сынақ пен анықтамалық реагент арасындағы жүйелік қателік сынақ нәтижелері арасындағы айырмашылық негізінде анықталды. Егер қателік рұқсат етілген қателер ауқымында болса немесе p-мәні айтарлықтай айырмашылықты көрсетпесе (>0,05), онда екі реагенттің сынау нәтижелері баламалы болып саналады.

Алынған нәтижелер келесі кестеде толық көрсетілген:

Донорлар саны = 25				
Оңтайлы нысана	Орташа мән Δ	Δ % Жасуша критерийлері	p-мәні	НӘТИЖЕЛЕР
Лимфоциттер	-1,26	<5	0,208	PASS

БОС СЫНАМА ШЕГІ ЖӘНЕ АНЫҚТАУ ШЕГІ

Зерттеу CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, клиникалық зертханалық өлшеу процедураларын анықтау мүмкіндігін бағалау) нұсқауына сәйкес жүргізілді. Анықтау шегі (LOD) – бұл рет-ретімен анықтауға болатын аналиттің ең төмен концентрациясы. Алынған нәтижелер келесі кестеде жинақталған:

Positive Target	Бос сынама шегі (жасуша/мкл)	Анықтау шегі (жасуша/мкл)
Лимфоциттер	4	6

ШЕКТЕУЛЕР

1. Цитометр дұрыс бапталмаған, флуоресценттенудің ағып кетуі дұрыс өтелмеген және аймақтар мұқият орналастырмаған жағдайда, ағын цитометриясы қате нәтижелер беруі мүмкін.
2. RBC лизис әдісін жуу қадамымен пайдаланған жөн, себебі бұл реагент «жуусыз» лизис әдістері үшін оңтайландырылмаған.
3. Жүргізілген процедуралар техникалық нұсқау брошюрасына сәйкес және тиісті зертханалық тәжірибемен үйлесімді болған жағдайда ғана дұрыс, әрі жаңғыртылуы мүмкін нәтижелерді алуға болады.
4. Осы реагенттің конъюгацияланған антиденесі арнайы сигнал мен арнайы емес сигналдың ең жақсы қатынасын қамтамасыз ететіндей калибрленген. Сондықтан әрбір сынақты жүргізгенде реагент көлемінің үлгі көлеміне қатынасын сақтау маңызды.

5. гиперлейкоцитоз жағдайында шамамен 5 x 10^9 лейкоцит/л (14) мәнін алу үшін PBS ерітіндісінде қанды сұйылтыңыз.
6. Кейбір жіті бүйрек жеткіліксіздігі немесе гемоглобинопатия сияқты аурулар жағдайында, эритроциттер лизисі баяу, толық емес немесе тіпті мүмкін емес болуы мүмкін. Бұл жағдайда бояудан бұрын тығыздық градиентін (мысалы, Ficoll) пайдаланып мононуклеарлы жасушаларды оқшаулап алу ұсынылады (15).
7. Адамға қарсы моноклоналды антиденелер терапиясымен емделген пациенттерде арнайы мақсатты антигендерді анықтау емдік антиденеңің ішінара немесе толық бұғатталуына байланысты төмендеуі немесе болмауы мүмкін.
8. Anti-TCR PAN α/β-PE нәтижелері емделушінің жалпы клиникалық деректері тұрғысынан түсіндірілуі тиіс, соның ішінде: симптомдар, клиникалық анамнез, қосымша сынақтардың деректері және басқа тиісті ақпарат.

Мысалдар мен анықтамалар алу үшін қосымшаны қараңыз.

САУДА БЕЛГІЛЕРІ

Beckman Coulter, стильденген логотип, сонымен қатар Beckman Coulter өнім мен қызмет көрсету белгілері — бұл АҚШ және басқа елдердегі Beckman Coulter, Inc. сауда белгілері немесе тіркелген сауда белгілері.

ҚОСЫМША АҚПАРАТ

Еуропалық Одақтағы және бірдей реттеу режимі (зертханалық жағдайдағы медициналық диагностикалық құрылғылар туралы 2017/746/ЕО қаулысы) бар елдердегі пациент/пайдаланушы/үшінші тарап үшін; егер осы құрылғыны пайдалану кезінде немесе оны пайдалану нәтижесінде елеулі оқиға орын алса, өндірушіге және/немесе оның уәкілетті өкіліне және ұлттық органыңызға хабарлаңыз.

Қауіпсіздік пен өнімділік бойынша қорытынды мәліметтер EUDAMED дерекқорында қолжетімді: ec.europa.eu/tools/eudamed.

Өзгерту тарихы

AD ҚАЙТА ҚАРАУ:	Шығарылған күні: Қазан 2019

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AW	Ақпан 2022 ж.
Beckman Coulter ғаламдық таңбалау саясатына және IVD-R (ЕО) 2017/746 талаптарына сәйкес жасалған жаңартулар:	
Қосылған бөлімдер	«BSI 2797 нөмірі», «Мақсатты пайдаланушы», «Клиникалық маңызы», «Концентрациясы», «Анықтық», «Дұрыстық», «Бос сынама шегі және анықтау шегі», «Қосымша ақпарат», «Өзгерту тарихы».
Қосылған ақпарат	«Шектеулер» бөлімінен қараңыз
Фразалар және типографиялық жаңартулар	«Процедура», «Өнімділік», «Шектеулер», «Ескерту және сақтық шаралары» «Сақтау және тұрақтылық» бөлімдерін қараңыз.
Жойылған бөлімдер	«Клиникалық қолдану мысалы», «Реагенттер», «Зертханаішілік жаңғыртылу», «Сызықтық»
Жаңартылған бөлімдер	«Пайдалану мақсаты», «GHS қауіптер классификациясы», «Зақымдалу белгілері», «Процедура», «Қосымша».

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AX	Сәуір 2023
Жаңартылған бөлімдер	Қазақ тілін қосу
Жаңартылған бөлімдер	Сақтау және тұрақтылық

Қайта қаралған нұсқасы	AY
Қайта қаралған күні	Мамыр 2024
Жаңартылған аудармалар	**Клиникалық маңызы:**
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Қайта қаралған нұсқасы	AZ
Қайта қаралған күні	Шілде 2024
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Таңбалар пернесі

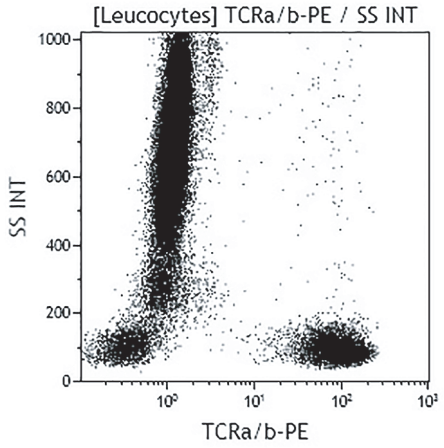
Таңбалар глоссарийі beckman.com/techdocs сайтында (құжат нөмірі: B60062) қолжетімді

APPENDIX

- EXAMPLES

Whole blood samples stained with IOTest Anti-TCR PAN α/β-PE Conjugated Antibody.

Acquisition is performed with a Beckman Coulter Navios flow cytometer equipped with the Navios analysis software.



REFERENCES

1. N. D. Novikov, G. K. Griffin, G. Dudley, M. Drew, V. Rojas-Rudilla, N. I. Lindeman, D. M. Dorfman, "Utility of a Simple and Robust Flow Cytometry Assay for Rapid Clonality Testing in Mature Peripheral T-Cell Lymphomas.", Am J Clin Pathol. 151, 494–503 (2019).
2. B. Feng, J. L. Jorgensen, Y. Hu, L. J. Medeiros, S. A. Wang, "TCR-Vbeta flow cytometric analysis of peripheral blood for assessing clonality and disease burden in patients with T cell large granular lymphocyte leukaemia.", J Clin Pathol. 63, 141–146 (2010).
3. M. Yabe, L. J. Medeiros, S. A. Wang, G. Tang, C. E. Bueso-Ramos, J. L. Jorgensen, G. Bhagat, W. Chen, S. Li, K. H. Young, R. N. Miranda, "Distinguishing Between Hepatosplenic T-cell Lymphoma and γδ T-cell Large Granular Lymphocytic Leukemia: A Clinicopathologic, Immunophenotypic, and Molecular Analysis.", Am J Surg Pathol. 41, 82–93 (2017).
4. S. Scialom, G. Malamut, B. Meresse, N. Guegan, N. Brousse, V. Verkarre, C. Derrieux, E. Macintyre, P. Seksik, G. Savoye, G. Cadiot, L. Vuitton, L. Marthey, F. Carbonnel, N. Cerf-Bensussan, C. Cellier, Gastrointestinal Disorder Associated with Olmesartan Mimics Autoimmune Enteropathy.", PLoS One. 10, e0125024 (2015).
5. Allison, J.P., "Structure, function, and serology of the T-cell antigen receptor complex", 1987, Annu. Rev. Immunol., 5, 503-539.
6. Clevers, H., Alarcon, B., Wileman, T., Terhorst, C., "The T cell receptor / CD3 complex: A dynamic protein ensemble", 1988, Annu. Rev. Immunol., 6, 629-662.
7. Porcelli, S., Brenner, M.B., Band, H., "Biology of the human γδ T-cell receptor", 1991, Immunol. Rev., 120, 137-183.
8. Wei, S., Charmley, P., Robinson, M.A., Concannon, P., "The extent of the human germline T-cell receptor Vß gene segment repertoire", 1994, Immunogenetics, 40, 27-36.
9. Arden, B., Clark, S.P., Mak, T.W., "Human T cell receptor variable gene segment families", 1995, Immunogenetics, 42, 455-500.
10. Peyrat, M.A., Davodeau, F., Houde, I., Romagné, F., Necker, A., Leget, C., Cervoni, J.P., Cerf-Bensoussan, N., Vié, H., Bonneville, M., Hallet, M.M., "Repertoire analysis of human PBL using a human V δ 3 region specific mAb. Characterization of dual TCR δ chain expressors and α ß T cells expressing V δ 3/J α/C α-encoded TCR chains",1995, J. Immunol., 155, 3060-3067.
11. Thibault, G., Bardos, P., "Compared TCR and CD3ε expression on αß and γδ cells. Evidence for the association of two TCR heterodimers with three CD3ε chains in the TCR/CD3 complex", 1995, J. Immunol.,154, 3814-3820.
12. Agrawal, S.G., Marquet, J., Plumas, J., Rouard, H., Delfau-Larue, M.- H., Gaulard, P., Boumsell, L., Reyes, F., Bensussan, A., Farcet, J.-P., "BY55/CD160 acts as a co-receptor in TCR signal transduction of a human circulating cytotoxic effector T lymphocyte subset lacking CD28 expression", 2000, International Immunology, Vol 13, No.4, pp. 441-450.
13. Nikolova, M., Cardine, A.M., Boumsell, L., Bensussan, A., "BY55/CD160 acts as a co-receptor in TCR signal transduction of a human circulating cytotoxic effector T lymphocyte subset lacking CD28 expression", 2002, International Immunology, Vol 14, No.5, pp. 445-451.
14. H42-A2 Vol.27 No. 16. P30. Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry; Approved Guideline - Second Edition.
15. Ibrahim FF, Ghannam MM, Ali FM., "Effect of dialysis on erythrocyte membrane of chronically hemodialyzed patients"., 2002. Ren Fail., Nov;24(6):779-90.

IMMUNOTECH SAS 是贝克曼库尔特公司的旗下公司，地址：130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France，电话：+(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda
Alameda Rio Negro, 500, 15 andar, Torre B Alphaville Industrial
CEP 06.454-000 Barueri, São Paulo, Brasil
CNPJ: 42.160.812/0001-44 Telefone: 0800-771-8818

製造販売業者: ベックマン·コールター株式会社
〒135-0063
東京都江東区有明三丁目5 番7号
TOC有明ウエストタワー

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

 IMMUNOTECH SAS A Beckman Coulter Company, 130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France, +(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

BECKMAN COULTER
MADE IN France

CE 2797

IOTest
Conjugated Antibody
CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

TABLE OF CONTENTS

English . . . 2
Français (France) (fr-fr) . . . 6
Deutsche (de-de) . . . 10
Italiano (it-it) . . . 14
Español (es-es) . . . 18
Português (Portugal) (pt-pt) . . . 22
Dansk (da-dk) . . . 26
Svenska (sv-se) . . . 30
Norsk (nb-no) . . . 34
Suomi (fi-fi) . . . 38
Ελληνικά (el-gr) . . . 42
日本語 (ja-jp) . . . 46
中文（中国）(zh-cn) . . . 50
Lietuvių (lt-lt) . . . 54
Magyar (hu-hu) . . . 58
Polski (pl-pl) . . . 62
Čeština (cs-cz) . . . 66
Slovák (sk-sk) . . . 70
한국어 (ko-kr) . . . 74
Türkçe (tr-tr) . . . 78
Русский (ru-ru) . . . 82
Eestlane (et-ee) . . . 86
Hrvatski (hr-hr) . . . 90
Български (bg-bg) . . . 94
中文（台灣）(zh-tw) . . . 98
Română (ro-ro) . . . 102
Slovenščina (sl-si) . . . 106
Srpski (sr-rs) . . . 110
Latviešu (lv-lv) . . . 114
Українська (uk-ua) . . . 118
Português (Brasil) (pt-br) . . . 122
Nederlands (nl-nl) . . . 126
Tiếng Việt (vi-vn) . . . 130
Қазақша (kk-kz) . . . 134
APPENDIX . . . 138
REFERENCES . . . 139

© 2024 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

	Specifications
Specificity	CD57
Clone	NC1
Hybridoma	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Cells from quail ciliary ganglia
Immunoglobulin	IgM
Species	Mouse
Purification	Gel filtration
Fluorochrome	Fluorescein isothiocyanate
Molar ratio	FITC / Ig: 19 - 24
λ excitation	488 nm
Emission Peak	525 nm
Buffer	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA and 0.1% NaN_3

IOTest
Conjugated Antibody
CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

For *in vitro* diagnostic use.

INTENDED USE

This fluorochrome-conjugated antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the CD57 antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

PRINCIPLE

This test is based on the ability of specific monoclonal antibodies to bind to the antigenic determinants expressed by leucocytes.

Specific staining of the leucocytes is performed by incubating the sample with the IOTest reagent. The red cells are then removed by lysis and the leucocytes, which are unaffected by this process, are analyzed by flow cytometry.

The flow cytometer measures light diffusion and the fluorescence of cells. It makes possible the delimitation of the population of interest within the electronic window defined on a histogram, which correlates the orthogonal diffusion of light (Side Scatter or SS) and the diffusion of narrow-angle light (Forward Scatter or FS). Other histograms combining two of the different parameters available on the cytometer can be used as supports in the gating stage depending on the application chosen by the user.

The fluorescence of the delimited cells is analyzed in order to distinguish the positively-stained events from the unstained ones. The results are expressed as a percentage of positive events in relation to all the events acquired by the gating.

INTENDED USER

This product is intended for laboratory professional use.

CLINICAL RELEVANCE

The CD57-FITC is a CD57 antibody used to identify and characterize cells expressing the CD57 antigen by flow cytometry. This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.

When used in combination with other markers, this product can be used in one or more of the following functions:

- To aid in the differential diagnosis of hematologically abnormal patients suspected of having hematopoietic neoplasm and to monitor patients with known hematopoietic neoplasm.
- To aid in the prognosis of patients having hematopoietic neoplasm.
- To aid in diagnosis of patients with suspected immunodeficiency and monitor patients with known immunodeficiency.

See following references :

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

SAMPLES

Venous blood must be taken using sterile tubes containing an EDTA salt as the anticoagulant.

The samples should be kept at room temperature (18 – 25°C) and not shaken. The samples should be homogenized by gentle agitation prior to taking the test sample.

The samples must be analyzed within 24 hours of venipuncture.

CONCENTRATION

See lot specific Certificate of Analysis at www.beckman.com.

WARNING AND PRECAUTIONS

1. Do not use the reagent beyond the expiry date.
2. Do not freeze.
3. Let it come to room temperature (18 – 25°C) before use.
4. Minimize exposure to light.

5. Avoid microbial contamination of the reagents, or false results may occur.
6. Antibody solutions containing sodium azide (NaN_3) should be handled with care. Do not take internally and avoid all contact with the skin, mucosa and eyes.

   Moreover, in an acid medium, sodium azide can form the potentially dangerous hydrazoic acid. If it needs to be disposed of, it is recommended that the reagent be diluted in a large volume of water before pouring it into the drainage system so as to avoid the accumulation of sodium azide in metal pipes and to prevent the risk of explosion.
7. All blood samples must be considered as potentially infectious and must be handled with care (in particular: the wearing of protective gloves, gowns and goggles).
8. Never pipet by mouth, and avoid all contact of the samples with the skin, mucosa and eyes.
9. Blood tubes and disposable material used for handling should be disposed of in ad hoc containers intended for incineration.
10. Reagents and waste should be eliminated according to local requirements.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

SDS Safety Data Sheet is available at beckmancoulter.com/techdocs

STORAGE AND STABILITY

This reagent must be kept at between 2 and 8°C and protected from light, before and after the vial has been opened.

Closed vial shelf life per stability study: 1095 days.

Stability of opened vial: the reagent is stable for 180 days.

EVIDENCE OF DETERIORATION

Any change in the physical appearance of the reagents may indicate deterioration and the reagent should not be used.

For additional information, or if damaged product is received, call Beckman Coulter Customer Service at 800-742-2345 (USA or Canada) or contact your local Beckman Coulter Representative.

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).
To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

MATERIALS NEEDED BUT NOT SUPPLIED WITH KIT:

- Sampling tubes and material necessary for sampling.
- Automatic pipettes with disposable tips for 20, 100 and 500 µL.
- Plastic haemolysis tubes.
- Red cell lysis reagent with washing stage after lysis. For example: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leucocyte fixation reagent. For example : IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800).
- Buffer (PBS: 0.01 M sodium phosphate; 0.145 M sodium chloride; pH 7.2).
- Centrifuge.
- Automatic agitator (Vortex type).
- Flow cytometer.

PROCEDURE WITH VERSALYSE REAGENT

1. Add the appropriate volume 20 µL of specific IOTest conjugated antibody to each test tube.
2. Add 100 µL of the test sample to each tube. Vortex the tubes gently.
3. Incubate for 15 to 20 minutes at room temperature (18 – 25°C), protected from light.
4. Then perform lysis of the red cells. Refer to VersaLyse (Ref. A09777) leaflet and follow preferably the procedure called “with concomitant fixation”, which consists of adding 1 mL of the “Fix-and-Lyse” mixture prepared extemporaneously. Vortex immediately for one second and incubate for 10 minutes at room temperature, protected from light.
5. Centrifuge for 5 minutes at 150 x g at room temperature.
6. Remove the supernatant by aspiration.
7. Resuspend the cell pellet using 3 mL of PBS.
8. Repeat step 6.
9. Remove the supernatant by aspiration and resuspend the cell pellet using:

- 0.5 mL or 1 mL of PBS plus 0.1% of formaldehyde if the preparations are to be kept less than 24 hours. (A 0.1% formaldehyde PBS can be obtained by diluting 12.5 µL of the IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800) at its 10X concentration in 1 mL of PBS).
- 0.5 mL or 1 mL of PBS without formaldehyde, if the preparations are to be analyzed within 2 hours.

Note: In all cases, keep the preparations between 2 and 8°C and protected from light.

EXPECTED VALUES

In our laboratories, the whole blood samples of 25 apparently healthy donors were treated using the reagent described above. The results obtained for the count of the positive events of interest with this reagent are given in the table below :

Positive Target	Number	Mean (%)	SD	CV (%)
Lymphocytes	25	20.46	10.29	50.28

These values are intended to be representative only. Each laboratory should establish its own expected values from the local population of normal donors.

PERFORMANCE

Performance data are obtained using the procedure described above on less than 24 hour-old blood samples previously collected in sterile tubes with EDTA salt as anticoagulant. Analysis is performed within 2 hours following immunostaining.

SPECIFICITY

The CD57 molecule, originally named HNK- 1, is a glycoprotein with a molecular weight of 110 - 115 kDa. The CD57 molecule is an oligosaccharide antigenic compound with sulfated glucuronic acid residues. It is linked to a variety of polypeptides, lipids, and chondroitin sulfate proteoglycans found on diverse tissues. The CD57 molecule is expressed on subsets of hematopoietic cells, neuroectodermal cells, neuroendocrine cells, stried muscle and prostatic epithelium (11, 12, 13, 14).

The CD57 antigen was initially identified in hematopoietic tissue on the majority of large granular lymphocytes (LGL). In most adults the CD57 antigen is expressed on a subset of NK cells and CD8 positive T lymphocytes (13). The CD57 molecule is expressed on a subset of bone marrow cells and seems not to be found on cord blood lymphocytes.

A subset of CD4+ / CD45RO+ T lymphocytes from germinal center lymph nodes expresses the CD57 antigen (12, 13). Data report that the CD57 molecule is involved in cell-cell interactions. L-selectin (CD62L) and P-selectin (CD62P) molecules may be possible ligands for CD57 (11, 15). The NC1 monoclonal antibody was assigned to the CD57 cluster at the 5th International Workshop on Human Leucocyte Differenciation Antigen in Boston, USA in 1993 (16).

PRECISION

The percent positive values were determined using Whole Blood. Each sample was run 4 times, twice a day for 1 day on 2 instruments using 2 lots of CD57-FITC Monoclonal Antibody Reagents. Measurements (% positive) were made on Navios flow cytometer. Analysis was conducted based on the CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.

Our acceptance criteria is dependent on the number of positive events measured for each population:

- If positive event <1500, CV <15%
- If positive event >1500, CV <10%

Lymphocytes							
Number of positive events (Mean) = 804							
	Inter-Operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-run	Intra-run	Total
CV (%)	2.00	1.01	4.48	1.26	1.85	3.56	4.76
RESULTS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURACY

The accuracy of CD57-FITC was assessed by comparing the results with a reference reagent as the predicate on a set of whole blood samples run on a Navios flow cytometer. The bias between test and reference reagent was determined based on the difference between test results. If the bias is within the allowable error range or the p-value indicates no significant difference (> 0.05), then test results for the two reagents are considered as equivalent.

The results obtained are summarized in the following table below:

Number of donors = 25				
Positive Target	Mean Δ	Δ % Cell criteria	p-value	RESULTS
Lymphocytes	1.11	<5	2.71E-04	PASS

LIMIT OF BLANK AND LIMIT OF DETECTION

A study was conducted in accordance with CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures. The Limit of Detection (LOD) is the lowest concentration of analyte that can be consistently detected. Results obtained are summarized in the following table:

Positive Target	Limit of Blank (cell/µL)	Limit of Detection (cell/µL)
Lymphocytes CD3+ CD57+	1	2

LIMITATIONS

1. Flow cytometry may produce false results if the cytometer has not been aligned perfectly, if fluorescence leaks have not been correctly compensated for and if the regions have not been carefully positioned.
2. It is preferable to use a RBC lysis technique with a washing step, as this reagent has not been optimized for "no wash" lysis techniques.
3. Accurate and reproducible results will be obtained as long as the procedures used are in accordance with the technical insert leaflet and compatible with good laboratory practices.
4. The conjugated antibody of this reagent is calibrated so as to offer the best specific signal/non-specific signal ratio. Therefore, it is important to adhere to the reagent volume/sample volume ratio in every test.
5. In the case of a hyperleucocytosis, dilute the blood in PBS so as to obtain a value of approximately 5 x 10^9 leucocytes/L (17).
6. In certain disease states, such as severe renal failure or haemoglobinopathies, lysis of red cells may be slow, incomplete or even impossible. In this case, it is recommended to isolate mononucleated cells using a density gradient (Ficoll, for example) prior to staining (18).
7. In patients treated with anti-human monoclonal antibody therapies, detection of the specific targeted antigens may be diminished or absent due to partial or complete blocking by the therapeutic antibody.

8. The CD57-FITC results should be interpreted in light of the total clinical presentation of the patient, including: symptoms, clinical history, data from additional tests, and other appropriate information.

See the Appendix for examples and references.

TRADEMARKS

Beckman Coulter, the stylized logo, and the Beckman Coulter product and service marks mentioned herein are trademarks or registered trademarks of Beckman Coulter, Inc. in the United States and other countries.

ADDITIONAL INFORMATION

For a patient/user/third party in the European Union and in countries with identical regulatory regime (Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices); if, during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorized representative and to your national authority.

The Summary of Safety and Performance is available from the EUDAMED database: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISION HISTORY

REVISION AD:	Release date : October 2019

REVISION	**Release Date**
AW	May 2022
Updates to comply with the Beckman Coulter Global labelling Policy and according to IVD-R (EU)2017/746 requirements:	
Added sections	BSI 2797 Number, Intended User, Clinical Relevance, Concentration, Precision, Accuracy, Limit of blank and limit of detection, Additional Information, Revision History.
Added information	See sections Limitations
Phrasing or typographic updates	See sections Procedure, Performance, Limitations, Warning and Precautions, Storage and Stability.
Removed sections	Example of clinical applications, Reagents, Intra-laboratory reproducibilty, Linearity
Updated sections	Intended Use, GHS Hazard Classification, Evidence of deterioration, Procedure, Appendix.

REVISION	**Release Date**
AX	April 2023
Updated sections	Add Kazakh
Updated sections	Storage and stability

Revised Version	AY
Revised Date	May 2024
Updated Translations	**Clinical relevance :**
Updated sections	Revision History

Revised Version	AZ
Revised Date	July 2024
Updated sections	Revision History

Symbols Key

Glossary of Symbols is available at beckman.com/techdocs (document number B60062)

	Spécifications
Spécificité	CD57
Clone	NC1
Hybridome	SP2/0 x balb/c
Immunogène	Cells from quail ciliary ganglia
Immunoglobuline	IgM
Espèce	Souris
Purification	Chromatographie de filtration sur gel
Fluorochrome	Fluorescein isothiocyanate
Rapport molaire	FITC/Ig : 19 - 24
Excitation λ	488 nm
Pic d'émission	525 nm
Solution tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA et 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticorps conjugué CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Pour un usage diagnostique *in vitro.*

UTILISATION

Cet anticorps conjugué-fluorochrome permet l'identification qualitative non automatisée des populations de cellules exprimant l'antigène CD57 présent dans les échantillons biologiques humains à l'aide d'une cytométrie en flux (voir la section « Échantillons » ci-dessous).

PRINCIPE

Ce test est fondé sur la capacité d'anticorps monoclonaux spécifiques de se lier à des déterminants antigéniques exprimés par les leucocytes.

Une coloration spécifique des leucocytes est effectuée en incubant l'échantillon avec le réactif IOTest. Les globules rouges sont ensuite supprimés par lyses et les leucocytes, qui ne sont pas affectés par cette procédure, sont analysés par cytométrie en flux.

Le cytomètre en flux mesure la diffusion de la lumière et la fluorescence des cellules. Il rend possible la délimitation de la population d'intérêt au sein de la fenêtre électronique définie sur un histogramme, qui met en corrélation la diffusion orthogonale de la lumière (diffusion latérale ou SS) et la diffusion de la lumière en angle étroit (dispersion avant ou FS). D'autres histogrammes combinant deux des différents paramètres disponibles sur le cytomètre peuvent être utilisés comme supports dans la phase de gating en fonction de l'application choisie par l'utilisateur.

La fluorescence des cellules délimitées est analysée de manière à distinguer les événements colorés positifs de ceux qui ne le sont pas. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'événements positifs par rapport à tous les événements acquis grâce à la méthode de gating.

UTILISATEUR PRÉVU

Ce produit est destiné à un usage professionnel en laboratoire.

PERTINENCE CLINIQUE

Le CD57-FITC est un anticorps CD57 utilisé pour identifier et caractériser les cellules exprimant l'antigène CD57 par cytométrie en flux. Ce produit seul ne peut pas et n'est pas destiné à générer une quelconque conclusion diagnostique.

Lorsqu'il est utilisé conjointement avec d'autres marqueurs, ce produit peut être utilisé pour l'une ou plusieurs des fonctions suivantes :

- Aider au diagnostic différentiel des patients ayant une hématologie anormale et suspectés d'être atteints d'un néoplasme hématopoïétique et surveiller les patients atteints d'un néoplasme hématopoïétique connu.
- Faciliter le prognostic des patients ayant un néoplasme hématopoïétique.
- Aider au diagnostic des patients suspectés d'immunodéficience et surveiller les patients avec une immunodéficience connue.

Voir les références suivantes :

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ÉCHANTILLONS

Le sang veineux doit être prélevé avec des tubes stériles contenant un sel EDTA comme anticoagulant.

Les échantillons doivent être conservés à température ambiante (18–25 °C) et ne doivent pas être agités. Les échantillons doivent être homogénéisés par agitation douce avant de prélever l'échantillon de test.

Les échantillons doivent être analysés dans les 24 heures qui suivent la ponction veineuse.

CONCENTRATION

Voir le certificat d'analyse du lot spécifique sur www.beckman.com.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Ne pas utiliser le réactif au-delà de la date de péremption.
2. Ne pas congeler.
3. Laisser le réactif passer à la température ambiante (18–25 °C) avant de l'utiliser.
4. Minimiser l'exposition à la lumière.
5. Éviter la contamination microbienne des réactifs, ou des résultats erronés peuvent se produire.

6. Les solutions d'anticorps contenant de l'azide de sodium (NaN_3) doivent être manipulées avec précautions. Ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau, les muqueuses et les yeux.

   En outre, dans un milieu acide, l'azide de sodium peut former le potentiellement dangereux acide hydrazoïque. S'il doit être éliminé, il est recommandé de diluer le réactif dans un grand volume d'eau avant de le verser dans le système de drainage afin d'éviter l'accumulation d'azide de sodium dans les tubes métalliques et de prévenir le risque d'explosion.
7. Tous les échantillons de sang doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés avec soin (en particulier : port de gants, de blouses et de lunettes de protection).
8. Ne jamais pipetter avec la bouche et éviter tout contact des échantillons avec la peau, les muqueuses et les yeux.
9. Les tubes de prélèvement sanguin et les matériaux jetables utilisés pour la manipulation doivent être éliminés dans des conteneurs appropriés prévus pour incinération.
10. Les réactifs et les déchets doivent être éliminés conformément aux exigences locales.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux

SDS La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVATION ET STABILITÉ

Ce réactif doit être conservé entre 2 et 8 °C, à l'abri de la lumière, avant et après l'ouverture du flacon.

Durée de conservation du flacon fermé selon l'étude de stabilité : 1095 jours.

Stabilité du flacon ouvert : le réactif est stable pendant 180 jours.

PREUVE DE DÉTÉRIORATION

Tout changement de l'apparence physique des réactifs peut indiquer une détérioration et le réactif ne doit pas être utilisé.

Pour plus de renseignements ou si un produit défectueux est livré, appeler le service client de Beckman Coulter au 800-742-2345 (USA ou Canada), ou votre représentant de Beckman Coulter local.

CONTENU

Les agents de conservation à base d'azide de sodium peuvent former des composés explosifs dans les conduites d'évacuation métalliques. Voir le bulletin NIOSH : Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Dangers d'explosion de l'azide).
Pour éviter l'accumulation potentielle des composés d'azide, rincer les tuyaux d'évacuation à l'eau après l'élimination de réactifs non dilués. L'élimination de l'azide de sodium doit se faire conformément aux réglementations locales en vigueur.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI AVEC CE COFFRET:

- Les tubes d'échantillonnage et le matériel nécessaires pour l'échantillonnage.
- Pipettes automatiques aux embouts jetables pour 20, 100 et 500 µL.
- Tubes d'hémolyse en plastique.
- Réactif de lyse des érythrocytes avec étape de lavage post-lyse. Par exemple : VersaLyse (Réf. A09777).
- Réactif de fixation de leucocyte. Par exemple : Solution fixative IOTest 3 (Réf. A07800).
- Tampon (PBS : 0,01 M phosphate de sodium ; 0,145 M chlorure de sodium ; pH 7,2).
- Centrifugeuse.
- Agitateur automatique (type vortex).
- Cytomètre en flux.

PROCÉDURE AVEC RÉACTIF VERSALYSE

1. Ajouter le volume approprié 20 µL d'anticorps conjugués IOTest spécifique dans chaque tube de test.
2. Ajouter 100 µL de l'échantillon à tester dans chaque tube. Vortexer doucement les tubes.
3. Incuber pendant 15 à 20 minutes à température ambiante (18–25 °C), à l'abri de la lumière.
4. Puis effectuer la lyse des globules rouges. Consulter la notice VersaLyse (Réf. A09777) et suivre de préférence la procédure appelée « with concomitant fixation » (avec fixation concomitante), qui consiste à ajouter 1 mL du mélange « Fixer et Lyser » préparé à n'importe quel moment. Vortexer immédiatement pendant une seconde et incuber pendant 10 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière.
5. Centrifuger pendant 5 minutes à 150 x g à température ambiante.
6. Retirer le surnageant par aspiration.
7. Remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant 3 mL de PBS.
8. Répéter l'étape 6.
9. Éliminer le liquide surnageant par aspiration et remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant :

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS plus 0,1 % de formaldéhyde si les préparations doivent être conservées moins de 24 heures. (Un PBS à 0,1 % de formaldéhyde peut être obtenu en diluant 12,5 µL de solution de fixation IOTest 3 (Réf. A07800) à 10 fois sa concentration dans 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sans formaldéhyde, si les préparations doivent être analysées dans les 2 heures.

Remarque : dans tous les cas, conserver les préparations entre 2 et 8 °C et à l'abri de la lumière.

VALEURS ATTENDUES

Dans nos laboratoires, les échantillons de sang total de 25 donneurs apparemment sains ont été traités à l'aide du réactif décrit ci-dessus. Les résultats obtenus pour le compte des événements positifs d'intérêt pour ce réactif sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Cible positive	Nombre	Moyenne (%)	ET (Écart type)	CV (%)
Lymphocytes	25	20,46	10,29	50,28

Ces valeurs sont censées être uniquement représentatives. Chaque laboratoire doit établir ses valeurs attendues à partir d'une population locale de donneurs normaux.

PERFORMANCE

Les données de performance sont obtenues à l'aide de la procédure décrite ci-dessus sur des échantillons de sang de moins de 24 heures préalablement collectés dans des tubes stériles contenant du sel EDTA comme anticoagulant. L'analyse est effectuée dans les 2 heures suivant l'immunocoloration.

SPÉCIFICITÉ

La molécule CD57, appelée à l'origine HNK- 1, est une glycoprotéine avec un poids moléculaire compris entre 110 et 115 kDa. La molécule CD57 est un composé antigénique oligosaccharidique avec des résidus sulfatés d'acide glucuronique. Elle est liée à une variété de polypeptides, de lipides et de protéoglycanes de type chondroïtine sulfate que l'on trouve dans plusieurs tissus. La molécule CD57 est exprimée sur les sous-populations de cellules hématopoïétiques, de cellules neuroectodermiques, de cellules neuroendocrines, de muscles striés et de l'épithélium prostatique (11, 12, 13, 14).

L'antigène CD57 a été initialement identifié dans un tissu hématopoïétique sur la majorité des grands lymphocytes granuleux (GLG). Chez la plupart des adultes, l'antigène CD57 est exprimé sur une sous-population de cellules NK et de lymphocytes T positifs CD8 (13). La molécule CD57 est exprimée sur une sous-population de cellules de la moelle osseuse et semble ne pas se trouver sur les lymphocytes du sang du cordon.

Une sous-population de lymphocytes T CD4+ / CD45RO+ des ganglions lymphatiques de centres germinatifs exprime l'antigène CD57 (12, 13). Les données montrent que la molécule CD57 est impliquée dans les interactions entre cellules. Les molécules L-sélectine (CD62L) et P-sélectine (CD62P) peuvent être de possibles ligands pour le CD57 (11, 15). L'anticorps monoclonal NC1 a été assigné au marqueur CD57 lors du 5e Séminaire international sur les Antigènes de différenciation des leucocytes humains à Boston, États-Unis en 1993 (16).

PRÉCISION

Les valeurs de percentile positives ont été déterminées à l'aide de sang total. Chaque échantillon a été analysé 4 fois, deux fois par jour pendant 1 jour sur 2 instruments à l'aide de 2 lots de réactifs d'anticorps monoclonal CD57-FITC. Les mesures (% positif) ont été effectuées sur le cytomètre en flux Navios. L'analyse a été conduite conformément au document CLSI Méthode EP5-A2 : Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Évaluation de la performance de précision des méthodes de mesures quantitatives).

Notre critère d'acceptation est dépendant du nombre d'événements positifs mesurés pour chaque population :

- Si événement positif < 1 500, CV < 15 %
- Si événement positif > 1 500, CV < 10 %

Lymphocytes							
Nombre d'événements positifs (Moyenne) = 804							
	Inter-opérateur	Inter-cytomètre	Intra-lot	Inter-lot	Inter-analyse	Intra-analyse	Total
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
RÉSULTATS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUDE

L'exactitude de CD57-FITC a été évaluée en comparant les résultats avec un réactif de référence comme prédicat sur un ensemble d'échantillons de sang total analysé sur un cytomètre en flux Navios. L'écart systématique entre le test et le réactif de référence a été déterminé en fonction de la différence entre les résultats du test. Si l'écart systématique se situe dans la plage d'erreurs autorisée ou que la valeur p n'indique aucune différence significative (> 0,05), alors les résultats du test pour les deux réactifs sont considérés comme équivalent.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Nombre de donneurs = 25				
Cible positive	Moyenne Δ	Critères de cellules Δ %	Valeur-p	RÉSULTATS
Lymphocytes	1,11	<5	2,71E-04	PASS

LIMITE DU BLANC ET LIMITE DE DÉTECTION

Une étude a été conduite conformément au document CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Évaluation des capacités de détection des procédures de mesures biologiques cliniques). La limite de détection (LOD) est la concentration la plus basse d'analyte qui peut être systématiquement détectée. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Positive Target	Limite du blanc (cellules/µL)	Limite de détection (cellules/µL)
Lymphocytes CD3+ CD57+	1	2

LIMITES

1. La cytométrie en flux peut produire des résultats erronés si le cytomètre n'a pas été parfaitement aligné, si les fuites de fluorescence n'ont pas été correctement compensées et si les régions n'ont pas été soigneusement positionnées.
2. Il est préférable d'utiliser une technique de lyse des GR comprenant une étape de lavage, comme ce réactif n'a pas été optimisé pour les techniques de lyse « sans lavage ».
3. Des résultats précis et reproductibles seront obtenus tant que les procédures utilisées sont en conformité avec la notice technique et compatibles avec les bonnes pratiques de laboratoire.
4. L'anticorps conjugué de ce réactif est étalonné de manière à offrir le meilleur ratio de signal spécifique/signal non spécifique. Par conséquent, il est important de respecter le ratio de volume de réactif/volume d'échantillon à chaque test.

5. En cas d'hyperleucocytose, diluer le sang dans du PBS de façon à obtenir une valeur d'approximativement 5 x 10^9 leucocytes/L (17).
6. Dans certains états pathologiques, tels qu'une grave insuffisance rénale ou une hémoglobinopathie, la lyse des globules rouges peut être lente, incomplète ou même impossible. Dans ce cas, il est recommandé d'isoler les cellules mononucléées à l'aide d'un gradient de densité (Ficoll, par exemple) avant la coloration (18).
7. Chez les patients traités par thérapie d'anticorps monoclonal anti-humain, la détection d'antigènes ciblés spécifiques peut être diminuée ou absente en raison d'un blocage partiel ou total par l'anticorps thérapeutique.
8. Les résultats de CD57-FITC doivent être interprétés à la lumière du tableau clinique complet du patient, y compris : les symptômes, l'anamnèse, les résultats de tests supplémentaires et toute autre information appropriée.

Voir l'annexe pour des exemples et des références.

MARQUES

Beckman Coulter, le logo stylisé et les marques des produits et des services Beckman Coulter mentionnées ici sont des marques ou des marques déposées de Beckman Coulter, Inc. aux États-Unis et dans d'autres pays.

INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES

Pour un patient/utilisateur/tiers de l'Union européenne et des pays ayant le même régime réglementaire (Règlement 2017/746/UE relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro) ; si, lors de l'utilisation de ce dispositif ou suite à son utilisation, un incident important se produit, veuillez le rapporter au fabricant et/ou à son représentant autorisé et à l'autorité nationale de votre pays.

Le Summary of Safety and Performance (Résumé de sécurité et de performance) est disponible sur la base de données EUDAMED : ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

RÉVISION AD :	Date de publication : octobre 2019

RÉVISION	**Date de publication**
AW	Mai 2022
Mises à jour pour se conformer aux exigences de la politique d'étiquetage générale de Beckman Coulter et aux exigences IVD-R (UE)2017/746 :	
Ajout de sections	Numéro BSI 2797, Utilisateur prévu, Pertinence clinique, Concentration, Exactitude, Précision, Limite du blanc et limite de détection, Informations supplémentaires, Historique de révisions.
Ajout d'informations	Voir les sections Limites
Mises à jour typographiques et de formulations	Voir les sections Procédure, Performance, Limites, Avertissement et précautions, Conservation et stabilité.
Suppression de sections	Exemple d'applications cliniques, réactifs, reproductibilité intra-laboratoire, linéarité
Sections mises à jour	Utilisation, Classification des risques SGH, Preuve de détérioration, Procédure, Annexe.

RÉVISION	**Date de publication**
AX	Avril 2023
Sections mises à jour	Ajouter le kazakh
Sections mises à jour	Conservation et stabilité

Version révisée	AY
Date de révision	Mai 2024
Traductions mises à jour	**Pertinence clinique :**
Sections mises à jour	Historique des révisions

Version révisée	AZ
Date de révision	Juillet 2024
Sections mises à jour	Historique des révisions

Légende des symboles

Un glossaire des symboles est disponible sur beckmancoulter.com/techdocs (document numéro B60062)

	Spezifikationen
Spezifität	CD57
Klon	NC1
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Cells from quail ciliary ganglia
Immunglobulin	IgM
Spezies	Maus
Aufreinigung	Gelfiltrationschromatographie
Fluorochrom	Fluorescein isothiocyanate
Molverhältnis	FITC/Ig: 19 - 24
λ-Anregung	488 nm
Emissionspeak	525 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA und 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugierter Antikörper CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20 µL/Test

***In-vitro*-Diagnostikum.**

VERWENDUNGSZWECK

Dieser mit einem Fluorochrom konjugierte Antikörper ermöglicht mithilfe der Durchflusszytometrie eine qualitative und nicht automatisierte Identifikation von Zellpopulationen, die das CD57-Antigen exprimieren, das in biologischen Proben menschlicher Herkunft vorhanden ist (siehe den Abschnitt „Proben“ unten).

PRINZIP

Dieser Test basiert auf der Fähigkeit bestimmter monoklonaler Antikörper, an die durch Leukozyten exprimierten antigenen Determinanten zu binden.

Die spezifische Färbung der Leukozyten erfolgt durch Inkubation der Probe mit dem IOTest-Reagenz. Die Erythrozyten können dann mittels Lyse entfernt werden. Die von diesem Vorgang unberührten Leukozyten werden mittels Durchflusszytometrie analysiert.

Das Durchflusszytometer misst die Lichtstreuung und die Fluoreszenz der Zellen. Es ermöglicht die Abgrenzung der gewünschten Population innerhalb des auf einem Histogramm definierten elektronischen Fensters, welches die orthogonale Lichtstreuung (Seitwärtsstreuung, SW) und die Streuung des Lichts im flachen Winkel (Vorwärtsstreuung, VW) in Beziehung zueinander setzt. Andere Histogramme, die zwei der auf dem Zytometer verfügbaren Parameter kombinieren, können zur Unterstützung beim Gating eingesetzt werden, je nachdem welche Anwendung der Benutzer ausgewählt hat.

Die Fluoreszenz der einzelnen Zellen wird analysiert, um die positiv angefärbten Ereignisse von den nicht angefärbten zu unterscheiden. Die Ergebnisse werden als Prozentsatz positiver Ereignisse relativ zu allen durch das Gating erfassten Ereignissen angegeben.

VORGESEHENER BENUTZER

Dieses Produkt ist für den Einsatz durch Laborfachkräfte vorgesehen.

KLINISCHE RELEVANZ

CD57-FITC ist ein CD57-Antikörper zur durchflusszytometrischen Identifikation und Charakterisierung von Zellen, die das CD57-Antigen exprimieren. Es ist weder möglich noch vorgesehen, alleine anhand dieses Produkts zu einer diagnostischen Schlussfolgerung zu kommen.

Bei Verwendung in Verbindung mit anderen Markern kann dieses Produkt für einen oder mehrere der folgenden Zwecke eingesetzt werden:

- Als Hilfsmittel zur Differenzialdiagnose von hämatologisch anormalen Patienten mit Verdacht auf ein hämatopoetisches Neoplasma und zur Überwachung von Patienten mit bestätigtem hämatopoetischem Neoplasma.
- Als Hilfsmittel bei der Prognose für Patienten mit hämatopoetischem Neoplasma.
- Als Hilfsmittel zur Diagnose von Patienten mit Verdacht auf Immundefizienz und zur Überwachung von Patienten mit bestätigter Immundefizienz.

Siehe die nachstehenden Literaturhinweise:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROBEN

Venöses Blut muss mit sterilen Röhrchen entnommen werden, die ein EDTA-Salz als Antikoagulanz enthalten.

Die Proben bei Raumtemperatur (18–25 °C) aufbewahren und nicht schütteln. Die Proben vor Entnahme der Testprobe durch vorsichtiges Schütteln homogenisieren.

Die Proben müssen innerhalb von 24 Stunden analysiert werden.

KONZENTRATION

Siehe das chargenspezifische Analysezertifikat unter www.beckman.com.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Das Reagenz nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden.
2. Nicht einfrieren.
3. Vor der Verwendung auf Raumtemperatur (18–25 °C) bringen.
4. Vor Licht schützen.
5. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien muss vermieden werden, damit kein falsches Ergebnis erzielt wird.

6. Antikörperlösungen, die Natriumazid (NaN_3) enthalten, vorsichtig handhaben. Nicht einnehmen und Berührungen mit Haut, Schleimhäuten und Augen vermeiden.

   Zudem kann Natriumazid in einem sauren Medium zur Bildung potenziell gefährlicher Stickstoffwasserstoffsäure führen. Zur Entsorgung des Reagenzes wird empfohlen, das Reagenz mit viel Wasser zu verdünnen, bevor es in das Abwassersystem gegossen wird, um einer Ansammlung von Natriumazid in den Metallrohren und dem Risiko einer Explosion vorzubeugen.
7. Blutproben sind als potenziell infektiös zu betrachten und müssen mit Vorsicht gehandhabt werden (insbesondere durch Tragen von Schutzhandschuhen, -kittel und -brille).
8. Niemals mit dem Mund pipettieren und jeglichen Kontakt der Proben mit Haut, Schleimhaut und Augen vermeiden.
9. Blutröhrchen und Einwegmaterial, das zur Handhabung verwendet wird, müssen in dafür vorgesehenen, für die Verbrennung bestimmten Behältern entsorgt werden.
10. Reagenzien und Abfälle sind entsprechend den örtlichen Anforderungen zu entsorgen.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft

SDS Das Sicherheitsdatenblatt ist auf beckmancoulter.com/techdocs verfügbar.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Dieses Reagenz muss vor und nach dem Öffnen des Fläschchens lichtgeschützt zwischen 2 und 8 °C gelagert werden.

Haltbarkeit der geschlossenen Durchstechflasche gemäß Stabilitätsstudie: 1095 Tage.

Stabilität geöffneter Fläschchen: Das Reagenz ist 180 Tage lang stabil.

VERFALLSANZEICHEN

Ein verändertes Aussehen der Reagenzien kann ein Verfallsanzeichen sein. Entsprechende Reagenzien dürfen nicht verwendet werden.

Wenn Sie weitere Informationen wünschen oder falls das Produkt beschädigt bei Ihnen eintrifft, setzen Sie sich (innerhalb der USA und Kanada) unter der Rufnummer 800-742-2345 mit dem Kundendienst von Beckman Coulter bzw. außerhalb dieser Länder mit dem für Sie zuständigen Beckman Coulter-Mitarbeiter in Verbindung.

INHALT

Natriumazid als Konservierungsmittel kann in metallischen Abflussleitungen explosive Verbindungen bilden. Siehe NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (NIOSH-Bulletin: Gefahr durch explosive Azide).
Um eine mögliche Akkumulation von Azidverbindungen zu vermeiden, die Abwasserrohre nach der Entsorgung von unverdünntem Reagenz mit Wasser spülen. Natriumazid muss entsprechend den örtlichen behördlichen Vorschriften entsorgt werden.

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT IM KIT ENTHALTENE ARTIKEL:

- Probenahmeröhrchen und für die Probenahme benötigte Materialien.
- Automatische Pipetten mit Einwegspritzen für 20, 100 und 500 µL.
- Hämolyseröhrchen aus Kunststoff.
- Reagenz zur Lyse der Erythrozyten mit Waschstufe nach der Lyse. Beispiel: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagenz zur Leukozytenfixierung. Beispiel: IOTest 3-Fixierungslösung (Ref. A07800).
- Puffer (PBS: 0,01 M Natriumphosphat; 0,145 M Natriumchlorid; pH 7,2).
- Zentrifuge.
- Automatisches Mischgerät (Typ Vortex-Mischer).
- Durchflusszytometer.

VERFAHREN MIT VERSALYSE-REAGENZ

1. Jedem Teströhrchen das korrekte Volumen (20 µL) des entsprechenden konjugierten IOTest-Antikörpers zugeben.
2. 100 µL der Testprobe in jedes Röhrchen geben. Die Röhrchen sachte mittels Vortex-Mischer mischen.
3. Bei Raumtemperatur (18–25 °C) 15 bis 20 Minuten lang lichtgeschützt inkubieren.
4. Im Anschluss die Erythrozyten lysieren. Das Merkblatt für VersaLyse (Ref. A09777) beachten und vorzugsweise das Verfahren mit dem Titel „with concomitant fixation“ (mit gleichzeitiger Fixierung) befolgen, das eine Zugabe von 1 mL des spontan zubereiteten „Fix-and-Lyse“(Fixierung und Lyse)-Gemisches vorsieht. Sofort eine Sekunde lang auf dem Vortex-Mischer mischen und 10 Minuten lang lichtgeschützt bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Bei 150 x g 5 Minuten lang bei Raumtemperatur zentrifugieren.
6. Den Überstand absaugen.
7. Das Zellpellet in 3 mL PBS resuspendieren.
8. Schritt 6 wiederholen.
9. Den Überstand absaugen und das Zellpellet resuspendieren mit:

- 0,5 mL oder 1 mL PBS plus 0,1 % Formaldehyd, wenn die Präparate weniger als 24 Stunden aufbewahrt werden sollen. (Ein 0,1%iges Formaldehyd-PBS-Gemisch kann hergestellt werden, indem 12,5 µL der IOTest 3-Fixierlösung (Ref. A07800) bei 10-facher Konzentration in 1 mL PBS verdünnt werden.)
- 0,5 mL oder 1 mL PBS ohne Formaldehyd, wenn die Präparate innerhalb von weniger als 2 Stunden analysiert werden sollen.

Hinweis: Die Präparate in jedem Fall zwischen 2 und 8 °C und vor Licht geschützt aufbewahren.

ERWARTETE WERTE

In unseren Laboren wurden die Vollblutproben von 25 scheinbar gesunden Spendern unter Verwendung des oben beschriebenen Reagenzes behandelt. Die Ergebnisse für die Anzahl der positiven Ereignisse von Interesse, die mit diesem Reagenz erzielt wurden, sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt:

Positives Ziel	Nummer	Mittelwert (%)	SD	VK (%)
Lymphozyten	25	20,46	10,29	50,28

Die Werte dienen nur zu Veranschaulichungszwecken. Jedes Labor muss anhand der örtlichen Population normaler Spender eigene erwartete Werte festlegen.

LEISTUNG

Leistungsdaten werden unter Anwendung des oben beschriebenen Verfahrens mit weniger als 24 Stunden alten Blutproben ermittelt, die zuvor in sterile Röhrchen mit EDTA-Salz als Antikoagulanz entnommen wurden. Die Analyse erfolgt innerhalb von 2 Stunden nach der Immunfärbung.

SPEZIFITÄT

Das CD57-Molekül, das ursprünglich HNK-1 genannt wurde, ist ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 110 bis 115 kDa. Das CD57-Molekül ist eine Oligosaccharid-Antigen-Verbindung mit sulfatierten Glucuronsäureresten. Es ist mit einer Vielzahl an Polypeptiden, Lipiden und Chondroitinsulfat-Proteoglykanen verbunden, die in verschiedenen Gewebetypen vorhanden sind. Das CD57-Molekül wird in Untergruppen von hämatopoetischen Zellen, neuroektodermalen Zellen, neuroendokrinen Zellen, quergestreifter Muskulatur und prostatischem Epithelgewebe exprimiert (11, 12, 13, 14).

Das CD57-Antigen wurde ursprünglich in hämatopoetischem Gewebe an den meisten großen granulären Lymphozyten (LGL) identifiziert. Bei den meisten Erwachsenen wird das CD57-Antigen in einer Untergruppe von NK-Zellen und CD8-positiven T-Lymphozyten exprimiert (13). Das CD57-Molekül wird in einer Untergruppe von Knochenmarkzellen exprimiert und scheint nicht in Nabelschnurblutlymphozyten vorhanden zu sein.

Eine Untergruppe von CD4+-/ CD45RO+-T-Lymphozyten in Keimzentrum-Lymphknoten exprimiert das CD57-Antigen (12, 13). Daten lassen darauf schließen, dass das CD57-Molekül bei Zell-Zell-Interaktionen beteiligt ist. L-Selektin (CD62L)- und P-Selektin (CD62P)-Moleküle können mögliche Liganden für CD57 sein (11, 15). Der monoklonale NC1-Antikörper wurde der CD57-Gruppe beim fünften internationalen Workshop zum menschlichen Leukozyten-Differenzierungsantigen in Bosten, USA im Jahr 1993 zugeordnet (16).

PRÄZISION

Die prozentualen positiven Werte wurden unter Verwendung von Vollblut bestimmt. Jede Probe wurde zweimal täglich 1 Tag lang unter Verwendung von 2 Chargen der Reagenzien mit dem monoklonalen Antikörper CD57-FITC 4 Mal auf 2 Instrumenten analysiert. Messungen (% positiv) wurden mit dem Navios-Durchflusszytometer vorgenommen. Die Analyse folgte den Vorgaben der CLSI-Methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Beurteilung der Präzisionsleistung von quantitativen Messmethoden).

Unsere Akzeptanzkriterien sind abhängig von der Anzahl an positiven Ereignissen, die für jede Population gemessen werden:

- Wenn positives Ereignis < 1 500, VK < 15 %
- Wenn positives Ereignis > 1 500, VK < 10 %

Lymphozyten							
Anzahl der positiven Ereignisse (Mittelwert) = 804							
	Zwischen Bedienern	Zwischen Durchflusszytometern	Innerhalb einer Charge	Zwischen Chargen	Zwischen Läufen	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
VK (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
ERGEBNISSE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit von CD57-FITC wurde anhand eines Vergleichs der Ergebnisse mit einem Referenzreagenz als Prädikat für einen Satz aus Vollblutproben bewertet, die auf einem Navios-Durchflusszytometer analysiert wurden. Die Abweichung zwischen Test- und Referenzreagenz wurde auf der Grundlage der Differenz zwischen Testergebnissen bestimmt. Sollte die Abweichung innerhalb des zulässigen Fehlerbereichs liegen oder der p-Wert keine signifikante Differenz (> 0,05) nahelegen, gelten die Testergebnisse für die beiden Reagenzien als gleichwertig.

Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Anzahl der Spender = 25				
Positives Ziel	Mittelwert Δ	Δ % Zellkriterien	p-Wert	ERGEBNISSE
Lymphozyten	1,11	<5	2,71E-04	PASS

GRENZWERT FÜR LEERWERT UND NACHWEISGRENZE

Es wurde eine Studie gemäß CLSI-Dokument EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluierung des Detektionsvermögens von klinischen Labormessverfahren), durchgeführt. Die Nachweisgrenze (LOD) ist die niedrigste Konzentration des Analyten, die durchweg nachgewiesen werden kann. Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Positive Target	Grenzwert für Leerwert (Zelle/µL)	Nachweisgrenze (Zelle/µL)
Lymphozyten CD3+ CD57+	1	2

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Die Durchflusszytometrie kann falsche Ergebnisse liefern, wenn das Zytometer nicht perfekt ausgerichtet wurde, wenn Fluoreszenzlecks nicht korrekt kompensiert wurden und wenn die Bereiche nicht sorgfältig positioniert wurden.
2. Vorzugsweise sollte eine ERY-Lysetechnik mit einem Waschschritt angewandt werden, da dieses Reagenz nicht für Lysetechniken ohne Waschen optimiert wurde.
3. Genaue und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, sofern die verwendeten Verfahren der technischen Packungsbeilage entsprechen und mit der guten Laborpraxis kompatibel sind.

4. Der konjugierte Antikörper dieses Reagenzes ist so kalibriert, dass er das beste Verhältnis von spezifischem zu unspezifischem Signal bietet. Daher ist es wichtig, das Verhältnis Reagenzvolumen/Probenvolumen bei jedem Test einzuhalten.
5. Im Falle einer Hyperleukozytose das Blut in PBS verdünnen, um einen Wert von ungefähr 5 x 10^9 Leukozyten/L zu erhalten(17).
6. Bei bestimmten Krankheitszuständen, beispielsweise einem schweren Nierenversagen oder Hämoglobinopathien, kann die Lyse der Erythrozyten möglicherweise nur langsam oder unvollständig erfolgen oder sogar unmöglich sein. In diesem Fall empfiehlt es sich, vor dem Färben einkernige Zellen mittels eines Dichtegradienten (beispielsweise Ficoll) zu isolieren (18).
7. Bei Patienten, die sich Therapien mit anti-humanen monoklonalen Antikörpern unterziehen, kann das Nachweisvermögen für die spezifischen anvisierten Antigene aufgrund einer teilweisen oder vollständigen Blockierung durch die therapeutischen Antikörper vermindert sein oder gänzlich ausbleiben.
8. Die Ergebnisse für CD57-FITC müssen unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde für den Patienten interpretiert werden, einschließlich Symptomen, klinischer Vorgeschichte, Daten zusätzlicher Tests sowie sonstiger relevanter Informationen.

Beispiele und Literaturhinweise siehe Anhang.

MARKEN

Beckman Coulter, das stilisierte Logo und die in diesem Dokument erwähnten Beckman Coulter-Produkt- und Dienstleistungsmarken sind in den USA und anderen Ländern Marken oder eingetragene Marken von Beckman Coulter, Inc.

WEITERE INFORMATIONEN

Für einen Patienten/Benutzer/Dritten in der Europäischen Union und in Ländern mit identischer Regulierungspraxis (Verordnung 2017/746/EU über In-vitro-Diagnostika) gilt Folgendes: Sollte es im Rahmen der Verwendung dieses Produktes oder infolge der Verwendung dieses Produktes zu einem schwerwiegenden Zwischenfall gekommen sein, ist dieser dem Hersteller und/oder dessen Bevollmächtigten sowie der nationalen Behörde zu melden.

Die „Summary of Safety and Performance“ (Bericht über Sicherheit und Leistung) kann aus der EUDAMED-Datenbank abgerufen werden: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSVERLAUF

REVISION AD:	Freigabedatum: Oktober 2019

REVISION	**Freigabedatum**
AW	Mai 2022
Aktualisierungen vorgenommen, um den Vorgaben der globalen Etikettierungsrichtlinie von Beckman Coulter und den Vorgaben nach IVD-R (EU) 2017/746 zu entsprechen:	
Abschnitte hinzugefügt	Nummer nach BSI 2797; Vorgesehener Benutzer; Klinische Anwendung; Konzentration; Präzision; Genauigkeit; Grenzwert für Leerwert und Nachweisgrenze; Weitere Informationen; Revisionsübersicht.
Informationen hinzugefügt	Siehe Abschnitt Einschränkungen
Formulierung oder Typografie aktualisiert	Siehe die Abschnitte Verfahren; Leistung; Einschränkungen; Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen; Lagerung und Stabilität.
Abschnitte gestrichen	Beispiel für klinische Anwendungen; Reagenzien; Reproduzierbarkeit innerhalb des Labors; Linearität
Aktualisierte Abschnitte	Verwendungszweck; GHS-Gefahrstoffklassifizierung; Verfallsanzeichen; Verfahren; Anhang.

REVISION	**Freigabedatum**
AX	April 2023
Aktualisierte Abschnitte	Kasachisch hinzufügen
Aktualisierte Abschnitte	Lagerung und Stabilität

Überarbeitete Version	AY
Überarbeitungsdatum	Mai 2024
Aktualisierte Übersetzungen	**Klinische Relevanz:**
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Überarbeitete Version	AZ
Überarbeitungsdatum	Juli 2024
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Liste der Symbole

Das Glossar der Symbole ist auf beckman.com/techdocs (Dokumentnummer B60062) verfügbar.

	Specifiche
Specificità	CD57
Clone	NC1
Ibridoma	SP2/0 x balb/c
Immunogeno	Cells from quail ciliary ganglia
Immunoglobulina	IgM
Specie	Topo
Purificazione	Cromatografia di gel filtrazione
Fluorocromo	Fluorescein isothiocyanate
Rapporto molare	FITC / Ig: 19 - 24
Eccitazione λ	488 nm
Picco di emissione	525 nm
Tampone	PBS pH 7,2 più 2 mg/mL di BSA e NaN_3 0,1%

IOTest

Anticorpo coniugato CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Per uso diagnostico *in vitro.*

USO PREVISTO

Questo anticorpo coniugato con fluorocromo consente l'identificazione qualitativa e non automatizzata di popolazioni cellulari che esprimono l'antigene CD57 presente nei campioni biologici umani mediante citometria a flusso (vedere la sezione "Campioni" di seguito).

PRINCIPIO

Questo test si basa sulla capacità di specifici anticorpi monoclonali di legarsi ai determinanti antigenici espressi dai leucociti.

La colorazione specifica dei leucociti viene eseguita incubando il campione con il reagente IOTest. Gli eritrociti vengono quindi rimossi tramite lisi e i leucociti, non interessati da questo processo, vengono analizzati tramite citometria a flusso.

Il citometro a flusso misura la diffusione di luce e la fluorescenza delle cellule. Ciò consente la delimitazione della popolazione di interesse con la finestra elettronica definita in un istogramma, che correla la diffusione ortogonale della luce (scattering laterale o SS) e la diffusione della luce ad angolo stretto (scattering frontale o FS). Altri istogrammi che combinano due dei diversi parametri disponibili sul citometro possono essere usati come supporti nella fase di determinazione del gate in base alle applicazioni scelte dall'utente.

La fluorescenza delle cellule delimitate viene analizzata per distinguere gli eventi colorati in modo positivo e quelli non colorati. I risultati sono espressi come percentuale di eventi positivi in relazione a tutti gli eventi acquisiti mediante determinazione del gate.

UTENTE PREVISTO

Questo prodotto è destinato all'uso professionale in laboratorio.

RILEVANZA CLINICA

CD57-FITC è un anticorpo CD57 utilizzato per identificare e caratterizzare le cellule che esprimono l'antigene CD57 mediante citometria a flusso. Questo prodotto da solo non può e non intende generare alcuna conclusione diagnostica.

Se impiegato in combinazione con altri marcatori, questo prodotto può essere utilizzato con una o più delle seguenti funzioni:

- Come supporto nella diagnosi differenziale di pazienti con anomalie ematologiche e sospetta neoplasia ematopoietica e nel monitoraggio di pazienti con neoplasia ematopoietica nota.
- Come supporto nella prognosi di pazienti con neoplasia ematopoietica.
- Come supporto nella diagnosi di pazienti con sospetta immunodeficienza e nel monitoraggio di pazienti con immunodeficienza nota.

Vedere i riferimenti seguenti:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

CAMPIONI

I campioni di sangue venoso devono essere prelevati utilizzando provette sterili contenenti un sale EDTA come anticoagulante.

I campioni devono essere conservati a temperatura ambiente (18-25 °C) e non devono essere agitati. I campioni devono essere omogeneizzati agitandoli con delicatezza prima di prelevare il campione per il test.

I campioni devono essere analizzati entro 24 ore dalla venipuntura.

CONCENTRAZIONE

Vedere il Certificato di analisi specifico del lotto sul sito www.beckman.com.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza.
2. Non congelare.
3. Prima dell'uso, portare a temperatura ambiente (18-25 °C).
4. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce.
5. Evitare la contaminazione microbica dei reagenti, poiché potrebbe falsare i risultati.

6. Le soluzioni di anticorpi che contengono sodio azide (NaN_3) devono essere maneggiate con cura. Non ingerire ed evitare qualsiasi contatto con cute, mucose e occhi.

   Inoltre, in un mezzo acido, il sodio azide può formare acido idrazoico, che è potenzialmente pericoloso. Per lo smaltimento, si consiglia di diluire il reagente in un grande volume di acqua prima di versarlo nell'impianto di scarico, in modo da evitare l'accumulo di sodio azide nelle tubazioni metalliche ed evitare il rischio di esplosione.
7. Tutti i campioni di sangue devono essere considerati potenzialmente infetti e devono essere maneggiati con cura (in particolare, indossando guanti, camici e occhiali protettivi).
8. Non pipettare mai usando la bocca ed evitare il contatto dei campioni con la pelle, le mucose e gli occhi.
9. Le provette per il sangue e i materiali monouso usati per la manipolazione devono essere smaltiti in appositi contenitori destinati all'inceneritore.
10. I reagenti e i rifiuti devono essere smaltiti conformemente alla normative locali.

CLASSIFICAZIONE DEI PERICOLI GHS

Classificato come non pericoloso

SDS La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile all'indirizzo beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Questo reagente deve essere mantenuto a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce, prima e dopo l'apertura della fiala.

Durata di conservazione della fiala chiusa secondo studi di stabilità: 1095 giorni.

Stabilità di una fiala aperta: il reagente è stabile per 180 giorni.

INDICI DI DETERIORAMENTO

Qualsiasi cambiamento dell'aspetto fisico dei reagenti può indicare un deterioramento. In tale caso, non utilizzare il reagente.

Per ulteriori informazioni, o nel caso in cui il prodotto ricevuto risulti danneggiato, rivolgersi all'assistenza clienti Beckman Coulter al numero 800-742-2345 (USA o Canada) o mettersi in contatto con il rappresentante locale Beckman Coulter.

SOMMARIO

Il conservante sodio azide può formare composti esplosivi nelle tubazioni metalliche di scarico. Vedere il bollettino NIOSH: Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Bollettino dell'Istituto Nazionale per la Sicurezza e la Salute sul Lavoro: Rischio di esplosione del sodio azide).
Per evitare il possibile accumulo di azidi, lavare i tubi di scarico con acqua dopo lo smaltimento del reagente puro. Il sodio azide deve essere eliminato conformemente alle normative locali applicabili.

COMPONENTI NECESSARI MA NON FORNITI CON IL KIT:

- Provette per campioni e materiale necessario per il campionamento.
- Pipette automatiche con punte monouso per 20, 100 e 500 µL.
- Provette per emolisi in plastica.
- Reagente per lisi degli eritrociti con fase di lavaggio successiva alla lisi. Ad esempio: VersaLyse (Rif. A09777).
- Reagente di fissaggio dei leucociti. Ad esempio: Soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800).
- Tampone (PBS: 0,01 M di fosfato di sodio, 0,145 M di cloruro di sodio, pH 7,2).
- Centrifugare.
- Agitatore automatico (tipo Vortex).
- Citometro a flusso.

PROCEDURA CON REAGENTE VERSALYSE

1. Aggiungere il volume appropriato (20 µL) dell'anticorpo coniugato IOTest specifico a ogni provetta di test.
2. Aggiungere 100 µL di campione del test in ogni provetta. Agitare delicatamente le provette con Vortex.
3. Incubare a temperatura ambiente (18-25 °C) per 15-20 minuti, al riparo dalla luce.
4. Quindi eseguire la lisi degli eritrociti. Consultare il foglietto illustrativo di VersaLyse (Rif. A09777) e seguire preferibilmente la procedura denominata "with concomitant fixation" (con fissazione concomitante), che consiste nell'aggiungere 1 mL della miscela fissante e lisante preparata estemporaneamente. Miscelare immediatamente con Vortex per un secondo e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente, al riparo dalla luce.
5. Centrifugare per 5 minuti a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Rimuovere il surnatante mediante aspirazione.
7. Risospendere il pellet cellulare utilizzando 3 mL di PBS.
8. Ripetere il punto 6.
9. Eliminare il surnatante tramite aspirazione e risospendere il pellet cellulare tramite:

- 0,5 mL o 1 mL di PBS più 0,1% di formaldeide, se i preparati devono essere conservati per meno di 24 ore. È possibile ottenere PBS con formaldeide allo 0,1% diluendo 12,5 µL di soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800) alla sua concentrazione di 10X in 1 mL di PBS.
- 0,5 mL o 1 mL di PBS senza formaldeide, se i preparati devono essere analizzati entro 2 ore.

Nota: in tutti i casi, mantenere i preparati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce.

VALORI ATTESI

Nei nostri laboratori, i campioni di sangue intero di donatori apparentemente sani 25 sono stati trattati utilizzando il reagente descritto sopra. I risultati ottenuti dal conteggio degli eventi positivi pertinenti a questo reagente sono riportati nella tabella di seguito:

Target positivo	Numero	Media (%)	SD	CV (%)
Linfociti	25	20,46	10,29	50,28

Tali valori sono forniti unicamente a scopo indicativo. Ogni laboratorio deve definire i propri valori attesi a partire dalla popolazione locale di donatori normali.

PRESTAZIONI

I dati delle prestazioni si ottengono adottando la procedura descritta in precedenza su campioni di sangue raccolti da meno di 24 ore in provette sterili con anticoagulante EDTA. L'analisi viene eseguita entro 2 ore dall'immunocolorazione.

SPECIFICITÀ

La molecola CD57, originariamente denominata HNK- 1, è una glicoproteina con un peso molecolare di 110 - 115 kDa. La molecola CD57 è un composto antigenico oligosaccaride con residui di acido glucoronico solfato. È collegato a una varietà di polipeptidi, lipidi e proteoglicani di solfato di condroitina riscontrati in diversi tessuti. La molecola CD57 è espressa in un sottogruppo di cellule ematopoietiche, cellule neuroectodermiche, cellule neuroendocrine, muscoli striati ed epitelio prostatico (11, 12, 13, 14).

L'antigene CD57 inizialmente è stato identificato nel tessuto ematopoietico della maggior parte dei grandi linfociti granulari (LGL). Nella maggior parte degli adulti, l'antigene CD57 viene espresso in un sottogruppo di cellule NK e linfociti T CD8 positivi (13). La molecola CD57 è espressa in un sottogruppo di cellule del midollo osseo e sembra non essere riscontrata nei linfociti del sangue del cordone ombelicale.

Un sottogruppo di linfociti T CD4+/CD45RO+ dai linfonodi dei centri germinativi esprime l'antigene CD57 (12, 13). I dati indicano che la molecola CD57 è coinvolta nelle interazioni cellula-cellula. Le molecole L-selectina (CD62L) e P-selectina (CD62P) potrebbero essere ligandi del CD57 (11, 15). L'anticorpo monoclonale NC1 è stato assegnato al cluster CD57 al 5° workshop HLDA sugli antigeni di differenziazione dei leucociti umani, tenutosi a Boston, Stati Uniti, nel 1993 (16).

PRECISIONE

I valori percentuali positivi sono stati determinati utilizzando sangue intero. Ogni campione è stato analizzato 4 volte, due volte al giorno per 1 giorno su 2 strumenti utilizzando 2 lotti di reagenti per anticorpi monoclonali CD57-FITC. Le misurazioni (% positive) sono state eseguite sul citometro a flusso Navios. L'analisi è stata condotta secondo il metodo EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Valutazione delle prestazioni di precisione dei metodi di misurazione quantitativa).

I nostri criteri di accettazione dipendono dal numero di eventi positivi misurati per ogni popolazione:

- Se evento positivo < 1.500, CV < 15%
- Se evento positivo > 1.500, CV < 10%

Linfociti							
Numero di eventi positivi (media) = 804							
	Inter-operatore	Inter-citometro	Intra-lotto	Inter-lotto	Inter-analisi	Intra-analisi	Totale
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
RISULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURATEZZA

L'accuratezza di CD57-FITC è stata valutata confrontando i risultati con un reagente di riferimento come predicato su una serie di campioni di sangue intero eseguiti su un citometro a flusso Navios. La distorsione tra il reagente in esame e quello di riferimento è stata determinata in base alla differenza tra i risultati del test. Se la distorsione rientra nell'intervallo di errore consentito o il valore p indica che non vi è una differenza significativa (> 0,05), allora i risultati dei test per i due reagenti sono considerati equivalenti.

I risultati ottenuti sono riepilogati nella tabella seguente:

Numero di donatori = 25				
Target positivo	Δ medio	Criteri cellulari Δ %	Valore p	RISULTATI
Linfociti	1,11	<5	2,71E-04	PASS

LIMITE DEL BIANCO E LIMITE DI RILEVAZIONE

È stato effettuato uno studio in conformità al documento EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Valutazione delle capacità di rilevamento delle procedure di misurazione del laboratorio clinico). Il limite di rilevazione (LoD) è la più bassa concentrazione di analita che può essere costantemente rilevata. I risultati ottenuti sono riepilogati nella seguente tabella:

Positive Target	Limite del bianco (cellula/µL)	Limite di rilevazione (cellula/µL)
Linfociti CD3+ CD57+	1	2

LIMITAZIONI

1. La citometria a flusso può produrre falsi risultati se il citometro non viene allineato perfettamente, le perdite di fluorescenza non vengono correttamente compensate e le regioni non vengono posizionate attentamente.
2. È preferibile utilizzare una tecnica di lisi RBC con una fase di lavaggio, in quanto il reagente non è stato ottimizzato per tecniche di lisi "senza lavaggio".
3. Seguendo le procedure descritte nel foglietto illustrativo con le informazioni tecniche, compatibili con le buone pratiche di laboratorio, è possibile ottenere risultati accurati e riproducibili.
4. L'anticorpo coniugato di questo reagente è calibrato in modo da offrire un rapporto segnale specifico/segnale non specifico ottimale. Di conseguenza, è importante rispettare il rapporto fra volume di reagente e volume di campione in tutti i test.
5. In caso di iperleucocitosi, diluire il sangue in PBS in modo da ottenere un valore di circa 5 x 10^9 leucociti/L (17).

6. In alcuni stati patologici, come insufficienza renale grave o emoglobinopatie, la lisi degli eritrociti può risultare lenta, incompleta o persino impossibile. In questo caso, è consigliabile isolare le cellule mononucleate usando un gradiente di densità (ad esempio, Ficoll) prima della colorazione (18).
7. In pazienti trattati con terapie a base di anticorpi monoclonali anti-umani, il rilevamento di antigeni specifici può essere minore o assente a causa del blocco parziale o completo da parte dell'anticorpo terapeutico.
8. I risultati CD57-FITC devono essere interpretati alla luce del quadro clinico completo del paziente che comprende: sintomatologia, anamnesi clinica, risultati di altri test e altre informazioni appropriate.

Per esempi e riferimenti, vedere l'appendice.

MARCHI COMMERCIALI

Beckman Coulter, il logo stilizzato ed i marchi commerciali dei prodotti e servizi di Beckman Coulter menzionati qui, sono marchi commerciali o marchi commerciali registrati di Beckman Coulter, Inc., negli Stati Uniti e in altri paesi.

INFORMAZIONI AGGIUNTIVE

Per un paziente/utente/terza parte nell'Unione Europea e in paesi con identico regime normativo (Regolamento 2017/746/UE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro): se, durante l'utilizzo di questo dispositivo o in seguito al suo utilizzo, si fosse verificato un incidente grave, si prega di segnalarlo al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e all'autorità nazionale competente.

Il Summary of Safety and Performance (Sintesi relativa alla sicurezza e alle prestazioni) è disponibile nel database EUDAMED all'indirizzo: ec.europa.eu/tools/eudamed.

CRONOLOGIA REVISIONI

REVISIONE AD:	Data di pubblicazione: Ottobre 2019

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AW	Maggio 2022
Aggiornamenti conformi alla politica sull'etichettatura globale di Beckman Coulter e ai requisiti IVD-R (UE)2017/746:	
Sezioni aggiunte	Numero BSI 2797, Utente previsto, Rilevanza clinica, Concentrazione, Precisione, Accuratezza, Limite del bianco e limite di rilevazione, Informazioni aggiuntive, Cronologia revisioni.
Aggiunta di informazioni	Vedere le sezioni Limitazioni
Aggiornamenti testuali o tipografici	Vedere le sezioni Procedura, Prestazioni, Limitazioni, Avvertenze e precauzioni, Conservazione e stabilità.
Sezioni rimosse	Esempio di applicazioni cliniche, Reagenti, Riproducibilità intra-laboratorio, Linearità
Sezioni aggiornate	Uso previsto, Classificazione pericoli GHS, Indici di deterioramento, Procedura, Appendice.

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AX	Aprile 2023
Sezioni aggiornate	Aggiungere la lingua kazaka
Sezioni aggiornate	Conservazione e stabilità

Versione revisionata	AY
Data di revisione	Maggio 2024
Traduzioni aggiornate	**Rilevanza clinica:**
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Versione revisionata	AZ
Data di revisione	Luglio 2024
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Legenda dei simboli

Il Glossario dei simboli è disponibile all'indirizzo beckman.com/techdocs (documento numero B60062)

	Especificaciones
Especificidad	CD57
Clon	NC1
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Inmunógeno	Cells from quail ciliary ganglia
Inmunoglobulina	IgM
Especie	Ratón
Purificación	Cromatografía de filtración en gel
Fluorocromo	Fluorescein isothiocyanate
Proporción molar	FITC / Ig: 19 - 24
Excitación λ	488 nm
Pico de emisión	525 nm
Tampón	PBS pH 7,2 más 2 mg/mL BSA y 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticuerpo conjugado CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20 µL/prueba

Para uso diagnóstico *in vitro.*

USO PREVISTO

Este anticuerpo conjugado con un fluorocromo permite la identificación cualitativa y no automatizada de poblaciones de células que expresan el antígeno CD57 presente en muestras biológicas humanas mediante citometría de flujo (véase la sección «Muestras» más adelante).

PRINCIPIO

Esta prueba se basa en la capacidad de anticuerpos monoclonales específicos para unirse a los determinantes antigénicos expresados por leucocitos.

La tinción específica de los leucocitos se realiza incubando la muestra con el reactivo IOTest. A continuación, se eliminan los eritrocitos mediante lisis y los leucocitos, que no se ven afectados por este proceso, se analizan mediante citometría de flujo.

El citómetro de flujo mide la dispersión de la luz y la fluorescencia de las células. Permite acotar la población de interés dentro de una ventana electrónica, definida en un histograma que correlaciona la dispersión lateral de luz (Side Scatter o SS) con la dispersión frontal de la luz (Forward Scatter o FS). Se pueden utilizar otros histogramas que combinen dos de los distintos parámetros disponibles en el citómetro como apoyo para la fase de selección en función de la aplicación utilizada por el usuario.

La fluorescencia de las células acotadas se analiza para distinguir los eventos con tinción positiva de los eventos sin teñir. Los resultados se expresan como un porcentaje de eventos positivos en relación con todos los eventos adquiridos mediante la selección.

USUARIO PREVISTO

Este producto está diseñado para su uso en un laboratorio profesional.

IMPORTANCIA CLÍNICA

El reactivo CD57-FITC es un anticuerpo frente a CD57 utilizado para identificar y caracterizar células que expresan el antígeno CD57 mediante citometría de flujo. Este producto por sí solo no puede y no está diseñado para generar una conclusión diagnóstica.

Cuando se usa en combinación con otros marcadores, este producto puede utilizarse en una o más de las siguientes funciones:

- Ayudar al diagnóstico diferencial de pacientes con anomalías hematológicas en los que se sospecha la presencia de una neoplasia hematopoyética y realizar el seguimiento de pacientes con una neoplasia hematopoyética conocida.
- Ayudar en el pronóstico de pacientes que padecen una neoplasia hematopoyética.
- Ayudar en el diagnóstico de pacientes con sospecha de inmunodeficiencia y realizar el seguimiento de pacientes con una inmunodeficiencia conocida.

Consulte las siguientes referencias:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MUESTRAS

La sangre venosa debe recogerse en tubos de muestra estériles que contengan una sal de EDTA como anticoagulante.

Las muestras deben mantenerse a temperatura ambiente (18-25 °C) y no agitarse. Antes de tomar la muestra de prueba, es necesario homogeneizarla mediante una agitación suave.

Las muestras deben analizarse en el plazo de 24 horas tras la venopunción.

CONCENTRACIÓN

Consulte el certificado de análisis específico del lote en www.beckman.com.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. No use el reactivo después de la fecha de caducidad.
2. No lo congele.
3. Déjelo a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su utilización.
4. Minimice el tiempo de exposición a la luz.
5. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, ya que esto puede provocar resultados falsos.

6. Las soluciones de anticuerpo que contienen azida sódica (NaN_3) deben manipularse con precaución. No ingerir y evitar todo contacto con la piel, la mucosa y los ojos.

   Asimismo, en un medio ácido, la azida sódica puede formar ácido hidrazoico potencialmente peligroso. Cuando se vaya a desechar, se recomienda diluir el reactivo en abundante agua antes de verterlo en el sistema de drenaje para evitar la acumulación de azida sódica en tubos metálicos y el riesgo de explosión.
7. Todas las muestras sanguíneas deben considerarse posiblemente infecciosas y deben manipularse con cuidado (en especial, hay que llevar guantes, bata y gafas de protección).
8. No pipetee nunca con la boca y evite todo contacto de las muestras con la piel, las mucosas y los ojos.
9. Los tubos para sangre y el material desechable utilizados para la manipulación deben eliminarse en recipientes especiales previstos para la incineración.
10. Los reactivos y los desechos deben eliminarse de acuerdo con los requisitos locales.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico

SDS La ficha de datos de seguridad está disponible en beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Este reactivo debe conservarse entre 2 y 8 °C en un lugar protegido de la luz, antes y después de abrir el vial.

Vida útil del vial cerrado según estudio de estabilidad: 1095 días.

Estabilidad del vial abierto: el reactivo es estable durante 180 días.

SIGNOS DE DETERIORO

Cualquier cambio en el aspecto físico de los reactivos puede indicar un deterioro, por lo que no debe utilizarse el reactivo.

Para obtener información adicional o si el producto está dañado, llame al servicio de atención al cliente de Beckman Coulter en el 800-742-2345 (EE. UU. o Canadá) o póngase en contacto con su representante local de Beckman Coulter.

CONTENIDO

El conservante de azida sódica puede formar compuestos explosivos en las tuberías metálicas del desagüe. Véase el NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Boletín de NIOSH: Peligro de explosión con la azida) (16/8/76).
Para evitar la posible acumulación de compuestos de azida, limpie con agua los tubos de desagüe tras la eliminación del reactivo sin diluir. Para desechar la azida sódica deben seguirse las normativas locales adecuadas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS CON EL KIT:

- Tubos y material de muestras necesarios para el muestreo.
- Pipetas automáticas para puntas desechables de 20, 100 y 500 µL.
- Tubos de hemólisis de plástico.
- Reactivo de lisis de glóbulos rojos con estado de lavado después de la lisis. Por ejemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reactivo de fijación de leucocitos. Por ejemplo: Solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800).
- Tampón (PBS: 0,01 M de fosfato de sodio; 0,145 M de cloruro sódico; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de flujo.

PROCEDIMIENTO CON EL REACTIVO VERSALYSE

1. Añada el volumen adecuado de 20 µL de anticuerpo conjugado de IOTest específico a cada tubo de ensayo.
2. Añadir 100 µL de la muestra problema a cada tubo. Mezclar suavemente los tubos en el Vórtex.
3. Incube entre 15 y 20 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C) y protegido de la luz.
4. A continuación, lleve a cabo la lisis de los eritrocitos. Consulte la ficha técnica VersaLyse (Ref. A09777) y siga preferiblemente el procedimiento denominado «with conconmitant fixation» (con fijación concomitante), que consiste en añadir 1 mL de la mezcla «Fijar y lisar» preparada extemporáneamente. Agite inmediatamente con vórtex durante un segundo e incube durante 10 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Elimine el sobrenadante mediante aspiración.
7. Vuelva a suspender el sedimento celular usando 3 mL de PBS.
8. Repetir la etapa 6.
9. Retire el sobrenadante mediante aspiración y vuelva a suspender el sedimento celular con:

- 0,5 mL o 1 mL de PBS más el 0,1 % de formaldehído si las preparaciones deben conservarse menos de 24 horas. (Se puede obtener un 0,1 % de PBS de formaldehído mediante la dilución de 12,5 µL de la solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800) a su concentración de 10x en 1 mL de PBS).
- 0,5 mL o 1 mL de PBS sin formaldehído si las preparaciones deben analizarse en un plazo de 2 horas.

Nota: En todos los casos, mantenga las preparaciones protegidas de la luz entre 2 y 8 °C.

VALORES ESPERADOS

Se trataron en nuestros laboratorios las muestras de sangre total de 25 donantes aparentemente sanos utilizando el reactivo descrito. Los resultados obtenidos del recuento de eventos de interés positivos con este reactivo se proporcionan en la siguiente tabla:

Objetivo positivo	Cantidad	Media (%)	DE	CV (%)
Linfocitos	25	20,46	10,29	50,28

Estos valores tienen carácter meramente ilustrativo. Cada laboratorio deberá establecer sus valores esperados según la población local de donantes normales.

RENDIMIENTO

Los datos de rendimiento se obtuvieron utilizando el procedimiento descrito anteriormente en muestras de sangre con menos de 24 horas desde su extracción en tubos estériles con sal de EDTA como anticoagulante. El análisis se realizó en el plazo de 2 horas desde su inmunotinción.

ESPECIFICIDAD

La molécula CD57, denominada originalmente HNK-1, es una glucoproteína con un peso molecular aproximado de 110 kDa–115 kDa. La molécula CD57 es un compuesto inmunógeno de oligosacáridos con residuos de ácido glucurónico sulfurado. Está relacionado con diferentes polipéptidos, lípidos y proteoglicanos de sulfato de condroitina que se encuentran en distintos tejidos. La molécula CD57 se expresa en subgrupos de células hematopoyéticas, neuroectodérmicas, neuroendocrinas, del músculo estriado y del epitelio prostático (11, 12, 13, 14).

El antígeno CD57 se identificó inicialmente en tejido hematopoyético en más de la mitad de linfocitos grandes granulares (LGL). La mayoría de los antígenos CD57 se expresan en un subconjunto de células NK y linfocitos T CD8 positivos (13). La molécula CD57 se expresa en un subgrupo de células de la médula ósea y no parece estar presente en los linfocitos de la sangre del cordón umbilical.

Un subgrupo de linfocitos T CD4+ / CD45RO+ de los ganglio linfáticos del centro germinal expresan el antígeno CD57 (12, 13). Existen datos que han notificado que la molécula CD57 participa en las interacciones entre células. Las moléculas L-selectina (CD62L) y P-selectina (CD62P) pueden ser posibles ligandos de la CD57 (11, 15). Se asignó el anticuerpo monoclonal NC1 al grupo CD57 en el 5.º Taller internacional sobre los antígenos de diferenciación de los leucocitos humanos, celebrado en Boston, EE. UU., en 1993 (16).

PRECISIÓN

Los valores porcentuales positivos se determinaron utilizando sangre total. Cada muestra se procesó 4 veces, dos veces al día durante 1 día en 2 instrumentos utilizando 2 lotes de reactivos de anticuerpo monoclonal CD57-FITC. Las mediciones (% de positivos) se realizaron en un citómetro de flujo Navios. El análisis se realizó según el método EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluación del rendimiento de la precisión de los métodos de medición cuantitativos).

Nuestro criterio de aceptación depende del número de eventos positivos determinado en cada población:

- Si el número de eventos positivos es < 1500, CV < 15 %
- Si el número de eventos positivos es > 1500, CV < 10 %

Linfocitos							
Número de eventos positivos (media) = 804							
	Entre operadores	Entre citómetros	Intralote	Entre lotes	Entre análisis	Intraanálisis	Total
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUD

La exactitud de CD57-FITC se evaluó comparando los resultados con un reactivo de referencia como valor previsto en un conjunto de muestras de sangre total procesadas en un citómetro de flujo Navios. El sesgo entre la muestra problema y el reactivo de referencia se determinó en función de la diferencia entre los resultados de la prueba. Si el sesgo está dentro del rango de error permitido o el valor p indica una diferencia no significativa (> 0,05), entonces los resultados de la prueba de los dos reactivos se consideran equivalentes.

Los resultados obtenidos se resumen en la tabla que se muestra a continuación:

Número de donantes = 25				
Objetivo positivo	Δ medio	Criterios de Δ % de células	Valor p	RESULTADOS
Linfocitos	1,11	<5	2,71E-04	PASS

LÍMITE DE BLANCO Y LÍMITE DE DETECCIÓN

Se realizó un estudio conforme a la norma EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluación de la capacidad de detección para procedimientos de medición en laboratorios clínicos). El límite de detección (LD) es la concentración de analito más baja que se puede detectar sistemáticamente. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla siguiente:

Positive Target	Límite de Blanco (células/µL)	Límite de Detección (células/µL)
Linfocitos CD3+ CD57+	1	2

LIMITACIONES

1. La citometría de flujo puede producir resultados falsos si el citómetro no se ha alineado a la perfección, si las fugas de fluorescencia no se han compensado correctamente y si las regiones no se han colocado con atención.
2. Es preferible utilizar una técnica de lisis de ERIT con un paso de lavado, ya que este reactivo no se ha optimizado para técnicas de lisis «sin lavado».
3. Se obtendrán resultados exactos y reproducibles siempre que los procedimientos utilizados sean conformes al folleto técnico y compatibles con las prácticas correctas de laboratorio.
4. El anticuerpo conjugado de este reactivo se calibra para ofrecer la mejor relación de señal específica/señal no específica. Por lo tanto, es importante cumplir la relación de volumen del reactivo/volumen de la muestra en cada prueba.

5. En caso de hiperleucocitosis, diluya la sangre en PBS para obtener un valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucocitos/L (17).
6. En algunos estados de la enfermedad, como el fallo renal grave o las hemoglobinopatías, la lisis de los eritrocitos puede ser lenta, incompleta o incluso imposible. En este caso, se recomienda aislar las células mononucleares por gradiente de densidad (por ejemplo, Ficoll) antes de la tinción (18).
7. En pacientes tratados con terapias con anticuerpos monoclonales anti-humanos, la detección de los antígenos diana específicos puede estar disminuida o ausente debido al bloqueo parcial o completo por el anticuerpo terapéutico.
8. Los resultados de CD57-FITC deben interpretarse a la luz del cuadro clínico total del paciente, incluidos: síntomas, historial clínico, datos de pruebas adicionales y demás información pertinente.

Consulte el anexo para ver ejemplos y referencias.

MARCAS COMERCIALES

Beckman Coulter, el logotipo estilizado y las marcas de productos y servicios de Beckman Coulter aquí mencionadas son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de Beckman Coulter, Inc. en Estados Unidos y otros países.

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para pacientes/usuarios/terceros de la Unión Europea y países con el mismo régimen normativo (Reglamento 2017/746/UE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro); si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produjese un incidente grave, informe al fabricante y/o a su representante autorizado y a la autoridad nacional.

El Summary of Safety and Performance (Resumen de seguridad y rendimiento) está disponible en la base de datos EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIAL DE REVISIONES

REVISIÓN AD:	Fecha de publicación: Octubre de 2019

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AW	Mayo de 2022
Actualizaciones para cumplir con la política de etiquetado global de Beckman Coulter y conforme a los requisitos del Reglamento (UE)2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro:	
Se han añadido secciones	Número BSI 2797, Usuario previsto, Rendimiento clínico, Concentración, Precisión, Exactitud, Límite de blanco y límite de detección, Información adicional, Historial de revisiones.
Información añadida	Véase la sección Limitaciones
Actualizaciones de redacción y tipográficas	Véanse las secciones Procedimiento, Rendimiento, Limitaciones, Advertencias y precauciones, Conservación y Estabilidad.
Se han eliminado secciones	Ejemplo de aplicaciones clínicas, Reactivos, Reproducibilidad intralaboratorio, Linealidad
Se han actualizado las secciones	Uso previsto, Clasificación de material peligroso según el SGA, Signos de deterioro, Procedimiento, Anexo.

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AX	Abril 2023
Se han actualizado las secciones	Añadir kazajo
Se han actualizado las secciones	Conservación y Estabilidad

Versión revisada	AY
Fecha de revisión	Mayo 2024
Traducciones actualizadas	**Relevancia clínica:**
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Versión revisada	AZ
Fecha de revisión	Julio 2024
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Lista de símbolos

El glosario de símbolos está disponible en beckman.com/techdocs (número de documento B60062)

	Especificações
Especificidade	CD57
Clone	NC1
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunogénio	Cells from quail ciliary ganglia
Imunoglobulina	IgM
Espécie	Rato
Purificação	Cromatografia de filtração em gel
Fluorocromo	Fluorescein isothiocyanate
Razão molar	FITC/Ig: 19 - 24
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	525 nm
Tampão	PBS com pH 7,2 mais 2 mg/mL de ASB e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20 µL/teste

Para fins de diagnóstico *in vitro.*

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Este anticorpo conjugado com fluorocromos permite a identificação qualitativa e não automatizada de populações de células que expressam o antigénio CD57 presente em amostras biológicas humanas utilizando citometria de fluxo (consulte a secção «Amostras» abaixo).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade de os anticorpos monoclonais específicos se ligarem aos determinantes antigénicos expressados por leucócitos.

A coloração específica dos leucócitos é realizada incubando a amostra com o reagente IOTest. Em seguida, os glóbulos vermelhos são removidos por lise e os leucócitos, que não são afetados por este processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citómetro de fluxo mede a difusão de luz e a fluorescência das células. Permite delimitar a população de interesse dentro da janela eletrónica definida num histograma que correlaciona a difusão ortogonal de luz (dispersão lateral ou DL) e a difusão de luz em ângulos estreitos (dispersão frontal ou DF). É possível utilizar outros histogramas que combinam dois dos vários parâmetros disponíveis no citómetro como suporte na fase de delimitação, consoante a aplicação escolhida pelo utilizador.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são apresentados como uma percentagem de eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos por meio da delimitação.

UTILIZADOR PREVISTO

Este produto destina-se a ser utilizado por profissionais de laboratório.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD57-FITC é um anticorpo de CD57 utilizado para identificar e caracterizar células que expressam o antigénio CD57 por citometria de fluxo. Este produto, por si só, não pode e não se destina a gerar qualquer conclusão de diagnóstico.

Quando utilizado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser utilizado numa ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com alterações hematológicas, suspeitos de padecerem de neoplasia hematopoiética, e para monitorizar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.
- Para auxiliar no prognóstico de pacientes com neoplasia hematopoiética.
- Para auxiliar no diagnóstico de pacientes com suspeita de imunodeficiência e monitorizar pacientes com imunodeficiência conhecida.

Consulte as seguintes referências:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

AMOSTRAS

O sangue venoso deve ser recolhido utilizando tubos estéreis que contenham um sal de AEDT como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas à temperatura ambiente (18–25 °C) e não devem ser agitadas. As amostras devem ser homogeneizadas, agitando-as levemente, antes de a amostra de teste ser retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a punção venosa.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o Certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não utilize o reagente depois da data de validade.
2. Não congele.
3. Aguarde que fique à temperatura ambiente (18–25 °C) antes da utilização.
4. Evite a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, caso contrário, poderão ocorrer falsos resultados.

6. As soluções de anticorpos que contêm azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não ingira e evite qualquer contacto com a pele, as mucosas e os olhos.

   Adicionalmente, num meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazóico potencialmente perigoso. Se a sua eliminação for necessária, é recomendável que o reagente seja diluído num grande volume de água antes de ser vertido no sistema de drenagem, para evitar a acumulação de azida sódica em tubos metálicos e prevenir o risco de explosão.
7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas potencialmente infeciosas e manuseadas com cuidado (em especial, devem ser usados óculos, batas e luvas de proteção).
8. Nunca pipete com a boca e evite qualquer contacto das amostras com a pele, as mucosas e os olhos.
9. Os tubos de sangue e os materiais descartáveis utilizados para manuseamento devem ser eliminados em recipientes específicos destinados a incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Ficha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido a uma temperatura entre 2 e 8 °C e protegido da luz, antes e após a abertura do frasco.

Vida útil em frasco fechado para estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente permanece estável durante 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DEGRADAÇÃO

Uma alteração no aspeto físico dos reagentes poderá indicar deterioração, pelo que o reagente não deve ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, contacte a assistência ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou contacte o seu representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em sistemas de canalizações metálicas. Consulte o boletim do NIOSH: Explosive Azide Hazards (Perigos de explosão da azida) (16-8-76).
Para evitar a possível acumulação de compostos de azida, enxague as condutas de resíduos com água após a eliminação do reagente não diluído. A eliminação de azida sódica deve ser efetuada de acordo com os regulamentos locais adequados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostras e materiais necessários para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 20, 100 e 500 µL.
- Tubos de plástico para hemólise.
- Reagente de lise de glóbulos vermelhos com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Tampão (PBS: 0,01 M de fosfato de sódio; 0,145 M de cloreto de sódio; pH 7,2).
- Centrifugue.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM REAGENTE VERSALYSE

1. Adicione o volume adequado de 20 µL de anticorpo conjugado com IOTest específico a cada tubo de teste.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos à temperatura ambiente (18–25 °C), protegido da luz.
4. Em seguida, realize a lise dos glóbulos vermelhos. Consulte o folheto VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento denominado «with concomitant fixation» (com fixação concomitante) que consiste em adicionar 1 mL da mistura de «Fixação e lise» preparada extemporaneamente. Agite imediatamente em vórtex durante um segundo e incube durante 10 minutos à temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g à temperatura ambiente.
6. Remova o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular com 3 mL de PBS.
8. Repita o passo 6.
9. Remova o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular com o seguinte:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído se as preparações se destinarem a ser mantidas por menos de 24 horas. (É possível obter PBS com 0,1% de formaldeído diluindo 12,5 µL de solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na respetiva concentração de 10X em 1 mL de SSTF).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído se as preparações se destinarem a ser analisadas no prazo de 2 horas.

Nota: Mantenha sempre as preparações entre 2 e 8 °C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Nos nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 dadores aparentemente saudáveis foram tratadas utilizando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos de interesse positivos com este reagente são fornecidos na tabela abaixo:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP	CV (%)
Linfócitos	25	20,46	10,29	50,28

Estes valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores esperados a partir da população local de dadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos utilizando o procedimento descrito acima em amostras de sangue colhidas há menos de 24 horas em tubos de amostra estéreis com sal de AEDT como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

A molécula CD57, originalmente chamada HNK- 1 é uma glicoproteína com um peso molecular de 110–115 kDa. A molécula CD57 é um composto antigénico oligossacarídeo com resíduos de ácido glucurónico sulfatado. Este está ligado a vários polipeptídeos, lípidos e proteoglicanos de sulfato de condroitina presentes em vários tipos de tecido. A molécula CD57 é expressa em subconjuntos de células hematopoiéticas, células neuroectodérmicas, células neuroendócrinas, músculo estriado e epitélio prostático (11, 12, 13, 14).

O antigénio CD57 era inicialmente identificado em tecido hematopoiético na maioria dos grandes linfócitos granulares (LGL). Na maioria dos adultos o antigénio CD57 é expresso num subconjunto de células NK e linfócitos T CD8 positivos (13). A molécula CD57 é expressa num subconjunto de células de medula óssea e parece não estar presente em linfócitos do sangue do cordão umbilical.

Um subconjunto de linfócitos T CD4+/CD45RO+ de nódulos linfáticos do centro germinativo expressa o antigénio CD57 (12, 13). Os dados indicaram que a molécula CD57 está envolvida em interações célula-célula. As moléculas de L-seletina (CD62L) e P-seletina (CD62P) podem ser possíveis ligandos para CD57 (11, 15). O anticorpo monoclonal NC1 foi atribuído ao aglomerado de CD57 em 1993, durante o 5º Workshop Internacional sobre Antigénios de Diferenciação de Leucócitos Humanos, em Boston, EUA (16).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados utilizando sangue total. Cada amostra foi executada 4 vezes, duas vezes por dia para 1 dia em 2 instrumentos, utilizando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD57-FITC. As medições (% de positivos) foram realizadas no citómetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação do desempenho de precisão dos métodos de medição quantitativos).

Os nossos critérios de aceitação estão dependentes do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Em caso de eventos positivos <1500, CV <15%
- Em caso de eventos positivos >1500, CV <10%

Linfócitos							
Número de eventos positivos (média) = 804							
	Interoperador	Intercitómetro	Intralote	Interlote	Interprocessamento	Intraprocessamento	Total
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD57-FITC foi avaliada através da comparação dos resultados com um reagente de referência como equivalente, num conjunto de amostras de sangue total executadas num citómetro de fluxo Navios. A tendência entre o teste e o reagente de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados do teste. Se a tendência se encontrar dentro do intervalo de erro permitido ou o valor p não indicar uma diferença significativa (>0,05), os resultados do teste de ambos os reagentes são considerados equivalentes.

Os resultados obtidos encontram-se resumidos na tabela abaixo:

Número de dadores = 25				
Alvo positivo	Δ médio	Critérios celulares de % Δ	Valor p	RESULTADOS
Linfócitos	1,11	<5	2,71E-04	PASS

LIMITE DO BRANCO E LIMITE DE DETEÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com o CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de deteção para procedimentos de medição em laboratórios clínicos). O Limite de deteção (LD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detetada consistentemente. Os resultados obtidos são resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite do branco (célula/µL)	Limite de deteção (célula/µL)
Linfócitos CD3+ CD57+	1	2

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo poderá produzir falsos resultados se o citómetro não tiver sido perfeitamente alinhado, se as fugas de fluorescência não tiverem sido compensadas corretamente e se as regiões não tiverem sido cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível utilizar uma técnica de lise de RBC com um passo de lavagem, uma vez que este reagente não foi otimizado para técnicas de lise «sem lavagem».
3. Serão obtidos resultados exatos e reprodutíveis desde que os procedimentos utilizados estejam de acordo com o folheto técnico e cumpram as boas práticas laboratoriais.
4. O anticorpo conjugado deste reagente é calibrado para proporcionar a melhor relação entre sinal específico/sinal não específico. Por conseguinte, é importante respeitar a relação entre volume do reagente/volume da amostra em todos os testes.

5. No caso de uma hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (17).
6. Em determinados estados de doença, como insuficiência renal grave ou hemoglobinopatias, a lise de glóbulos vermelhos poderá ser lenta, incompleta ou até impossível. Neste caso, recomenda-se isolar células mononucleadas utilizando um gradiente de densidade (por exemplo, Ficoll) antes da coloração (18).
7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a deteção dos antigénios específicos visados pode ser reduzida ou inexistente devido ao bloqueio parcial ou total causado pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de CD57-FITC devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, historial clínico, dados de testes adicionais e outras informações relevantes.

Consulte o Anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logótipo estilizado e as marcas de produtos e serviços da Beckman Coulter mencionadas neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e noutros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/utilizador/terceiro na União Europeia e em países com um regime regulamentar idêntico (Regulamento 2017/746/UE relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico in vitro): se, durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, ocorrer um incidente grave, comunique-o ao fabricante e/ou ao respetivo representante autorizado e à autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível a partir da base de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÕES

REVISÃO AD:	Data de lançamento: Outubro de 2019

REVISÃO	**Data de lançamento**
AW	Maio de 2022
Atualizações no sentido de cumprir a política de rotulagem da Beckman Coulter Global e os requisitos do regulamento IVD-R (UE)2017/746:	
Secções adicionadas	Número BSI 2797, Utilizador previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite do branco e limite de deteção, Informações adicionais, Histórico de revisões.
Informações adicionadas	Consulte as secções Limitações
Atualizações à fraseologia ou tipografia	Consulte as secções Procedimento, Realização, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Secções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Secções atualizadas	Utilização prevista, Classificação de perigo GHS, Indícios de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de lançamento**
AX	Abril 2023
Secções atualizadas	Adicionar cazaque
Secções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revista	AY
Data de revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Versão revista	AZ
Data de revisão	Julho 2024
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (número do documento B60062)

	Specifikationer
Specificitet	CD57
Klon	NC1
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Cells from quail ciliary ganglia
Immunoglobulin	IgM
Arter	Mus
Oprensning	Gelfiltreringskromatografi
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate
Molarforhold	FITC/Ig: 19 - 24
λ-magnetisering	488 nm
Emissionsspids	525 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA og 0,1% NaN_3

IOTest

Konjugeret antistof CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Til *in vitro* diagnostisk brug.

TILSIGTET BRUG

Dette fluorokromkonjugerede antistof muliggør, ved hjælp af flowcytometri, kvalitativ og ikke-automatiseret identifikation af cellepopulationer, der udtrykker CD57-antigenet, som findes i humane biologiske prøver (se afsnittet ”Prøver” forneden).

PRINCIP

Denne test er baseret på specifikke monoklonale antistoffers evne til at binde sig til de antigene determinanter, der udtrykkes af leukocytter.

Den specifikke farvning af leukocytterne udføres ved inkubation af prøven med IOTest-reagenset. Erytrocytterne fjernes derefter med lysering, og leukocytterne, som ikke påvirkes af denne proces, analyseres ved flowcytometri.

Flowcytometeret måler lysets diffusion og cellernes fluorescens. Dette gør det muligt at afgrænse interessepopulationen inden for det elektroniske vindue, der defineres på et histogram, som korrelerer den ortogonale diffusion af lys (Side Scatter (sidespredning) eller SS) og diffusionen af lys med en snæver vinkel (Forward Scatter (forlæns spredning) eller FS). Andre histogrammer, der kombinerer to af de forskellige parametre, der er til rådighed på cytometret, kan benyttes som støtte under gating-trinnet, afhængig af den af brugeren valgte applikation.

De afgrænsede cellers fluorescens analyseres med henblik på at kunne skelne de positive farvningshændelser fra de ufarvede. Resultaterne udtrykkes som en procentdel af positive hændelser i relation til alle de hændelser, som erhverves ved gatingen.

TILSIGTET BRUGER

Dette produkt er beregnet til professionel brug i laboratoriet.

KLINISK RELEVANS

CD57-FITC er et CD57-antistof, der anvendes til at identificere og karakterisere celler, der udtrykker CD57-antigenet ved flowcytometri. Dette produkt, anvendt alene, kan ikke og er ikke beregnet til at generere nogen diagnostisk konklusion.

Anvendt i kombination med andre markører kan dette produkt benyttes i en eller flere af følgende funktioner:

- Til hjælp ved differentialdiagnosticering af hæmatologisk unormale patienter ved formodning om hæmatopoietisk neoplasme, samt til overvågning af patienter med kendt hæmatopoietisk neoplasme.
- Til hjælp ved prognosticering af patienter med hæmatologisk neoplasi.
- Til hjælp ved diagnosticering af patienter med formodede immundefekter samt til overvågning af patienter med kendte immundefekter.

Se følgende referencer:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PRØVER

Prøver af venøst blod skal udtages i sterile prøverør, der indeholder et EDTA-salt som antikoagulant.

Prøverne skal opbevares ved stuetemperatur (18-25 °C) og må ikke rystes. Prøverne skal homogeniseres ved forsigtig omrysten før udtagning af analyseprøven.

Prøverne skal behandles inden for 24 timer efter venepunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analysecertifikat på www.beckman.com.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Brug ikke reagenset efter udløbsdatoen.
2. Må ikke nedfryses.
3. Bring det til stuetemperatur (18-25 °C) før brug.
4. Minimér eksponering for lys.
5. Undgå mikrobiel kontaminering reagenserne, idet det kan føre til fejlagtige resultater.

6. Antistofopløsninger, der indeholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsigtighed. Må ikke indtages, og undgå enhver kontakt med hud, slimhinder og øjne.

   I syremedier kan natriumazid desuden danne den potentielt farlige hydrogenazid. Hvis det skal bortskaffes, anbefales det, at reagenset fortyndes i en stor mængde vand, inden det hældes i kloakken, for at undgå ophobning af natriumazid i metalrør og dermed forebygge risikoen for eksplosioner.
7. Alle blodprøver skal anses som potentielt smittefarlige og skal behandles forsigtigt (husk især at bruge beskyttelseshandsker, forklæde og beskyttelsesbriller).
8. Sug aldrig med munden, og undgå at prøverne kommer i kontakt med hud, slimhinde og øjne.
9. Blodprøvetagningsrør og engangsmateriale, der bruges i forbindelse med håndteringen, skal bortskaffes i ad hoc-beholdere, der er beregnet til bortskaffelse.
10. Reagenser og affald skal bortskaffes i henhold til gældende lokale krav.

GHS FAREKLASSIFIKATION

Ikke klassificeret som farlig

SDS Sikkerhedsdatablad er tilgængelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Dette reagens skal opbevares ved mellem 2 og 8 °C og beskyttes mod lys før og efter, at hætteglasset er åbnet.

Stabilitet i lukket hætteglas: 1095 dage.

Stabilitet i åbent hætteglas: Reagenset er stabilt i 180 dage.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Ændringer i den måde, reagenset ser ud på, kan være tegn på forringelse, og reagenset må ikke anvendes.

Ring til Beckman Coulters kundeservice på 800-742-2345 (USA eller Canada), eller kontakt den lokale Beckman Coulter-repræsentant for at få flere oplysninger, eller hvis du modtager et beskadiget produkt.

INDHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive forbindelser i drænledninger af metal. Se NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (Fare for eksplosiv azid). For at undgå en eventuel akkumulering af azidforbindelser, skylles afløbsrør med vand efter bortskaffelse af ufortyndet reagens. Natriumazid skal bortskaffes i overensstemmelse med relevante lokale forskrifter.

PÅKRÆVEDE MATERIALER, SOM IKKE LEVERES MED SÆT:

- Prøvetagningsrør og materiale, der er påkrævet til prøvetagning.
- Automatiske pipetter med engangsspidser til 20, 100 og 500 µL.
- Plasthæmolyserør.
- Reagens til lysering af erytrocytter med vaskefase efter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens til leukocytfiksering. For eksempel: IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumphosphat; 0,145 M natriumchlorid; pH 7,2).
- Centrifuge
- Automatisk omrører (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MED VERSALYSE-REAGENS

1. Tilsæt det relevante volumen 20 µL af specifikt IOTest-konjugeret ansistof i hvert testrør.
2. Tilføj 100 µL af prøven til hvert prøverør. Vortex rørene forsigtigt.
3. Inkubér i 15 til 20 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C), beskyttet mod lys.
4. Udfør derefter analyse af de røde celler. Se brochure fra VersaLyse (ref. A09777) og følg den foretrukne procedure kaldet “med sideløbende fiksering”, som består i at tilsætte 1 mL af blandingen “Fix-and-Lyse”, der fremstilles samtidig. Vortex øjeblikkeligt i et sekund, og inkubér i 10 minutter ved stuetemperatur, beskyttet imod lys.
5. Centrifugér i 5 minutter ved 150 x g ved stuetemperatur.
6. Fjern supernatanten via aspiration.
7. Resuspender cellepelleten med 3 mL PBS.
8. Gentag trin 6.
9. Fjern supernatanten vha. aspiration, og resuspender cellepelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyd, hvis præparaterne skal opbevares mindre end 24 timer. (En formaldehyd-PBS på 0,1% kan opnås ved fortynding af 12,5 µL af IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800) ved dets 10X koncentration i 1 mL af PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uden formaldehyd, hvis præparaterne skal analyseres inden for 2 timer.

Bemærk: Præparaterne skal under alle omstændigheder beskyttes mod lys og opbevares ved 2-8 °C.

FORVENTEDE VÆRDIER

I vores laboratorier blev fuldblodsprøver, fra 25 umiddelbart raske donorer, behandlet med det ovenfor beskrevne reagens. De opnåede resultater for optælling af relevante positive hændelser med dette reagens er angivet i nedenstående tabel:

Positivt mål	Antal	Middelværdi (%)	SD	CV (%)
Lymfocytter	25	20,46	10,29	50,28

Disse værdier er beregnet til kun at være repræsentative. Hvert laboratorium bør fastlægge deres egne forventede værdier fra den lokale population af raske donorer.

YDEEVNE

Præstationsdata opnås, når proceduren beskrevet foroven, anvendes på mindre end 24 timer gamle blodprøver, tidligere indsamlet i sterile prøverør med EDTA-salt som antikoagulant. Analyse skal foretages senest 2 timer efter immunfarvning.

SPECIFICITET

CD57-molekylet, der oprindeligt hed HNK-1, er et glycoprotein med en molekylvægt på 110-115 kDa. CD57-molekylet er et oligosaccharidantigenforbindelse med sulfatholdige glucuronsyrerester. Det er forbundet med en lang række polypeptider, lipider og chondroitinsulfatproteoglycaner, der findes på forskellige typer væv. CD57-molekylet udtrykkes på undersæt af hæmatopoietiske celler, neuroectodermale celler, neuroendocrinceller, tværstribet muskel og prostataepitel (11, 12, 13, 14).

CD57-antigenet blev oprindeligt identificeret i hæmatopoietisk væv på størstedelen af store granulære lymfocytter (LGL). I de fleste voksne udtrykkes CD57-antigenet i et undersæt af NK-celler og CD8-positive T-lymfocytter (13). CD57-molekylet udtrykkes i et undersæt af benmarvsceller og ser ikke ud til at findes i navlesnorsblodlymfocytter.

Et undersæt af CD4+-/CD45RO+-T-lymfocytter fra germinalcenterets lymfenoder udtrykker CD57-antigenet (12, 13). Data viser, at CD57-molekylet er involveret i interaktioner mellem celler. L-selectin-molekyler (CD62L) og P-selectin-molekyler (CD62P) kan være mulige ligander for CD57 (11, 15). Det monoklonale antistof NC1 blev knyttet til CD57-klyngen ved den 5. internationale workshop om humane leukocytdifferentieringsantigener i Boston, USA i 1993 (16).

PRÆCISION

De procentvise positive værdier blev bestemt ved anvendelse af fuldblod. Hver prøve blev kørt 4 gange, to gange dagligt i 1 dag, på 2 instrumenter med CD57-FITC monoklonale antistofreagenser fra 2 lots. Målingerne (% positiv) blev foretaget på Navios-flowcytometer. Analysen blev udført i henhold til CLSI-protokollen EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering af kvantitative målemetoders præcisionsevne).

Vores acceptkriterier afhænger af antallet af positive hændelser målt for hver population:

- Hvis positiv hændelse < 1500, CV < 15%
- Hvis positiv hændelse > 1500, CV < 10%

Lymfocytter							
Antal positive hændelser (middelværdi) = 804							
	Inter-operatør	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-kørsel	Intra-kørsel	I alt
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØJAGTIGHED

Nøjagtigheden af CD57-FITC blev vurderet ved sammenligning af resultaterne med et referencereagens som prædikat på et sæt fuldblodsprøver, kørt på et Navios-flowcytometer. Bias mellem test- og referencereagens blev bestemt på basis af forskellen mellem testresultaterne. Hvis bias er inden for det tilladte fejlområde, eller hvis p-værdien ikke indikerer nogen signifikant forskel (> 0,05), anses testresultaterne for de to reagenser for at være ækvivalente.

De opnåede resultater opsummeres i nedenstående tabel:

Antal donorer = 25				
Positivt mål	Middelværdi Δ	Δ % cellekriterie	p-værdi	RESULTATER
Lymfocytter	1,11	<5	2,71E-04	PASS

GRÆNSE FOR BLANK OG DETEKTIONSGRÆNSE

En undersøgelse blev gennemført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering af detektionsevne for kliniske laboratoriemåleprocedurer). Detektionsgrænsen (LOD) er den laveste koncentration af analyt, der kan detekteres konsekvent. De opnåede resultater er opsummeret i nedenstående tabel:

Positive Target	Grænse for blank (celle/µL)	Detektionsgrænse (celle/µL)
Lymfocytter CD3+ CD57+	1	2

BEGRÆNSNINGER

1. Flowcytometri kan give forkerte resultater, hvis cytometeret ikke er perfekt justeret, hvis der ikke er blevet kompenseret korrekt for fluorescenslækager, eller hvis områderne ikke er blevet placeret omhyggeligt.
2. Det anbefales at anvende en RBC-lyseringsteknik med et vasketrin, da dette reagens ikke er blevet optimeret til ”no wash”-lyseringsteknikker.
3. Der genereres nøjagtige og reproducerbare resultater, så længe de anvendte procedurer er i overensstemmelse med de tekniske anvisninger på indlæsgssedlen og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerede antistof for dette reagens kalibreres for at kunne tilbyde det bedste specifikke forhold mellem signal/ikke-specifikt signal. Det er derfor vigtigt at overholde forholdet mellem reagensvolumen og prøvevolumen i hver enkelt test.
5. I tilfælde af en hyperleukocytose skal blodet fortyndes i PBS for at opnå en værdi på ca. 5×10^9 leukocytter/L (17).
6. I visse sygdomstilstande, f.eks. alvorligt nyresvigt eller hæmoglobinopatier, kan lysering af røde celler være langsom, ufuldstændig eller endog umulig. I dette tilfælde anbefales det at isolere enkernede celler ved hjælp af en densitetsgradient (f.eks. Ficoll) forud for farvningen (18).
7. Hos patienter behandlet med anti-humane monoklonale antistofterapier, kan påvisning af de respektive specifikke antigener være formindsket eller fraværende, på grund af delvis eller fuldstændig blokering af det terapeutiske antistof.

8. CD57-FITC-resultaterne bør fortolkes i lyset af patientens samlede kliniske præsentation, herunder symptomer, sygehistorie, data fra andre tests samt anden relevant information.

Se Tillæg for eksempler og referencer.

VAREMÆRKER

Beckman Coulter, det stiliserede logo og de Beckman Coulter produkt- og servicemærker, der er omtalt heri, er varemærker eller registrerede varemærker tilhørende Beckman Coulter, Inc. i USA og andre lande.

YDERLIGERE OPLYSNINGER

For en patient/bruger/tredjepart i Den Europæiske Union og i lande med identisk lovgivningsmæssig reguleringsordning (forordning 2017/746/EU om medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik); hvis der er sket en alvorlig hændelse under brugen af dette apparat eller som et resultat af dens anvendelse, skal du rapportere den til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og til din nationale myndighed.

Summary of Safety and Performance (Sammenfatning af Sikkerhed og Ydeevne) er tilgængeligt fra EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVISION AD:	Frigivelsesdato: Oktober 2019

REVISION	**Udgivelsesdato**
AW	Maj 2022
Opdateringer for at sikre overholdelse af Beckman Coulters globale mærkningspolitik og overensstemmelse med IVD-R (EU)2017/746:	
Tilføjede afsnit	BSI 2797-nummer, Tilsigtet bruger, Klinisk relevans, Koncentration, Præcision, Nøjagtighed, Grænse for blank og detektionsgrænse, Yderligere oplysninger, Revisionshistorik.
Tilføjet information	Se afsnittet Begrænsninger
Opdatering af formulering eller typografi	Se afsnittene Procedure, Præstation, Begrænsninger, Advarsel og forholdsregler, Opbevaring og Holdbarhed.
Fjernede afsnit	Eksempel på klinisk anvendelse, Reagenser, Intra-laboratorie reproducerbarhed, Linearitet
Opdaterede afsnit	Tilsigtet brug, GHS-fareklassifikation, Tegn på forringelse, Procedure, Tillæg.

REVISION	**Udgivelsesdato**
AX	April 2023
Opdaterede afsnit	Kasakhisk er blevet tilføjet
Opdaterede afsnit	Opbevaring og holdbarhed

Revideret version	AY
Revisionsdato	Maj 2024
Opdaterede oversættelser	**Klinisk relevans:**
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Revideret version	AZ
Revisionsdato	Juli 2024
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Symbolnøgle

En ordliste over symboler findes på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Specifikationer
Specificitet	CD57
Klon	NC1
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Cells from quail ciliary ganglia
Immunglobulin	IgM
Arter	Mus
Rening	Gelfiltrationskromatografi
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate
Molförhållande	FITC/Ig: 19 - 24
λ excitering	488 nm
Emissionstopp	525 nm
Buffert	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA och 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugerad antikropp CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

För *in vitro* diagnostiskt bruk.

AVSEDD ANVÄNDNING

Denna fluorokromkonjugerade antikropp möjliggör kvalitativ och ej automatiserad identifiering av cellpopulationer som uttrycker CD57-antigenet som förekommer i humana biologiska prover med användning av flödescytometri (se avsnittet ”Prov” nedan).

PRINCIP

Detta test är baserat på förmågan hos specifika monoklonala antikroppar att bindas till de antigena determinanter som uttrycks av leukocyter.

Specifik färgning av leukocyterna utförs genom att inkubera provet med IOTest-reagenset. De röda cellerna avlägsnas sedan via lysering och leukocyterna, som inte påverkas av denna process, analyseras med flödescytometri.

Flödescytometern mäter ljusdiffusion och fluorescens av celler. Det möjliggör avgränsningen av populationen av intresse i det elektroniska fönstret definierat i ett histogram, som korrelerar den rätvinkliga ljusspridningen (sidospridning eller SS) och spridningen av snävt ljus (framåtspridning eller FS). Andra histogram som kombinerar två av de tillgängliga parametrarna på cytometern, kan användas som stöd i gating-skedet beroende på tillämpningen som användaren har valt.

Fluorescensen av de begränsade cellerna analyseras för att skilja ut positivt färgade händelser från ofärgade händelser. Resultaten uttrycks som en procentandel av positiva händelser i relation till alla händelser som samlats in med hjälp av gating.

AVSEDD ANVÄNDARE

Denna produkt är avsedd för yrkesmässig laboratorieanvändning.

KLINISK RELEVANS

CD57-FITC är en CD57-antikropp som används för att identifiera och egenskapsbestämma celler som uttrycker CD57-antigenen med hjälp av flödescytometri. Denna produkt kan inte och är inte avsedd för att ta fram en diagnostisk slutsats.

Vid användning i kombination med andra markörer kan denna produkt användas i en eller flera av följande funktioner:

- Som hjälp vid differentialdiagnostisering av hematologiskt onormala patienter som misstänks ha en hematopoetisk tumör eller för övervakning av patienter med känd hematopoetisk tumör.
- Som hjälp vid prognostisering av patienter med blodsjukdomar.
- Som hjälp vid diagnos av patienter med misstänkt immunbrist och övervakning av patienter med känd immunbrist.

Se följande referenser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROV

Venblod måste tas i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant.

Proverna bör förvaras i rumstemperatur (18–25 °C) och inte skakas. Prover bör vara homogeniserade genom försiktig omrörning innan provet tas.

Proverna måste analyseras inom 24 timmar efter venpunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analyscertifikat på www.beckman.com.

VARNING OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Använd inte reagenset efter utgångsdatumet.
2. Får ej frysas.
3. Låt den komma till rumstemperatur (18–25 °C) före användning.
4. Minimera exponering för ljus.
5. Undvik mikrobiell kontaminering av reagens. Det kan leda till felaktiga resultat.

6. Antikroppslösningar som innehåller natriumazid (NaN_3) bör hanteras med försiktighet. Inta inte internt och undvik all kontakt med hud, slemhinnor och ögon.

   I syramedium kan natriumazid dessutom bilda potentiellt farlig hydrazinsyra. Om reagensen måste kasseras rekommenderar vi att den späds ut med en stor volym vatten innan den hälls ut i avloppssystemet för att undvika explosionsrisk och att natriumazid ackumuleras i metallrören.
7. Alla blodprover måste betraktas som potentiellt smittsamma och ska hanteras med försiktighet (i synnerhet vad gäller användande av skyddshandskar, rockar och skyddsglasögon).
8. Pipettera aldrig med munnen och se till att proverna inte kommer i kontakt med hud, slemhinnor och ögon.
9. Blodprovsrör och engångsmaterial som används för hantering ska kasseras i särskilda behållare avsedda för förbränning.
10. Reagens och avfall ska kasseras i enlighet med lokala krav.

RISKKLASSIFICERING ENLIGT GHS

Ej klassat som farligt

SDS Säkerhetsdatablad finns tillgängligt på beckmancoulter.com/techdocs

FÖRVARING OCH STABILITET

Detta reagens måste hållas mellan 2 och 8 °C och skyddas mot ljus, före och efter att ampullen öppnats.

Hållbarhet för sluten ampull per stabilitetsstudie: 1095 dagar.

Stabilitet i öppen ampull: reagenset är stabilt i 180 dagar.

TECKEN PÅ FÖRSÄMRING

Alla förändringar i reagensens fysiska utseende kan indikera försämring och att reagenset inte ska användas.

För mer information eller om en skadad produkt tas emot, ring Beckman Coulter kundtjänst på 800-742-2345 (USA eller Kanada) eller kontakta din lokala Beckman Coulter-representant.

INNEHÅLL

Konserveringsmedlet natriumazid kan bilda explosiva föreningar i avloppsledningar av metall. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (76-8-16) (Bulletin från den amerikanska motsvarigheten till arbetsmiljöverket: Fara för azidexplosion).
För att undvika risken för ansamling av azidföreningar ska avloppsrören spolas igenom med vatten efter att outspädda reagenser har kasserats. Kassering av natriumazid måste ske i enlighet med tillämpliga lokala regler.

MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE FÖLJER MED KITET:

- Provrör och nödvändigt material för provtagning.
- Automatiska pipetter med engångsspetsar för 20, 100 och 500 µL.
- Hemolysrör av plast.
- Lyseringsreagens för röda blodceller med tvätt efter lyseringen. Till exempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens för leukocytfixering. Till exempel: IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800).
- Buffert (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Centrifugera.
- Automatisk omrörare (Vortex-typ).
- Flödescytometer.

PROCEDUR MED VERSALYSE-REAGENS

1. Tillsätt lämplig volym 20 µL av specifikt IOTest-konjugerad antikropp till varje provrör.
2. Tillsätt 100 µL av testprovet i varje provrör. Vortexblanda provrören försiktigt.
3. Inkubera i 15 till 20 minuter vid rumstemperatur (18–25 °C) och skyddat mot ljus.
4. Utför sedan lysering av de röda blodkropparna. Se bladet VersaLyse (ref. A09777) och följ företrädesvis proceduren som benämns ”med samtidig fixering”, som består av att tillsätta 1 mL av ”Fixera-och-lysera”-blandningen som beretts strax innan. Vortexblanda omedelbart i en sekund och inkubera i 10 minuter vid rumstemperatur och skyddat mot ljus.
5. Centrifugera i 5 minuter vid 150 x g vid rumstemperatur.
6. Avlägsna ytskiktet genom aspiration.
7. Återsuspendera cellpelleten med 3 mL PBS.
8. Upprepa steg 6.
9. Avlägsna ytskiktet genom aspiration och återsuspendera cellpelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL av PBS plus 0,1 % formaldehyd om preparaten är avsedda att förvaras mindre än 24 timmar. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan erhållas genom spädning av 12,5 µL av IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800) i dess 10X-koncentration i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS utan formaldehyd, om preparaten är avsedda att analyseras inom 2 timmar.

Anmärkning: Behåll i samtliga fall beredningarna vid 2 till 8 °C och skyddade från ljus.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

I våra laboratorier behandlades helblodsprov från 25 till synes friska donatorer med den reagens som beskrivs ovan. Erhållna resultat för antalet positiva händelser av intresse med denna reagens anges i tabellen nedan:

Positivt mål	Nummer	Medelvärde (%)	SD	CV (%)
Lymfocyter	25	20,46	10,29	50,28

Dessa värden är endast avsedda att vara representativa. Varje laboratorium ska fastställa sina egna förväntade värden utifrån den lokala populationen med normala donatorer.

PRESTANDA

Prestandadata erhålls med proceduren som beskrivs ovan på blodprov som är färskare än 24 timmar som tagits i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant. Analys utförs inom 2 timmar efter immunfärgning.

SPECIFICITET

CD57-molekylen, ursprungligen kallad HNK- 1, är ett glykoprotein med en molekulär vikt på 110–115 kDa. CD57-molekylen är en oligosackarid antigenisk förening med rester av sulfaterad glukuronsyra. Den är länkad med en rad olika polypeptider, lipider och kondroitinsulfat-proteoglykaner som hittas på olika vävnader. CD57-molekylen uttrycks på subpopulationer av hematopoietiska celler, neuroektodermala celler, neuroendokrina celler, tvärstrimmig muskulatur och prostataepitel (11, 12, 13, 14).

CD57-antigenet identifierades först i hematopoietisk vävnad på flertalet stora granulära lymfocyter (LGL). Hos de flesta vuxna uttrycks CD57-antigenen på en underpopulation av NK-celler och CD8-positiva T-lymfocyter (13). CD57-molekylen uttrycks på en subpopulation av benmärgsceller och verkar inte hittas på navelsträngsblodlymfocyter.

En underpopulation av CD4+-/ CD45RO+-lymfocyter från lymfnoder med germinala kärnor uttrycker CD57-antigenen (12, 13). Data rapporterar att CD57-molekylen är inblandad i cell-cell-interaktioner. L-selektin (CD62L)- och P-selektin (CD62P)-molekyler kan vara möjliga ligander för CD57 (11, 15). Den NC1-monoklonala antikroppen tilldelades till CD57-klustret vid den femte internationella workshopen om mänskliga leucocytdiffereringsantigener i Boston, USA, år 1993 (16).

PRECISION

Procentvärdet för positiva värden bestämdes med helblod. Varje prov kördes 4 gånger, två gånger om dagen under 1 dag på 2 instrument med 2 loter CD57-FITC monoklonala antikroppsreagens. Mätningar (% positiva) utfördes på Navios flödescytometer. Analys utfördes baserat på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Utvärdering av precisionsprestanda för kvantitativa mätmetoder).

Våra acceptanskriterier beror på antalet positiva händelser som uppmäts för varje population:

- Om positiv händelse < 1 500, CV < 15 %
- Om positiv händelse > 1 500, CV < 10 %

Lymfocyter							
Antal positiva händelse (medelvärde) = 804							
	Mellan operatörer	Mellan cytometrar	Inom lot	Mellan loter	Mellan körningar	Inom körning	Totalt
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
RESULTAT	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NOGGRANNHET

Noggrannheten hos CD57-FITC bedömdes genom att jämföra resultaten med en referensreagens som predikat på en uppsättning helblodsprov körda på en Navios flödescytometer. Bias mellan test- och referensreagens bestämdes baserat på skillnaden mellan testresultat. Om bias ligger inom tillåtet felintervall eller p-värdet anger att det inte finns någon signifikant skillnad (> 0,05), så anses testresultaten för de två reagenserna vara likvärdiga.

Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell nedan:

Antal donatorer = 25				
Positivt mål	Medelvärde Δ	Δ % cellkriterier	p-värde	RESULTAT
Lymfocyter	1,11	<5	2,71E-04	PASS

BLANKGRÄNS OCH DETEKTIONSGRÄNS

En studie genomfördes i enlighet med CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Utvärdering av detekteringsförmåga för kliniska laboratoriemätningsprocedurer). Detektionsgräns (LoD) är den lägsta analytkoncentrationen som konsekvent kan detekteras. Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell:

Positive Target	Blankgräns (cell/µL)	Detektionsgräns (cell/µL)
Lymfocyter CD3+ CD57+	1	2

BEGRÄNSNINGAR

1. Flödescytometri kan ge falska resultat om cytometern inte har justerats perfekt, om fluorescensläckor inte har kompenserats korrekt och om regionerna inte har placerats noggrant.
2. Det är bäst att använda en RBC-lyseringsteknik med ett tvättsteg, eftersom denna reagens inte optimerats för lyseringstekniker ”utan tvätt”.
3. Noggranna och reproducerbara resultat kommer att erhållas så länge de förfaranden som används är i enlighet med den tekniska bipacksedeln och förenliga med god laboratoriepraxis.
4. Den konjugerade antikroppen för detta reagens är kalibrerad för att erbjuda det bästa specifik signal/icke-specifik signal-förhållandet. Därför är det viktigt att följa reagensvolym/provvolym-förhållandet i varje test.
5. Vid hyperleukocytos, späd blodet i PBS för att erhålla ett värde på cirka 5 x 10^9 leukocyter/L (17).
6. Vid vissa sjukdomstillstånd, såsom vid mycket svår njursvikt eller hemoglobinopatier, kan lysering av röda celler vara långsam, ofullständig eller till och med omöjlig. I detta fall är det rekommenderat att isolera mononukleära celler med användning av en densitetsgradient (till exempel Ficoll) innan färgningen (18).

7. Hos patienter som behandlas med anti-human monoklonala antikroppar kan detektering av de specifika eftersökta antigenerna minska eller utebli på grund av delvis eller fullständig blockering från behandlingens antikropp.
8. Resultat för CD57-FITC bör tolkas med tanke på patientens totala kliniska bild, inklusive: symptom, anamnes, information från övriga test och annan lämplig information.

Se bilagan för exempel och referenser.

VARUMÄRKEN

Beckman Coulter, den stiliserade logotypen och Beckman Coulters produkt- och tjänstmärken som nämns häri är varumärken eller registrerade varumärken som tillhör Beckman Coulter, Inc. i USA eller andra länder.

YTTERLIGARE INFORMATION

För en patient/användare/tredje part inom EU och i länder med identiskt regelsystem (förordning 2017/746/EU om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik); om, vid användning av denna enhet eller som ett resultat av dess användning, en allvarlig incident inträffat ska den rapporteras till tillverkaren och/eller till dess auktoriserade representant och till den nationella myndigheten.

Summary of Safety and Performance (Sammanfattning av säkerhet och prestanda) finns tillgänglig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVIDERING AD:	Publiceringsdatum: Oktober 2019

REVISION	**Publiceringsdatum**
AW	Maj 2022
Uppdateringar för att uppfylla Beckman Coulter globala etiketteringspolicy och kraven i IVD-R (EU)2017/746:	
Tillagda avsnitt	BSI 2797 Nummer, Avsedd användare, Klinisk relevans, Koncentration, Precision, Noggrannhet, Blankgräns och detektionsgräns, Ytterligare information, Revisionshistorik.
Tillagd information	Se avsnittet Begränsningar
Ordval eller typografiska uppdateringar	Se avsnitten Procedur, Prestanda, Begränsningar, Varningar och försiktighetsåtgärder, Förvaring och stabilitet.
Borttagna avsnitt	Exempel på kliniska tillämpningar, Reagens, Reproducerbarhet inom laboratorium, Linearitet
Uppdaterade avsnitt	Avsedd användning, Faroklassificering enligt GHS, Tecken på försämring, Procedur, Bilaga.

REVISION	**Publiceringsdatum**
AX	April 2023
Uppdaterade avsnitt	Lägg till kazakiska
Uppdaterade avsnitt	Förvaring och hållbarhet

Reviderad version	AY
Datum för revidering	Maj 2024
Uppdaterade översättningar	**Klinisk relevans:**
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Reviderad version	AZ
Datum för revidering	Juli 2024
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Teckenförklaring för symboler

Ordlista för symboler finns på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Spesifikasjoner
Spesifisitet	CD57
Klon	NC1
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Cells from quail ciliary ganglia
Immunoglobulin	IgM
Art	Mus
Rensing	Gel filtrering kromatografi
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate
Molart forhold	FITC/Ig: 19 - 24
λ-eksitasjon	488 nm
Strålingstopp	525 nm
Buffer	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/mL BSA og 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugert antistoff CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

For *in vitro*-diagnose.

TILTENKT BRUK

Dette fluorokromkonjugerte antistoffet muliggjør kvalitativ og ikke-automatisert identifisering av cellepopulasjoner som uttrykker CD57-antigenet som finnes i humane biologiske prøver, ved hjelp av flowcytometri (se avsnittet «Prøver» nedenfor).

PRINSIPP

Denne testen er basert på evnen spesifikke monoklonale antistoffer har til å binde seg til antigendeterminantene uttrykt av leukocytter.

Spesifikk farging av leukocyttene utføres ved inkubering av prøven med IOTest-reagenset. De røde cellene fjernes deretter ved lysering, og leukocyttene, som er uberørt av denne prosessen, analyseres ved flowcytometri.

Flytcytometeret måler lysdiffusjon og cellenes fluorescens. Det gjør det mulig å avgrense populasjonen som skal undersøkes innenfor det elektroniske vinduet som er definert på et histogram, og som korrelerer den ortogonale lysspredningen (sidespredning eller SS) og spredningen av trangvinklet lys (foroverpredning eller FS). Andre histogrammer som kombinerer to av de ulike parametrene på cytometeret kan brukes som støtte ved gatingstadiet, avhengig av programmet som velges av brukeren.

Fluorescensen i de avgrensede cellene analyseres for å skille de positivt fargede hendelsene fra de ufargede. Resultatene er uttrykt som en prosentandel positive hendelser i forhold til alle hendelser innhentet ved gatingen.

TILTENKT BRUKER

Dette produktet skal brukes av profesjonelle brukere på laboratorier.

KLINISK RELEVANS

CD57-FITC er et CD57-antistoff som brukes til å identifisere og karakterisere celler som uttrykker CD57-antigenet, ved hjelp av flowcytometri. Dette produktet alene kan ikke og er ikke ment å generere en diagnostisk konklusjon.

Når dette produktet brukes i kombinasjon med andre markører, kan det brukes i én eller flere av følgende funksjoner:

- For å bistå ved differensialdiagnostisering av hematologisk unormale pasienter med mistenkt hematopoietisk neoplasi og følge opp pasienter med kjent hematopoietisk neoplasi.
- For å bidra ved prognostisering av pasienter med hematopoietisk neoplasi.
- Bistå ved diagnostisering av pasienter med mistenkt immunsvikt og overvåke pasienter med kjent immunsvikt.

Se følgende referanser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PRØVER

Veneblod må tas ved bruk av sterile rør som inneholder EDTA-salt som antikoagulant.

Prøvene skal oppbevares i romtemperatur (18–25 °C) og ikke ristes. Prøvene skal homogeniseres ved forsiktig risting før du tar testprøven.

Prøvene må analyseres innen 24 timer etter venepunksjon.

KONSENTRASJON

Se lot-spesifikt analysesertifikat på www.beckman.com.

ADVARSEL OG FORHOLDSREGLER

1. Reagenset må ikke brukes etter utløpsdatoen.
2. Må ikke fryses.
3. La det nå romtemperatur (18–25 °C) før bruk.
4. Bør ikke utsettes for lys.
5. Unngå mikrobiell kontaminering av reagensene, ellers kan det gi feil resultater.

6. Antistoffløsninger som inneholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsiktighet. Ikke til innvortes bruk. Unngå all kontakt med hud, slimhinner og øyne.

   Videre kan natriumazid i et syremedium danne potensielt farlig hydrogenazid. Hvis reagenset må kasseres, anbefales det at det fortynnes i store mengder vann før det tømmes i avløpssystemet, slik at man unngår opphopning av natriumazid i metallrør, og for å hindre eksplosjonsfare.
7. Alle blodprøver må betraktes som potensielt smittefarlige og må håndteres med forsiktighet (gjelder spesielt: bruk av vernehansker, laboratoriefrakk og vernebriller).
8. Pipetter aldri med munnen, og unngå at prøvene kommer i kontakt med huden, slimhinnene og øynene.
9. Blodprøverør og engangsmateriale som brukes til håndtering, skal kastes i beholdere beregnet for forbrenning.
10. Reagenser og avfall skal kastes i henhold til lokale krav.

GHS-FAREKLASSIFISERING

Ikke klassifisert som farlig

SDS Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPPBEVARING OG STABILITET

Dette reagenset må oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttes mot lys før og etter at flasken er åpnet.

Holdbarhet i lukket flaske ifølge stabilitetsstudie: 1095 dager.

Stabilitet for åpnet flaske: reagenset er stabilt i 180 dager.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Endringer i reagensenes fysiske utseende kan være tegn på redusert kvalitet, og slike reagenser skal ikke brukes.

For ytterligere informasjon eller hvis produktet mottas skadet, kan Beckman Coulter kundeservice 800-742-2345 (USA og Canada) eller den lokale Beckman Coulter-representanten kontaktes.

INNHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive blandinger i metalliske avløpsrør. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Fare for eksplosive azider) (16.8.76). For å unngå mulig opphopning av azidforbindelser må avløpsrør skylles med vann etter avhending av ufortynnet reagens. Avfallshåndtering av natriumazid må skje i samsvar med relevante lokale forskrifter.

NØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE FØLGER MED SETTET:

- Prøvetakingsrør og materiale nødvendig for prøvetaking.
- Automatiske pipetter med engangsspisser til 20, 100 og 500 µL.
- Hemolyserør av plast.
- Rød cellelyseringsreagens med vasketrinn etter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Leukocytt-fikseringsreagens. For eksempel: IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Sentrifuger.
- Automatisk omrører (vortekstype).
- Flytcytometer.

PROSEDYRE MED VERSALYSE-REAGENS

1. Tilsett riktig volum 20 µL spesifikt konjugert IOTest-antistoff i hvert testrør.
2. Tilsett 100 µL av testprøven i hvert rør. Vorteks rørene forsiktig.
3. Inkuber i 15 til 20 minutter ved romtemperatur (18–25 °C), beskyttet mot lys.
4. Utfør deretter lysering av de røde blodcellene. Les brosjyren VersaLyse (ref. A09777), og prøv å følge prosedyren kalt «with concomitant fixation» (med samtidig fiksering) som består av å tilsette 1 mL av «fikserings- og lyseringsblandingen» som klargjøres prompte. Bland på vorteksmikser umiddelbart i ett sekund, og inkuber i 10 minutter ved romtemperatur, beskyttet mot lys.
5. Sentrifugeres i 5 minutter ved 150 x g ved romtemperatur.
6. Fjern supernatanten ved aspirasjon.
7. Resuspender cellepelleten i 3 mL PBS.
8. Gjenta trinn 6.
9. Fjern supernatanten ved aspirasjon, og resuspender cellepelleten ved hjelp av:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS pluss 0,1 % formaldehyd hvis preparatene skal oppbevares i mindre enn 24 timer. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan oppnås ved å fortynne 12,5 µL IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800) ved 10X konsentrasjon i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uten formaldehyd hvis preparatene skal analyseres innen 2 timer.

Merk: I alle tilfeller skal preparatene oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttet mot lys.

FORVENTEDE VERDIER

I våre laboratorier ble fullblodsprøvene fra 25 tilsynelatende friske donorer behandlet med reagenset beskrevet over. Resultatene som ble oppnådd for telling av de aktuelle positive hendelsene med dette reagenset, er angitt i tabellen nedenfor:

Positivt mål	Nummer	Gjennomsnitt (%)	SD	VK (%)
Lymfocytter	25	20,46	10,29	50,28

Disse verdiene er bare representative. Hvert enkelt laboratorium bør fastsette egne forventede verdier ut fra den lokale populasjon av normaldonorer.

YTELSE

Ytelsesdata er fremskaffet ved bruk av prosedyren som er beskrevet ovenfor på mindre enn 24 timer gamle blodprøver som tidligere er samlet i sterile rør med EDTA-salt som antikoagulant. Analysen utføres innen 2 timer etter immunfarging.

SPESIFISITET

CD57-molekylet, før kalt HNK-1, er et glykoprotein med en molekylvekt på 110–115 kDa. CD57-molekylet er en oligosakkarid-antigenforbindelse med sulfaterte glukuronsyrerester. Det er bundet til en rekke polypeptider og lipider, og kondroitinsulfat proteoglykaner funnet i ulike vev. CD57-molekylet uttrykkes på en undergruppe av hematopoetiske celler, nevroektodermale celler, nevroendokrine celler, tverrstripet muskulatur og overflatevev i prostata (11, 12, 13, 14).

CD57-antigenet var egentlig definert i hematopoetisk vev i mesteparten av store granulære lymfocytter (LGL). Hos de fleste voksne uttrykkes CD57-antigenet på en undergruppe av NK-celler og CD8-positive T-lymfocytter (13). CD57-molekylet uttrykkes i en underguppe av benmargceller og kan sannsynligvis ikke bli funnet på lymfocytter i navlestrengsblod.

En undergruppe av CD4+ / CD45RO+ T-lymfocytter fra lymfeknuter med germinalt senter uttrykker CD57-antigenet (12, 13). Data viser at CD57-molekylet er involvert i celle-til-celle-interaksjoner. L-selektin- (CD62L) og P-selektin- (CD62P) molekyler kan være mulige ligander for CD57 (11, 15). NC1 monoklonalt antistoff ble tilordnet CD57-klyngen under 5th International Workshop on Human Leucocyte Differenciation Antigen i Boston i 1993 (16).

PRESISJON

Prosentandelen positive verdier ble bestemt med fullblod. Hver prøve ble kjørt 4 ganger, to ganger om dagen i 1 dag på 2 instrumenter med 2 partier CD57-FITC monoklonale antistoffreagenser. Målinger (% positiv) ble foretatt på et Navios-flytcytometer. Analysen ble utført basert på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering av presisjonsytelse ved kvantitative målemetoder).

Våre godkjenningskriterier er avhengige av antall positive hendelser som måles for hver populasjon:

- Hvis positiv hendelse < 1 500, VK < 15 %
- Hvis positiv hendelse > 1 500, VK < 10 %

Lymfocytter							
Antall positive hendelser (gjennomsnitt) = 804							
	Mellom operatører	Mellom cytometere	Innenfor samme lot	Mellom loter	Mellom kjøringer	Innenfor samme kjøring	Total
VK (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØYAKTIGHET

Nøyaktigheten til CD57-FITC ble vurdert ved å sammenligne resultatene med et referansereagens som predikatet på et sett med fullblodsprøver kjørt på et Navios-flytcytometer. Skjevheten mellom test- og referansereagens ble bestemt basert på forskjellen mellom testresultater. Hvis skjevheten er innenfor det tillatte feilområdet eller p-verdien angir ingen vesentlig forskjell (> 0,05), anses testresultatene for de to reagensene som tilsvarende.

De oppnådde resultatene er oppsummert i den følgende tabellen:

Antall donorer = 25				
Positivt mål	Gjennomsnittlig Δ	Δ % cellekriterier	p-verdi	RESULTATER
Lymfocytter	1,11	<5	2,71E-04	PASS

GRENSE FOR BLANKPRØVE OG DETEKSJONSGRENSE

En studie ble gjennomført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering av deteksjonsevne for måleprosedyrer på kliniske laboratorier). Deteksjonsgrensen (LOD) er den laveste analyttkonsentrasjonen som kan detekteres konsekvent. Resultatene som ble oppnådd, er oppsummert i tabellen nedenfor:

Positive Target	Grense for blankprøve (celle/µL)	Deteksjonsgrense (celle/µL)
Lymfocytter CD3+ CD57+	1	2

BEGRENSNINGER

1. Flowcytometri kan gi falske resultater hvis cytometeret ikke har blitt justert nøyaktig, hvis fluorescenslekkasjer ikke er kompensert riktig, og hvis regionene ikke er nøye plassert.
2. Det er best å bruke en RBC-lyseringsteknikk med et vasketrinn, ettersom dette reagenset ikke er optimert for lyseringsteknikker uten vask.
3. Nøyaktige og reproduserbare resultater vil oppnås så lenge de anvendte prosedyrene er i samsvar med det tekniske pakningsvedlegget og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerte antistoffet til dette reagenset er kalibrert for å oppnå best mulig forhold mellom spesifikt signal og ikke-spesifikt signal. Derfor er det viktig å overholde forholdet mellom reagensvolum og prøvevolum i hver test.
5. Ved hyperleukocytose fortynnes blodet i PBS for å oppnå en verdi på omtrent 5 x 10^9 leukocytter/L (17).
6. Ved visse sykdomstilstander, for eksempel alvorlig nyresvikt eller hemoglobinopatier, kan lyseringen av røde celler være langsom, ufullstendig eller til og med umulig. I dette tilfellet anbefales det å isolere mononukleærerte celler ved hjelp av en densitetsgradient (for eksempel Ficoll) før farging (18).
7. Hos pasienter som behandles med antihumane, monoklonale antistoffbehandlinger, kan deteksjon av bestemte målantigener reduseres eller være fraværende på grunn av delvis eller fullstendig blokkering av det terapeutiske antistoffet.

8. CD57-FITC-resultatene skal tolkes i lys av den totale kliniske vurderingen av pasienten, inkludert: symptomer, klinisk historie, data fra flere tester og annen aktuell informasjon.

Se vedlegget for eksempler og referanser.

VAREMERKER

Beckman Coulter, den stiliserte logoen og vare- og servicemerkene til Beckman Coulter som er omtalt her, er varemerker eller registrerte varemerker som tilhører Beckman Coulter, Inc. i USA og andre land.

TILLEGGSINFORMASJON

For pasient/bruker/tredjepart i EU og land med identisk regelverk (EUs forordning nr. 2017/746 om in vitro-diagnostisk medisinsk utstyr); hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av dette utstyret, eller som et resultat av bruken, skal dette rapporteres til produsenten og/eller den autoriserte representanten samt til nasjonal myndighet.

Summary of Safety and Performance (Sammendrag av sikkerhet og ytelse) er tilgjengelig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISJONSHISTORIE

REVISJON AD:	Utgivelsesdato: Oktober 2019

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AW	Mai 2022
Oppdateringer skal overholde de globale merkingsreglene til Beckman Coulter og være i samsvar med krav iht. IVD-R (EU)2017/746:	
Innsatte avsnitt	BSI 2797-nummer, Tiltenkt bruker, Klinisk relevans, Konsentrasjon, Presisjon, Nøyaktighet, Grense for blankprøve og deteksjonsgrense, Tilleggsinformasjon, Revisjonshistorie.
Innsatt informasjon	Se avsnittet Begrensninger
Oppdatering av formulering eller typografi	Se avsnittene Prosedyre, Ytelse, Begrensninger, Advarsler og forholdsregler, Oppbevaring og stabilitet.
Fjernede avsnitt	Eksempel på kliniske bruksområder, Reagenser, Reproduserbarhet innenfor samme laboratorium, Linearitet
Oppdaterte avsnitt	Tiltenkt bruk, GHS-fareklassifisering, Tegn på nedbryting, Prosedyre, Vedlegg.

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AX	april 2023
Oppdaterte avsnitt	Lagt til kasakhisk
Oppdaterte avsnitt	Oppbevaring og stabilitet

Revidert versjon	AY
Revisjonsdato	mai 2024
Oppdatert oversettelser	**Klinisk relevans:**
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Revidert versjon	AZ
Revisjonsdato	juli 2024
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Symbolforklaring

Symbolordliste er tilgjengelig på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Tekniset tiedot
Spesifisyys	CD57
Klooni	NC1
Hybridooma	SP2/0 x balb/c
Immunogeeni	Cells from quail ciliary ganglia
Immunoglobuliini	IgM
Lajit	Hiiri
Puhdistus	Geelisuodatus
Fluorokromi	Fluorescein isothiocyanate
Moolisuhde	FITC/Ig: 19 - 24
λ-viritys	488 nm
Säteilyhuippu	525 nm
Puskuri	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA:ta ja 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugoitunut vasta-aine CD57-FITC

REF B49188 100 testiä; 2 ml, 20 µl / testi

Diagnostiseen *in vitro* -käyttöön.

KÄYTTÖTARKOITUS

Tämän fluorokromikonjugoidun vasta-aineen avulla voidaan kvalitatiivisesti ja muilla kuin automaattisilla tavoilla tunnistaa solupopulaatioita, jotka ilmentävät ihmisen biologisissa näytteissä esiintyvää CD57-antigeeniä virtaussytometriaa käyttämällä (katso jäljempää kohta Näytteet).

PERIAATE

Testi perustuu tiettyjen monoklonaalisten vasta-aineiden kykyyn sitoutua leukosyyttien ilmentämiin antigeenideterminantteihin.

Leukosyyttien spesifinen värjäys tehdään inkuboimalla näyte IOTest-reagenssilla. Punasolut poistetaan sen jälkeen lyysaamalla, ja leukosyytit, joihin tämä prosessi ei vaikuta, analysoidaan virtaussytometrialla.

Virtaussytometri mittaa valonhajontaa ja solujen fluoresenssia. Sen avulla on mahdollista rajata kiinnostuksen kohteena olevan populaatio pylväskaavioon määritetyssä elektronisessa ikkunassa, jossa ortogonaalinen valonhajonta (sivusironta eli SS) vastaa kapean kulman valonhajontaa (eteenpäinsironta eli FS). Muita sytometrin kahta eri parametria yhdistäviä pylväskaavioita voidaan käyttää rajaamisvaiheen tukena käyttäjän valitseman sovelluksen mukaan.

Rajattujen solujen fluoresenssi analysoidaan, jotta positiivisesti värjäytyneet tapahtumat voidaan erottaa värjäytymättömistä tapahtumista. Tulokset ilmaistaan positiivisten tapahtumien prosenttimääränä suhteessa kaikkiin rajauksella kerättyihin tapahtumiin.

AIOTTU KÄYTTÄJÄ

Tämä tuote on tarkoitettu ammattimaiseen laboratoriokäyttöön.

KLIININEN RELEVANSSI

CD57-FITC on CD57-vasta-aine, jonka avulla tunnistetaan ja karakterisoidaan CD57-antigeenia ilmentävät solut virtaussytometrialla. Tämä tuote yksinään ei voi eikä sen ole tarkoitus tuottaa mitään diagnostisia johtopäätöksiä.

Kun sitä käytetään yhdessä muiden merkkiaineiden kanssa, tuotetta voidaan käyttää yhteen tai useaan seuraavista toiminnoista:

- Erotusdiagnostiikan tueksi hematologisesti poikkeavilla potilailla, joilla epäillään olevan hematopoieettisia kasvaimia, ja sellaisten potilaiden seurantaan, joilla tiedetään olevan hematopoieettisia kasvaimia.
- Avuksi ennusteen tekemiseen potilaista, joilla on hematopoieettinen neoplasma.
- Sellaisten potilaiden diagnosoinnin tueksi, joilla epäillään immuunipuutostilaa, ja sellaisten potilaiden seurantaan, joilla tiedetään olevan immuunipuutostila.

Katso seuraavat viitteet:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

NÄYTTEET

Laskimoverinäytteet on otettava käyttäen steriilejä putkia, joissa on antikoagulanttina EDTA-suolaa.

Näytteet on säilytettävä huoneenlämmössä (18–25 °C), eikä niitä saa ravistaa. Näytteet on homogenoitava sekoittamalla hellävaraisesti ennen testinäytteen ottamista.

Näytteet on analysoitava 24 tunnin sisällä laskimopunktiosta.

PITOISUUS

Katso eräkohtainen analyysitodistus osoitteesta www.beckman.com.

VAROITUS JA VAROTOIMET

1. Älä käytä reagenssia viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
2. Ei saa jäätyä.
3. Anna sen lämmetä huoneenlämpöiseksi (18–25 °C) ennen käyttöä.
4. Minimoi altistuminen valolle.
5. Vältä reagenssien mikrobikontaminaatiota, muutoin vaarana ovat virheelliset tulokset.

6. Natriumatsidia (NaN_3) sisältäviä vasta-aineliuoksia tulee käsitellä varoen. Sitä ei saa niellä, ja sen joutumista iholle, limakalvoille ja silmiin on vältettävä.

   Lisäksi happamassa liuoksessa natriumatsidi voi muodostaa mahdollisesti vaarallista hydratsoehappoa. Jos reagenssi on hävitettävä, se on suositeltavaa laimentaa suureen vesimäärään ennen sen kaatamista viemäriin, jotta natriumatsidia ei pääse kertymään metalliputkiin ja vältetään räjähdysvaara.
7. Kaikkia verinäytteitä on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina, ja niitä on käsiteltävä varovaisesti (erityisesti on muistettava suojakäsineiden, -pukujen ja -lasien käyttö).
8. Älä koskaan pipetoi suulla ja vältä näytteiden kaikkea kosketusta ihoon, limakalvoihin ja silmiin.
9. Veriputket ja käsittelyyn käytetyt kertakäyttöiset materiaalit on hävitettävä poltettaviksi tarkoitetuissa ad hoc -astioissa.
10. Reagenssit ja jätteet on hävitettävä paikallisten vaatimusten mukaisesti.

GHS-VAARALUOKITUS

Ei luokiteltu vaaralliseksi

SDS Käyttöturvallisuustiedote on saatavana osoitteessa beckmancoulter.com/techdocs

SÄILYTYS JA STABILITEETTI

Tätä reagensseja on säilytettävä 2–8 °C:n lämpötilassa ja suojattava valolta ennen ampullin avaamista ja sen jälkeen.

Suljetun ampullin säilyvyysaika stabiliteettitutkimuksen mukaan: 1095 päivää.

Avatun ampullin stabiliteetti: reagenssi on stabiili 180 päivän ajan.

MERKIT PILAANTUMISESTA

Mahdolliset muutokset reagenssin fyysisessä ulkonäössä voivat viitata huonontumiseen, eikä reagenssia saa tällöin käyttää.

Jos tarvitset lisätietoja tai jos sait vahingoittuneen tuotteen, soita Beckman Coulter -asiakaspalveluun numeroon 800 742 2345 (USA ja Kanada) tai ota yhteyttä Beckman Coulterin paikalliseen edustajaan.

SISÄLTÖ

Natriumatsidi-säilöntäaine saattaa muodostaa räjähtäviä yhdisteitä metallisissa viemäriputkissa. Katso NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.08.1976). Huuhtele viemäriputket vedellä laimentamattoman reagenssin poiston jälkeen mahdollisen atsidiyhdisteiden kerääntymisen estämiseksi. Hävitä natriumatsidi asianmukaisten paikallismääräysten mukaisesti.

TARVITTAVAT MATERIAALIT, JOITA EI TOIMITETA SARJAN MUKANA:

- Näytteenottoon tarvittavat näytteenottoputket ja materiaalit.
- Automaattiset pipetit, joissa kertakäyttökärjet 20, 100 ja 500 µl.
- Muoviset hemolyysiputket.
- Punasolujen lyysireagenssi ja pesuvaihe lyysin jälkeen. Esimerkiksi: VersaLyse (viite A09777).
- Leukosyyttien kiinnitysreagenssi. Esimerkiksi: IOTest 3 -fiksatiiviliuos (viite A07800).
- Puskuri (PBS: 0,01 M natriumfosfaattia, 0,145 M natriumkloridia, pH 7,2).
- Sentrifugi.
- Automaattinen sekoitin (Vortex-/pyörretyyppinen).
- Virtaussytometri.

VERSALYSE-REAGENSSIN MENETTELY

1. Lisää asianmukainen tilavuus 20 µl spesifiä IOTest-konjugoitua vasta-ainetta jokaiseen testiputkeen.
2. Lisää 100 µl testinäytettä kuhunkin putkeen. Sekoita putkia vorteksilla varovaisesti.
3. Inkuboi 15–20 minuuttia huoneenlämmössä (18–25 °C), valolta suojattuna.
4. Tee sitten punasolujen lyysaus. Tutustu VersaLyse (viite A09777) -selosteeseen ja noudata mieluiten menettelyä, jonka nimessä on maininta ”rinnakkaiskiinnityksen kanssa” ja johon sisältyy ohje lisätä 1 ml kiinnitys- ja lyysiseosta, joka on valmistettu kyseistä tapausta varten. Sekoita välittömästi vorteksilla yhden sekunnin ajan ja inkuboi 10 minuuttia huoneenlämmössä, valolta suojattuna.
5. Sentrifugoi 150 x g 5 minuutin ajan huoneenlämmössä.
6. Poista supernatantti aspiroimalla.
7. Suspendoi solupelletti uudelleen käyttämällä 3 ml PBS:ää.
8. Toista vaihe 6.
9. Poista supernatantti aspiroimalla ja suspendoi solupelletti käyttämällä:

- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää plus 0,1 % formaldehydiä, jos valmisteet aiotaan säilyttää alle 24 tuntia. (0,1 % formaldehydiä sisältävä PBS saadaan laimentamalla 12,5 µl IOTest 3 -fiksatiiviliuosta (viite A07800) sen 10-kertaisella pitoisuudella 1 ml:aan PBS:ää).
- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää ilman formaldehydiä, jos valmisteet tullaan analysoimaan 2 tunnin sisällä.

Huomautus: Pidä valmisteet kaikissa tapauksissa 2–8 °C:n lämpötilassa ja valolta suojattuna.

ODOTETUT ARVOT

Laboratorioissamme 25 ilmeisesti terveen luovuttajan kokoverinäytteet käsiteltiin edellä kuvatulla reagenssilla. Seuraavassa taulukossa esitetään tällä reagenssilla saadut tulokset, kun kiinnostuksen kohteena olleet positiiviset tapahtumat laskettiin:

Positiivinen kohde	Lukumäärä	Keskiarvo (%)	SD	CV (%)
Lymfosyytit	25	20,46	10,29	50,28

Nämä arvot on tarkoitettu vain esimerkeiksi. Jokaisen laboratorion tulee luoda omat odotetut arvonsa paikallisen normaalien luovuttajien populaation mukaan.

SUORITUSKYKY

Suorituskykytiedot saadaan edellä kuvatulla menetelmällä käyttämällä alle 24 tunnin ikäisistä näytteistä, jotka on aiemmin kerätty steriileihin putkiin, joissa antikoagulanttina on EDTA-suola. Analyysi suoritetaan 2 tunnin kuluessa immunovärjäyksestä.

SPESIFISYYS

CD57-molekyyli, alun perin nimeltään HNK- 1, on molekyylipainoltaan 110–115 kDa:n glykoproteiini. CD57-molekyyli on oligosakkaridiantigeeniyhdiste, jossa on sulfatoituja glukuronihappojäämiä. Se liittyy monenlaisiin polypeptideihin, lipideihin ja kondroitiinisulfaattiproteoglykaaneihin, joita on eri kudoksissa. CD57-molekyyliä ilmentyy hematopoieettisten, neuroektodermaalisten ja neuroendokriinisten solujen sekä poikkijuovaisten lihasten ja eturauhasen epiteelin alijoukoissa (11, 12, 13, 14).

CD57-antigeeni tunnistettiin aluksi hematopoieettisessa kudoksessa, jossa sitä ilmeni suurimmassa osassa suuria granulaarisia lymfosyyttejä (LGL). Useimmilla aikuisilla CD57-antigeeniä ilmennetään NK-solujen alijoukossa ja CD8-positiivisissa T-lymfosyyteissä (13). CD57-molekyyliä ilmennetään luuydinsolujen alijoukossa, ja sitä ei vaikuta ilmenevän napanuoraveren lymfosyyteissä.

Itukeskuksen imusolmukkeiden CD4+ / CD45RO+ -T-lymfosyyttien alijoukko ilmentää CD57-antigeeniä (12, 13). Tietojen mukaan CD57-molekyyli on mukana solujenvälisessä vuorovaikutuksessa. L-selektiini (CD62L) ja P-selektiini (CD62P) -molekyylit voivat olla CD57:n mahdollisia ligandeja (11, 15). Monoklonaalinen vasta-aine NC1 määritettiin kuuluvaksi differentaatioryhmään CD57 ihmisleukosyyttien differentiaatioantigeenejä käsitelleessä viidennessä kansainvälisessä seminaarissa (Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens), joka pidettiin Bostonissa, Yhdysvalloissa vuonna 1993 (16).

TARKKUUS

Prosentuaaliset positiiviset arvot määritettiin käyttämällä kokoverta. Jokainen näyte käsiteltiin 4 kertaa, kahdesti päivässä päivänä 1 2 laitteessa käyttämällä 2 erää CD57-FITC monoklonaalisia vasta-ainereagensseja. Mittaukset (% positiivisia) tehtiin Navios-virtaussytometrillä. Analyysi tehtiin perustuen CLSI:n menetelmään EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivisten mittausmenetelmien tarkkuussuorituskyvyn arviointi).

Hyväksyntäkriteerimme on riippuvainen kussakin populaatiossa mitattujen positiivisten tapahtumien määrästä:

- Jos tapahtuma on positiivinen < 1 500, CV < 15 %
- Jos tapahtuma on positiivinen > 1 500, CV < 10 %

Lymfosyytit							
Positiivisten näytteiden lukumäärä (keskiarvo) = 804							
	Käyttäjien välinen	Sytometrin sisäinen	Erän sisäinen	Erien välinen	Ajojen välinen	Ajon sisäinen	Yhteensä
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
TULOKSET	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ULKOINEN TARKKUUS

Kohteen CD57-FITC tarkkuus arvioitiin vertaamalla tuloksia viitereagenssiin, joka toimi Navios-virtaussytometrilla käsitellyn kokoverinäytesarjan predikaattina. Testireagenssin ja vertailureagenssin välinen poikkeama määritettiin testitulosten välisen eron perusteella. Jos poikkeama on sallitun virhealueen rajoissa tai p-arvo ei osoita merkityksellistä eroa (> 0,05), näiden kahden reagenssin testituloksia pidetään vastaavina.

Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Luovuttajien määrä = 25				
Positiivinen kohde	Keskiarvo Δ	Δ % -solukriteeri	p-arvo	TULOKSET
Lymfosyytit	1,11	<5	2,71E-04	PASS

NOLLAMITTAUKSEN YLÄRAJA JA MITTAUKSEN ALARAJA

Tutkimus tehtiin CLSI EP17-A2:n mukaisesti, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Detektiokyvyn arviointi kliinisissä laboratoriomittausmenettelyissä). Mittauksen alaraja (LoD) on analyytin alhaisin pitoisuus, joka voidaan havaita johdonmukaisesti. Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Positive Target	Nollamittauksen yläraja (solu/µl)	Mittauksen alaraja (solu/µl)
Lymfosyytit CD3+ CD57+	1	2

RAJOITUKSET

1. Virtaussytometrialla saadut tulokset voivat olla virheellisiä, jos sytometri on kohdistettu epätarkasti, jos fluoresenssivuotoja ei ole kompensoitu oikein ja jos alueita ei ole sijoitettu tarkasti.
2. On suositeltavaa käyttää punasolujen lyysaukseen pesuvaiheen sisältävää tekniikkaa, koska tätä reagenssia ei ole optimoitu lyysaustekniikoille, joihin ei sisälly pesua.
3. Tulokset oivat tarkkoja ja toistettavissa, kunhan käytetyt menetelmät ovat teknisen selosteen mukaisia ja noudattavat hyviä laboratoriokäytäntöjä.
4. Tämän reagenssin konjugoitu vasta-aine kalibroidaan siten, että saadaan paras spesifisen signaalin ja epäspesifisen signaalin suhde. Siksi on tärkeää noudattaa reagenssin tilavuuden / näytteen suhdetta jokaisessa testissä.
5. Jos kyseessä on hyperleukosytoosi, laimenna veri PBS:ään siten, että saat arvoksi noin 5 x 10^9 leukosyyttiä/l (17).
6. Tietyissä sairaustiloissa, kuten vaikeassa munuaisten vajaatoiminnassa tai hemoglobinopatioissa, punasolujen hajoaminen voi olla hidasta, epätäydellistä tai jopa mahdotonta. Tässä tapauksessa yksitumaiset solut on suositeltavaa eristää käyttämällä tiheysgradienttia (esimerkiksi Ficoll) ennen värjäystä (18).

7. Potilailla, joita on hoidettu muun kuin ihmisen monoklonaalisilla vasta-aineilla, kohdeantigeenin havaitseminen voi heikentyä tai estyä osittain tai kokonaan hoidossa käytetyn vasta-aineen vaikutuksesta.
8. CD57-FITC-tulosten tulkinnassa on otettava huomioon potilaan kaikki kliiniset tiedot, mukaan lukien oireet, kliininen historia, lisätestien tiedot ja muut asianmukaiset tiedot.

Katso esimerkkejä ja viitteitä liitteestä.

TAVARAMERKIT

Beckman Coulter, tyylitelty logo ja tässä mainitut Beckman Coulter -tuotteiden ja palveluiden merkit ovat Beckman Coulter, Inc:in tavaramerkkejä tai rekisteröityjä tavaramerkkejä Yhdysvalloissa ja muissa maissa.

LISÄTIETOJA

Potilaalle / käyttäjälle / kolmannelle osapuolelle Euroopan unionin alueella ja maissa, joissa on samanlainen sääntelyjärjestelmä (in vitro -diagnostiikkaan tarkoitettuja lääkinnällisiä laitteita koskeva asetus 2017/746/EU): jos tämän laitteen käytön aikana tai sen käytön seurauksena on tapahtunut vakava tapahtuma, ilmoita siitä valmistajalle ja/tai valmistajan valtuutetulle edustajalle sekä kansalliselle viranomaiselle.

Turvallisuutta ja suorituskykyä koskeva yhteenveto on saatavilla EUDAMED-tietokannasta osoitteesta ec.europa.eu/tools/eudamed.

TARKISTUSHISTORIA

VERSIO AD:	Julkaisupäivä: Lokakuu 2019

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AW	Toukokuu 2022
Päivitetty noudattamaan Beckman Coulterin maailmanlaajuista merkintämenettelyä ja IVD-R (EU)2017/746 -standardin vaatimuksia:	
Lisätyt osat	BSI 2797 -numero, Käyttötarkoituksen mukainen käyttäjä, Kliininen relevanssi, Pitoisuus, Tarkkuus, Ulkoinen tarkkuus, Nollamittauksen yläraja ja mittauksen alaraja, Lisätietoja, Tarkistushistoria.
Lisätyt tiedot	Katso kohta Rajoitukset
Sanamuodot tai typografiset päivitykset	Katso kohdat Menettely, Suorituskyky, Rajoitukset, Varoitus ja varotoimet, Säilytys ja stabiliteetti.
Poistetut osat	Esimerkki kliinisistä käyttötarkoituksista, Reagenssit, Laboratorionsisäinen toistettavuus, Lineaarisuus
Päivitetyt osat	Käyttötarkoitus, GHS-vaaraluokitus, Merkit pilaantumisesta, Menettely, Liite.

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AX	Huhtikuu 2023
Päivitetyt osat	Lisää kazakki
Päivitetyt osat	Säilytys ja stabiliteetti

Tarkistettu versio	AY
Tarkistuksen päivämäärä	Toukokuu 2024
Päivitetyt käännökset	**Kliininen merkitys:**
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Tarkistettu versio	AZ
Tarkistuksen päivämäärä	Heinäkuu 2024
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Symboliluettelo

Symbolisanasto on saatavana osoitteessa beckman.com/techdocs (asiakirjan numero B60062)

	Προδιαγραφές
Ειδικότητα	CD57
Κλώνος	NC1
Υβρίδωμα	SP2/0 x balb/c
Ανοσογόνο	Cells from quail ciliary ganglia
Ανοσοσφαιρίνη	IgM
Είδος	Μυς
Κάθαρση	Χρωματογραφία μέσω πηκτής
Φθορόχρωμα	Fluorescein isothiocyanate
Γραμμομοριακή αναλογία	FITC/Ig: 19 - 24
διέγερση λ	488 nm
Μέγιστη τιμή εκπομπών	525 nm
Ρυθμιστικό Διάλυμα	PBS pH 7,2 συν 2 mg/mL BSA και 0,1% NaN_3

IOTest
Συζευγμένο αντίσωμα
CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20 µL/εξέταση

Για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Αυτό το συζευγμένο με φθοροχρώματα αντίσωμα επιτρέπει την ποιοτική και μη αυτοματοποιημένη ταυτοποίηση των κυτταρικών πληθυσμών που εκφράζουν το αντιγόνο CD57 που απαντάται σε ανθρώπινα βιολογικά δείγματα, με χρήση κυτταρομετρίας ροής (δείτε την παρακάτω ενότητα «Δείγματα»).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Αυτή η εξέταση βασίζεται στην ικανότητα συγκεκριμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων να δεσμεύονται στους αντιγονικούς καθοριστές που εκφράζονται από τα λευκοκύτταρα.

Η ειδική χρώση των λευκοκυττάρων πραγματοποιείται μέσω της επώασης του δείγματος με το αντιδραστήριο IOTest. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια αφαιρούνται στη συνέχεια με λύση και τα λευκοκύτταρα, τα οποία δεν επηρεάζονται από αυτήν τη διαδικασία, αναλύονται με κυτταρομετρία ροής.

Το κυτταρόμετρο ροής μετρά τη διάχυση φωτός και τον φθορισμό των κυττάρων. Καθιστά δυνατή την οριοθέτηση του πληθυσμού ενδιαφέροντος εντός του ηλεκτρονικού παραθύρου που ορίζεται σε ένα ιστόγραμμα, το οποίο συσχετίζει την ορθογώνια διάχυση φωτός (πλάγια σκέδαση ή SS) και τη διάχυση φωτός κλειστής γωνίας (πρόσθια σκέδαση ή FS). Άλλα ιστογράμματα που συνδυάζουν δύο από τις διαθέσιμες διαφορετικές παραμέτρους του κυτταρόμετρου μπορούν να χρησιμοποιηθούν υποστηρικτικά κατά το στάδιο της οριοθέτησης, ανάλογα με την εφαρμογή που επιλέγει ο χρήστης.

Ο φθορισμός των οριοθετημένων κυττάρων αναλύεται προκειμένου να είναι δυνατή η διάκριση μεταξύ των θετικά σημασμένων συμβάντων και των μη σημασμένων συμβάντων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ποσοστό των θετικών συμβάντων σε σχέση με το σύνολο των συμβάντων που ελήφθησαν από την οριοθέτηση.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΟΣ ΧΡΗΣΤΗΣ

Αυτό το προϊόν προορίζεται για επαγγελματική εργαστηριακή χρήση.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΝΑΦΕΙΑ

Το CD57-FITC είναι ένα αντίσωμα CD57 που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό κυττάρων που εκφράζουν το αντιγόνο CD57 με κυτταρομετρία ροής. Αυτό το προϊόν από μόνο του δεν μπορεί να παράγει οποιοδήποτε διαγνωστικό συμπέρασμα και δεν προορίζεται για αυτήν τη χρήση.

Όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλους δείκτες, αυτό το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μία ή περισσότερες από τις ακόλουθες λειτουργίες:

- Ως βοήθημα στη διαφορική διάγνωση μη φυσιολογικών αιματολογικά ασθενών με υποψία αιμοποιητικής νεοπλασίας και για την παρακολούθηση ασθενών με γνωστή αιμοποιητική νεοπλασία.
- Ως βοήθημα στην πρόγνωση ασθενών με αιμοποιητική νεοπλασία.
- Ως βοήθημα στη διάγνωση ασθενών με υποψία ανοσοανεπάρκειας και για την παρακολούθηση ασθενών με γνωστή ανοσοανεπάρκεια.

Δείτε τις ακόλουθες παραπομπές:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Τα δείγματα φλεβικού αίματος πρέπει να διατηρούνται σε αποστειρωμένα σωληνάρια που περιέχουν άλας EDTA ως αντιπηκτικό.

Τα δείγματα θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) και δεν θα πρέπει να ανακινούνται. Πριν από τη λήψη του δείγματος προς εξέταση, τα δείγματα πρέπει να ομογενοποιούνται με ήπια ανάδευση.

Τα δείγματα πρέπει να αναλύονται εντός 24 ωρών από τη φλεβοκέντηση.

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ

Δείτε το ειδικό για την παρτίδα πιστοποιητικό ανάλυσης στη διεύθυνση www.beckman.com.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

1. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης.
2. Μην καταψύχετε.
3. Αφήστε το να περιέλθει σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) πριν από τη χρήση.
4. Ελαχιστοποιήστε την έκθεση στο φως.

5. Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διαφορετικά ενδέχεται να προκύψουν ψευδή αποτελέσματα.
6. Να χειρίζεστε τα διαλύματα αντισωμάτων που περιέχουν αζίδιο του νατρίου (NaN_3) με προσοχή. Μην εισπνέετε και αποφεύγετε κάθε επαφή με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.

   Επιπλέον, σε όξινο μέσο, το αζίδιο του νατρίου μπορεί να σχηματίσει ένα δυνητικά επικίνδυνο υδραζωτικό οξύ. Αν χρειαστεί να απορριφθεί, συνιστάται η αραίωση του αντιδραστηρίου με μεγάλη ποσότητα νερού πριν από την έκχυση στο αποχετευτικό σύστημα, προκειμένου να αποφευχθεί η συσσώρευση αζιδίου του νατρίου στις μεταλλικές σωληνώσεις και να αποτραπεί ο κίνδυνος έκρηξης.
7. Πρέπει να θεωρείτε όλα τα δείγματα αίματος δυνητικά μολυσματικά και να τα χειρίζεστε με προσοχή (ειδικότερα: να φοράτε προστατευτικά γάντια, ποδιές και γυαλιά).
8. Μην χρησιμοποιείτε ποτέ πιπέτα με το στόμα και αποφεύγετε κάθε επαφή των δειγμάτων με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.
9. Τα σωληνάρια αίματος και το υλικό μίας χρήσης που χρησιμοποιούνται για τον χειρισμό πρέπει να απορρίπτονται σε ειδικά δοχεία που προορίζονται για αποτέφρωση.
10. Τα αντιδραστήρια και τα απόβλητα πρέπει να απομακρύνονται σύμφωνα με τις τοπικές απαιτήσεις.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ GHS

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο

SDS Το δελτίο δεδομένων ασφάλειας διατίθεται στη διεύθυνση beckmancoulter.com/techdocs

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Πρέπει να φυλάσσετε αυτό το αντιδραστήριο σε θερμοκρασία 2 έως 8 °C και να το προστατεύετε από το φως πριν και μετά το άνοιγμα του φιαλιδίου.

Διάρκεια ζωής κλειστού φιαλιδίου ανά μελέτη σταθερότητας: 1095 ημέρες.

Σταθερότητα ανοιχτού φιαλιδίου: το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό για 180 ημέρες.

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ

Οποιαδήποτε μεταβολή στην εμφάνιση των αντιδραστηρίων είναι πιθανό να υποδεικνύει αλλοίωση και το αντιδραστήριο δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται.

Για επιπλέον πληροφορίες ή σε περίπτωση παραλαβής ελαττωματικού προϊόντος, επικοινωνήστε με την υπηρεσία εξυπηρέτησης πελατών της Beckman Coulter στο 800-742-2345 (για ΗΠΑ και Καναδά) ή με τον τοπικό αντιπρόσωπο της Beckman Coulter.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Το συντηρητικό αζιδίου του νατρίου μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικές ενώσεις στους μεταλλικούς αποχετευτικούς αγωγούς. Δείτε το ενημερωτικό δελτίο του NIOSH: Explosive Azide Hazard (Κίνδυνος έκρηξης αζιδίου) (16/8/76)
Για να αποφύγετε την ενδεχόμενη συσσώρευση ενώσεων αζιδίου, να εκπλένετε τους σωλήνες αποβλήτων με νερό μετά την απόρριψη μη αραιωμένου αντιδραστηρίου. Η απόρριψη του αζιδίου του νατρίου πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους αντίστοιχους τοπικούς κανονισμούς.

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΚΙΤ:

- Σωλήνες δειγματοληψίας και υλικό που είναι απαραίτητο για τη δειγματοληψία.
- Αυτόματες πιπέτες με ρύγχη μιας χρήσης για 20, 100 και 500 µL.
- Πλαστικά σωληνάρια αιμόλυσης.
- Αντιδραστήριο λύσης ερυθροκυττάρων με στάδιο πλύσης μετά τη λύση. Για παράδειγμα: VersaLyse (Ref. A09777).
- Αντιδραστήριο μονιμοποίησης λευκοκυττάρων. Για παράδειγμα: Διάλυμα μονιμοποίησης IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ρυθμιστικό διάλυμα (PBS: 0,01 M φωσφορικό νάτριο, 0,145 M χλωριούχο νάτριο, pH 7,2).
- Φυγόκεντρος.
- Αυτόματος αναδευτήρας (τύπου περιδίνησης).
- Κυτταρόμετρο ροής.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ VERSALYSE

1. Προσθέστε τον κατάλληλο όγκο 20 µL ειδικού συζευγμένου αντισώματος IOTest σε κάθε δοκιμαστικό σωληνάριο.
2. Προσθέστε 100 µL του αναλυόμενου δείγματος σε κάθε σωληνάριο. Περιδινήστε απαλά τα σωληνάρια.
3. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) για 15 έως 20 λεπτά, προστατεύοντας από το φως.
4. Στη συνέχεια, πραγματοποιήστε λύση των ερυθροκυττάρων. Ανατρέξτε στο φύλλο οδηγιών του VersaLyse (Ref. A09777) και ακολουθήστε κατά προτίμηση τη διαδικασία «με ταυτόχρονη μονιμοποίηση», που περιλαμβάνει την προσθήκη 1 mL μείγματος «μονιμοποίησης και λύσης», το οποίο παρασκευάστηκε πρόχειρα. Περιδινήστε αμέσως επί ένα δευτερόλεπτο και επωάστε επί 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, προστατεύοντας από το φως.
5. Φυγοκεντρήστε για 5 λεπτά στα 150 x g σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση.
7. Πραγματοποιήστε επαναιώρηση του κυτταρικού ιζήματος με 3 mL PBS.
8. Επαναλάβετε το βήμα 6.
9. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση και επαναιωρήστε το κυτταρικό ίζημα με:

- 0,5 mL ή 1 mL PBS συν 0,1% φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να φυλαχθούν για λιγότερο από 24 ώρες. (Μπορείτε να παρασκευάσετε διάλυμα 0,1% φορμαλδεΰδης/PBS με αραίωση 12,5 µL του μονιμοποιητικού διαλύματος IOTest 3 (Ref. A07800) 10πλάσιας συγκέντρωσης σε 1 mL PBS).
- 0,5 mL ή 1 mL PBS χωρίς φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να αναλυθούν εντός 2 ωρών.

Σημείωση: Σε κάθε περίπτωση, φυλάσσετε τα παρασκευάσματα προστατευμένα από το φως, σε θερμοκρασία μεταξύ 2 και 8 °C.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Στα εργαστήριά μας, τα δείγματα ολικού αίματος από 25 φαινομενικά υγιείς δότες υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με χρήση του αντιδραστηρίου που περιγράφεται παραπάνω. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν για την καταμέτρηση των θετικών συμβάντων ενδιαφέροντος με αυτό το αντιδραστήριο παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

Θετικός στόχος	Αριθμός	Μέση τιμή (%)	SD	CV (%)
Λεμφοκύτταρα	25	20,46	10,29	50,28

Οι τιμές αυτές παρέχονται αποκλειστικά για ενδεικτικούς σκοπούς. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να ορίσει τις δικές του αναμενόμενες τιμές βάσει του τοπικού πληθυσμού των φυσιολογικών δοτών.

ΑΠΟΔΟΣΗ

Τα δεδομένα απόδοσης λαμβάνονται με χρήση της διαδικασίας που περιγράφηκε παραπάνω σε δείγματα αίματος ηλικίας μικρότερης των 24 ωρών που συλλέχθηκαν προηγουμένως σε αποστειρωμένα σωληνάρια με άλας EDTA ως αντιπηκτικό. Η ανάλυση εκτελείται εντός 2 ωρών από την ανοσοχρώση.

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Το μόριο CD57, που ονομαζόταν αρχικά HNK- 1, είναι μια γλυκοπρωτεΐνη με μοριακό βάρος 110–115 kDa. Το μόριο CD57 είναι μια ολιγοσακχαριτική αντιγονική ένωση με θειωμένα κατάλοιπα γλυκουρονικού οξέος. Συνδέεται σε μια ποικιλία πολυπεπτιδίων, λιπιδίων και πρωτεογλυκανών θειικής χονδροϊτίνης που απαντούν σε διάφορους ιστούς. Το μόριο CD57 εκφράζεται σε υποομάδες αιμοποιητικών, νευροεξωδερμικών, νευροενδοκρινών, γραμμωτών μυϊκών και προστατικών επιθηλιακών κυττάρων (11, 12, 13, 14).

Το αντιγόνο CD57 αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά σε αιμοποιητικό ιστό, στην πλειονότητα των μεγάλων κοκκιωδών λεμφοκυττάρων (LGL). Στους περισσότερους ενήλικες, το αντιγόνο CD57 εκφράζεται σε μια υποομάδα των NK κυττάρων και σε Τ λεμφοκύτταρα θετικά για το CD8 (13). Το μόριο CD57 εκφράζεται σε μια υποομάδα κυττάρων του μυελού των οστών και δεν φαίνεται να υπάρχει στα λεμφοκύτταρα του αίματος του ομφάλιου λώρου.

Μια υποομάδα Τ λεμφοκυττάρων CD4+ / CD45RO+ από λεμφαδένες με βλαστικό κέντρο εκφράζουν το αντιγόνο CD57 (12, 13). Κάποια στοιχεία δείχνουν ότι το μόριο CD57 εμπλέκεται σε διακυτταρικές αλληλεπιδράσεις. Τα μόρια L-σελεκτίνης (CD62L) και P-σελεκτίνης (CD62P) είναι πιθανά προσδέματα του CD57 (11, 15). Το μονοκλωνικό αντίσωμα NC1 αντιστοιχίστηκε στη συστάδα CD57 κατά τη διάρκεια της 5ης Διεθνούς συνάντησης εργασίας για τα αντιγόνα διαφοροποίησης των ανθρώπινων λευκοκυττάρων, που πραγματοποιήθηκε το 1993 στη Βοστόνη, ΗΠΑ (16).

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Οι ποσοστιαίες θετικές τιμές προσδιορίστηκαν με χρήση ολικού αίματος. Κάθε δείγμα αναλύθηκε 4 φορές, δύο φορές την ημέρα για 1 ημέρα σε 2 όργανα με χρήση 2 παρτίδων αντιδραστηρίων μονοκλωνικού αντισώματος CD57-FITC. Οι μετρήσεις (% θετικών) πραγματοποιήθηκαν σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με βάση τη μέθοδο CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Αξιολόγηση της απόδοσης ακρίβειας για μεθόδους ποσοτικής μέτρησης).

Τα κριτήρια έγκρισης εξαρτώνται από τον αριθμό των θετικών συμβάντων που μετρώνται για κάθε πληθυσμό:

- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος <1.500, <15% CV
- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος >1.500, <10% CV

Λεμφοκύτταρα							
Αριθμός θετικών συμβάντων (μέσος όρος) = 804							
	Μεταξύ χειριστών	Μεταξύ κυτταρόμετρων	Εντός παρτίδας	Μεταξύ παρτίδων	Μεταξύ αναλύσεων	Εντός ανάλυσης	Σύνολο
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ακρίβεια του CD57-FITC αξιολογήθηκε με σύγκριση των αποτελεσμάτων με ένα αντιδραστήριο αναφοράς ως μέσο πρόγνωσης, σε ένα σύνολο δειγμάτων ολικού αίματος που αναλύθηκε σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Το συστηματικό σφάλμα μεταξύ εξέτασης και αντιδραστηρίου αναφοράς προσδιορίστηκε με βάση τη διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δοκιμής. Εάν το συστηματικό σφάλμα βρίσκεται εντός του επιτρεπόμενου εύρους σφαλμάτων ή η τιμή p δεν υποδεικνύει καμία σημαντική διαφορά (>0,05), τα αποτελέσματα δοκιμών για τα δύο αντιδραστήρια θεωρούνται ισοδύναμα.

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον πίνακα που ακολουθεί:

Αριθμός δοτών = 25				
Θετικός στόχος	Μέση τιμή Δ	Κριτήρια κυττάρων Δ %	Τιμή p	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
Λεμφοκύτταρα	1,11	<5	2,71E-04	PASS

ΟΡΙΟ ΤΥΦΛΟΥ ΚΑΙ ΟΡΙΟ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

Διεξήχθη μια μελέτη με βάση τις οδηγίες του CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Αξιολόγηση της ικανότητας ανίχνευσης για διαδικασίες μέτρησης κλινικών εργαστηρίων). Το όριο ανίχνευσης (OA) είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση αναλυόμενης ουσίας που μπορεί να ανιχνευτεί σταθερά. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Positive Target	Όριο τυφλού (κύτταρο/μL)	Όριο ανίχνευσης (κύτταρο/μL)
Λεμφοκύτταρα CD3+ CD57+	1	2

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Η κυτταρομετρία ροής ενδέχεται να παράγει ψευδή αποτελέσματα αν το κυτταρόμετρο δεν είναι σωστά ευθυγραμμισμένο, αν οι διαρροές φθορισμού δεν έχουν αντισταθμιστεί σωστά και αν οι περιοχές δεν έχουν τοποθετηθεί προσεκτικά.
2. Η τεχνική λύσης RBC είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται με ένα βήμα πλύσης, καθώς το συγκεκριμένο αντιδραστήριο δεν έχει βελτιστοποιηθεί για τεχνικές λύσης «χωρίς πλύση».

3. Ακριβή και επαναλήψιμα αποτελέσματα προκύπτουν στο μέτρο που οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι σύμφωνες με το ένθετο τεχνικών οδηγιών και συμβατές με τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές.
4. Το συζευγμένο αντίσωμα αυτού του αντιδραστηρίου είναι βαθμονομημένο ώστε να προσφέρει την καλύτερη αναλογία ειδικής σήμανσης/μη ειδικής σήμανσης. Γι' αυτό είναι σημαντικό να τηρείτε την αναλογία όγκου αντιδραστηρίου/όγκου δείγματος σε κάθε εξέταση.
5. Σε περίπτωση υπερλευκοκυτπάρωσης, αραιώστε το αίμα σε PBS ώστε να επιτευχθεί τιμή περίπου 5 x 10^9 λευκοκύτταρα/L (17).
6. Σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις, όπως η σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια ή οι αιμοσφαιρινοπάθειες, η λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων ενδέχεται να είναι αργή, ατελής ή και ανέφικτη. Σε αυτήν την περίπτωση, συνιστάται η απομόνωση των μονοπύρηνων κυττάρων με διαβάθμιση πυκνότητας (για παράδειγμα Ficoll) πριν από τη χρώση (18).
7. Σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπείες με αντι-ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα, η ανίχνευση των ειδικών στοχευόμενων αντιγόνων ενδέχεται να είναι μειωμένη ή να απουσιάζει λόγω μερικού ή πλήρους αποκλεισμού από το θεραπευτικό αντίσωμα.
8. Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων του CD57-FITC θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η συνολική κλινική εικόνα του ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων των συμπτωμάτων, του κλινικού ιστορικού, των δεδομένων πρόσθετων εξετάσεων και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Δείτε το Παράρτημα για παραδείγματα και παραπομπές.

ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ

Η επωνυμία Beckman Coulter, το τυποποιημένο λογότυπο και τα σήματα προϊόντων και υπηρεσιών της Beckman Coulter που αναφέρονται στο παρόν είναι εμπορικά σήματα ή σήματα κατατεθέντα της Beckman Coulter, Inc. στις Ηνωμένες Πολιτείες και σε άλλες χώρες.

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Για ασθενή/χρήστη/τρίτους στην Ευρωπαϊκή Ένωση και σε χώρες με όμοιο ρυθμιστικό καθεστώς (Οδηγία 2017/746/ΕΕ σχετικά με τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα), εάν, κατά τη χρήση αυτής της συσκευής ή ως αποτέλεσμα της χρήσης της, προκύψει σοβαρό περιστατικό, πρέπει να το αναφέρετε στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στις εθνικές αρχές της χώρας στην οποία κατοικείτε.

Το Summary of Safety and Performance (Σύνοψη ασφάλειας και απόδοσης) είναι διαθέσιμο στη βάση δεδομένων EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΕΩΝ

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ AD:	Ημερομηνία έκδοσης: Οκτώβριος 2019

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AW	2022. május
Ενημερώσεις για την επίτευξη συμμόρφωσης με την παγκόσμια πολιτική σήμανσης της Beckman Coulter και σύμφωνα με τις απαιτήσεις IVD-R (ΕΕ)2017/746:	
Προσθήκη ενοτήτων	Αριθμός BSI 2797, προβλεπόμενος χρήστης, κλινική συνάφεια, συγκέντρωση, πιστότητα, ακρίβεια, όριο τυφλού και όριο ανίχνευσης, πρόσθετες πληροφορίες, ιστορικό αναθεωρήσεων.
Προσθήκη πληροφοριών	Δείτε τις ενότητες «Περιορισμοί»
Εκφραστικές ή τυπογραφικές ενημερώσεις	Δείτε τις ενότητες «Διαδικασία», «Απόδοση», «Περιορισμοί», «Προειδοποίηση και προφυλάξεις», «Αποθήκευση και σταθερότητα».
Αφαίρεση ενοτήτων	Παράδειγμα κλινικών εφαρμογών, αντιδραστήρια, διεργαστηριακή επαναληψιμότητα, γραμμικότητα
Ενημερωμένες ενότητες	Προβλεπόμενη χρήση, Ταξινόμηση επικινδυνότητας κατά GHS, Ενδείξεις αλλοίωσης, Διαδικασία, Παράρτημα.

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AX	Απρίλιος 2023
Ενημερωμένες ενότητες	Προσθήκη Καζακικών
Ενημερωμένες ενότητες	Φύλαξη και σταθερότητα

Αναθεωρημένη έκδοση	AY
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Μάιος 2024
Ενημέρωση μεταφράσεων	**Κλινική συνάφεια:**
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθεωρημένη έκδοση	AZ
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Ιούλιος 2024
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Υπόμνημα συμβόλων

Το γλωσσάριο συμβόλων είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση beckman.com/techdocs (αριθμός εγγράφου B60062)

	仕様
特異性	CD57
クローン	NC1
ハイブリドーマ	SP2/0 x balb/c
免疫原	Cells from quail ciliary ganglia
免疫グロブリン	IgM
動物種	マウス
精製	ゲルろ過
蛍光色素	Fluorescein isothiocyanate
モル比	FITC / Ig： 19 - 24
λ励起	488 nm
発光のピーク	525 nm
緩衝化剤	PBS(pH 7.2) + 2 mg/mL BSAおよび0.1% NaN_3

IOTest

コンジュゲート抗体

CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20 µL/テスト

体外診断用。

用途

この蛍光色素結合抗体混合物により、フローサイトメトリーを用いてヒト生物検体に存在するCD57抗原を発現する細胞集団の定性的かつ非自動での同定が可能になります（以下の「検体」の項を参照）。

原理

このテストは、白血球が発現する抗原決定因子に対する特異的モノクローナル抗体の結合能に基づいています。

白血球の特異的染色は、検体をIOTest試薬とインキュベートすることによって行います。次に、赤血球を溶解によって除去し、このプロセスの影響を受けない白血球をフローサイトメトリーによって分析します。

フローサイトメーターは、細胞の光拡散および蛍光を測定します。これにより、直角散乱光（側方散乱、SS）および鋭角散乱光（前方散乱、FS）と相関するヒストグラム上で規定した電子枠内で対象集団の限界設定が可能になります。ユーザーが選択したアプリケーションに依存して、サイトメーターで利用可能な種々のパラメーターの2つを組み合わせたその他のヒストグラムが、ゲーティング段階の補助として利用できます。

陽性染色イベントと未染色イベントを鑑別するために、区分した細胞の蛍光を測定します。結果は、ゲーティングで得られた全イベントに対する陽性イベントの比率として表します。

対象ユーザー

本製品は、検査室での専門的な使用を目的としています。

臨床的妥当性

CD57-FITCは、フローサイトメトリーでCD57抗原を発現する細胞を同定および特性評価するために使用する抗体です。CD57この製品だけで診断の結論を下すことはできず、そのように意図されていません。

本製品は、他のマーカーと組み合わせて使用する場合、次の機能の1つまたは複数で使用できます。

- 造血系新生物が疑われる血液学的に異常な患者の鑑別診断を補助し、既知の造血系新生物を有する患者をモニタリングするため。
- 造血系新生物を有する患者の予後を支援するため。
- 免疫不全が疑われる患者の診断を補助し、既知の免疫不全患者をモニタリングするため。

以下の参考文献を参照してください。

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

検体

静脈血は、抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブを用いて採取しなければなりません。

検体は室温（18～25°C）で保管し、揺らさないようにする必要があります。検体は、テスト検体を採取する前に、穏やかな撹拌によって均質化する必要があります。

この検体は、静脈穿刺から24時間以内に分析する必要があります。

濃度

www.beckman.comでロット固有の分析証明書を参照してください。

警告および注意

1. 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
2. 凍結しないでください。
3. 使用前に室温（18～25°C）にしてください。
4. 露光をできるだけ避けてください。
5. 試薬の微生物汚染を避けてください。誤った結果の原因となる場合があります。

6. アジ化ナトリウム（NaN_3）を含む抗体溶液は慎重に扱う必要があります。体内に摂取してはならず、皮膚、粘膜および眼との接触はすべて避けてください。

   また、酸性媒体では、アジ化ナトリウムから潜在的危険性のあるアジ化水素酸が生成されることがあります。アジ化ナトリウムを含む試薬を廃棄する必要がある場合、金属製のパイプにアジ化ナトリウムが蓄積しないように、また爆発の危険性を防ぐために、試薬を多量の水で希釈してから排水システムに廃棄することを推奨します。
7. すべての血液検体は感染性の可能性があるとみなして慎重に取り扱う必要があります（特に保護手袋、実験着、ゴーグルの着用）。
8. 絶対に口でピペットを吸わないでください。また、皮膚、粘膜、目に検体が接触しないようにしてください。
9. 使用済みの採血管およびディスポーザブル製品は、焼却用の専用容器に入れて廃棄してください。
10. 試薬や廃棄物は地方自治体の要件に従って廃棄してください。

GHSハザード分類

危険有害物質には分類されない

SDS　安全性データシートは、beckmancoulter.com/techdocsで入手できます。

保管および安定性

この試薬は、バイアル開封の前後に2～8℃で保管し、遮光する必要があります。

各安定性試験におけるクローズドバイアルの保存期間：1095日間

開封後のバイアル：試薬は180日間安定しています。

変質や劣化の兆候

試薬の物理的な外観の変化は劣化の徴候である場合があり、その試薬を使用してはなりません。

追加情報に関して、または損傷している製品をお受け取りになった場合、ベックマン・コールターのカスタマーサービス800-742-2345（米国またはカナダ）にお電話をくださるか、最寄りの代理店に連絡してください。

内容

保存剤のアジ化ナトリウムは、金属製排水管内で爆発性化合物を生成するおそれがあります。 NIOSH Bulletinを参照してください: アジド爆発危険性（76/8/16）
アジド化合物が蓄積する可能性を回避するため、未希釈の試薬を廃棄した後は排水管を水で洗い流します。アジ化ナトリウムは地方自治体の規定に従い適切に廃棄してください。

ご用意いただくもの:

- サンプリングに必要なサンプリングチューブと材料。
- 使い捨てチップ付き自動ピペット（100および500 µL用）。20
- プラスチックの溶血チューブ。
- 溶血処理後に洗浄操作した赤血球溶血試薬。例：VersaLyse（製品番号A09777）。
- 白血球固定試薬。例：IOTest 3固定液（製品番号A07800）。
- 緩衝化剤（PBS：0.01 Mリン酸ナトリウム、0.145 M塩化ナトリウム、pH 7.2）。
- 遠心機
- 自動アジテーター（ボルテックスタイプ）。
- フローサイトメーター

VERSALYSE試薬による手順

1. 各試験チューブに適切な容量である20 µLの特異的IOTest結合抗体を添加します。
2. 各チューブに100 µLのテスト検体を添加します。チューブを穏やかに攪拌します。
3. 遮光した状態で、室温（18～25°C）で15～20分間インキュベートします。
4. 次に、赤血球の溶解を行います。VersaLyse(製品番号A09777)のリーフレットを参照し、できれば「同時固定」と呼ばれる手順に従います。この手順では、その場で調製した「固定/溶解」混合液1 mLを加えます。直ちに1秒間撹拌し、室温、遮光下で10分間インキュベートします。
5. 室温で5分間遠心分離（150 x g）します。
6. 吸引により上清を除去します。
7. 3 mLのPBSを用いて細胞ペレットを懸濁します。
8. ステップ 6 を繰り返します。
9. 吸引により上清を除去し、以下により細胞ペレットを再懸濁します。

- 調製液の保存期間が24時間未満の場合、ホルムアルデヒド0.1%を含むPBS 0.5 mLまたは1 mL。（0.1%ホルムアルデヒドを含むPBSは、12.5 µLの10倍濃度のIOTest 3固定液（製品番号A07800）を1 mLのPBSに希釈して作製できます）。
- 調製液を2時間以内に分析する場合、ホルムアルデヒドを含まないPBS 0.5 mLまたは1 mL。

注記：いかなる場合でも、調製液は2～8°Cに保ち、遮光してください。

期待値

弊社検査室では、上記の試薬を用いて見かけ上健常なドナー25名の全血検体を処理しました。本試薬による陽性イベント数測定で得た結果を以下の表に示します。

陽性標的細胞	番号	平均（%）	SD	CV（%）
リンパ球	25	20.46	10.29	50.28

これらの値は、代表的な値であることのみを意図しています。各検査室は、正常なドナーの現地の集団から独自の期待値を確立してください。

性能

性能データは、以前に抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブに採取した24時間未満経過した血液検体を対象に、上述の手順を用いて取得しなければなりません。分析は、免疫染色後2時間以内に行います。

特異性

当初はHNK-1と呼ばれていたCD57分子は、、分子量110 ~ 115 kDaの糖タンパク質です。CD57分子は、硫酸化グルクロン酸残基を含むオリゴ糖抗原化合物です。この分子は、多様な組織上に見られるさまざまなポリペプチド、脂質、コンドロイチン硫酸プロテオグリカンに結合しています。CD57分子は、造血細胞、神経外胚葉細胞、神経内分泌細胞、横紋筋上皮、前立腺上皮の亜集団で発現しています（11, 12, 13, 14）。

CD57抗原は最初、造血組織中の大部分の顆粒球（LGL）上で同定されました。ほとんどの成人において、CD57抗原はNK細胞およびCD8陽性Tリンパ球の亜集団で発現しています（13）。CD57分子は、骨髄細胞の亜集団で発現しており、臍帯血リンパ球では認められないように思われます。

生殖中心リンパ節由来のCD4+/CD45RO+Tリンパ球の亜集団は、CD57抗原を発現します（12, 13）。CD57分子が細胞間相互作用に関与していることを示すデータが報告されています。L-セレクチン（CD62L）およびP-セレクチン（CD62P）分子がCD57のリガンドである可能性があります（11, 15）。NC1モノクローナル抗体は、1993年に米国ボストンで開催された5th International Workshop on Human Leucocyte Differenciation Antigen（ヒト白血球分化抗原に関する第5回国際ワークショップ）において、CD57クラスターにアサインされました（16）。

精密性

陽性値の割合は、全血を使用して決定しました。各検体について、2つの装置で各4回を1日に2回、2ロットのCD57-FITCモノクローナル抗体試薬を使用して測定しました。Naviosフローサイトメーターで測定（%陽性）しました。CLSIメソッドEP5-A2に基づいて分析しました。Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.（定量的測定メソッドの精密性性能の評価。）

当社の判定基準は、各集団について測定された陽性イベントの数によって異なります。

- 陽性イベント< 1,500の場合、CV< 15%
- 陽性イベント> 1,500の場合、CV< 10%

リンパ球							
陽性イベント数（平均）= 804							
	オペレータ間	血球計算器間	ロット内	ロット間	測定間	測定内	総計
CV（%）	2.00	1.01	4.48	1.26	1.85	3.56	4.76
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

正確性

CD57-FITCの正確度は、一連の全血検体についてNaviosフローサイトメーターで測定した規準としての参照試薬と、結果を比較して評価しました。テスト試薬と参照試薬との間のバイアスは、テスト結果の差に基づいて決定しました。バイアスが許容誤差範囲内にある場合、またはp値が有意差を示さない場合（> 0.05）、2つの試薬のテスト結果は同等と見なされます。

得られた結果を、下表にまとめます。

ドナー数 = 25				
陽性標的細胞	平均Δ	Δ % 細胞基準	p値	結果
リンパ球	1.11	<5	2.71E-04	PASS

ブランク上限と検出限界

試験は、CLSI EP17-A2、Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（臨床検査室測定手順の検出能力の評価）に基づいて実施されました。検出限界（LoD）とは、一貫して検出可能な分析物の最小濃度です。取得した結果は、下表に表示されています。

Positive Target	ブランク上限（細胞/µL）	検出限界（細胞/µL）
リンパ球CD3+ CD57+	1	2

制限事項

1. フローサイトメトリーは、血球計数器が完全に配列されていない場合、蛍光リークが正しく相殺されていない場合、および領域が慎重に配置されていない場合、誤った結果を示す可能性があります。
2. この試薬は「洗浄なし」溶解手法用に最適化されていないため、洗浄ステップでRBC溶解法を使用することをお勧めします。
3. 取扱説明書および対応する検査室の実施基準に従って作業する限り、正確かつ再現性のある結果が得られます。
4. この試薬の結合抗体は、特異的シグナル/非特異的シグナル比が最適となるようにキャリブレーションされています。そのため、各テストでは、試薬量/検体量比を順守することが重要です。
5. 白血球増加症の場合、白血球数がおよそ5 x 10^9個/Lとなるよう、血液をPBSで希釈してください（17）。
6. 重度の腎不全やヘモグロビン異常など、特定の疾患状態では、赤血球の溶解が遅くなったり、不完全になったり、あるいは溶解できないことさえあります。この場合、染色する前に密度勾配（Ficollなど）を使用して単核細胞を分離することを推奨します（18）。
7. 抗ヒトモノクローナル抗体療法で治療を受けた患者では、治療用抗体による部分的または完全な遮断により、特定の標的抗原の検出が減少または消失する場合があります。
8. CD57-FITCの結果は、患者の総合的な臨床像、例えば諸症状、病歴、他のテストデータ、その他の該当情報などを踏まえて解釈する必要があります。

附録にある例および参考文献を参照してください。

商標

ここに記載されているBeckman Coulter、ロゴマーク、ならびにベックマン・コールターの製品およびサービスマークは、ベックマン・コールターの米国およびその他の国における商標と登録商標です。

その他

欧州連合、および規制制度が欧州連合と同一の国の患者/ユーザー/第三者（体外診断医療機器規制2017/746/EU）については、本機器の使用中または使用の結果、重大な事故が発生した場合、製造元および/または認定代理店ならびに所管の行政機関に報告してください。

「安全性および性能の概要」はEUDAMEDデータベース：ec.europa.eu/tools/eudamedより入手できます。

改訂履歴

改訂番号 AD：	発売日：2019年10月

改訂	**発行日**
AW	2022年5月
ベックマン・コールターのグローバルラベリングポリシーおよびIVD-R（EU）2017/746の要件に準拠するための更新：	
セクションの追加	BSI 2797番号、対象ユーザー、臨床関連性、濃度、精度、正確度、ブランク上限および検出限界、その他、改訂履歴。
情報を追加	「制限事項」のセクションを参照してください
言い回しまたはタイプミスの更新	「手順」、「性能」、「制限」、「警告および注意」、「保管および安定性」のセクションを参照してください。
セクションの削除	臨床応用の例、試薬、検査室内再現性、直線性
セクションの更新	用途、GHSハザード分類、変質や劣化の兆候、手順、附録。

改訂	**発行日**
AX	4月 2023
セクションの更新	カザフ語を追加
セクションの更新	コントロールの調製

改訂版	AY
改訂日	5月 2024
更新された翻訳	**臨床的妥当性：**
セクションの更新	保管および安定性

改訂版	AZ
改訂日	7月 2024
セクションの更新	保管および安定性

記号凡例

記号一覧は、beckman.com/techdocsで入手できます（文書番号B60062）

	规格
特异性	CD57
克隆	NC1
杂交瘤	SP2/0 x balb/c
免疫原	Cells from quail ciliary ganglia
免疫球蛋白	IgM
种类	小鼠
纯化	凝胶过滤法
荧光染料	Fluorescein isothiocyanate
摩尔比率	FITC/Ig： 19 - 24
λ 激励	488 nm
辐射峰值	525 nm
缓冲液	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 和 0.1% NaN_3

IOTest

结合抗体
CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20 µL/测试

供体外诊断使用。

预期用途

此种荧光染料结合抗体可通过流式细胞术对人体生物样本中存在的 CD57 抗原表达细胞群进行定性和非自动化鉴别（参阅下文“样本”部分）。

原理

该测试以特异性单克隆抗体能够与白细胞表达的抗原决定簇相结合这一特性为基础。

将样本与 IOTest 试剂一起培育，以便进行白细胞的特异性染色。然后通过裂解去除红细胞，再使用流式细胞术分析不受裂解过程影响的白细胞。

流式细胞仪可测定细胞的光漫射和荧光。这样可以限定直方图上定义的电子窗口内的感兴趣群体，直方图可以关联光的正交漫射（侧向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。细胞仪上可用的结合两个不同参数的其他直方图可以用于支持设门阶段，具体取决于用户所选的应用。

为了区分阳性染色事件和未染色事件，我们对划定细胞的荧光进行了分析。结果表示为阳性事件相对于设门获得的所有事件的百分比。

预期用户

本产品的预期用户为实验室专业人员。

临床意义

CD57-FITC 是一种 CD57 抗体，这些抗体用于通过流式细胞术鉴定和表征表达 CD57 抗原的细胞。单独使用此产品不能产生任何诊断结论，这也并非其预期用途。

与其他标志物结合使用时，本产品可用于以下一种或多种用途：

- 对疑似有造血系统肿瘤的血液学异常患者进行辅助鉴别诊断，并对已知患有造血系统肿瘤的患者进行监测。
- 辅助造血系统肿瘤患者的预后诊断。
- 辅助诊断疑似有免疫缺陷的患者，并监测已知患有免疫缺陷的患者。

参阅以下参考文献：

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

样本

必须使用含有 EDTA 盐作为抗凝血剂的无菌试管采集静脉血。

样本应保存在室温 (18-25°C) 条件下，并注意避免摇动。在吸取测试样本之前，应通过轻轻搅动使样本均质化。

样本必须在静脉采血后的 24 小时内分析。

浓度

请参阅 www.beckman.com 上的特定批次分析证书。

警告和注意事项

1. 请勿使用已过失效日期的试剂。
2. 切勿冷冻。
3. 使用前使其达到室温 (18–25°C)。
4. 尽量减少曝光。
5. 避免试剂受到微生物污染，否则可能出现错误结果。
6. 应小心处理含有叠氮化钠 (NaN_3) 的抗体溶液。请勿内服，并避免接触皮肤、粘膜和眼睛。

   此外，在中度酸性条件下，叠氮化钠可形成具有潜在危害的叠氮酸。若需要对其进行处置，建议您在将试剂倒入排污系统前用大量清水将其稀释，以避免叠氮化钠在金属管中累积并预防爆炸。
7. 所有血样都必须被视为具有潜在传染性，并且必须小心处理（具体地讲：穿戴防护手套、防护服和护目镜）。

8. 不得通过嘴巴移液，并避免样本以任何方式接触皮肤、黏膜和眼睛。
9. 用于处理的血液试管和一次性材料应丢弃于专门用于焚化的容器中。
10. 应根据当地要求处置试剂和废物。

GHS 危险等级分类

未被归为危险品

SDS 化学品安全技术说明书发布在 beckmancoulter.com/techdocs 上

存储和稳定性

在开瓶前后，必须将此试剂保存在 2-8°C 环境下，并注意避免光照。

根据稳定性研究的开封前保质期：1095 天。

已开瓶试剂的稳定性：试剂可稳定保存 180 天。

变质的迹象

试剂物理外观的任何变化都可能表明试剂变质，此时不应使用试剂。

有关其他信息，或者如果收到受损产品，请致电贝克曼库尔特公司客服：800-742-2345（美国或加拿大），或联系您当地的贝克曼库尔特代表。

目录

叠氮化钠防腐剂可在金属下水管道中形成易爆化合物。 请参阅 NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76)（美国国家职业安全与卫生研究所公报：易爆的叠氮化物危险品 [76/8/16]）。
为避免可能产生的叠氮化合物堆积，请在丢弃未经稀释的试剂后用水冲洗排污管。对叠氮化钠的丢弃必须符合当地的相关规定。

试剂盒中未提供的必需材料：

- 采样所需的采样管和材料。
- 可吸取 20100 和 500 µL 试剂的带有一次性吸头的自动移液器。
- 塑料溶血管。
- 红细胞溶解试剂在溶解后清洗。例如：VersaLyse（REF A09777）。
- 白细胞固定剂。例如：IOTest 3 固定剂（REF A07800）。
- 缓冲液（PBS：0.01 M 磷酸钠；0.145 M 氯化钠；pH 7.2）。
- 离心处理。
- 自动搅动器（旋涡型）。
- 流式细胞仪。

VERSALYSE 试剂的使用程序

1. 将适当体积的 20 µL 特异性 IOTest 结合抗体添加到每个测试试管中。
2. 添加 100 µL 测试样本到每个试管中。轻轻摇动试管。
3. 在室温 (18–25°C) 下避光孵育 15-20 分钟。
4. 然后进行红细胞裂解。请参阅 VersaLyse（REF A09777）说明书，最好按照名为“同时固定”的程序实施：加入 1 mL 临时配制的“固定-裂解”混合液。立即摇动 1 秒，并在室温条件下培育 10 分钟，注意避光。
5. 在室温下以 150 x g 离心处理 5 分钟。
6. 通过吸样去除上层清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新悬浮细胞微粒。
8. 重复第 6 步。
9. 通过吸样去除上层清液并使用以下溶液重新悬浮细胞微粒：

- 0.5 mL 或 1 mL PBS 与 0.1% 甲醛，若备品的保存时间低于 24 小时。（可通过在 1 mL PBS 中稀释 10 倍浓度的 12.5 µL IOTest 3 固定剂 [REF A07800] 获取含 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 0.5 mL 或 1 mL PBS，无甲醛，若制剂将在 2 小时内分析。

注释：任何情况下，制备试剂均需在 2-8°C 下避光保存。

预计值

我们在实验室中采用上述试剂处理了 25 名表观健康供体的全血样本。使用该试剂进行阳性目标颗粒计数得到的结果如下表所示：

阳性目标	数量	平均值 (%)	标准差	CV (%)
淋巴细胞	25	20.46	10.29	50.28

这些值仅供参考。各实验室应通过当地正常供体群体确定自己的预期值。

性能

使用上文描述的程序，通过分析之前采集在无菌试管（含有 EDTA 盐作为抗凝血剂）中未达 24 小时的血液样本获得了性能数据。在免疫染色后的 2 小时内进行分析。

特异性

CD57 分子最初命名为 HNK-1，是一种分子量为 110-115 kDa 的糖蛋白。CD57 分子是带有硫酸化葡萄糖醛酸残留物的低聚糖抗原化合物。它与在各种组织中发现的多种多肽、脂类和硫酸软骨素蛋白聚糖关联。CD57 分子表达在部分造血细胞、神经外胚层细胞、神经内分泌细胞、横纹肌和前列腺上皮细胞中 (11, 12, 13, 14)。

最初在大多数大颗粒淋巴细胞 (LGL) 的造血组织中识别到 CD57 抗原。在大多数成年人中，CD57 抗原表达在部分 NK 细胞和 CD8 阳性 T 淋巴细胞中 (13)。CD57 分子表达在部分骨髓细胞中，在脐血淋巴细胞中似乎找不到。

生发中心内淋巴结的部分 CD4+ / CD45RO+ T 淋巴细胞表达 CD57 抗原 (12,13)。数据表明，CD57 分子参与细胞间相互作用。L-选择素 (CD62L) 和 P-选择素 (CD62P) 分子可能是 CD57 的配体 (11,15)。在 1993 年于美国波士顿举办的 5th International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (第 5 届国际人类白细胞分化抗原会议)上，NC1 单克隆抗体被分配到 CD57 分化群 (16)。

精度

阳性百分比值用全血测定。每份样本使用 2 个批次的 CD57-FITC 单克隆抗体试剂，在 2 台仪器上运行 4 次，每天 2 次，持续 1 天。使用 Navios 流式细胞仪进行测量（阳性 %）。分析基于 CLSI method EP5-A2：Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：定量测量方法精度性能的评估）。

我们的接受限取决于针对每个群体所测得的阳性颗粒数：

- 如果阳性颗粒数 < 1,500，则 CV < 15%
- 如果阳性颗粒数 > 1,500，则 CV < 10%

淋巴细胞							
阳性颗粒数（平均值）= 804							
	操作人员间	细胞仪间	批次内	批次间	运行间	运行内	总数
CV (%)	2.00	1.01	4.48	1.26	1.85	3.56	4.76
结果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

准确性

评估 CD57-FITC 的准确性的方法为：将其与参考试剂分别应用于一组全血样本，然后用 Navios 流式细胞仪进行检测，之后比较结果。该测试与参考试剂之间的偏差根据测试结果的差异而确定。如果偏差在允许的错误范围内，或者 p 值没有显著差异 (> 0.05)，则认为这两种试剂的测试结果是等效的。

所得结果如下表所示：

献血人次 = 25				
阳性目标	平均值 Δ	Δ % 细胞标准	p 值	结果
淋巴细胞	1.11	<5	2.71E-04	PASS

空白检测限和检测限

研究人员根据 CLSI EP17-A2 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2 临床实验室测量程序检测能力的评估）进行了一项研究。检测限 (LOD) 指可被一致检出的最低分析物浓度。所得结果如下表所示：

Positive Target	空白检测限（个细胞/µL）	检测限（个细胞/µL）
淋巴细胞CD3+ CD57+	1	2

限制

1. 若流式细胞术未完全校准、荧光泄漏未得到正确补偿或未在该区域谨慎定位，则流式细胞术可能会产生错误结果。
2. 最好使用包含洗涤步骤的 RBC 裂解技术，因为该试剂未针对“无洗涤”裂解技术进行优化。
3. 只要所使用的程序符合技术插页说明书并遵守实验室管理规范，就可以获得准确和可重现的结果。
4. 校准该试剂的结合抗体，以提供最佳的特异性信号/非特异性信号比率。因此，在每次测试中都务必遵从此试剂体积/样本体积比率。
5. 如果白细胞过多，请在 PBS 中稀释血液，使白细胞浓度降低到约 5 x 10^9 个/L (17)。
6. 在严重肾衰竭、血红蛋白病等特定疾病状态中，红细胞裂解会变得缓慢、不完全，甚至无法实现。在这种情况下，建议在染色前通过密度梯度（例如聚蔗糖）隔离单核细胞 (18)。
7. 接受抗人单克隆抗体治疗的患者可能会因治疗抗体的部分或完全阻断而难以或无法检测特定的靶抗原。
8. 在判读 CD57-FITC 结果时，需参照患者的整体临床表现，包括：症状、临床病史、其他检查数据和其他适用的信息。

请参阅附录中的示例和参考文献。

商标

Beckman Coulter、标志以及文中提及的贝克曼库尔特产品和服务标记均是美国贝克曼库尔特有限公司在美国和其他国家/地区的商标或注册商标。

其他信息

对于欧盟及具有相同监管制度的国家/地区的患者/用户/第三方（Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices [有关体外诊断医疗装置的法规 2017/746/EU]）：如果在使用本装置期间或由于使用本装置而发生严重事件，请向制造商和/或其授权代表以及当地国家主管部门报告。

Summary of Safety and Performance（安全和性能摘要）提供在 EUDAMED 数据库中：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修订历史

修订版本 AD：	发布日期：2019 年 10 月

修订	**发布日期**
AW	2022 年 5 月

更新文档以符合贝克曼库尔特公司全球标签政策和 IVD-R (EU)2017/746 的要求：	
新增章节	BSI 2797 编号、预期用户、临床意义、浓度、精度、准确性、空白检测限和检测限、其他信息、修订记录。
添加了信息	参阅“限制”章节
更新了措辞或版面	参阅程序、性能、限制、警告和注意事项、储存和稳定性章节。
删除了几个章节	临床应用示例、试剂、实验室内重复性、线性度
更新后章节	预期用途、GHS 危险等级分类、变质的迹象、程序、附录。

修订	**发布日期**
AX	4 月 2023
更新后章节	添加哈萨克语
更新后章节	储存及稳定性

修订版本	AY
修订日期	5 月 2024
更新的翻译	**临床意义：**
更新后章节	修订历史

修订版本	AZ
修订日期	7 月 2024
更新后章节	修订历史

符号注解

符号词汇表发布于 beckman.com/techdocs（文档编号 B60062）

	Specifikacijos
Specifiškumas	CD57
Klonas	NC1
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunogenas	Cells from quail ciliary ganglia
Imunoglobulinas	IgM
Rūšis	Pelė
Išgryninimas	Gelio filtravimas
Fluorochromas	Fluorescein isothiocyanate
Molinis santykis	FITC/Ig: 19 - 24
λ žadinimas	488 nm
Spinduliuotės smailė	525 nm
Buferinis tirpalas	7,2 pH fosfato buferinis tirpalas plius 2 mg/ml GSA ir 0,1 % NaN_3

„IOTest“
Konjuguotas antikūnas CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 ml, 20 µl vienam tyrimui

Diagnostikai *in vitro*.

NAUDOJIMO PASKIRTIS

Naudojant šį su fluorochromu konjuguotą antikūną, srauto citometrijos būdu galima kokybiškai ir neautomatizuotu būdu identifikuoti ląstelių populiacijas, išreiškiančias CD57 antigeną, esantį žmogaus biologiniuose mėginiuose (žr. paskesnį skyrių „Mėginiai“).

PRINCIPAS

Šis tyrimas pagrįstas specifinių monokloninių antikūnų gebėjimu jungtis prie antigenų determinantų, kuriuos ekspresuoja leukocitai.

Specifinis leukocitų dažymo procesas atliekamas mėginį inkubuojant reagentu „IOTest“. Tada lizuojant pašalinami eritrocitai ir srauto citometrijos būdu analizuojami leukocitai, kurie per šį etapą nepaveikiami.

Srauto citometru matuojama ląstelių šviesos sklaida ir fluorescencija. Šiuo būdu galima tiriamąją populiaciją apriboti histogramoje apibrėžtu elektroniniu langu, kuris koreliuoja su šviesos sklaida stačiu kampu (šonine sklaida arba ŠS) ir šviesos sklaida smailu kampu (priekine sklaida arba FS). Kitos citometre įdiegtos histogramos, kuriose derinami du skirtingi parametrai, gali būti naudojamos kaip papildoma priemonė nustatant atrankos intervalus, žiūrint, kokį naudojimo būdą pasirinko naudotojas.

Analizuojant apribotų ląstelių fluorescenciją, teigiamai nudažyti įvykiai atskiriami nuo neigiamai nudažytų. Rezultatai išreiškiami kaip teigiamų įvykių procentinė dalis visų įvykių, gautų nustačius atrankos intervalą, atžvilgiu.

NUMATOMAS NAUDOTOJAS

Šis gaminys skirtas naudoti specialistams laboratorijose.

KLINIKINĖ SVARBA

CD57-FITC yra CD57 antikūnas, naudojamas CD57 antigeną ekspresuojančioms ląstelėms identifikuoti ir charakterizuoti srauto citometrijos būdu. Naudojant vien šį gaminį negalima padaryti jokios diagnostinės išvados ir jis nėra tam skirtas.

Kartu su kitais žymenimis naudojamas šis gaminys gali būti naudojamas vienu ar keliais iš toliau nurodytų tikslų.

- Hematologiškai nenormalių pacientų, kuriems įtariama kraujodaros sistemos neoplazma, diferencinei diagnozei palengvinti ir pacientams, kuriems jau nustatyta kraujodaros sistemos neoplazma, stebėti.
- Kraujodaros sistemos neoplazma sergančių pacientų prognozės numatymui palengvinti.
- Pacientų, kuriems įtariamas imunodeficitas, diferencinei diagnozei palengvinti ir pacientams, kuriems jau nustatytas imunodeficitas, stebėti.

Žr. šias nuorodas:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MĖGINIAI

Veninio kraujo mėginius reikia imti į sterilius mėgintuvėlius su EDTA druska kaip antikoaguliantu.

Mėginius reikia laikyti kambario temperatūroje (18–25 °C) ir nekratyti. Prieš paimant tiriamąjį mėginį reikia atsargiai sujudinti mėginus, kad jie taptų vienalyčiai.

Mėginiai turi būti išanalizuoti per 24 valandas po venų punkcijos.

KONCENTRACIJA

Žr. konkrečios partijos analizės sertifikatą, pateikiamą interneto svetainėje www.beckman.com.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. Reagento nenaudoti pasibaigus galiojimo laikui.
2. Neužšaldyti.
3. Prieš naudojant reikia leisti sušilti iki kambario temperatūros (18–25 °C).
4. Laikykite kuo mažiau apšviestoje vietoje.
5. Saugokite, kad reagentai nebūtų užteršti mikrobais, nes antraip gali būti gaunami klaidingi rezultatai.

6. Su antikūnų tirpalais, kurių sudėtyje yra natrio azido (NaN_3), reikia elgtis atsargiai. Nevartokite į vidų ir saugokitės, kad nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.

   Be to, rūgščioje terpėje natrio azidas gali išskirti potencialiai pavojingą hidrazo rūgštį. Jei jį reikia pašalinti, prieš pilant į nutekėjimo sistemą, reagentą rekomenduojama praskiesti dideliu vandens kiekiu, kad būtų išvengta natrio azido kaupimosi metaliniuose vamzdžiuose ir išvengta sprogimo pavojaus.
7. Visi kraujo mėginiai turi būti laikomi potencialiai užkrečiamais ir su jais turi būti elgiamasi atsargiai (itin svarbu dėvėti apsaugines pirštines, apsiaustus ir akinius).
8. Jokiu būdu nesiurbkite burna ir saugokitės, kad mėginių nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.
9. Panaudoti kraujo mėgintuvėliai ir vienkartinės medžiagos turėtų būti išmetami į sudeginamas ad hoc talpyklas.
10. Reagentai ir atliekos turi būti šalinami pagal vietinius reikalavimus.

GHS PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Neklasifikuojama kaip pavojinga

SDS Saugos duomenų lapą galima gauti interneto svetainėje beckmancoulter.com/techdocs

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Prieš atidarant ir atidarius buteliuką reagentas turi būti laikomas 2–8 °C temperatūroje ir saugomas nuo šviesos.

Uždaryto buteliuko tinkamumo naudoti laikas pagal stabilumo tyrimą: 1095 d.

Atidaryto buteliuko stabilumas: reagentas lieka stabilus 180 d.

KOKYBĖS PABLOGĖJIMO POŽYMIAI

Bet koks reagentų fizinės išvaizdos pokytis gali reikšti pablogėjusias gaminio savybes, todėl tokio reagento naudoti negalima.

Prireikus papildomos informacijos arba gavę sugadintą gaminį skambinkite į „Beckman Coulter“ klientų aptarnavimo skyrių telefonu 800-742-2345 (JAV arba Kanadoje) arba susisiekite su vietiniu „Beckman Coulter“ atstovu.

TURINYS

Natrio azido konservantas metalo vamzdynuose gali sudaryti sprogiuosius junginius. Žr. „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (Nacionalinio darbų saugos ir sveikatos instituto biuletenį: sprogstamojo azido pavojus) (76-8-16).
Norėdami išvengti galimo azido junginių susikaupimo, išpylę į kanalizacijos sistemą neatskiesto reagento, vandeniu praplaukite nutekamuosius vamzdžius. Natrio azidas turi būti šalinamas pagal taikomų vietos reglamentų reikalavimus.

REIKALINGOS, BET SU RINKINIU NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS

- Mėginiams imti reikalingi mėginių ėmimo mėgintuvėliai ir medžiagos.
- Automatinės pipetės su vienkartiniais antgaliais, skirtos 20, 100 ir 500 µl tūrio mėginiams.
- Plastikiniai hemolizės mėgintuvėliai.
- Raudonųjų kraujo kūnelių lizavimo reagentas su plovimo etapu baigus lizuoti. Pavyzdys: „VersaLyse“ (kat. nr. A09777).
- Leukocitų fiksavimo reagentas. Pavyzdys: fiksavimo tirpalas „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800).
- Buferinis tirpalas (fosfato buferinis tirpalas: 0,01 M natrio fosfato; 0,145 M natrio chlorido; pH 7,2).
- Nucentrifuguokite.
- Automatinis maišytuvas (sūkurinio tipo).
- Srauto citometras.

PROCEDŪRA NAUDOJANT REAGENTĄ „VERSALYSE“

1. Į kiekvieną tiriamąjį mėgintuvėlį įpilkite po 20 µl specifinio „IOTest“ konjuguoto antikūno.
2. Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite po 100 µl tiriamojo mėginio. Mėgintuvėlius atsargiai išmaišykite sūkuriniu būdu.
3. 15–20 minučių inkubuokite kambario temperatūroje (18–25 °C), saugodami nuo šviesos.
4. Tai padarę sulizuokite eritrocitus. Žr. „VersaLyse“ (kat. Nr. A09777) informacinį lapelį; rekomenduojama laikytis procedūros, vadinamos „su vienalaikiu fiksavimu“, kurios metu įpilama 1 ml prieš pat naudojant paruošto fiksavimo ir lizavimo mišinio. Tuojau pat vieną sekundę maišykite sūkuriniu būdu ir 10 minučių inkubuokite kambario temperatūroje, saugodami nuo šviesos.
5. 5 minutes centrifuguokite veikiant 150 x g jėgai kambario temperatūroje.
6. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą.
7. Iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami 3 ml fosfato buferinį tirpalą.
8. Pakartokite 6 veiksmą.
9. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą ir iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami toliau nurodytas medžiagas.

- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo ir 0,1 % formaldehido, jeigu preparatai bus laikomi mažiau nei 24 val. (0,1 % formaldehido fosfato buferinio tirpalo galima gauti 12,5 µl 10X koncentracijos fiksavimo tirpalo „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800) atskiedus 1 ml fosfato buferinio tirpalo.)
- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo be formaldehido, jeigu preparatai bus analizuojami per 2 val.

Pastaba. Visais atvejais preparatus laikykite 2–8 °C temperatūroje ir saugodami nuo šviesos.

TIKĖTINOS VERTĖS

Mūsų laboratorijose 25 tariamai sveikų donorų viso kraujo mėginiai buvo apdoroti pirmiau aprašytu reagentu. Toliau pateiktoje lentelėje nurodyti dominančių teigiamų įvykių skaičiaus rezultatai, gauti naudojant šį reagentą.

Teigiamas taikinys	Skaičius	Vidurkis (%)	SN	VK (%)
Limfocitai	25	20,46	10,29	50,28

Šios vertės tėra reprezentacinės. Kiekviena laboratorija turi iš vietinės normalių donorų populiacijos nustatyti savo numatomas vertes.

VEIKIMAS

Veikimo duomenys gauti, pirmiau aprašytą procedūrą atliekant su mažiau nei 24 val. senumo mėginiais, kurie buvo anksčiau paimti į sterilius mėgintuvėlius su antikoaguliantu EDTA druska. Analizė atliekama ne vėliau kaip 2 val. po imunodažymo.

SPECIFIŠKUMAS

CD57 molekulė, kurios pradinis pavadinimas HNK-1, yra glikoproteinas, kurio molekulinis svoris yra 110–115 kDa. CD57 molekulė yra oligosacharidų antigeninis junginys su sieros gliukurono rūgšties liekanomis. Ji susijusi su įvairiais polipeptidais, lipidais ir chondroitino sulfato proteoglikanais, randamais įvairiuose audiniuose. CD57 molekulė išreiškiama hematopoezės ląstelių, neuroektoderminių ląstelių, neuroendokrininių ląstelių, patemptų raumenų ir priešinės liaukos epitelio poaibiuose (11, 12, 13, 14).

CD57 antigenas iš pradžių buvo nustatytas hemopoeziniame audinyje daugelyje didelių granulių pavidalo limfocitų (LGL). Dažniausiai suaugusiųjų atveju CD57 antigenas išreiškiamas NK ląstelių ir CD8 teigiamų T limfocitų poaibiuose (13). CD57 molekulė išreiškiama kaulų čiulpų ląstelių poaibyje ir nėra randama virkštelės kraujotakos limfocituose.

CD4+ / CD45RO+ T limfocitų poaibis iš germinacinių centrinių limfmazgių išreiškia CD57 antigeną (12, 13). Duomenų ataskaita, nurodanti, kad CD57 molekulė dalyvauja tarpląstelinėje sąveikoje. L-selektino (CD62L) ir P-selektino (CD62P) molekulės gali būti CD57 ligandai (11, 15). NC1 monokloninis antikūnas buvo priskirtas CD57 grupei per „5-ąją tarptautinę konferenciją dėl žmogaus leukocitų diferencijavimo antigenų“ (ŽLDA), vykusią Bostone, JAV, 1993 m. (16).

GLAUDUMAS

Procentinės teigiamosios vertės nustatytos naudojant visą kraują. Kiekvienas mėginys buvo analizuojamas 4 kartus: 1 dieną, po du kartus, naudojant 2 prietaisus ir 2 CD57-FITC monokloninių antikūnų reagentų partijas. Matavimai (% teigiamų) buvo atlikti srauto citometru „Navios“. Analizė atlikta pagal „CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods“ (CLSI metodą EP5-A2 „Kiekybinių matavimo metodų glaudumo veikimo vertinimas“).

Mūsų priėmimo kriterijai priklauso nuo kiekvienoje populiacijoje nustatyto teigiamų įvykių skaičiaus:

- jeigu teigiamų įvykių < 1 500, VK < 15 %
- Jeigu teigiamų įvykių > 1 500, VK < 10 %

Limfocitai							
Teigiamų įvykių skaičius (vidurkis) = 804							
	Skirtingų operatorių	Skirtingų citometrų	Tos pačios partijos	Skirtingų partijų	Skirtingų analizių	Tos pačios analizės	Iš viso
VK (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
REZULTATAI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TIKSLUMAS

CD57-FITC tikslumas vertintas palyginant rezultatus su etaloniniu reagentu kaip patvirtinamąja priemone, srauto citometru „Navios“ analizuojant viso kraujo mėginių rinkinį. Bandomojo ir etaloninio reagentų paklaida nustatyta pagal tyrimo rezultatų skirtumą. Jeigu paklaida neviršija leidžiamojo paklaidų diapazono arba p reikšmė nerodo reikšmingo skirtumo (> 0,05), abiejų reagentų tyrimo rezultatai laikomi lygiaverčiais.

Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Donorų skaičius = 25				
Teigiamas taikinys	Vidurkis Δ	Δ % ląstelių kriterijai	p reikšmė	REZULTATAI
Limfocitai	1,11	<5	2,71E-04	PASS

RUOŠINIO RIBA IR APTIKIMO RIBA

Pagal CLSI EP17-A2 dokumentą „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Klinikinių laboratorinių matavimų procedūrų aptikimo pajėgumų vertinimas) atliktas mokslinis tyrimas. Aptikimo riba (LOD) yra mažiausioji analitės koncentracija, kurią galima nuolat aptikti. Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Positive Target	Ruošinio riba (ląst./µl)	Aptikimo riba (ląst./µl)
Limfocitai CD3+ CD57+	1	2

RIBOJIMAI

1. Atliekant srauto citometriją klaidingi rezultatai gali būti gauti tuo atveju, jei citometras nebuvo tiksliai sureguliuotas, fluorescencijos nuotėkiai nebuvo tinkamai kompensuoti ar regionai nebuvo kruopščiai išdėstyti.
2. Pageidautina taikant RBC lizavimo metodą atlikti plovimo etapą, nes šis reagentas nėra optimizuotas lizavimo „be plovimo“ metodikoms.
3. Tikslūs ir atkuriami rezultatai bus gaunami tol, kol naudojamos procedūros atitiks techniniame lapelyje pateiktą informaciją ir bus atliekamos laikantis geros laboratorijos praktikos.
4. Šio reagento konjuguotas antikūnas sukalibruotas taip, kad būtų gaunamas geriausias specifinio ir nespecifinio signalų santykis. Dėl šios priežasties atliekant kiekvieną tyrimą svarbu tiksliai laikytis nurodyto reagento ir mėginio tūrių santykio.
5. Hiperleukocitozės atveju kraują atskieskite fosfato buferiniu tirpalu, kad gautumėte maždaug 5 x 10^9 leukocitų/l koncentraciją (17).
6. Sergant kai kuriomis ligomis, pavyzdžiui, sunkiu inkstų nepakankamumu arba hemoglobinopatijomis, eritrocitai gali būti lėtai arba nevisiškai sulizuojami arba jų visai neįmanoma lizuoti. Tokiu atveju rekomenduojama prieš dažant atskirti vienbranduoles ląsteles tankio gradiento būdu (pavyzdžiui, Ficollo) (18).
7. Jeigu pacientams atliekama žmogaus monokloninių antikūnų terapija, specifiniai tiksliniai antigenai gali būti aptinkami prasčiau arba visai neaptinkami dėl dalinio arba visiško terapinio antikūno blokavimo.

8. CD57-FITC rezultatai turi būti interpretuojami remiantis bendra paciento klinikine būkle, atsižvelgiant į: simptomus, klinikinę anamnezę, papildomų tyrimų duomenis ir kitą atitinkamą informaciją.

Pavyzdžiai ir nuorodos pateikti priede.

PREKIŲ ŽENKLAI

„Beckman Coulter“, stilizuotas logotipas ir kiti šiame dokumente nurodyti „Beckman Coulter“ gaminių ir prekių ženklai yra „Beckman Coulter, Inc.“ prekių ženklai arba registruotieji prekių ženklai Jungtinėse Amerikos Valstijose ir kitose šalyse.

PAPILDOMA INFORMACIJA

Pacientams / naudotojams / trečiosioms šalims Europos Sąjungoje ir šalyse, kuriose galioja identiški reguliaciniai reikalavimai (Reglamentas (ES) 2017/746 dėl in vitro diagnostikos medicinos priemonių): jeigu naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko sunkus incidentas, apie jį praneškite gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui ir savo šalies nacionalinei institucijai.

„Summary of Safety and Performance“ (Saugos ir veikimo suvestinė) pateikiama EUDAMED interneto svetainėje ec.europa.eu/tools/eudamed.

PERŽIŪRŲ ISTORIJA

PERŽIŪRA AD:	Leidimo data: 2019 m. spalis

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AW	2022 m. gegužė
Atnaujinta pagal „Beckman Coulter“ visuotinių ženklinimo taisyklių ir IVD-R (ES)2017/746 reikalavimus.	
Pridėti skyriai	BSI 2797 numeris, „Numatomas naudotojas“, „Klinikinė svarba“, „Koncentracija“, „Glaudumas“, „Tikslumas“, „Ruošinio riba ir aptikimo riba“, „Papildoma informacija“, „Peržiūrų istorija“.
Pridėta informacija	Žr. skyrių „Ribojimai“
Frazavimo arba tipografiniai atnaujinimai	Žr. skyrius „Procedūra“, „Veikimas“, „Ribojimai“, „Įspėjimai ir atsargumo priemonės“, „Laikymas ir stabilumas“.
Pašalinti skyriai	„Klinikinio naudojimo pavyzdys“, „Reagentai“, „Laboratorijos vidaus atkartojamumas“, „Tiesiškumas“
Atnaujinti skyriai	„Paskirtis“, „Visuotiniai suderintos sistemos (GHS) pavojingumo klasifikacija“, „Kokybės pablogėjimo požymiai“, „Procedūra“, priedas.

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AX	Balandis 2023
Atnaujinti skyriai	Pridėta kazachų kalba
Atnaujinti skyriai	Laikymas ir stabilumas

Peržiūrėta versija	AY
Peržiūros data	Gegužė 2024
Atnaujintas vertimas	**Klinikinė svarba:**
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Peržiūrėta versija	AZ
Peržiūros data	Liepa 2024
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Simbolių sutartiniai ženklai

Simbolių terminų žodynas pateikiamas interneto svetainėje beckman.com/techdocs (dokumento numeris B60062).

	Specifikációk
Specificitás	CD57
Klón	NC1
Hibridóma	SP2/0 x balb/c
Immunogén	Cells from quail ciliary ganglia
Immunglobulin	IgM
Faj	Egér
Tisztítás	Gél szűrés kromatográfia
Fluorokróm	Fluorescein isothiocyanate
Moláris arány	FITC / Ig: 19 - 24
λ gerjesztés	488 nm
Kibocsátási csúcs	525 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plusz 2 mg/mL BSA és 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugált antitest
CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20 µL/teszt

***In vitro* diagnosztikai használatra.**

RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

Ez a fluorokrómmal konjugált antitest lehetővé teszi a humán biológiai mintákban a(z) CD57 antigént expresszáló sejtpopulációk áramlási citometriával végzett kvalitatív és nem automatizált azonosítását (lásd a „Minták” című alábbi fejezet).

MŰKÖDÉSI ELV

A vizsgálat azon alapul, hogy a specifikus monoklonális antitestek képesek-e kötődni a leukociták által expresszált antigén-determinánsokhoz.

A leukociták specifikus festése a mintának az IOTest reagenssel való inkubálásával történik. Az eritrocitákat ezután lízissel eltávolítják, és a leukocitákat, amelyekre nincs hatással ez a művelet, analizálni lehet áramlási citometriával.

Az áramlási citométer a sejtek fényszórását és fluoreszcenciáját méri. Ez lehetővé teszi a vizsgált populáció elhatárolását egy olyan elektronikus ablakon belül, amelyet a derékszögben szórt fény (oldalszóródás vagy SS) és a hegyes szögben szórt fény (előreszóródás vagy FS) intenzitását összehasonlító hisztogramon határoztak meg. Más, a citométer által mértek közül két paramétert kombináló hisztogramok használhatók kiegészítésként a kapuzási fázisban, a felhasználó által választott alkalmazástól függően.

Az elkülönített sejtek fluoreszcenciáját a rendszer elemzi a pozitívan festődött események megkülönböztetésére a nem festődöttektől. Az eredmények kifejezése a pozitív események százalékos arányaként történik a kapuzás által regisztrált összes eseményhez képest.

CÉLFELHASZNÁLÓ

Ez a termék laboratóriumi szakemberek általi használatra készült.

KLINIKAI JELENTŐSÉG

A CD57-FITC egy CD57 antitest, amely a(z) CD57 antigént expresszáló sejtek áramlási citometriás azonosítására és jellemzésére szolgál. Ez a termék önmagában nem képes arra, és nem is arra a célra lett kialakítva, hogy bármilyen diagnosztikai következtetést generáljon.

Más markerekkel kombinált használata esetén ez a termék az alábbiak közül egy vagy több célra használható:

- Segít azon rendellenes vérképű betegek differenciáldiagnózisában, akiknél hemopoetikus neoplasia gyanítható, valamint segít az ismerten hemopoetikus neoplasiaval rendelkező betegek monitorozásában.
- Segít a hemopoetikus neoplasiaban szenvedő betegek prognózisának felállításában.
- Segít azon betegek diagnózisában, akiknél fennáll az immundeficiencia gyanúja, valamint az ismerten immunhiányos betegek monitorozásában.

Lásd a következő hivatkozásokat:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MINTÁK

A vénás vért steril, alvadásgátlóként EDTA sóját tartalmazó csövekbe kell gyűjteni.

A mintákat szobahőmérsékleten (18–25 °C között) kell tárolni, és nem szabad felrázni. A tesztminta vétele előtt a mintákat homogenizálni kell óvatos rázással.

A minták elemzését a vénaszúráshoz képest 24 órán belül el kell végezni.

KONCENTRÁCIÓ

Lásd: www.beckman.com, tételspecifikus analitikai bizonylat.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

1. Ne használja a reagenst a lejárati időn túl.
2. Fagyasztani tilos.
3. Használat előtt hagyja felmelegedni szobahőmérsékletre (18–25 °C).
4. Minimalizálja a fényexpozíciót.
5. Kerülje el a reagensek mikrobiális kontaminációját, ebben az esetben hamis eredményeket kaphat.

6. A nátrium-azidot (NaN_3) tartalmazó antitestoldatokat körültekintően kell kezelni. A terméket nem szabad lenyelni, és nem érintkezhet bőrrel, nyálkahártyával vagy a szemmel.

   Sőt, savas közegben a nátrium-azid potenciálisan robbanékony nitrogén-hidrogénsavat képez. Ha ártalmatlanítani kell, javasolt a reagenst nagy mennyiségű vízzel hígítani a szennyvízcsatornába öntés előtt, hogy ne halmozódhasson fel nátrium-azid a fémcsövekben, és ne keletkezzen robbanásveszély.
7. Minden vérmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és óvatosan kell kezelni (azaz védőkesztyűt, köpenyt és szemüveget viselve).
8. Soha ne pipettázzon szájjal, és a minták soha ne érintkezzenek szemmel, bőrrel vagy nyálkahártyával!
9. A vércsöveket és a kezeléshez használt, egyszer használatos anyagokat olyan ad hoc tartóedényben kell kidobni, amely égetésre szolgál.
10. A reagenseket és a hulladékot a helyi követelmények szerint kell ártalmatlanítani.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Nincs veszélyes anyagként besorolva

SDS A biztonsági adatlap megtalálható a következő weboldalon: beckmancoulter.com/techdocs

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A reagenst a fiola kibontása előtt és után is 2 és 8 °C között, fénytől védve kell tárolni.

A lezárt fiola eltarthatósági ideje a stabilitási vizsgálat alapján: 1095 nap.

A felbontott fiola stabilitása: a reagens 180 napig stabil.

A MINŐSÉGROMLÁS JELEI

A reagensek fizikai megjelenésének bármilyen megváltozása megromlásra utalhat, és a reagenst nem szabad felhasználni.

További információkért, illetve sérült termék kézhezvétele esetén hívja a Beckman Coulter ügyfélszolgálatát a 800-742-2345-es számon (az Amerikai Egyesült Államokban és Kanadában), vagy lépjen kapcsolatba a Beckman Coulter területileg illetékes képviselőjével.

A CSOMAG TARTALMA

A nátrium-azid tartósítószer robbanékony vegyületeket képezhet a fém lefolyócsövekben. Lásd az alábbi NIOSH-közleményt: Explosive Azide Hazard (Robbanékony azidokkal kapcsolatos veszélyek) (76. 8. 16.).
Az azidvegyületek esetleges felhalmozódásának elkerülése érdekében a hígítatlan reagens szennyvízlefolyóba történő kiöntése után a szennyvízvezetéket vízzel át kell öblíteni. A nátrium-azid ártalmatlanítását a vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell végezni.

SZÜKSÉGES, DE A KÉSZLETTEL NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK:

- Mintacsövek és a mintavételhez használt anyagok.
- Automata pipetták eldobható hegyekkel 20, 100 és 500 µL-hez.
- Műanyag hemolíziscsövek.
- Vörösvértesteket lizáló reagens, a lízis után mosási fázissal. Például: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leukocitafixáló reagens. Például: IOTest 3 fixálóoldat (Ref. A07800).
- Puffer (PBS: 0,01 M nátrium-foszfát; 0,145 M nátrium-klorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automata keverő (vortex típusú).
- Áramlási citométer.

ELJÁRÁS VERSALYSE REAGENS ESETÉN

1. Adjon megfelelő mennyiségű, 20 µL speciális IOTest konjugált antitestet az egyes kémcsövekbe.
2. Adjon 100 µL tesztmintát mindegyik mintacsőhöz. Óvatosan vortexelje a mintacsöveket.
3. Inkubálja 15–20 percig szobahőmérsékleten (18–25 °C), fénytől védett helyen.
4. Ezután végezze el a vörösvértestek lízisét. Kövesse a VersaLyse (Ref. A09777) füzet utasításait és lehetőség szerint a „konkomittáns fixációval” nevű eljárást alkalmazza, amelynek során 1 mL, akkor és ott elkészített „Fix-and-Lyse” keveréket kell hozzáadni a mintához. Azonnal vortexelje egy másodpercig, majd inkubálja 10 percig szobahőmérsékleten, fénytől védve.
5. Centrifugálja 5 percig szobahőmérsékleten, 150 x g-vel.
6. Felszívás segítségével távolítsa el a felülúszót.
7. Reszuszpendálja a sejtpelletet 3 mL PBS-ben.
8. Ismételje meg az 6-ös lépést.
9. Felszívással távolítsa el a felülúszót, és reszuszpendálja a sejtpelletet az alábbi reagenssel:

- 0,1% formaldehidet tartalmazó 0,5 mL vagy 1 mL PBS, ha a készítményt kevesebb mint 24 óráig fogják tárolni. (0,1% formaldehidet tartalmazó PBS készítéséhez hígítson 12,5 µL IOTest 3 fixálóoldatot (Ref. A07800) a 10X koncentrációra 1 mL PBS-ben.)
- 0,5 mL vagy 1 mL PBS formaldehid nélkül, ha a preparátum elemzése 2 órán belül fog történni.

Megjegyzés: A készítményeket fénytől védve, 2 és 8 °C között kell tárolni.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

A laboratóriumainkban látszólag egészséges 25 donorok teljesvér-mintáit kezeltük a fent ismertetett reagenssel. Az ezzel a reagenssel kapott vizsgált pozitív események számolási eredményeit az alábbi táblázat tartalmazza:

Pozitív cél	Szám	Átlag (%)	SD	CV (%)
Limfociták	25	20,46	10,29	50,28

Ezek az értékek csak tájékoztatásul szolgálnak. Az egyes laboratóriumoknak meg kell határozniuk a saját várt értékeiket a helyi egészséges donorok populációjából.

TELJESÍTMÉNY

A teljesítményadatokat a fent leírt eljárás segítségével lehet megkapni az alvadásgátlóként EDTA-sót tartalmazó steril csövekbe levett vérmintákból a vérvételt követő kevesebb mint 24 órán belül. Az analízist az immunfestést követő 2 órán belül kell elvégezni.

SPECIFICITÁS

A CD57 molekula, eredeti nevén HNK-1, 110–115 kDa molekulatömegű glikoprotein. A CD57 molekula oligoszacharidot és szulfatált glükuronsav-maradékokat tartalmazó antigénvegyület. Kötődik többféle polipeptidekhez, lipidekhez és kondroitin-szulfát proteoglikánokhoz, amelyek különböző szövetekben találhatók. A CD57 molekula expresszálódik a hemopoetikus sejtek, a neuroektodermális sejtek, a neuroendokrin sejtek, a harántcsíkolt izomban található sejtek és a prosztata epiteliumában található sejtek bizonyos alcsoportjain (11, 12, 13, 14).

A CD57 antigént először a hemopoetikus szövetekben azonosították a nagy granuláris limfociták (LGL) többségén. Legtöbb felnőttben a CD57 antigén expresszálódik az NK-sejtek egyik alcsoportján és a CD8-pozitív T-limfocitákon (13). A CD57 molekula expresszálódik a csontvelői sejtek egyik alcsoportján, és úgy tűnik, nincs jelen a köldökzsinórvérben található limfocitákon.

A csíraközpontot tartalmazó nyirokcsomókban megtalálható CD4+ / CD45RO+ T-limfociták egyik alcsoportja expresszálja a CD57 antigént (12, 13). A kutatási adatok szerint a CD57 molekula szerepet játszik a sejt–sejt kölcsönhatásokban. A CD57 lehetséges ligandumai közé tartozik az L-szelektin (CD62L) és a P-szelektin (CD62P) molekula (11, 15). Az NC1 monoklonális antitestet rendelték a CD57 csoporthoz a humán leukocita differenciációs antigénekről tartott 5. nemzetközi műhely alkalmával (1993, Boston, Amerikai Egyesült Államok) (16).

PRECIZITÁS

A százalékos pozitív értékeket teljes vér felhasználásával határozták meg. Mindegyik mintát 4-szer futtatták, naponta kétszer 1 napig, 2 berendezésen, a CD57-FITC monoklonális antitest reagensek 2 gyártási tételének felhasználásával. A méréseket (pozitív %) Navios áramlási citométerrel végezték. Az analízist a CLSI által közzétett EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (A kvantitatív mérési módszerek precizitási teljesítményének értékelése) módszer alapján végezték.

Az elfogadhatósági kritériumaink az egyes populációknál mért pozitív események számától függ:

- Ha a pozitív esemény < 1500, CV < 15%
- Ha a pozitív esemény > 1500, CV < 10%

Limfociták							
Pozitív események száma (átlag) = 804							
	Felhasználók közötti	Citométerek közötti	Egy gyártási tételen belüli	Eltérő gyártási tételek közötti	Futtatások közötti	Egy futtatáson belüli	Összes
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
EREDMÉNYEK	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PONTOSSÁG

A CD57-FITC pontosságának értékeléséhez összevetették egy referencia reagens és a Navios áramlási citométeren futtatott teljesvér-minták eredményeit. A teszt- és a referenciareagens közötti torzítást a teszteredmények közötti különbségek alapján határozták meg. Ha a torzítás a megengedhető hibatartományon belül maradt, vagy ha a p-érték nem jelzett szignifikáns különbséget (> 0,05), akkor a két reagenssel kapott teszteredményeket egyenértékűnek tekintették.

Az eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Donorok száma = 25				
Pozitív cél	Átlag Δ	Δ % sejt kritériumok	p-érték	EREDMÉNYEK
Limfociták	1,11	<5	2,71E-04	PASS

VAK HATÁRÉRTÉK ÉS KIMUTATHATÓSÁGI HATÁRÉRTÉK

Vizsgálatot végeztek a CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (A klinikai laboratóriumi mérési eljárások kimutatási képességének értékelése) útmutatónak megfelelően. Kimutathatósági határérték (LOD) – a vizsgált anyag következetesen kimutatható legalacsonyabb koncentrációja. A kapott eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Positive Target	Vak határérték (sejt/µL)	Kimutathatósági határérték (sejt/µL)
Limfociták CD3+ CD57+	1	2

KORLÁTOZÁSOK

1. Az áramlási citometria hamis eredményeket adhat, ha a citométert nem igazítják tökéletesen, ha nem kompenzálják megfelelően a fluoreszcenciaszivárgást és ha a régiókat nem pozicionálják elég gondosan.
2. Érdemes egy mosási lépést is tartalmazó vörösvértest lizáló módszert alkalmazni, mivel ezt a reagenst nem optimalizálták „mosás nélküli” lizáló módszerekhez.
3. Pontos és megismételhető eredmények születnek, amennyiben az eljárásokat a műszaki tájékoztató szerint és a helyes laboratóriumi gyakorlattal összhangban végzik el.
4. A reagens konjugált antitestjét úgy kalibrálták, hogy a legjobb specifikus jel/nem specifikus jel arányt produkálja. Ezért fontos, hogy minden tesztnél betartsa a reagenstérfogat/mintatérfogat arányt.
5. Emelkedett leukocitaszám esetén hígítsa a vért annyi PBS hozzáadásával, hogy a fehérvérsejtek koncentrációja körülbelül 5 x 10^9 leukocita/L legyen (17).

6. Bizonyos betegségek, például súlyos veseelégtelenség vagy hemoglobinopátiák esetében előfordulhat, hogy a vörösvértestek lízise lassú, részleges, vagy akár lehetetlen. Ilyenkor javasolt a festés előtt a mononukleáris sejtek elkülönítése egy sűrűséggradiens alapján működő eljárással (ilyen például a Ficoll) (18).
7. A humán antigén elleni monoklonális antitest terápiában részesülő betegek esetében a specifikus célantigén kimutatásának mértéke csökkenhet vagy sikertelen lehet az alkalmazott terápiás antitest által okozott részleges vagy teljes gátlás miatt.
8. Az CD57-FITC eredményeket a beteg teljes klinikai képének fényében kell értelmezni, figyelembe véve a tüneteket, a kórtörténetet, más tesztek eredményeit és egyéb releváns adatokat.

A példákért és az irodalomjegyzékért lásd a Függeléket.

VÉDJEGYEK

A Beckman Coulter, a stilizált logó, valamint az itt említett Beckman Coulter termék- és szolgáltatásjegyek a Beckman Coulter, Inc. védjegyei vagy bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és más országokban.

TOVÁBBI INFORMÁCIÓK

Az Európai Unióban, illetve az EU-val azonos szabályozási rendszerrel (lásd: az EU 2017/746 rendelete az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökről) rendelkező országokban élő beteg/felhasználó/harmadik fél esetében: ha a jelen eszköz használata során vagy használata eredményeként súlyos váratlan esemény történik, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy hivatalos területi képviselőjének, valamint az illetékes nemzeti hatóságnak.

A Summary of Safety and Performance (A biztonság és a teljesítmény összefoglalása) című dokumentum elérhető az EUDAMED adatbázisban: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ÁTDOLGOZÁSOK

AD ÁTDOLGOZÁS:	Kiadás dátuma: 2019. október

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AW	2022. május
A Beckman Coulter globális címkézési szabályzatának megfelelő, valamint az IVD-R (EU) 2017/746 követelmények szerinti frissítések:	
Hozzáadott szakaszok	BSI 2797 szám, Célfelhasználó, Klinikai jelentőség, Koncentráció, Precizitás, Pontosság, Vak határérték és kimutathatósági határérték, További információk, Átdolgozások.
Új információk	Lásd a Korlátozások című részeket
Megfogalmazási vagy tipográfiai frissítések	Lásd az Eljárás, Teljesítmény, Korlátozások, Figyelmeztetések és óvintézkedések, Tárolás és stabilitás című részeket.
Eltávolított szakaszok	Példa klinikai alkalmazásra, Reagensek, Laboratóriumon belüli reprodukálhatóság, Linearitás
Frissített szakaszok	Rendeltetésszerű használat, GHS szerinti veszélyességi besorolás, A minőségromlás jelei, Eljárás, Függelék.

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AX	Április 2023
Frissített szakaszok	Kazak nyelv hozzáadása
Frissített szakaszok	Tárolás és stabilitás

Átdolgozott verzió	AY
Átdolgozás dátuma	Május 2024
Frissített fordítások	**Klinikai jelentőség:**
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Átdolgozott verzió	AZ
Átdolgozás dátuma	július 2024
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Szimbólumok listája

A szimbólumok jegyzéke elérhető a következő weboldalon: beckman.com/techdocs (dokumentumszám: B60062)

	Specyfikacje
Swoistość	CD57
Klon	NC1
Hybrydoma	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Cells from quail ciliary ganglia
Immunoglobulina	IgM
Gatunek	Mysz
Oczyszczanie	Chromatografia filtracji żelowej
Fluorochrom	Fluorescein isothiocyanate
Stosunek molowy	FITC / Ig: 19 - 24
Wzbudzenie λ	488 nm
Pik emisji	525 nm
Bufor	PBS o pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Przeciwciało skoniugowane CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

Do użytku diagnostycznego *in vitro*.

PRZEZNACZENIE

To przeciwciało skoniugowane z fluorochromem umożliwia jakościową i niezautomatyzowaną identyfikację populacji komórek wykazujących ekspresję antygenu CD57 obecnego w ludzkich próbkach biologicznych metodą cytometrii przepływowej (zobacz część „Próbki" poniżej).

ZASADA DZIAŁANIA

Ten test jest oparty na zdolności swoistych przeciwciał monoklonalnych do wiązania się z determinantami antygenowymi ekspresjonowanymi przez lekukocyty.

Barwienie swoiste leukocytów jest wykonywane poprzez inkubację próbki z odczynnikiem IOTest. Krwinki czerwone są następnie usuwane poprzez lizę, a leukocyty, na które ta liza nie wpływa, są analizowane metodą cytometrii przepływowej.

Cytometr przepływowy mierzy rozpraszanie światła i fluorescencję komórek. Umożliwia to odgraniczenie populacji zainteresowania w elektronicznym oknie zdefiniowanym na histogramie, który koreluje ortogonalne rozpraszanie światła (rozpraszanie boczne — Side Scatter, w skrócie SS) i rozpraszanie światła pod wąskim kątem (rozpraszanie do przodu, Forward Scatter, w skrócie FS). Na etapie bramkowania, w zależności od zastosowania wybranego przez użytkownika, można używać innych histogramów łączących dwa z różnych parametrów dostępnych w cytometrze.

Fluorescencja odgraniczonych komórek jest analizowana w celu odróżnienia zdarzeń barwionych dodatnio od zdarzeń nieulegających barwieniu. Wyniki są wyrażane jako odsetek zdarzeń dodatnich względem wszystkich zdarzeń zarejestrowanych poprzez bramkowanie.

UŻYTKOWNIK DOCELOWY

Produkt jest przeznaczony do profesjonalnego użytku w laboratoriach.

ZNACZENIE KLINICZNE

CD57-FITC to przeciwciało CD57 służące do identyfikowania i charakteryzowania komórek wykazujących ekspresję antygenu CD57 za pomocą cytometrii przepływowej. Ten produkt nie może samodzielnie generować i nie jest przeznaczony do generowania jakichkolwiek wniosków diagnostycznych.

W połączeniu z innymi markerami produkt ten może służyć do jednego lub kilku z następujących zastosowań:

- Do wspomagania diagnostyki różnicowej pacjentów z nieprawidłowym obrazem hematologicznym i podejrzeniem nowotworu układu krwiotwórczego oraz do monitorowania pacjentów ze stwierdzonym nowotworem układu krwiotwórczego.
- Jako pomoc w ustaleniu rokowania u pacjentów z nowotworem układu krwiotwórczego.
- Do wspomagania diagnostyki pacjentów z podejrzeniem niedoboru odporności oraz do monitorowania pacjentów z rozpoznanym niedoborem odporności.

Zobacz poniższe piśmiennictwo:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PRÓBKI

Krew żylną należy pobierać do sterylnych probówek zawierających antykoagulant w postaci soli EDTA.

Próbki należy przechowywać w temperaturze pokojowej (18–25°C), bez wytrząsania. Przed pobraniem próbki do testu należy uzyskać jednorodną mieszaninę poprzez delikatne mieszanie.

Próbki muszą zostać zbadane w ciągu 24 godzin od pobrania krwi żylnej przez nakłucie.

STĘŻENIE

Zobacz świadectwo analizy właściwe dla serii pod adresem www.beckman.com.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Nie używać odczynników po upływie daty ważności.
2. Nie zamrażać.
3. Przed użyciem odczekać, aż osiągnie temperaturę pokojową (18–25°C).
4. Maksymalnie ograniczyć narażenie na działanie światła.
5. Nie dopuścić do skażenia mikrobiologicznego odczynników, gdyż może to spowodować uzyskanie fałszywych wyników.

6. Z roztworami przeciwciał zawierającymi azydek sodu (NaN_3) należy postępować ostrożnie. Nie spożywać i nie dopuszczać do kontaktu ze skórą, błoną śluzową oraz oczami.

   Ponadto w środowisku kwaśnym azydek sodu może tworzyć potencjalnie niebezpieczny kwas azotowodorowy. W przypadku konieczności usunięcia zalecane jest rozcieńczenie odczynnika w dużej objętości wody przed wlaniem go do kanalizacji, aby uniknąć gromadzenia się azydku sodu w metalowych rurach i uniknąć ryzyka wybuchu.
7. Wszystkie próbki krwi należy uważać za potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi ostrożnie (w szczególności nosić ochronne rękawice, fartuchy i okulary).
8. Nigdy nie wolno pipetować ustami. Nie dopuszczać do kontaktu próbek ze skórą, błonami śluzowymi i oczami.
9. Probówki przeznaczone na krew i materiały jednorazowego użytku używane podczas procedury należy usuwać do pojemników ad hoc przeznaczonych do spalenia.
10. Odczynniki i odpady należy usuwać zgodnie z wymogami lokalnymi.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Produkt nie został sklasyfikowany jako niebezpieczny

SDS Karta charakterystyki jest dostępna pod adresem beckmancoulter.com/techdocs

MAGAZYNOWANIE I STABILNOŚĆ

Ten odczynnik musi być przechowywany w temperaturze 2–8°C z zapewnieniem ochrony przed światłem, zarówno przed otwarciem fiolki jak i po jej otwarciu.

W oparciu o wyniki badania stabilności dopuszczalny okres przechowywania w zamkniętej fiolce ustalono na: 1095 dni.

Stabilność otwartej fiolki: odczynnik zachowuje stabilność przez 180 dni.

OZNAKA POGORSZENIA WŁAŚCIWOŚCI

Wszelkie zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników mogą wskazywać na pogorszenie właściwości — odczynników takich nie należy używać.

W celu otrzymania dodatkowych informacji lub w przypadku otrzymania uszkodzonego produktu należy skontaktować się z działem obsługi klienta firmy Beckman Coulter pod numerem telefonu 800-742-2345 (USA lub Kanada) lub z miejscowym przedstawicielem firmy Beckman Coulter.

ZAWARTOŚĆ

Środek konserwujący, azydek sodu, może tworzyć związki wybuchowe w metalowych rurach kanalizacyjnych. Patrz NIOSH Bulletin (Biuletyn instytutu NIOSH): Explosive Azide Hazard (Niebezpieczeństwo wybuchu azydku) (16.8.76).
Po usunięciu nierozcieńczonego odczynnika należy przepłukać rury ściekowe wodą, aby uniknąć gromadzenia się azydków. Azydek sodu musi być usuwany zgodnie z odpowiednimi przepisami lokalnymi.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE Z ZESTAWEM:

- Probówki do pobierania próbek i materiały wymagane do pobierania próbek.
- Pipety automatyczne z jednorazowymi końcówkami na 20, 100 i 500 µL.
- Probówki z tworzywa sztucznego przeznaczone do hemolizy.
- Odczynnik do lizy erytrocytów, z etapem przemywania po etapie lizy. Przykład: VersaLyse (nr ref. A09777).
- Odczynnik do utrwalania limfocytów. Przykład: Roztwór utrwalający IOTest 3 (nr ref. A07800).
- Bufor (PBS: 0,01 M fosforan sodu; 0,145 M chlorek sodu; pH 7,2).
- Wirówka.
- Mieszadło automatyczne (typu worteks).
- Cytometr przepływowy.

PROCEDURA Z ODCZYNNIKIEM VERSALYSE

1. Dodać odpowiednią objętość 20 µL swoistego przeciwciała skoniugowanego IOTest do każdej probówki testowej.
2. Do każdej probówki dodać 100 µL próbki testowej. Łagodnie worteksować probówki.
3. Inkubować przez 15–20 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C), chroniąc przed światłem.
4. Następnie przeprowadzić lizę krwinek czerwonych. Zapoznać się z ulotką VersaLyse (nr ref. A09777). Preferowane jest postępowanie zgodnie z procedurą „z towarzyszącym utrwalaniem", która polega na dodaniu 1 mL przygotowanej wcześniej mieszaniny do utrwalania i lizy (Fix-and-Lyse). Bezzwłocznie worteksować przez jedną sekundę i inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej, chroniąc przed światłem.
5. Wirować przez 5 minut przy 150 x g w temperaturze pokojowej.
6. Usunąć supernatant poprzez zasysanie.
7. Zawiesić osad komórkowy w 3 mL PBS.
8. Powtórz krok 6.
9. Usunąć supernatant poprzez zasysanie i ponownie zawiesić osad komórkowy w:

- 0,5 mL lub 1 mL PBS oraz 0,1% formaldehydu, jeśli preparaty mają być przechowywane przez mniej niż 24 godz. (0,1% roztwór formaldehydu w PBS można uzyskać, rozcieńczając 12,5 µL roztworu utrwalającego IOTest 3 (nr ref. A07800) stężonego 10X w 1 mL PBS).
- 0,5 mL lub 1 mL PBS bez formaldehydu, jeśli preparaty zostaną poddane analizie w ciągu 2 godz.

Uwaga: Niezależnie od sytuacji preparaty należy przechowywać w temperaturze 2–8°C, chroniąc je przed światłem.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

W naszych laboratoriach próbki krwi pełnej od 25 dawców niewykazujących objawów chorobowych poddano obróbce z użyciem opisanego powyżej odczynnika. Uzyskane wyniki w zakresie liczby dodatnich zdarzeń zainteresowania w przypadku tego odczynnika podano w tabeli poniżej:

Dodatnie docelowe komórki	Liczba	Średnia (%)	SD	WZ (%)
Limfocyty	25	20,46	10,29	50,28

Wartości te są przeznaczone wyłącznie do celów poglądowych. Każde laboratorium powinno ustalić własne wartości oczekiwane z użyciem próbek reprezentatywnych dla lokalnej populacji zdrowych dawców.

WYDAJNOŚĆ

Dane dotyczące wydajności uzyskano z wykorzystaniem procedury opisanej powyżej na próbkach krwi mających mniej niż 24 godziny, uprzednio pobranych do sterylnych probówek z solą EDTA jako antykoagulantem. Badanie przeprowadzono w ciągu 2 godzin po barwieniu immunologicznym.

SWOISTOŚĆ

Cząsteczka CD57, pierwotnie zwana HNK- 1, to glikoproteina o masie cząsteczkowej 110–115 kDa. Cząsteczka CD57 to oligosacharydowa cząsteczka antygenowa z siarczanowymi resztami kwasu glukuronowego. Wiąże się ona z różnymi polipeptydami, lipidami i proteoglikanami siarczanu chondroityny występującymi na różnych tkankach. Cząsteczka CD57 ulega ekspresji na podzbiorach komórek hematopoetycznych, komórek neuroektodermalnych, komórkach neuroendokrynnych, mięśni prążkowanych oraz nabłonku gruczołu krokowego (11, 12, 13, 14).

Antygen CD57 był początkowo identyfikowany w tkance hematopoetycznej na większości dużych ziarnistych limfocytów (ang. large granular lymphocytes, LGL). U większości dorosłych antygen CD57 ulega ekspresji na podzbiorze komórek NK oraz CD8-pozytywnych limfocytów T (13). Cząsteczka CD57 ulega ekspresji na podzbiorze komórek szpiku kostnego i wydaje się nie występować na limfocytach krwi pępowinowej.

Podzbiór limfocytów T CD4+ / CD45RO+ z węzłów chłonnych ośrodka germinalnego wykazuje ekspresję antygenu CD57 (12, 13). Według danych cząsteczka CD57 bierze udział w oddziaływaniach międzykomórkowych. Możliwymi ligandami dla CD57 mogą być cząsteczki L-selektyny (CD62L) i P-selektyny (CD62P) (11, 15). Podczas Piątych Międzynarodowych Warsztatów Różnicowania Antygenów Leukocytów Ludzkich w Bostonie (USA) w 1993 r. przeciwciało monoklonalne NC1 przydzielono do gronka CD57 (16).

PRECYZJA

Odsetek wartości dodatnich określono przy użyciu krwi pełnej. Każdą próbkę oznaczano 4 razy, dwa razy na dobę przez 1 dzień na 2 analizatorach przy użyciu 2 serii odczynnika przeciwciała monoklonalnego CD57-FITC. Pomiary (% dodatnich) przeprowadzono na cytometrze przepływowym Navios. Badanie przeprowadzono na podstawie metody opisanej w wytycznych CLSI w dokumencie EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Ocena wydajności precyzji metody pomiarów ilościowych).

Nasze kryteria akceptacji są uzależnione od liczby zdarzeń dodatnich zmierzonych w każdej populacji:

- Jeśli zdarzenie dodatnie < 1500, WZ < 15%
- Jeśli zdarzenie dodatnie > 1500, WZ < 10%

Limfocyty							
Liczba zdarzeń dodatnich (średnia) = 804							
	Między operatorami	Między cytometrami	W ramach serii	Między seriami	Między oznaczeniami	W ramach analizy	Łącznie
WZ (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
WYNIKI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOKŁADNOŚĆ

Dokładność odczynnika CD57-FITC oceniano poprzez porównanie wyników uzyskanych za pomocą tego odczynnika z wynikami uzyskanymi za pomocą odczynnika referencyjnego, wykorzystywanego jako odniesienie, na zestawie próbek krwi pełnej oznaczanych na cytometrze przepływowym Navios. Odchylenie między odczynnikiem testowym i referencyjnym określono na podstawie różnicy między wynikami testu. Jeśli odchylenie mieści się w dopuszczalnym zakresie błędu lub wartość p wskazuje na brak istotnej różnicy (> 0,05), wyniki testu dla dwóch odczynników są uznawane za równoważne.

W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Liczba dawców = 25				
Dodatnie docelowe komórki	Średnia Δ	Kryteria Δ % komórki	Wartość p	WYNIKI
Limfocyty	1,11	<5	2,71E-04	PASS

GRANICA PRÓBY ŚLEPEJ I GRANICA WYKRYWALNOŚCI

Przeprowadzono badanie zgodnie z dokumentem CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zdolności wykrywania dla procedur pomiarowych w laboratoriach medycznych). Granica wykrywalności (LOD) to najniższe stężenie analitu, które może być powtarzalnie wykrywane. W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Positive Target	Granica próby ślepej (l. komórek/µL)	Granica wykrywalności (l. komórek/µL)
Limfocyty CD3+ CD57+	1	2

ORGANICZENIA

1. Wyniki cytometrii przepływowej mogą być zafałszowane, jeśli osiowanie cytometru nie było dokładne, przepuszczona fluorescencja nie została prawidłowo skompensowana, a regiony nie zostały starannie upozycjonowane.
2. Preferowane jest stosowanie techniki lizy RBC z etapem przemywania, ponieważ odczynnik ten nie został zoptymalizowany dla technik lizy „bez przemywania”.

3. Uzyskane wyniki będą dokładne i odtwarzalne pod warunkiem, że stosowane będą procedury zgodne z informacjami zawartymi w ulotce z danymi technicznymi oraz z dobrymi praktykami laboratoryjnymi.
4. Skoniugowane przeciwciało zawarte w tym odczynniku zostało skalibrowane tak, aby zapewniać najlepszy stosunek sygnału swoistego do nieswoistego. Dlatego ważne jest przestrzeganie stosunku objętości odczynnika do objętości próbki w każdym teście.
5. W przypadku hiperleukocytozy należy rozcieńczyć krew w PBS, aby uzyskać wartość w przybliżeniu 5 x 10^9 leukocytów/L (17).
6. W niektórych stanach chorobowych, takich jak ciężka niewydolność nerek lub hemoglobinopatie, liza krwinek czerwonych może być powolna, niepełna lub nawet niemożliwa. W takich przypadkach przed barwieniem zalecane jest wyizolowanie komórek jednojądrzastych na gradiencie gęstości (na przykład Ficoll) (18).
7. U pacjentów poddawanych terapii anty-ludzkimi przeciwciałami monoklonalnymi, wykrywanie swoistych antygenów docelowych może być osłabione lub niemożliwe z powodu częściowego lub całkowitego zablokowania przez przeciwciało terapeutyczne.
8. Wyniki oznaczenia CD57-FITC należy interpretować w świetle ogólnego obrazu klinicznego pacjenta, w tym objawów, historii klinicznej, danych z dodatkowych testów oraz innych właściwych informacji.

Przykłady i piśmiennictwo można znaleźć w załączniku.

ZNAKI TOWAROWE

Beckman Coulter, stylizowane logo oraz wymienione w tym dokumencie znaki produktów i usług firmy Beckman Coulter są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Beckman Coulter, Inc. w Stanach Zjednoczonych i innych krajach.

DODATKOWE INFORMACJE

Dotyczy pacjentów/użytkowników/stron trzecich w Unii Europejskiej i w krajach o identycznym systemie regulacyjnym (rozporządzenie 2017/746/UE w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro) — jeśli podczas lub w wyniku korzystania z tego wyrobu wystąpi poważny incydent, należy zgłosić go producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz odpowiedniemu organowi krajowemu.

Dokument The Summary of Safety and Performance (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania) jest dostępne w bazie danych EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIA ZMIAN

WERSJA AD:	Data wydania: październik 2019 r.

WERSJA	**Data wydania**
AW	Maj 2022 r.
Aktualizacje w celu zapewnienia zgodności z globalnymi zasadami oznakowania firmy Beckman Coulter i według wymogów rozporządzenia IVD-R (UE)2017/746:	
Dodano części	Numer BSI 2797, Użytkownik docelowy, Znaczenie kliniczne, Stężenie, Precyzja, Dokładność, Granica próby ślepej i granica wykrywalności, Informacje dodatkowe, Historia zmian.
Dodano informacje	Zobacz części Ograniczenia
Aktualizacje wyrażeń lub typograficzne	Zobacz części Procedura, Wydajność, Ograniczenia, Ostrzeżenia i środki ostrożności, Magazynowanie i stabilność.
Usunięte części	Przykłady zastosowań klinicznych, Odczynniki, Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna, Liniowość
Zaktualizowane części	Przeznaczenie, Klasyfikacja zagrożeń wg GHS, Dowód pogorszenia jakości, Procedura, Załącznik.

WERSJA	**Data wydania**
AX	Kwiecień 2023
Zaktualizowane części	Dodano język kazachski
Zaktualizowane części	Przechowywanie i stabilność

Wersja zmieniona	AY
Data zmiany	Maj 2024
Zaktualizowano tłumaczenia	**Znaczenie kliniczne:**
Zaktualizowane części	Historia zmian

Wersja zmieniona	AZ
Data zmiany	Lipiec 2024
Zaktualizowane części	Historia zmian

Legenda symboli

Słowniczek symboli jest dostępny pod adresem beckman.com/techdocs (numer dokumentu B60062)

	Specifikace
Specificita	CD57
Klon	NC1
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Cells from quail ciliary ganglia
Imunoglobulin	IgM
Druhy	Myš
Purifikace	Gel filtrační chromatografie
Fluorochrom	Fluorescein isothiocyanate
Molární poměr	FITC/Ig: 19 - 24
Excitace λ	488 nm
Emisní vrchol	525 nm
Pufr	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugovaná protilátka CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 ml, 20 µl/test

Pro diagnostické účely *in vitro*.

URČENÉ POUŽITÍ

Tato protilátka konjugovaná s fluorochromem umožňuje kvalitativní a neautomatizovanou identifikaci buněčných populací exprimujících antigen CD57 v lidských biologických vzorcích (viz část „Vzorky“ níže) pomocí průtokové cytometrie.

PRINCIP

Tento test je založen na schopnosti monoklonálních protilátek specificky se vázat na antigenní determinanty exprimované na leukocytech.

Specifické značení leukocytů se provádí inkubováním vzorku s reagencií IOTest. Červené krvinky jsou poté odstraněny provedením lýzy a bílé krvinky, jež tímto procesem nejsou ovlivněny, jsou analyzovány na průtokovém cytometru.

Průtokový cytometr měří difúzi světla a fluorescenci buněk. Umožňuje oddělit zkoumanou populaci v rámci elektronického okna definovaného na histogramu, který je v korelaci s ortogonální difúzí světla (kolmý rozptyl) a s difúzí světla v úzkém úhlu (přímý rozptyl). Jako podporu ve fázi gatování lze, v závislosti na aplikaci zvolené uživatelem, použít další histogramy s kombinací dvou různých parametrů, které jsou v cytometru k dispozici.

Fluorescence oddělených buněk je analyzována s cílem odlišit pozitivně obarvené události od neobarvených. Výsledky jsou vyjádřeny jako procentní podíl pozitivních událostí ze všech událostí zjištěných gatováním.

ZAMÝŠLENÝ UŽIVATEL

Tento produkt je určen pro profesionální laboratorní použití.

KLINICKÁ VÝZNAMNOST

CD57-FITC je protilátka CD57 používaná k identifikaci a charakterizaci buněk exprimujících antigen CD57 pomocí průtokové cytometrie. Tento produkt sám o sobě nevytváří a nemá vytvářet žádný diagnostický závěr.

Při použití v kombinaci s dalšími markery lze tento produkt použít k jedné nebo více z následujících funkcí:

- Jako pomůcka pro diferenciální diagnostiku pacientů s hematologickými abnormalitami, u kterých je podezření na hematopoetickou neoplazii, a k monitorování pacientů se známou hematopoetickou neoplazií.
- Jako pomůcka pro stanovení prognózy u pacientů s hematopoetickou neoplazií.
- Jako pomůcka pro diagnostiku pacientů s podezřením na imunodeficienci a k monitorování pacientů se známou imunodeficiencí.

Viz následující odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

VZORKY

Vzorky žilní krve musejí být odebrány do sterilních zkumavek obsahujících sůl EDTA jako antikoagulační činidlo.

Vzorky by měly být uchovávány při laboratorní teplotě (18–25 °C) a neměly by se protřepávat. Vzorek by měl být před odebráním vzorku k testování homogenizován mírným promícháním.

Vzorky je nutné analyzovat do 24 hodin od venepunkce.

KONCENTRACE

Viz certifikát o analýze specifický pro šarži na www.beckman.com.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagencii nepoužívejte po datu exspirace.
2. Nezmrazujte.
3. Před použitím nechte vytemperovat na laboratorní teplotu (18–25 °C).
4. Minimalizujte expozici světlu.
5. Zabraňte mikrobiologické kontaminaci reagencií, jinak mohou být výsledky chybné.

6. S roztoky protilátek obsahujícími azid sodný (NaN_3) je třeba manipulovat opatrně. Neužívejte vnitřně a zabraňte veškerému kontaktu s pokožkou, sliznicemi a očima.

   V kyselém prostředí může azid sodný navíc vytvářet potenciálně nebezpečnou kyselinu azidovodíkovou. Při likvidaci se doporučuje před vylitím do odpadu reagencii zředit velkým objemem vody, aby nedocházelo k hromadění nebezpečného azidu sodného v kovovém potrubí a předešlo se tak riziku exploze.
7. Všechny vzorky krve je nutno považovat za potenciálně infekční a je nutné manipulovat s nimi opatrně (zvláště: používat ochranné rukavice, pláště a brýle).
8. Nikdy nepipetujte ústy a zabraňte tomu, aby se vzorky dostaly do kontaktu s kůží, sliznicí ani očima.
9. Zkumavky s krví a jednorázový materiál určený pro manipulaci je třeba likvidovat v kontejnerech ad hoc určených ke spálení.
10. Reagencie a odpad by měly být odstraňovány v souladu s místními požadavky.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Není klasifikované jako nebezpečné

SDS Bezpečnostní list je k dispozici na internetové adrese beckmancoulter.com/techdocs.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Před otevřením lahvičky a po jejím otevření musí být tato reagencie uchovávána při teplotě mezi 2 a 8 °C a chráněna před světlem.

Doba použitelnosti uzavřené lahvičky podle studie stability: 1095 dnů/dní.

Stabilita již jednou otevřené lahvičky: reagencie je stabilní po dobu 180 dní.

ZNÁMKY ZHORŠENÍ KVALITY

Jakákoli změna fyzického vzhledu reagencií může znamenat jejich znehodnocení a taková reagencie by se neměla používat.

Pokud potřebujete další informace nebo jste obdrželi poškozený produkt, zavolejte na telefonní číslo zákaznické služby společnosti Beckman Coulter 800-742-2345 (USA nebo Kanada) nebo se obraťte na místního zástupce společnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervační látka azid sodný může v kovovém odpadním potrubí vytvářet výbušné sloučeniny. Viz buletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečí výbušných azidů) (16.8.76).
Po vypuštění neředěné reagencie propláchněte odpadní potrubí vodou, aby se v něm nehromadily azidové sloučeniny. Likvidace azidu sodného musí být prováděna podle příslušných místních předpisů.

MATERIÁLY POTŘEBNÉ, ALE NEDODANÉ SE SOUPRAVOU:

- Zkumavky na odběr vzorků a materiál potřebný k odběru vzorků.
- Automatické pipety s jednorázovými špičkami pro 20, 100 a 500 µl.
- Plastové zkumavky na hemolýzu.
- Reagencie pro lýzu červených krvinek s fází promývání po lýze. Například: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagencie pro fixaci leukocytů. Například: Fixační roztok IOTest 3 (ref. A07800).
- Pufr (PBS: 0,01 M fosforečnan sodný; 0,145 M chlorid sodný; pH 7,2).
- Odstředivka.
- Automatické míchadlo (typu vortex).
- Průtokový cytometr.

POSTUP S REAGENCIÍ VERSALYSE

1. Přidejte příslušný objem 20 µl specifické konjugované protilátky IOTest do každé testovací zkumavky.
2. Do každé zkumavky přidejte 100 µl testovaného vzorku. Zkumavky jemně promíchejte na vortexové míchačce.
3. Provádějte inkubaci po dobu 15 až 20 minut při laboratorní teplotě (18–25 °C), chraňte před světlem.
4. Poté lyzujte červené krvinky. Postupujte dle brožury VersaLyse (ref. A09777) a řiďte se, pokud možno, postupem nazvaným „s průvodní fixací“, který spočívá v přidání 1 ml fixační a lyzační směsi připravené bezprostředně před použitím. Ihned vortexujte po dobu jedné sekundy a inkubujte po dobu 10 minut při laboratorní teplotě, přičemž chraňte před světlem.
5. Odstřeďujte 5 minut při 150 x g při laboratorní teplotě.
6. Supernatant odsajte.
7. Resuspendujte buněčnou peletu pomocí 3 ml PBS.
8. Opakujte krok 6.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte buněčnou peletu pomocí:

- 0,5 ml nebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, pokud mají být preparáty uchovány po dobu kratší než 24 hodin. (PBS s 0,1 % formaldehydu lze získat zředěním 12,5 µl fixačního roztoku IOTest 3 (ref. A07800) o koncentraci 10x v 1 ml PBS.)
- 0,5 ml nebo 1 ml PBS bez formaldehydu, pokud mají být preparáty analyzovány do 2 hodin.

Poznámka: Ve všech případech uchovávejte preparáty při teplotě mezi 2 a 8 °C a chraňte je před světlem.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratořích bylo 25 vzorků plné krve zjevně zdravých dárců zpracováno za použití výše popsané reagencie. Získané výsledné počty cílových pozitivních událostí s touto reagencií jsou uvedeny v následující tabulce:

Pozitivní nosič	Počet	Průměr (%)	SD (směrodatná odchylka)	VK (%)
Lymfocyty	25	20,46	10,29	50,28

Tyto hodnoty by měly být pouze reprezentativní. Každá laboratoř si musí stanovit vlastní očekávané hodnoty na základě místní populace normálních dárců.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Data o výkonu se získávají výše popsaným postupem na vzorcích krve starých méně než 24 hodin, které byly odebrány do sterilních zkumavek se solí EDTA jakožto antikoagulačním činidlem. Analýza se provádí do 2 hodin od imunobarvení.

SPECIFICITA

Molekula CD57 (s původním názvem HNK-1) je glykoprotein s molekulární hmotností 110 až 115 kDa. Molekula CD57 je oligoscharidová antigenová sloučenina se zbytkovou kyselinou glukuronovou se sírany. Je propojena se širokým spektrem polypeptidů, lipidů a proteoglykanů chondroitin sulfátu, které se vyskytují na různých tkáních. Molekula CD57 je exprimována na podmnožinách hematopoietických buněk, neuroektodermálních buněk, příčně pruhovaného svalstva a prostatického epitelu (11, 12, 13, 14).

Antigen CD57 byl poprvé zjištěn v hematopoietické tkáni u většiny lymfocytů s nízkou granularitou (LGL). U většiny dospělých jedinců je antigen CD57 exprimován na podmnožině NK-buněk a CD8-pozitivních T-lymfocytech (13). Molekula CD57 je exprimována na podmnožině buněk kostní dřeně a pravděpodobně se nenachází na lymfocytech pupečníkové krve.

Antigen CD57 je exprimován podmnožinou T-lymfocytů CD4+ / CD45RO+ z lymfatických uzlin zárodečného jádra (12, 13). K dispozici jsou údaje, jež uvádějí, že molekula CD57 figuruje při interakcích mezi buňkami. Možnými ligandy pro CD57 jsou molekuly L-selektinu (CD62L) a P-selektinu (CD62P) (11, 15). Monoklonální protilátka NC1 byla zařazena do shluku antigenu CD57 na 5. konferenci o lidských leukocytárních diferenciačních antigenech, která se konala v roce 1993 v USA v Bostonu (16).

PRECIZNOST

Procentuální pozitivní hodnoty byly stanoveny použitím plné krve. Každý vzorek byl analyzován 4krát, dvakrát denně v průběhu 1 dne na 2 přístrojích pomocí 2 šarží reagencií s monoklonální protilátkou CD57-FITC. Měření (% pozitivních) byla provedena na průtokovém cytometru Navios. Analýza byla provedena na základě metody CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vyhodnocení výkonu preciznosti kvantitativních měřicích metod).

Naše kritéria přijatelnosti závisí na počtu pozitivních událostí změřených pro každou populaci:

- Pokud pozitivní událost < 1 500, VK < 15 %
- Pokud pozitivní událost > 1 500, VK < 10 %

Lymfocyty							
Počet pozitivních událostí (průměr) = 804							
	Mezi obslužnými pracovníky	Mezi cytometry	V rámci šarže	Mezi šaržemi	Mezi cykly	V rámci cyklu	Celkem
VK (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PŘESNOST

Přesnost CD57-FITC byla vyhodnocena porovnáním výsledků s referenční reagencií sloužící jako srovnávací látka na sadě vzorků plné krve analyzované na průtokovém cytometru Navios. Na základě rozdílu mezi výsledky testů byla stanovena odchylka mezi testem a referenční reagencií. Pokud je odchylka v rámci rozsahu přípustné chyby nebo hodnota p naznačuje, že nedošlo k žádnému významnému rozdílu (> 0,05), výsledky testů daných dvou reagencií se považují za shodné.

Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Počet dárců = 25				
Pozitivní nosič	Průměr Δ	Kritéria Δ % buněk	Hodnota p	VÝSLEDKY
Lymfocyty	1,11	<5	2,71E-04	PASS

MEZ PRÁZDNÉHO VZORKU A MEZ MĚŘITELNOSTI

Byla provedena studie v souladu se směrnicí CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnocení schopnosti detekce pro klinické laboratorní postupy měření). Mez měřitelnosti (LOD) je nejnižší koncentrace analytu, kterou lze spolehlivě detekovat. Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Positive Target	Mez prázdného vzorku (buňky/µl)	Mez měřitelnosti (buňky/µl)
Lymfocyty CD3+ CD57+	1	2

OMEZENÍ

1. Průtoková cytometrie může přinést falešné výsledky, pokud cytometr nebyl dokonale seřízen, pokud nebyly správně kompenzovány úniky fluorescence a pokud oblasti nebyly pečlivě umístěny.
2. Je vhodné používat techniku lýzy RBC s promývacím krokem, protože tato reagencie není optimalizována pro techniku lýzy bez promývání.
3. Přesných a reprodukovatelných výsledků bude dosaženo, pokud jsou použité postupy v souladu s technickým příbalovým letákem a se správnou laboratorní praxí.
4. Konjugovaná protilátka této reagencie je kalibrována tak, aby poskytovala nejlepší možný poměr specifického signálu k nespecifickému signálu. Proto je důležité při každém testu dodržovat poměr objemu reagencie a objemu vzorku.

5. V případě hyperleukocytózy nařeďte krev v přípravku PBS tak, aby byla dosažena hodnota přibližně 5 x 10^9 leukocytů/l (17).
6. U určitých chorob, například závažného selhání ledvin či hemoglobinopatií, se může stát, že lýza červených krvinek bude probíhat pomalu, nedokončí se, nebo dokonce nebude možná. V tomto případě se před značením doporučuje izolovat mononukleární buňky s použitím hustotního gradientu (např. Ficoll) (18).
7. U pacientů léčených pomocí monoklonálních protilátek proti lidským antigenům může být detekce specificky cílených antigenů snížena nebo může chybět kvůli částečné nebo celkové blokaci terapeutickými protilátkami.
8. Výsledky analýzy CD57-FITC je nutné interpretovat s přihlédnutím k celkovému klinickému obrazu pacienta, včetně symptomů, klinické anamnézy, údajů z dalších testů a dalších vhodných informací.

Příklady a reference jsou uvedeny v příloze.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, stylizované logo a známky produktů a služeb společnosti Beckman Coulter uvedené v tomto dokumentu jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Beckman Coulter, Inc. ve Spojených státech amerických a dalších zemích.

DALŠÍ INFORMACE

Pro pacienty, uživatele nebo třetí osoby v Evropské unii a v zemích se stejným regulačním režimem (nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro); pokud při používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání dojde k závažné nehodě, prosím ohlaste tuto nehodu výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a kompetentnímu vnitrostátnímu orgánu.

Summary of Safety and Performance (Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti) je k dispozici v databázi EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIE REVIZÍ

REVIZE AD:	Datum vydání: Říjen 2019

REVIZE	**Datum vydání**
AW	Květen 2022
Aktualizace kvůli shodě s globálními zásadami označování společnosti Beckman Coulter a dle požadavků IVD-R (EU) 2017/746:	
Přidání částí	Číslo BSI 2797, Určený uživatel, Klinická významnost, Koncentrace, Preciznost, Přesnost, Mez prázdného vzorku a mez měřitelnosti, Další informace, Historie změn.
Přidány informace	Viz část Omezení
Aktualizace formulací a typografické aktualizace	Viz části Postup, Výkon, Omezení, Varování a bezpečnostní opatření, Skladování a stabilita.
Odstranění částí	Příklad klinických použití, Reagencie, Reprodukovatelnost v rámci laboratoře, Linearita
Aktualizované části	Určené použití, Klasifikace nebezpečí podle GHS, Známky znehodnocení, Postup, Příloha.

REVIZE	**Datum vydání**
AX	duben 2023
Aktualizované části	Přidání kazašského jazyka
Aktualizované části	Skladování a stabilita

Revidovaná verze	AY
Datum revize	Květen 2024
Aktualizované překlady	**Klinická významnost:**
Aktualizované části	Historie revizí

Revidovaná verze	AZ
Datum revize	cervenec 2024
Aktualizované části	Historie revizí

Klíč k symbolům

Slovníček symbolů je k dispozici na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	Špecifikácie
Špecificita	CD57
Klon	NC1
Hybridóm	SP2/0 x balb/c
Imunogén	Cells from quail ciliary ganglia
Imunoglobulín	IgM
Druhy	Myš
Purifikácia	Gélová filtrácia Chromatografia
Fluorochróm	Fluorescein isothiocyanate
Molárny pomer	FITC/Ig: 19 - 24
Excitácia λ	488 nm
Vrchol emisií	525 nm
Tlmivý roztok	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugovaná protilátka CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 ml, 20 µl/test

Na *in vitro* diagnostické použitie.

URČENÉ POUŽITIE

Táto protilátka konjugovaná s fluorochrómom umožňuje pomocou prietokovej cytometrie vykonávať kvalitatívnu, neautomatizovanú identifikáciu populácie buniek exprimujúcich antigén CD57 v ľudských biologických vzorkách (pozri časť „vzorky“ nižšie).

PRINCÍP

Tento test je založený na schopnosti špecifických monoklonálnych protilátok viazať sa na antigénne determinanty exprimované na leukocytoch.

Špecifické farbenie leukocytov sa vykoná inkubáciou vzorky s činidlom IOTest. Červené krvinky sa následne odstránia lýzou a leukocyty, na ktoré tento postup nemá vplyv, sa analyzujú prietokovou cytometriou.

Prietokový cytometer meria rozptyl svetla a fluorescenciu buniek. Umožňuje vymedzenie požadovanej populácie v rámci elektronického okna zadefinovaného v histograme znázorňujúcom koreláciu ortogonálneho rozptylu svetla (bočný rozptyl, SS) a rozptylu svetla v úzkom uhle (predný rozptyl, FS). Ostatné histogramy obsahujúce kombináciu dvoch rozličných parametrov dostupných na cytometri možno použiť na podporu vo fáze gatingu v závislosti od aplikácie zvolenej používateľom.

Fluorescencia vymedzených buniek sa analyzuje s cieľom odlíšiť pozitívne sfarbené udalosti od nesfarbených. Výsledky sú vyjadrené ako percento pozitívnych udalostí vzhľadom na všetky udalosti zaznamenané gatingom.

URČENÝ POUŽÍVATEĽ

Tento produkt je určený na profesionálne laboratórne použitie.

KLINICKÝ VÝZNAM

CD57-FITC je protilátka proti CD57 používaná na identifikáciu a charakterizáciu buniek exprimujúcich antigén CD57 pomocou prietokovej cytometrie. Tento výrobok sám osebe nemôže a ani nemá slúžiť na vyvodzovanie akýchkoľvek diagnostických záverov.

Pri použití v kombinácii s inými markermi možno tento produkt použiť na jeden alebo viac z týchto účelov:

- Ako pomôcka pri diferenciálnej diagnostike hematologicky abnormálnych pacientov s podozrením na hematopoetickú neoplazmu a na monitorovanie pacientov so známou hematopoetickou neoplazmou.
- ako pomôcka pri stanovovaní prognózy u pacientov s hematopoetickou neoplazmou,
- Ako pomôcka pri diagnostike pacientov s podozrením na imunitnú nedostatočnosť a na monitorovanie pacientov so známou imunitnou nedostatočnosťou.

Pozrite si nasledujúce odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

VZORKY

Vzorky žilovej krvi musia byť odobraté do sterilných skúmaviek, ktoré obsahujú soľ EDTA ako antikoagulačné činidlo.

Vzorky by sa mali uchovávať pri izbovej teplote (18 – 25 °C) a nemalo by sa nimi triasť. Vzorky by sa mali pred odobratím testovacej vzorky homogenizovať jemným pretrepaním.

Vzorky sa musia analyzovať do 24 hodín od odberu.

KONCENTRÁCIA

Pozrite si certifikát analýzy pre konkrétnu šaržu na adrese www.beckman.com.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

1. Činidlo nepoužívajte po dátume exspirácie.
2. Nezamrazujte.
3. Pred použitím nechajte zahriať na izbovú teplotu (18 – 25 °C).
4. Minimalizujte vystavenie svetlu.

5. Zabráňte mikrobiálnej kontaminácii činidiel, inak môže dôjsť k falošným výsledkom.
6. S roztokmi protilátok obsahujúcimi azid sodný (NaN_3) by sa malo zaobchádzať opatrne. Nepožívajte ich a vyhýbajte sa akémukoľvek kontaktu s kožou, sliznicami a očami.

   V médiu s obsahom kyseliny môže navyše azid sodný vytvárať potenciálne nebezpečnú kyselinu azidovodíkovú. Ak je činidlo potrebné zlikvidovať, odporúča sa ho pred vyliatím do kanalizácie zriediť vo veľkom objeme vody, aby sa predišlo riziku explózie v dôsledku hromadenia azidu sodného v kovovom potrubí.
7. Všetky vzorky krvi sa musia považovať za potenciálne infekčné, a preto sa s nimi musí narábať opatrne (predovšetkým: používajte ochranné rukavice, plášte a okuliare).
8. Nikdy nepipetujte ústami a zabráňte akémukoľvek kontaktu vzoriek s pokožkou, sliznicami a očami.
9. Skúmavky na krv a jednorazový materiál používané pri manipulácii sa musia zlikvidovať do schválených nádob určených na spálenie.
10. Činidlá a odpad by sa mali eliminovať v súlade s miestnymi požiadavkami.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Nie je klasifikované ako nebezpečné

SDS Bezpečnostný list je dostupný na adrese beckmancoulter.com/techdocs

SKLADOVANIE A STABILITA

Toto činidlo sa musí skladovať pri teplote od 2 do 8 °C a chrániť pred svetlom pred aj po otvorení fľaštičky.

Doba použiteľnosti uzavretej fľaštičky podľa štúdie stability: 1095 dní.

Stabilita otvorenej fľaštičky: činidlo je stabilné 180 dní.

ZNÁMKY ZNEHODNOTENIA

Akákoľvek zmena fyzického vzhľadu činidla môže svedčiť o zhoršení kvality a takéto činidlo by sa nemalo používať.

Ak potrebujete ďalšie informácie alebo ak je výrobok poškodený, kontaktujte stredisko zákazníckych služieb spoločnosti Beckman Coulter na telefónnom čísle 800-742-2345 (ak sa nachádzate v USA alebo Kanade) alebo kontaktujte miestneho zástupcu spoločnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervačné činidlo azid sodný môže v kovovej kanalizačnej sieti vytvárať výbušné zlúčeniny. Pozrite si informačný bulletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečenstvo výbušného azidu) (16. 8. 76).
Aby nedošlo k možnému nahromadeniu azidových zlúčenín, po likvidácii neriedeného činidla vypláchnite potrubie vodou. Likvidácia azidu sodného musí prebiehať v súlade s príslušnými miestnymi predpismi.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ NIE JE SÚČASŤOU SÚPRAVY:

- Vzorkovacie skúmavky a materiál potrebný na vzorkovanie.
- Automatické pipety s jednorazovými špičkami na dávkovanie objemov 20, 100 a 500 µl.
- Plastové hemolytické skúmavky.
- Činidlo na lýzu červených krviniek s umývacou fázou po lýze. Napríklad: VersaLyse (Ref. A09777).
- Činidlo na fixáciu leukocytov. Napríklad: fixačný roztok IOTest 3 (Ref. A07800).
- Tlmiaci roztok (PBS: fosforečnan sodný 0,01 M; chlorid sodný 0,145 M; pH 7,2).
- Centrifúga.
- Automatické miešadlo (typ Vortex).
- Prietokový cytometer.

POSTUP S ČINIDLOM VERSALYSE

1. Do každej testovacej skúmavky pridajte príslušný objem 20 µl špecifickej konjugovanej IOTest protilátky.
2. Do každej skúmavky pridajte 100 µl testovanej vzorky. Skúmavky jemne vortexujte.
3. Inkubujte 15 až 20 minút pri izbovej teplote (18 – 25 °C) bez prístupu svetla.
4. Potom vykonajte lýzu červených krviniek. Postupujte podľa písomnej informácie VersaLyse (Ref. A09777) a ideálne použite postup označený ako „so sprievodnou fixáciou“, ktorý zahŕňa pridanie 1 ml bezprostredne pripravenej zmesi „na fixáciu a lýzu“. Ihneď premiešajte jednu sekundu a inkubujte 10 minút pri izbovej teplote a chráňte pred svetlom.
5. Odstreďujte 5 minút pri 150 x g pri izbovej teplote.
6. Nasatím odoberte supernatant.
7. Resuspendujte bunkový pelet použitím 3 ml PBS.
8. Opakujte krok 6.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte bunkový pelet použitím:

- 0,5 ml alebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, ak sa preparáty budú skladovať kratšie ako 24 hodín. (Roztok PBS s 0,1 % formaldehydu možno pripraviť zriedením 12,5 µl fixačného roztoku IOTest 3 (Ref. A07800) v 10X koncentrácii v 1 ml roztoku PBS).
- 0,5 ml alebo 1 ml PBS bez formaldehydu, ak sa preparáty budú analyzovať do 2 hodín.

Poznámka: Preparáty vždy uchovávajte pri teplote 2 až 8 °C a mimo dosahu svetla.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratóriách sa vzorky plnej krvi od 25 zjavne zdravých darcov spracovali pomocou vyššie popísaného činidla. Získané výsledky pre príslušné počty skúmaných pozitívnych udalostí s týmto činidlom sú uvedené v tabuľke nižšie:

Pozitívny cieľ	Počet	Priemer (%)	SD	CV (%)
Lymfocyty	25	20,46	10,29	50,28

Tieto hodnoty slúžia len ako reprezentatívne údaje. Každé laboratórium by si malo určiť vlastné očakávané hodnoty na základe miestnej populácie normálnych darcov.

VÝKONNOSŤ

Údaje o výkonnosti boli získané pomocou vyššie opísaného postupu z menej ako 24 hodín starých vzoriek krvi odobraných do sterilných skúmaviek so soľou EDTA ako antikoagulačným činidlom. Analýza prebehla do 2 hodín od imunologického farbenia.

ŠPECIFICITA

Molekula CD57, pôvodne označovaná ako HNK-1, je glykoproteín s molekulovou hmotnosťou 110 – 115 kDa. Molekula CD57 je antigénna oligosacharidová zlúčenina so sulfátovanými reťazcami kyseliny glukurónovej. Spája sa s rozličnými polypeptidmi, lipidmi a chondroitínovými sulfátovými proteoglykánmi nachádzajúcimi sa v rôznych tkanivách. Molekula CD57 je exprimovaná na podmnožinách hematopoetických buniek, neuroektodermálnych buniek, neuroendokrinných buniek, priečne pruhovaných svalov a prostatického epitelu (11, 12, 13, 14).

Antigén CD57 bol pôvodne identifikovaný v hematopoetickom tkanive na väčšine veľkých granulárnych lymfocytov (LGL). U väčšiny dospelých je antigén CD57 exprimovaný na podmnožine NK-buniek a CD8-pozitívnych T-lymfocytoch (13). Molekula CD57 je exprimovaná na podmnožine buniek kostnej drene a zjavne sa nenachádza na lymfocytoch v pupočníkovej krvi.

Podmnožina T-lymfocytov CD4+ / CD45RO+ z lymfatických uzlín zárodočného centra exprimuje antigén CD57 (12, 13). Údaje uvádzajú, že molekula CD57 je zapojená do všetkých medzibunkových interakcií. Molekuly L-selektínu (CD62L) a P-selektínu (CD62P) sú možné ligandy CD57 (11, 15). Špecificita rozpoznania klastra CD57 monoklonálnou protilátkou NC1 bola uznaná na 5. Medzinárodnej konferencii o diferenciačných antigénoch ľudských leukocytov, ktorá sa konala v roku 1993 v Bostone, USA (16).

PRESNOSŤ

Percentuálne pozitívne hodnoty boli stanovené s použitím plnej krvi. Každá vzorka bola analyzovaná 4-krát, dva razy denne počas 1 dňa na 2 prístrojoch pri použití 2 šarží činidiel s monoklonálnymi protilátkami proti CD57-FITC. Merania (% pozitívnych) sa vykonávali na prietokovom cytometri Navios. Analýza sa vykonávala podľa metódy CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Hodnotenie zhodnosti pri metódach kvantitatívneho merania).

Naše kritériá prijateľnosti závisia od počtu pozitívnych udalostí nameraného v jednotlivých populáciách:

- Ak je pozitívnych udalostí < 1500, CV < 15 %
- Ak je pozitívnych udalostí > 1500, CV < 10 %

Lymfocyty							
Počet pozitívnych udalostí (priemer) = 804							
	Medzi operátormi	Medzi cytometrami	V rámci jednej šarže	Medzi šaržami	Medzi analýzami	V rámci jednej analýzy	Celkovo
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRESNOSŤ

Presnosť CD57-FITC bola vyhodnotená porovnaním výsledkov s porovnávacím referenčným činidlom na súbore vzoriek plnej krvi analyzovaných v prietokovom cytometri Navios. Odchýlka medzi testovaným a referenčným činidlom bola stanovená na základe rozdielu medzi výsledkami testov. Ak je odchýlka v medziach prípustného chybového rozsahu, alebo ak p-hodnota svedčí o nevýznamnom rozdiele (> 0,05), výsledky testovania daných dvoch činidiel sa považujú za rovnocenné.

Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Počet darcov = 25				
Pozitívny cieľ	Priemer Δ	Kritériá Δ % buniek	p-hodnota	VÝSLEDKY
Lymfocyty	1,11	<5	2,71E-04	PASS

MEDZA PRÁZDNEJ VZORKY A MEDZA MERATEĽNOSTI

Bola vykonaná štúdia v súlade s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnotenie detekčnej schopnosti pre postupy klinických laboratórnych meraní). Medza merateľnosti (LoD) je najnižšia koncentrácia analytu, ktorú možno konzistentne detegovať. Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Positive Target	Medza prázdnej vzorky (buniek/µl)	Medza merateľnosti (buniek/µl)
Lymfocyty CD3+ CD57+	1	2

OBMEDZENIA

1. Prietoková cytometria môže vytvárať falošné výsledky, ak cytometer nie je správne zarovnaný, ak úniky fluorescencie nie sú správne kompenzované, alebo ak nie sú oblasti správne umiestnené.
2. Vhodnejšie je používať metódu lýzy RBC s krokom premývania, keďže toto činidlo nie je optimalizované na metódy lýzy „bez premývania“.
3. Presné a reprodukovateľné výsledky sa získajú len vtedy, ak sa použijú postupy v súlade s technickými údajmi v príbalovom letáku a v súlade s osvedčenou laboratórnou praxou.

4. Konjugovaná protilátka tohto činidla sa kalibruje tak, aby ponúkala najlepší pomer špecifického signálu/nešpecifického signálu. Preto je dôležité pri každom teste dodržať pomer objem činidla/objem vzorky.
5. V prípade hyperleukocytózy zrieďte krv v PBS na koncentráciu približne 5 x 10^9 leukocytov/l (17).
6. Pri niektorých chorobných stavoch, akými sú napríklad závažné zlyhanie obličiek alebo hemoglobinopatie, môže byť lýza červených krviniek pomalá, neúplná alebo dokonca nemožná. V takom prípade sa odporúča pred farbením izolovať mononukleárne bunky pomocou hustotného gradientu (napríklad Ficoll) (18).
7. U pacientov liečených monoklonálnymi protilátkami proti ľudským protilátkam môže byť detekcia špecifických cieleným antigénom znížená alebo môže úplne chýbať v dôsledku čiastočného alebo úplného blokovania terapeutickej protilátky.
8. Pri interpretácii výsledkov CD57-FITC treba brať do úvahy celkový klinický obraz pacienta vrátane symptómov, klinickej anamnézy, výsledkov ďalších testov a iných súvisiacich informácií.

Príklady a referencie nájdete v Dodatku.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, štylizované logo a známky produktov a služieb spoločnosti Beckman Coulter spomenuté v tomto dokumente sú ochranné známky alebo registrované ochranné známky spoločnosti Beckman Coulter, Inc. v USA a ďalších krajinách.

DOPLŇUJÚCE INFORMÁCIE

Pre pacienta/používateľa/tretiu stranu v Európskej únii a v krajinách s identickým regulačným režimom (Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/746 o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro): ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne vážna nehoda, nahláste ju výrobcovi a/alebo jeho autorizovanému zástupcovi a vášmu národnému orgánu.

Summary of Safety and Performance (Súhrn informácií o bezpečnosti a výkonnosti) je k dispozícii v databáze EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRIA REVÍZIÍ

REVÍZIA AD:	Dátum vydania: Október 2019

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AW	Máj 2022
Aktualizácie kvôli súladu s dokumentom Beckman Coulter Global Labelling Policy (Globálne pravidlá označovania spoločnosti Beckman Coulter) a podľa požiadaviek nariadenia IVDR (EÚ) 2017/746:	
Pridané časti	Číslo BSI 2797, Určený používateľ, Klinický význam, Koncentrácia, Zhodnosť, Presnosť, Medza prázdnej vzorky a medza merateľnosti, Doplňujúce informácie, História revízií.
Pridané informácie	Pozri časti Obmedzenia
Aktualizácie formulácií alebo typografické aktualizácie	Pozri časti Postup, Výkonnosť, Obmedzenia, Výstraha a opatrenia, Skladovanie a stabilita.
Odstránené časti	Príklad klinických aplikácií, Činidlá, Intralaboratórna reprodukovateľnosť, Linearita
Aktualizované časti	Určené použitie, Klasifikácia nebezpečenstiev podľa GHS, Známky zhoršenia kvality, Postup, Dodatok.

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AX	Apríl 2023
Aktualizované časti	Pridať kazaštinu
Aktualizované časti	Skladovanie a stabilita

Revidovaná verzia	AY
Dátum revízie	Máj 2024
Aktualizované preklady	**Klinický význam:**
Aktualizované časti	História revízií

Revidovaná verzia	AZ
Dátum revízie	Júl 2024
Aktualizované časti	História revízií

Popis symbolov

Slovník symbolov je dostupný na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	규격
특이도	CD57
클론	NC1
하이브리도마	SP2/0 x balb/c
면역원	Cells from quail ciliary ganglia
면역글로불린	IgM
종	생쥐
정제	젤 여과
형광색소	Fluorescein isothiocyanate
분자비	FITC/Ig: 19 - 24
λ 자극	488 nm
방출 피크	525 nm
완충액	PBS pH 7.2 + 2mg/mL BSA 및 0.1 % NaN_3

IOTest

복합 항체
CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20µL/검사

체외 **진단용으로 사용합니다.**

사용목적

본 형광색소 결합 항체를 사용 시 유세포 분석법으로 인간의 생물학적 검체에 있는 CD57 항원을 나타내는 세포군의 정성적 동정 및 비자동 동정을 수행할 수 있습니다(아래 "검체" 섹션 참조).

원리

이 검사는 백혈구로 발현되는 항원 결정기에 특이적 단일클론 항체가 결합할 수 있는 능력에 기초합니다.

백혈구의 특이적 염색은 검체를 IOTest 시약과 함께 배양하여 수행합니다. 그런 다음 적혈구를 용해하여 제거하고 이 과정에서 영향을 받지 않은 백혈구를 유세포 분석법을 통해 분석하십시오.

유세포 분석기는 세포의 빛 확산과 형광 영역을 측정합니다. 유세포 분석기를 사용하면 빛의 직교 확산(측면 산란, SS)과 좁은 각의 광확산(전방 산란, FS)의 상호 관계를 지정하는 막대그래프상에 정의된 전자 창 내에서 관심 개체의 한계를 결정할 수 있습니다. 유세포 분석기에서 사용할 수 있는 두 가지 파라메타를 결합하는 기타 막대그래프를 사용자가 선택한 애플리케이션에 따라 게이팅 단계에서 지원 자료로 사용 가능합니다.

범위가 결정된 세포의 형광 영역을 분석하여 명확하게 염색된 이벤트와 염색되지 않은 이벤트를 구분합니다. 분석 결과는 게이팅으로 획득한 전체 이벤트와 비교한 양성 이벤트의 비율로 표현합니다.

의도된 사용자

본 제품은 실험실 전문가용입니다.

임상 관련성

CD57-FITC은(는) 유세포 분석법으로 CD57 항원을 나타내는 세포를 식별하고 특성화하는 데 사용하는 CD57 항체입니다. 본 제품만 사용하여 진단과 관련된 결론을 내릴 수 없으며, 해당 용도로 사용해서도 안 됩니다.

다른 표지자와 함께 사용하는 경우 이 제품은 다음 중 하나 이상의 기능에 사용할 수 있습니다.

- 조혈세포성 종양이 의심되고 혈액학적 이상을 동반하는 환자의 감별 진단을 위한 보조 수단으로 활용하거나 알려진 조혈세포성 종양을 가진 환자를 모니터링하는 데 사용합니다.
- 혈액암 환자 예후의 보조 수단으로 활용.
- 면역결핍이 의심되는 환자의 진단을 위한 보조 수단으로 활용하거나 알려진 면역결핍증이 있는 환자를 모니터링하는 데 사용합니다.

다음 참조를 살펴보십시오.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

검체

정맥혈은 EDTA 염을 항응고제로 포함한 무균 튜브를 사용하여 채취해야 합니다.

검체는 실온(18~25°C)에 보관해야 하며 흔들어서는 안 됩니다. 검사 검체를 채취하기 전에 부드럽게 교반하여 검체를 균질화해야 합니다.

검체는 정맥천자 후 24시간 이내에 분석해야 합니다.

농도

www.beckman.com에서 로트별 분석증명서를 확인할 수 있습니다.

경고 및 주의 사항

1. 유효 기간이 지난 시약은 사용하지 마십시오.
2. 냉동하지 마십시오.
3. 사용 전 실온(18~25°C)에 두십시오.
4. 빛 노출을 최소화하십시오.
5. 시약이 미생물에 오염되지 않도록 하십시오. 그러지 않으면 잘못된 결과를 얻을 수 있습니다.
6. 아지드화나트륨(NaN_3)을 함유한 항체 용액은 주의해서 다루어야 합니다. 흡입을 피하고 피부, 점막 및 눈에 절대 닿지 않도록 하십시오.

또한 산성 매질에 함유된 아지드화나트륨은 잠재적 위험 물질인 히드라조산을 만들어낼 수 있습니다. 시약을 폐기할 때는 금속 파이프 내 아지드화나트륨 축적과 폭발 위험을 방지하기 위해 다량의 물에 희석한 후 배수 시설로 흘려보내야 합니다.

7. 모든 혈액 검체는 잠재적으로 전염성이 있다고 간주하고 주의해서 다루어야 합니다(특히 보호용 장갑, 가운 및 보안경 착용).
8. 피펫을 절대 입으로 사용하지 않도록 하고 검체가 피부, 점막 및 눈에 닿지 않도록 하십시오.
9. 취급에 사용한 혈액 튜브 및 일회용 물질은 소각용 특수 용기에서 폐기해야 합니다.
10. 시약 및 폐기물은 현지 요구 사항에 따라 제거해야 합니다.

GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음

SDS 안전보건자료는 beckmancoulter.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다.

보관 및 안정성

이 시약은 바이알 개봉 전후에 2~8°C로 유지하면서 빛으로부터 보호해야 합니다.

안정성 시험에 따른 밀봉 바이알 유효 기간: 1095일.

개봉한 바이알의 안정성: 시약은 180일 동안 안정적입니다.

성능 저하 증거

시약 외관에 물리적 변화가 있는 경우 성능 저하를 나타내는 것일 수 있으므로 시약을 사용해서는 안 됩니다.

자세한 정보가 필요하거나 손상된 제품을 받은 경우에는 Beckman Coulter 고객 서비스에 800-742-2345(미국 또는 캐나다)로 또는 현지 Beckman Coulter 담당자에게 문의하십시오.

목차

소디움 아자이드 보존제는 금속 배수관에서 폭발성 화합물을 형성할 수 있습니다. NIOSH 게시판을 참조하십시오. Explosive Azide Hazard(폭발성 아지드 유해물질)(76/8/16)
아지드 화합물의 축적 가능성을 방지하려면 희석되지 않은 시약을 폐기한 다음 폐기 파이프를 물로 세척하십시오. 소디움 아자이드의 폐기는 해당 지역 규정을 따라야 합니다.

필요하지만 키트와 함께 제공되지 않는 품목:

- 검체 튜브와 검체 채취에 필요한 물질.
- 20, 100 및 500µL용 일회용 팁이 있는 자동 피펫.
- 플라스틱 용혈 튜브.
- 용해 후 세척 단계의 적혈구 용해 시약. 예: VersaLyse(참조 A09777).
- 백혈구 고정 시약. 예: IOTest 3 고정액(참조 A07800).
- 완충액(PBS: 0.01M 인산나트륨, 0.145M 염화나트륨, pH 7.2).
- 원심분리기.
- 자동 교반기(교반 유형).
- 유세포 분석기.

VERSALYSE 시약을 이용한 절차

1. 적절한 용량인 20µL의 특이 IOTest 결합 항체를 각 테스트 튜브에 첨가합니다.
2. 100µL의 검사 검체를 각 튜브에 첨가합니다. 튜브를 부드럽게 교반합니다.
3. 실온(18~25°C)에서 빛을 피해 15~20분 동안 배양하십시오.
4. 그런 다음 적혈구 용해를 수행합니다. VersaLyse(참조 A09777) 책자 내용을 참조하여 즉석에서 준비한 1mL의 "고정 및 세포 용해" 혼합물을 첨가하는 "수반 고정" 절차를 따릅니다. 즉시 1초 동안 교반한 후 직사광선을 피해 상온에서 10분 동안 배양합니다.
5. 상온에서 150 x g로 5분 동안 원심분리합니다.
6. 흡입 시 상청액을 제거하십시오.
7. 3mL의 PBS를 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.
8. 6단계를 반복합니다.
9. 그런 다음 흡입 방식으로 상등액을 제거하고 다음을 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.

- 조제 물질을 24시간 미만으로 보관하려는 경우 0.1 %의 포름알데히드가 함유된 0.5mL 또는 1mL의 PBS. (0.1 % 포름알데히드 PBS는 12.5µL의 IOTest 3 고정액(참조 A07800)을 1mL의 PBS에 10X 농도로 희석하여 얻을 수 있습니다).
- 조제 물질을 2시간 이내에 분석하려는 경우 포름알데히드가 없는 0.5mL 또는 1mL의 PBS.

참고: 조제물은 항상 빛을 피해 2~8°C로 유지하십시오.

예상 수치

실험실에서 25명의 건강한 공여자의 전혈 검체를 위에 설명된 시약을 사용하여 처리했습니다. 이 시약에서 관심 대상의 양성 이벤트 수 계산을 위해 얻은 결과는 아래 표와 같습니다.

양성 표적	번호	평균(%)	표준편차	CV(%)
림프구	25	20.46	10.29	50.28

위 값은 전형적인 값으로만 참고해야 합니다. 각 실험실은 소재 지역의 정상 공여자 집단을 통해 고유한 예상값을 설정해야 합니다.

성능

성능 데이터는 위에 설명한 절차를 이용하여 이전에 EDTA 염을 항응고제로 하여 무균 튜브에서 수집한 지 24시간 미만인 혈액 검체로 획득합니다. 분석은 면역염색 후 2시간 이내에 수행됩니다.

특이도

CD57 분자(원래 이름: HNK- 1)는 분자량 110–115 kDa의 당단백입니다. CD57 분자는 황산화 글루쿠론산 잔류물이 함유된 올리고당류 항원 화합물입니다. 여러 조직에서 발견되는 다양한 폴리펩티드, 지질 및 콘드로이틴 황산염 프로테오글리칸스와 결합됩니다. CD57 분자는 조혈 세포, 신경외배엽 세포, 신경내분비 세포, 횡문근 및 전립선 상피(11, 12, 13, 14)의 하위집합에 발현됩니다.

CD57 항원은 조혈 조직의 대형 과립 림프구(LGL) 대다수에서 처음 확인되었습니다. 대부분 성인의 경우, CD57 항원은 NK 세포 및 CD8 양성 T 림프구의 하위집합으로 발현됩니다(13). CD57 분자는 골수 세포의 하위집합으로 발현되며 제대혈 림프구에서는 발견되지 않는 것으로 보입니다.

종자 중심 림프절의 CD4+/CD45RO+ T 림프구 하위집합은 CD57 항원을 발현합니다(12, 13). 데이터에 따르면 CD57 분자는 세포 간 상호작용과 관련됩니다. L-셀렉틴(CD62L) 및 P-셀렉틴(CD62P) 분자가 CD57에 대한 리간드일 수 있습니다(11, 15). NC1 단일 클론 항체는 1993년 미국 보스톤에 열린 5th International Workshop on Human Leucocyte Differenciation Antigen(인간 백혈구 감별 항원에 관한 제 5차 국제 워크숍)에서 CD57군에 할당되었습니다(16).

정밀도

양성 비율 값은 전혈을 사용하여 측정되었습니다. 각 검체는 2개의 CD57-FITC 단일 클론 항체 시약 로트를 사용하여 2개의 장비에서 하루 동안 일일 2회씩 4번 실행되었습니다. 측정값(양성 비율)은 Navios 유세포 분석기로 도출했습니다. 분석은 CLSI 방법 EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods(EP5-A2: 정량적 측정 방법의 정밀도 성능 평가)를 기반으로 수행했습니다.

허용 기준은 각 집단에서 측정한 양성 이벤트 수에 따라 다릅니다.

- 양성 이벤트 수가 < 1,500인 경우 CV < 15 %
- 양성 이벤트 수가 > 1,500인 경우 CV < 10 %

림프구							
양성 이벤트 수(평균) = 804							
	작업자 간	유세포 분석기 간	로트 내	로트 간	실행 간	실행 내	총계
CV(%)	2.00	1.01	4.48	1.26	1.85	3.56	4.76
결과	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

정확도

CD57-FITC의 정확도는 그 결과를 Navios 유세포 분석기로 처리된 전혈 검체에 공인 참조 시약을 가한 값과 비교하여 평가했습니다. 검사 시약과 참조 시약 간 바이어스는 검사 결과 간 차이를 기반으로 지정되었습니다. 바이어스가 허용 가능한 오차 범위 내에 있거나 p-값이 유의한 차이를 나타내지 않는 경우 (> 0.05) 두 시약의 검사 결과는 동일한 것으로 간주됩니다.

얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

공여자 수 = 25				
양성 표적	평균 Δ	Δ % 세포 기준	p-값	결과
림프구	1.11	<5	2.71E-04	PASS

공시료 최저 검출한계 및 검출한계

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures(CLSI EP17-A2, 임상 실험실 측정 절차에 대한 검출 능력 평가)에 따라 연구를 실시했습니다. 검출한계(LoD)는 일관되게 검출 가능한 분석물질의 최저 농도입니다. 얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

Positive Target	공시료 최저 검출한계(세포/µL)	검출한계(세포/µL)
림프구 CD3+ CD57+	1	2

한계

1. 유세포 분석기가 완벽하게 정렬되지 않은 경우, 형광 누출이 올바르게 보정되지 않은 경우 또는 영역 위치를 신중하게 지정하지 않은 경우 유세포 분석법에서 잘못된 결과가 나올 수 있습니다.
2. 이 시약은 "비세척" 용해 기법에 최적화되지 않았으므로 세척 단계를 포함한 적혈구 용해법을 사용하는 것이 바람직합니다.
3. 사용한 절차가 동봉된 기술 책자의 내용을 따르고 실험실 모범 사례와 호환되는 경우 정확하고 재현 가능한 결과를 얻을 수 있습니다.
4. 이 시약의 결합 항체는 최상의 특이/비특이 신호비를 제공하도록 보정됩니다. 그러므로 모든 검사에서 시약의 용적/검체 용적 비율을 준수하는 것이 중요합니다.
5. 과백혈구 증가증의 경우 혈액을 PBS에 희석하여 대략 백혈구 5 x 10^9개/L 값을 얻어야 합니다(17).
6. 심한 신부전 또는 혈색소병증 같은 특정 질병 상태에서 적혈구의 용해는 느리거나 불완전하거나 심지어는 불가능할 수도 있습니다. 이러한 경우 염색 전에 밀도 구배(예: Ficoll)를 사용하여 단핵구 세포를 분리하는 것이 좋습니다(18).
7. 항 인간 단일 클론 항체 요법으로 치료받은 환자에서, 특이 표적 항원의 검출이 치료 항체에 의한 일부 또는 전체 차단으로 인해 감소하거나 이루어지지 않을 수 있습니다.
8. CD57-FITC 결과는 증상, 병력, 추가 검사 데이터, 기타 적절한 정보 등 환자의 모든 임상 증상을 고려하여 해석해야 합니다.

예시와 참고 자료는 부록을 참조하십시오.

상표

본 문서에 포함된 Beckman Coulter, 스타일 로고, Beckman Coulter 제품 및 서비스 마크는 미국 및 기타 국가에서 Beckman Coulter, Inc.의 상표이거나 등록 상표입니다.

추가 정보

유럽 연합 및 이와 동일한 규정 체제(EU 규정 2017/746, 체외 진단용 의료 기기 관련)를 사용하는 국가에 거주하는 환자/사용자/타사의 경우, 이 장치의 사용 중이나 사용으로 인해 심각한 상황이 발생했다면 제조업체 및/또는 공인 담당자와 해당 국가의 담당 기관에 신고하십시오.

Summary of Safety and Performance(안전성 및 성능에 관한 개요)는 ec.europa.eu/tools/eudamed 주소의 EUDAMED 데이터베이스에서 확인할 수 있습니다.

개정 이력

개정판 AD:	출시일: 2019년 10월

개정	**발행 날짜**
AW	2022년 5월
Beckman Coulter 글로벌 라벨 지정 정책 및 IVD-R (EU) 2017/746 요건에 따라 업데이트했습니다.	
추가된 섹션	BSI 2797 번호, 대상 사용자, 임상적 관련성, 농도, 정밀도, 정확도, 공시료 최저 검출한계 및 검출한계, 추가 정보, 개정 이력.
추가된 정보	한계 섹션 참조
언어적 표현이나 글자 배치를 업데이트했습니다.	절차, 성능, 한계, 경고 및 주의 사항, 보관 및 안정성 섹션을 참조하십시오.
삭제된 섹션	임상 용도의 예, 시약, 실험실 내 재현성, 직선성
업데이트된 섹션	사용목적, GHS 유해물질 등급, 성능 저하 증거, 절차, 부록.

개정	**발행 날짜**
AX	4월 2023
업데이트된 섹션	카자흐어 추가
업데이트된 섹션	보관 및 안정성

개정된 버전	AY
개정 날짜	5월 2024
업데이트된 번역	**임상적 관련성:**
업데이트된 섹션	개정 이력

개정된 버전	AZ
개정 날짜	7월 2024
업데이트된 섹션	개정 이력

기호 목록

기호 용어집은 beckman.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다(문서 번호 B60062)

	Spesifikasyonlar
Özgüllük	CD57
Klon	NC1
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
İmmünojen	Cells from quail ciliary ganglia
Immunoglobulin	IgM
Türler	Fare
Arıtma	Jel filtrasyon kromatografisi
Florokrom	Fluorescein isothiocyanate
Molar oran	FITC/Ig: 19 - 24
λ eksitasyonu	488 nm
Emisyon piki	525 nm
Tampon	PBS pH 7,2 artı 2 mg/mL BSA ve %0,1 NaN_3

IOTest
Konjuge Antikor
CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

***İn vitro* diagnostik kullanım içindir.**

KULLANIM AMACI

Bu florokrom konjuge antikor, akış sitometrisi kullanılarak insan biyolojik örneklerinde var olan CD57 antijenini eksprese eden hücre popülasyonlarının otomatik olmayan ve kalitatif tanımlamasına olanak tanır (aşağıdaki "Örnekler" bölümüne bakın).

İLKE

Bu test, spesifik monoklonal antikorların lökositler tarafından eksprese edilen antijenik belirleyicilere bağlanabilmesine dayanmaktadır.

Lökositlerin spesifik boyaması, örnek, IOTest reaktifi ile inkübe edilerek gerçekleştirilir. Sonra kırmızı hücreler parçalanarak giderilir ve bu işlemden etkilenmeyen lökositler, akış sitometrisi ile analiz edilir.

Akış sitometrisi ışık difüzyonunu ve hücre floresanını ölçer. Bu durum, ilgili popülasyonun, ışığın ortogonal difüzyonu (Yana Yayılma veya SS) ve dar açılı ışığın difüzyonu (İleri Yayılma veya FS) ile ilişkilendirilen histogram üzerinde tanımlanmış elektronik pencerede sınırlanmasını sağlar. Sitometredeki farklı parametrelerden ikisini birleştiren diğer histogramlar, kullanıcının seçtiği uygulamaya bağlı olarak kapılama aşamasında destek olarak kullanılabilir.

Sınırlı hücrelerin floresanı analiz edilerek pozitif boyalı olaylar boyasızlardan ayrılır. Sonuçlar pozitif olayların geçiş ile edinilmiş tüm olaylara yüzdesi olarak ifade edilir.

HEDEF KULLANICI

Bu ürün, laboratuvarda profesyonel kullanım için tasarlanmıştır.

KLİNİK GEÇERLİLİK

CD57-FITC, akış sitometrisiyle CD57 antijenini eksprese eden hücreleri tanımlamak ve karakterize etmek amacıyla kullanılan bir CD57 antikorudur. Bu ürün tek başına, herhangi bir tanı sonucu oluşturamaz ve tanı sonucu oluşturmak üzere tasarlanmamıştır.

Bu ürün, diğer belirteçlerle birlikte kullanıldığında aşağıdaki işlevlerden biri veya daha fazlası için kullanılabilir:

- Hematopoetik neoplazmı olduğundan şüphelenilen hematolojik olarak anormal hastalarda ayırıcı tanıya yardımcı olmak ve bilinen hematopoetik neoplazmı olan hastaları izlemek için.
- Hematopoetik neoplazmı olan hastalarda prognoza yardımcı olmak için.
- İmmün yetmezliği olduğundan şüphelenilen hastaların tanısına yardımcı olmak ve immün yetmezliği olduğu bilinen hastaları izlemek için.

Şu referanslara bakın:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ÖRNEKLER

Antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüpler kullanılarak venöz kan alınmalıdır.

Örnekler oda sıcaklığında (18-25°C) tutulmalı ve çalkalanmamalıdır. Örnekler test örneği alınmadan önce hafifçe çalkalanarak homojenize edilmelidir.

Örnekler venipunktür sonrası 24 saat içinde analiz edilmelidir.

KONSANTRASYON

Lota özel Analiz Sertifikası için www.beckman.com adresine bakın.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. Reaktifi son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
2. Dondurmayın.
3. Kullanmadan önce oda sıcaklığına (18-25°C) getirin.
4. Işığa maruz kalmasını en aza indirin.
5. Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonundan kaçının yoksa yanlış sonuçlar oluşabilir.
6. Sodyum azid (NaN_3) içeren antikor solüsyonları dikkatle işlenmelidir. Yutmayın ve cilt, mukoza ve gözlerle temasından kaçının.

Ayrıca, asit ortamında, sodyum azid potansiyel olarak tehlikeli hidrazoik asit oluşturabilir. Atılması gerekiyorsa, metal borularda sodyum azid birikmesini ve patlama riskini önlemek için, reaktifin drenaj sistemine dökülmeden önce çok miktarda suyla seyreltilmesi önerilmektedir.

7. Tüm kan örnekleri potansiyel olarak bulaşıcı olarak kabul edilmeli ve dikkatle ele alınmalıdır (özellikle koruyucu eldiven, önlük ve gözlük takılmalıdır).
8. Asla ağızla pipetleme yapmayın ve örneklerin cilt, mukoza veya gözle herhangi bir şekilde temas etmesini önleyin.
9. Taşıma için kullanılan kan tüpleri ve tek kullanımlık malzeme, yakma amacıyla özel kaplara atılmalıdır.
10. Reaktifler ve atıklar yerel gereksinimlere göre elimine edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır

SDS Güvenlik Bilgi Formuna beckmancoulter.com/techdocs adresinden ulaşılabilir

SAKLAMA VE STABİLİTE

Bu reaktifin, şişe açılmadan önce ve açıldıktan sonra 2 ile 8°C arasında tutulması ve ışıktan korunması gereklidir.

Stabilite çalışması için şişe raf ömrü: 1095 gün.

Açılan şişenin stabilitesi: reaktif 180 gün stabildir.

BOZULMA GÖSTERGESİ

Reaktiflerin fiziksel görünümündeki herhangi bir değişiklik bozulmayı gösterebilir ve reaktif kullanılmamalıdır.

Ek bilgi almak isterseniz veya aldığınız ürün hasarlı çıktıysa, 800-742-2345 numaralı telefondan (ABD veya Kanada) Beckman Coulter Müşteri Hizmetlerini arayın veya yerel Beckman Coulter Temsilcinizle temas kurun.

İÇİNDEKİLER

Sodyum azid koruyucu maddesi metal kanalizasyon hatlarında patlayıcı bileşimler oluşturabilir. NIOSH Bültenine bakın: Explosive Azide Hazard (Patlayıcı Azide Tehlikesi) (16.8.76).
Azid bileşenlerinin olası birikimini engellemek amacıyla, seyreltilmemiş reaktifi çöpe attıktan sonra atık borularını bol suyla yıkayın. Sodyum azid, uygun yerel düzenlemelere göre çöpe atılmalıdır.

GEREKLİ OLAN ANCAK KİT İLE BİRLİKTE VERİLMEYEN MALZEMELER:

- Numune alma tüpleri ve numune alma için gerekli malzemeler.
- 20, 100 ve 500 µL için tek kullanımlık uçlu otomatik pipetler.
- Plastik hemoliz tüpleri.
- Lizis sonrası yıkama aşamasıyla birlikte eritrosit lizis reaktifi. Örneğin: VersaLyse (Ref. A09777).
- Lökosit fiksasyon reaktifi. Örneğin: IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonu (Ref. A07800).
- Tampon (PBS: 0,01 M sodyum fosfat; 0,145 M sodyum klorür; pH 7,2).
- Santrifüjleyin.
- Otomatik karıştırıcı (Vorteks tipi).
- Akış sitometresi.

VERSALYSE REAKTİFİ İLE PROSEDÜR

1. Her test tüpüne uygun hacimde 20 µL spesifik IOTest konjuge antikoru ekleyin.
2. Her bir tüpe 100 µL test örneği ekleyin. Tüpleri yavaşça vorteksleyin.
3. Oda sıcaklığında (18-25°C) ışıktan koruyarak 15-20 dakika boyunca inkübe edin.
4. Ardından kırmızı hücrelerin lizisini gerçekleştirin. VersaLyse (Ref. A09777) broşürüne bakın ve tercihen "birlikte kullanılan fiksasyon ile" adlı, doğaçlama hazırlanan 1 mL "Fiksasyon ve Lizis" karışımını eklemeyi içeren prosedürü izleyin. Hemen bir saniye boyunca vorteksleyin ve ışıktan koruyarak, 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
5. Oda sıcaklığında 5 dakika 150 x g hızda santrifüjleyin.
6. Aspirasyon ile üst fazı alın.
7. 3 mL PBS kullanarak hücre peletini yeniden süspanse edin.
8. Adım 6'i tekrarlayın.
9. Yüzer maddeyi aspirasyonla alın ve hücre topağını şunu kullanarak yeniden süspanse edin:

- Preparatlar 24 saatten az tutulacaksa, 0,5 mL veya 1 mL PBS'nin yanı sıra %0,1 formaldehit. (%0,1 formaldehit PBS, 1 mL PBS içinde 10X konsantre IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonundan (Ref. A07800) 12,5 µL seyreltilerek elde edilebilir).
- 0,5 mL veya 1 mL PBS formaldehidsiz, preparatlar 2 saat içinde analiz edilmelidir.

Not: Tüm durumlarda, preperatlar 2 ile 8°C arasında tutulmalı ve ışıktan korunmalıdır.

BEKLENEN DEĞERLER

Laboratuvarlarımızda, yukarıda açıklanan reaktif kullanılarak sağlıklı görünen 25 donörün tam kan örnekleri işlenmiştir. Bu reaktif ile ilgi konusu pozitif olayların sayısı için elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir:

Pozitif Hedef	Sayı	Ortalama (%)	SS	VK (%)
Lenfositler	25	20,46	10,29	50,28

Bu değerlerin sadece temsili olması amaçlanmaktadır. Her laboratuvar normal donörlerden oluşan yerel popülasyonunda kendi beklenen değerlerini oluşturmalıdır.

PERFORMANS

Performans verileri, antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüplerde daha önce toplanan, 24 saatten eski olmayan kan örnekleri üzerinde yukarıdaki prosedür kullanılarak elde edilmiştir. İmmün boyamayı takiben 2 saat içinde analiz gerçekleştirilir.

ÖZGÜLLÜK

Esasen HNK- 1 olarak adlandırılan CD57 molekülü, 110-115 kDa moleküler ağırlığı olan bir glikoproteindir. CD57 molekülü, sülfatlı glukuronik asit rezidüleri olan bir oligosakkarit antijenik bileşiktir. Farklı dokularda bulunan çeşitli polipeptidler, lipidler ve kondroitin sülfat proteoglikanlara bağlıdır. CD57 molekülü, hematopoietik hücre, nöroektodermal hücre, nöroendokrin hücre alt kümeleri, çizgili kas ve prostat epitelinde eksprese edilir (11, 12, 13, 14).

CD57 antijeni, başlangıçta hematopoietik dokuda büyük granüler lenfositlerin (LGL) çoğunluğunda tanımlanmıştır. Çoğu erişkinde CD57 antijeni, bir NK hücresi ve CD8 pozitif T lenfosit alt kümesinde eksprese edilir (13). CD57 antijeni, bir kemik iliği hücresi alt kümesinde eksprese edilir ve kordon kanı lenfositlerinde bulunmadığı görünmektedir.

Lenf nodlarının germinal merkezinden köken alan CD4+ / CD45RO+ T lenfositler CD57 antijeni eksprese eder (12, 13). Veriler CD57 molekülünün hücre-hücre etkileşimlerinde görevli olduğunu bildirmektedir. L-selektin (CD62L) ve P-selektin (CD62P) molekülleri CD57 için olası ligandlar olabilir (11, 15). NC1 monoklonal antikoru, 1993 yılında Boston, ABD'de düzenlenen İnsan Lökosit Diferansiyasyon Antijenleri ile ilgili 5. Uluslararası Çalıştayı'nda CD57 yığılım moleküllerine atanmıştır (16).

KESİNLİK

Yüzde pozitif değerler, Tam Kan kullanılarak belirlenmiştir. Her örnek, 2 lot CD57-FITC Monoklonal Antikor Reaktifleri kullanılarak 2 cihazda 1 gün için günde iki kez olmak üzere 4 kez çalışılmıştır. Ölçümler (% pozitif) Navios akış sitometresi üzerinde yapılmıştır. Analiz, CLSI yöntemi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kantitatif Ölçüm Yöntemlerinin Kesinlik Performansına İlişkin Değerlendirme) temelinde yürütülmüştür.

Kabul kriterlerimiz, her popülasyon için ölçülen pozitif olay sayısına bağlıdır:

- Pozitif olay <1.500, VK <%15 ise
- Pozitif olay >1.500, VK <%10 ise

Lenfositler							
Pozitif olay sayısı (Ortalama)=804							
	Kullanıcılar arası	Sitometreler arası	Lot içi	Lotlar arası	Çalışmalar arası	Çalışma içi	Total
VK (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
SONUÇLAR	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOĞRULUK

CD57-FITC doğruluğu, bir Navios akış sitometresinde çalışılan tam kan örnekleri grubunda esas alınan referans reaktifle sonuçlar karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Test ve referans reaktif arasındaki sapma, test sonuçları arasındaki fark temelinde belirlenmiştir. Sapma, izin verilen hata aralığı dahilindeyse veya p değeri anlamlı fark göstermediğinde (>0,05), iki reaktif için test sonuçlarının eşdeğer olduğu kabul edilir.

Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Donör sayısı=25				
Pozitif Hedef	Ortalama Δ	Δ % Hücre kriteri	p değeri	SONUÇLAR
Lenfositler	1,11	<5	2,71E-04	PASS

KÖR LİMİTİ VE TESPİT LİMİTİ

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klinik Laboratuvar Ölçüm Prosedürleri için Tespit Kabiliyetinin Değerlendirilmesi) ile uyumlu bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Tespit Limiti (LOD), tutarlı olarak tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonudur. Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Positive Target	Kör Limiti (hücre/µL)	Tespit Limiti (hücre/µL)
Lenfositler CD3+ CD57+	1	2

SINIRLAMALAR

1. Akış sitometrisi, sitometre mükemmel şekilde hizalanmadıysa, floresan sızıntıları doğru şekilde telafi edilmediyse ve bölgeler dikkatli bir şekilde konumlandırılmadıysa yanlış sonuçlar üretebilir.
2. Bu reaktif "yıkamasız" parçalama teknikleri için optimize edilmediğinden, yıkama adımı içeren bir RBC parçalama tekniği kullanılması tercih edilir.
3. Kullanılan prosedürler teknik bilgi broşürüne uygun olduğu ve iyi laboratuvar uygulamalarına uygun olduğu sürece doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilecektir.
4. Bu reaktifin konjugat antikoru, en iyi spesifik sinyal/spesifik olmayan sinyal oranını sunacak şekilde kalibre edilir. Bu nedenle her testte reaktif hacmi/örnek hacmi oranına bağlı kalmak önemlidir.
5. Hiperlökositoz durumunda yaklaşık 5 x 10^9 lökosit/L (17) değerini elde etmek için kanı PBS içinde seyreltin.
6. Şiddetli böbrek yetmezliği veya hemoglobinopatiler gibi bazı hastalık durumlarında, eritrosit lizisi yavaş, eksik ve hatta imkansız olabilir. Bu durumda mononükleotidli hücrelerin boyama öncesinde yoğunluk gradyanı (örneğin Ficoll) kullanılarak izole edilmesi önerilmektedir (18).
7. Anti-insan monoklonal antikor terapisi ile tedavi edilen hastalarda, terapötik antikorun kısmi veya tam engellemesi nedeniyle spesifik hedeflenen antijenlerin tespiti azalabilir veya yapılamayabilir.
8. CD57-FITC sonuçları, semptomlar, klinik öykü, ilave testlerden elde edilen veriler ve diğer uygun bilgiler dahil olmak üzere hastanın genel klinik tablosu dikkate alınarak yorumlanmalıdır.

Örnekler ve referanslar için Ek'e bakın.

TİCARİ MARKALAR

Bu belgede belirtilen Beckman Coulter, stilize logo ve Beckman Coulter ürün ve hizmet markaları, Beckman Coulter, Inc. firmasının ABD'de ve diğer ülkelerdeki ticari veya tescilli ticari markalarıdır.

EK BİLGİLER

Avrupa Birliği'nde ve aynı düzenleme rejiminin olduğu ülkelerdeki (In Vitro Diagnostik Tıbbi Cihazlar hakkında 2017/746/EU sayılı Yönetmelik) hasta/kullanıcı/üçüncü taraflar için; bu cihazın kullanımı sırasında veya cihazın kullanımının bir sonucu olarak ciddi bir olay meydana gelirse lütfen olayı üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makamınıza bildirin.

Summary of Safety and Performance (Güvenlik ve Performans Özeti) EUDAMED veritabanında mevcuttur: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVİZYON GEÇMİŞİ

REVİZYON AD:	Yayınlanma tarihi: Ekim 2019

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AW	Mayıs 2022
Beckman Coulter Global Etiketleme Politikasıyla uyumluluk sağlamak için ve IVD-R (AB)2017/746 gerekliliklerine göre güncellemeler yapıldı:	
Bölümler eklendi	BSI 2797 Numarası, Hedef Kullanıcı, Klinik Anlam, Konsantrasyon, Kesinlik, Doğruluk, Kör limiti ve tespit limiti, Ek Bilgiler, Revizyon Geçmişi.
Bilgi eklendi	Sınırlamalar bölümlerine bakın
İfade veya yazım güncellemeleri	Prosedür, Performans, Sınırlamalar, Uyarılar ve Önlemler, Saklama ve Stabilite bölümlerine bakın.
Bölümler kaldırıldı	Klinik uygulama örneği, Reaktifler, Laboratuvar içi yeniden üretilebilirlik, Linearite
Güncellenmiş bölümler	Kullanım Amacı, GHS Tehlike Sınıflandırması, Bozulma Göstergesi, Prosedür, Ek.

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AX	Nisan 2023
Güncellenmiş bölümler	Kazakça ekle
Güncellenmiş bölümler	Saklama ve stabilite

Düzeltilmiş Sürüm	AY
Revizyon Tarihi	Mayıs 2024
Güncellenmiş Çeviriler	**Klinik önemi:**
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Düzeltilmiş Sürüm	AZ
Revizyon Tarihi	Temmuz 2024
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Sembol Anahtarı

Semboller Sözlüğü beckman.com/techdocs adresinde bulunabilir (belge numarası B60062)

	Спецификации
Специфичность	CD57
Клон	NC1
Гибридома	SP2/0 x balb/c
Иммуноген	Cells from quail ciliary ganglia
Иммуноглобулин	IgM
Вид	Мышь
Очистка	Гель-фильтрация хроматографии
Флуорохром	Fluorescein isothiocyanate
Молярное отношение	FITC / Ig: 19 - 24
Возбуждение λ	488 nm
Пик эмиссии	525 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 мг/мл БСА и 0,1% NaN_3

Конъюгированное антитело IOTest CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 мл, 20 мкл/тест

Для диагностики *in vitro*.

НАЗНАЧЕНИЕ

Это конъюгированное с флуорохромом антитело позволяет с использованием проточной цитометрии выполнить качественное и не автоматизированное определение клеточных популяций, экспрессирующих антиген CD57, который присутствует в биологических пробах человека (см. раздел «Пробы» ниже).

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Данный тест основан на способности специфических моноклональных антител связывать антигенные детерминанты, экспрессированные лейкоцитами.

Специфическое окрашивание лейкоцитов выполняется путем инкубирования пробы с реагентом IOTest. Затем методом лизиса удаляются эритроциты, и выполняется анализ лейкоцитов, не затронутых этим процессом, методом проточной цитометрии.

Проточный цитометр измеряет светорассеяние и флуоресценцию клеток. Это дает возможность разграничения интересующей популяции в электронном окне, определенном на гистограмме, что коррелирует с ортогональным светорассеянием (боковое рассеяние, или SS) и рассеянием света под острым углом (прямое рассеяние, или FS). Другие гистограммы, сочетающие два из других параметров, доступных на цитометре, могут использоваться как вспомогательные на стадии селекции, в зависимости от приложения, выбранного пользователем.

Флуоресценцию разграниченных клеток анализируют с целью различения положительно-окрашенных и неокрашенных событий. Результаты выражаются в виде процентного отношения положительных событий ко всем событиям, полученным в ходе селекции.

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ

Изделие предназначено для использования в лаборатории персоналом с профессиональной подготовкой.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

CD57-FITC представляет собой антитело к CD57, используемое для идентификации и определения характеристик клеток, экспрессирующих антиген CD57, методом проточной цитометрии. Этот продукт отдельно от других исследований не может приводить к принятию каких-либо диагностических решений и не предназначен для этого.

При использовании в сочетании с другими маркерами этот продукт может использоваться в следующих целях.

- Для использования при дифференциальной диагностике пациентов с отклонениями гематологических результатов (при подозрении на наличие гематопоэтических новообразований), а также для мониторинга пациентов с известным гематопоэтическим новообразованием.
- Для определения прогноза у пациентов с гематопоэтическими новообразованиями.
- Для использования при диагностике пациентов с подозрением на иммунодефицит, а также для мониторинга пациентов с известным иммунодефицитом.

См. следующие ссылки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ПРОБЫ

При взятии образца венозной крови необходимо использовать стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта.

Пробы следует хранить при комнатной температуре (18–25°C), не встряхивая. Пробы следует гомогенизировать, осторожно перемешав, до отбора тестовой пробы.

Пробы требуется проанализировать в течение 24 ч после венипункции.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

См. специфический для партии сертификат анализа на веб-сайте www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Не используйте реагенты после истечения срока годности.
2. Не замораживать.
3. Перед использованием довести до комнатной температуры (18–25°C).
4. Минимизируют воздействие света.

5. Во избежание получения ошибочных результатов не допускайте микробной контаминации реагентов.
6. Следует с осторожностью обращаться с растворами антител, содержащими натрия азид (NaN_3). Не принимайте внутрь и избегайте любого контакта с кожей, слизистыми оболочками и глазами.

   Кроме того, в кислой среде натрия азид может образовывать потенциально опасную азотистоводородную кислоту. Если требуется утилизация, рекомендуется разводить реагент в большом объеме воды, прежде чем выливать его в канализацию, чтобы избежать накопления натрия азида в металлических трубах и исключить возможность взрыва.
7. Все пробы крови должны считаться потенциально инфицированными, при обращении с ними необходимо соблюдать осторожность (в частности, использовать защитные перчатки, одежду и очки).
8. Никогда не пипетируйте ртом и избегайте любого контакта проб с кожей, слизистыми и глазами.
9. При утилизации пробирок и одноразовых материалов следует использовать специальные предназначенные для сжигания контейнеры.
10. При утилизации реагентов и отходов необходимо следовать требованиям местного законодательства.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Не классифицируется как опасное вещество

SDS Паспорт безопасности доступен на сайте beckmancoulter.com/techdocs

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Этот реагент требуется хранить при температуре от 2 до 8°C, защищая от света, до и после вскрытия флакона.

Срок хранения закрытого флакона согласно исследованию стабильности: 1095 день.

Стабильность в открытом флаконе: реагент сохраняет стабильность в течение 180 дн.

ПРИЗНАКИ ПОРЧИ

Любые изменения внешнего вида реагентов могут говорить о порче, использовать такой реагент не следует.

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь со своим местным представителем Beckman Coulter.

СОДЕРЖАНИЕ

Консервант с содержанием азида натрия может образовывать взрывоопасные соединения в металлической водопроводной арматуре. См. бюллетень Национального института по охране труда и промышленной гигиене (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Взрывоопасные азиды) (16.8.76). Чтобы избежать накопления азидных соединений, промывайте сливные трубы водой после сброса неразбавленного реагента. Утилизацию азида натрия следует проводить в соответствии с соответствующими местными нормами.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, КОТОРЫЕ НЕ ВХОДЯТ В НАБОР:

- Необходимые для взятия проб пробирки и материалы.
- Автоматические пипетки с одноразовыми наконечниками для 20, 100 и 500 мкл.
- Пластиковые пробирки для гемолиза.
- Реагент для лизиса эритроцитов с этапом промывки после лизиса. Например: VersaLyse (ссылочный номер A09777).
- Реагент для фиксации лейкоцитов. Например: IOTest 3 Fixative Solution (фиксирующий раствор) (ссылочный номер A07800).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрия фосфата; 0,145 M натрия хлорида; pH 7,2).
- Центрифугируйте.
- Автоматическая мешалка (вортексная)
- Проточный цитометр.

ПРОЦЕДУРА С РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

1. Добавляют соответствующий объем 20 (мкл) специфического конъюгированного антитела IOTest в каждую тестовую пробирку.
2. Добавьте 100 мкл тестовой пробы в каждую пробирку. Аккуратно перемешайте пробирки на вортексе.
3. Инкубируют при комнатной температуре (18–25°C) в течение 15-20 мин, в защищенном от света месте.
4. Затем выполняют лизис эритроцитов. См. вкладыш VersaLyse (ссылочный номер A09777) и, предпочтительно, следуйте процедуре с названием «с сопутствующей фиксацией», которая заключается в добавлении 1 мл смеси «Фиксирующей и лизирующей», приготовленной для немедленного применения. Немедленно перемешивают на вортексе в течение одной секунды и инкубируют в течение 10 минут при комнатной температуре, защищая от света.
5. Центрифугируют в течение 5 минут при 150 g при комнатной температуре.
6. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации.
7. Ресуспендируют осадок клеток, используя 3 мл PBS.
8. Повторяют этап 6.
9. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации и ресуспендируют осадок клеток, используя:

- 0,5 мл или 1 мл PBS плюс 0,1% формальдегида, если препараты следует хранить менее 24 ч. (PBS с 0,1% формальдегида можно получить путем разведения 12,5 мкл фиксирующего раствора IOTest 3 (ссылочный номер A07800) в 10-кратной концентрации в 1 мл PBS).
- 0,5 мл или 1 мл PBS без формальдегида, если препараты следует проанализировать в течение 2 ч.

Примечание. В обязательном порядке защищайте подготавливаемые материалы от солнечного света, храните их при температуре от 2 до 8°C.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В наших лабораториях пробы цельной крови от клинически здоровых доноров (количество доноров: 25) были обработаны с использованием описанного выше реагента. Результаты, полученные для количества положительных интересующих явлений с этим реагентом, приводятся в таблице ниже:

Положительная мишень	Число	Среднее (%)	SD	CV (%)
Лимфоциты	25	20,46	10,29	50,28

Эти значения используются только в качестве примера. В каждой лаборатории должны быть установлены собственные диапазоны ожидаемых значений с учетом проб нормальных доноров из числа местного населения.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Рабочие характеристики получены с использованием описанной выше процедуры на пробах, собранных не ранее чем за 24 часа до анализа в стерильные пробирки с солью ЭДТА как антикоагулянтом. Анализ проводится в течение 2 часов после иммуноокрашивания.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Молекула CD57, которая изначально называлась HNK- 1, представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 110–115 kDa. Молекула CD57 представляет собой олигосахаридное антигенное соединение с сульфурированными остатками глюкуроновой кислоты. Она связывается с различными полипептидами, липидами и хондроитинсульфат протеогликанами, присутствующими в различных тканях. Молекула CD57 экспрессирует в поднаборах кроветворных клеток, нейроэктодермальных клеток, нейроэндокринных клеток, длинной малоберцовой мышцы и простатического эпителия (11, 12, 13, 14).

Антиген CD57 был первоначально выявлен в кроветворных тканях большинства больших гранулярных лейкоцитов (БГЛ). У большинства взрослых антиген CD57 экспрессирует в поднаборе NK-клеток и положительных Т-лимфоцитов CD8 (13). Молекула CD57 экспрессирует в поднаборе костномозговых клеток и, вероятно, присутствует, в лимфоцитах пуповинной крови.

Поднабор Т-лимфоцитов CD4+ / CD45RO+ из герминативного центра лимфатического узла экспрессирует антиген CD57 (12, 13). Как показывают данные, молекула CD57 участвует в межклеточных взаимодействиях. Молекулы L-селектина (CD62L) и P-селектина (CD62P) могут являться возможными лигандами для CD57 (11, 15). Моноклональное антитело NC1 было отнесено к кластеру CD57 на 5-м Международном семинаре, посвященном дифференцирующему антигену лейкоцитов человека, который проводился в Бостоне, США в 1993 г. (16).

ПРЕЦИЗИОННОСТЬ

Процент положительных результатов был установлен с использованием цельной крови. Каждую пробу измеряли 4 раза, два раза в день в течение 1 дня на 2 приборах, с использованием 2 партий реагентов моноклональных антител CD57-FITC. Измерения (% положительных) выполняли на проточном цитометре Navios. Анализ проводился на основе метода CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оценка прецизионности количественных методик измерения).

Наши критерии принятия зависят от количества положительных событий, измеренных для каждой популяции:

- Если положительных событий <1 500, CV <15%
- Если положительных событий >1 500, CV <10%

Лимфоциты							
Количество положительных событий (среднее) = 804							
	Между операторами	Между цитометрами	Внутри партии	Между партиями	Между анализами	Внутри анализа	Итого
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
РЕЗУЛЬТАТЫ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТЬ

Точность CD57-FITC оценивалась путем сравнения результатов с результатами по референсному реагенту как предикатом. Анализ выполняли на проточном цитометре Navios с использованием набора проб цельной крови. Систематическая ошибка оценки между тестовым и референсным реагентами была определена на основании различий между результатами теста. Если систематическая ошибка оценки находится в пределах допустимого диапазона ошибки или если p-значение указывает на отсутствие значительного различия (>0,05), тогда результаты теста для двух реагентов рассматриваются как эквивалентные.

Полученные результаты обобщены в таблице далее.

Количество доноров = 25				
Положительная мишень	Среднее значение Δ	Критерии Δ % клеток	p-значение	РЕЗУЛЬТАТЫ
Лимфоциты	1,11	<5	2,71E-04	PASS

ПРЕДЕЛ БЛАНКА И ПРЕДЕЛ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Исследование было проведено в соответствии с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Оценка способности обнаружения для методик измерения клинической лаборатории). Предел чувствительности (LOD) — наименьшая концентрация аналита, которая может последовательно обнаруживаться. Полученные результаты обобщены в таблице ниже.

Positive Target	Предел бланка (клеток/мкл)	Предел чувствительности (клеток/мкл)
Лимфоциты CD3+ CD57+	1	2

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. При проведении проточной цитометрии возможно получение ложных результатов, если цитометр не был идеально позиционирован, не была проведена правильная компенсация утечек флуоресцентного агента или точное позиционирование областей.

2. Предпочтительно использовать технику лизиса RBC с шагом промывки, так как этот реагент не был оптимизирован для техник лизиса «без промывки».
3. Для получения точных и повторяемых результатов необходимо выполнять процедуры в соответствии с инструкцией-вкладышем и требованиями надлежащей лабораторной практики.
4. Выполняется калибровка конъюгированного антитела этого реагента с целью получения наилучшего для данной конкретной задачи соотношения специфичного и неспецифичного сигнала. Поэтому при каждом тесте важно придерживаться правильного соотношения объема реагента и пробы.
5. При гиперлейкоцитозе, разбавляют кровь PBS до приблизительно 5 x 10^9 лейкоцитов/л (17).
6. При определенных заболеваниях, таких как острая почечная недостаточность или гемоглобинопатии, лизис эритроцитов может протекать медленно, быть неполным или даже невозможным. В таком случае рекомендуется изолировать одноядерные клетки, используя градиент плотности (например, фиколл), перед окрашиванием (18).
7. У пациентов, получавших лечение античеловеческими моноклональными антителами, обнаружение специфических целевых антител может быть снижено или может отсутствовать вследствие частичной или полной блокировки терапевтическими антителами.
8. Результаты CD57-FITC должны интерпретироваться с учетом общих клинических проявлений пациента, включая симптомы, историю болезни, данные дополнительных тестирований и прочую информацию.

Примеры и ссылки см. в Приложении.

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

Beckman Coulter, стилизованный логотип и упоминаемые здесь знаки продукции и услуг Beckman Coulter являются товарными знаками или зарегистрированными товарными знаками корпорации Beckman Coulter, Inc. в Соединенных Штатах и других странах.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для пациента / пользователя / третьей стороны в Европейском Союзе и в странах с идентичным регуляторным режимом (Регламент 2017/746/EC в отношении медицинских изделий для in vitro диагностики); если, во время использования этого изделия или в результате его использования произошел серьезный инцидент, сообщите о нем производителю и/или его уполномоченному представителю и своему национальному органу регулирования.

Summary of Safety and Performance (Сводные данные по безопасности и функциональным характеристикам) доступны в Европейской базе данных изделий медицинского назначения (EUDAMED): ec.europa.eu/tools/eudamed.

СВЕДЕНИЯ О ВЕРСИЯХ

ВЕРСИЯ AD:	Дата выпуска: Октябрь 2019 г.

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AW	Май 2022 г.
Обновления с целью приведения в соответствие политике международной маркировки Beckman Coulter и для выполнения требований IVD-R (EC)2017/746:	
Добавлены разделы	Номер BSI 2797, «Предполагаемый пользователь», «Клиническая значимость», «Концентрация», «Прецизионность», «Точность», «Предел бланка и предел чувствительности», «Дополнительная информация», «Сведения о версиях».
Добавлена информация	См. раздел «Ограничения»
Обновлены формулировки или исправлены опечатки	См. разделы «Процедура», «Эксплуатационные характеристики», «Ограничения», «Предупреждения и меры предосторожности», «Хранение и стабильность».
Удалены разделы	«Примеры клинических областей применения», «Реагенты», «Внутрилабораторная сходимость», «Линейность»
Обновленные разделы	«Назначение», «Классификация опасностей по системе СГС», «Признаки порчи», «Процедура», «Приложение».

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AX	Апрель 2023
Обновленные разделы	Добавить казахский язык
Обновленные разделы	Хранение и стабильность

Пересмотренная версия	AY
Дата пересмотра	Май 2024
Обновленные переводы	**Клиническая значимость:**
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Пересмотренная версия	AZ
Дата пересмотра	Июль 2024
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Определения символов

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (номер документа B60062)

	Spetsifikatsioonid
Spetsiifilisus	CD57
Kloon	NC1
Hübridoom	SP2/0 x balb/c
Immunogeen	Cells from quail ciliary ganglia
Immunoglobuliin	IgM
Liigid	Hiir
Puhastamine	Geeli filtreerimine
Fluorokroom	Fluorescein isothiocyanate
Molaarsuhe	FITC/Ig: 19 - 24
λ ergastumine	488 nm
Emission Peak	525 nm
Puhver	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/ml BSA ja 0,1% NaN_3

IOTest
konjugeeritud antikeha CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 ml, 20 µl / analüüs

***In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks.**

KASUTUSOTSTARVE

See fluorokroomiga konjugeeritud antikeha võimaldab voolutsütomeetriaga kvalitatiivselt ja mitteautomatiseeritult tuvastada rakupopulatsioone, mis esitavad inimese bioloogilistes proovides antigeeni CD57 (vt allpool osa „Proovid“).

PÕHIMÕTE

Analüüs põhineb spetsiifiliste monoklonaalsete antikehade võimel seonduda leukotsüütide sünteesitavate antigeensete determinantidega.

Leukotsüütide eriomaseks värvimiseks tuleb proovi koos tootesarja IOTest reagendiga inkubeerida. Seejärel eemaldatakse erütrotsüüdid lüüsimisega ja pärast seda analüüsitakse voolutsütomeetriaga leukotsüüte, mida see protsess ei mõjuta.

Läbivoolutsütomeeter mõõdab valguse hajumist ja rakkude fluorestsentsi. See muudab võimalikuks huvialuse populatsiooni piiristamise histogrammil määratud elektroonilisel alal. Histogramm korreleerib valguse ortogonaalset hajumist (külghajumine ehk KH) ja kitsasnurga valguse hajumist (edasihajumine ehk EH). Teisi histogramme, kus ühendatakse tsütomeetrias saadaolevat kahte parameetrit, võib kasutada lüüsimisetapis olenevalt kasutaja valitud rakendusest.

Piiritletud rakkude fluorestsentsi analüüsitakse, et eristada positiivselt värvitud sündmusi värvimata sündmustest. Tulemusi kajastatakse positiivsete sündmuste protsentuaalse osakaaluna kõigi väravdamisega hõivatud sündmuste suhtes.

SIHTKASUTAJA

See toode on ette nähtud laboratoorseks kasutamiseks.

KLIINILINE TÄHTSUS

CD57-FITC on CD57 antikeha, mida kasutatakse CD57 antigeeni sünteesivate rakkude voolutsütomeetriaga tuvastamiseks ja kirjeldamiseks. See toode üksi ei saa ega ole mõeldud ühegi diagnostilise otsuse tegemiseks.

Koos teiste markeritega kasutades saab seda toodet kasutada ühes või mitmes järgmistest funktsioonidest:

- Lihtsustamaks diferentsiaaldiagnoosi panemist hematoloogiliste ebanormaalsustega patsientidele, kellel kahtlustatakse vereloome neoplasmi esinemist, ja teadaoleva vereloome neoplasmiga patsientide monitoorimiseks.
- Vereloome neoplasmiga patsientidele prognoosi andmise hõlbustamiseks.
- Immuunpuudulikkusega patsientide diagnoosimise hõlbustamiseks ja teadaoleva immuunpuudulikkusega patsientide jälgimiseks.

Vt järgmisi viiteid.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROOVID

Veeniverd tuleb võtta steriilsete katsutitega, mis sisaldavad antikoagulandina etüleendiamiintetraatsetaadi (EDTA) soola.

Proove tuleb hoida toatemperatuuril (18–25 °C) ja neid ei tohi raputada. Proove tuleb ühtlustada seda enne näidisproovi võtmist ettevaatlikult loksutades.

Proove tuleb analüüsida 24 tunni jooksul alates veenipunktsioonist.

KONTSENTRATSIOON

Vt partiispetsiifilist analüüsi sertifikaati veebilehelt www.beckman.com.

HOIATUS JA ETTEVAATUSABINÕUD

1. Ärge kasutage reagenti pärast aegumiskuupäeva.
2. Ärge külmutage.
3. Enne kasutamist laske tasakaalustuda toatemperatuuriga (18–25 °C).
4. Minimeerige kokkupuudet valgusega.
5. Vältige reagentide mikroobidega saastumist, vastasel juhul võite saada valed tulemused.

6. Antikehade lahuseid, mis sisaldavad naatriumasiidi (NaN_3), tuleb käsitseda ettevaatlikult. See pole mõeldud seespidiseks kasutamiseks. Vältige kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.

   Lisaks võib naatriumasiid moodustada happelises keskkonnas potentsiaalselt ohtliku hüdrasoonhappe. Kui see tuleb kõrvaldada, on soovitatav lahjendada reagenti suure hulga veega, enne kui see äravoolusüsteemi valada, et vältida plahvatusohtu ja naatriumasiidi kogunemist metalltorudesse.
7. Kõiki vereproove tuleb pidada potentsiaalselt nakkusohtlikuks ja käsitseda ettevaatusega (kasutage kaitsekindaid, kitlit ning kaitseprille).
8. Ärge kunagi pipettige suuga ja vältige proovide kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.
9. Verekatsutid ja käitlemiseks kasutatav ühekordselt kasutatav materjal tuleb hävitada põletamiseks ettenähtud spetsiaalsetes konteinerites.
10. Reagendid ja jäätmed tuleb kõrvaldada vastavalt kohalikele nõuetele.

GHS-I OHUKLASSIFIKATSIOON

Ei ole klassifitseeritud ohtlikuks

SDS Ohutuskaart on saadaval saidil beckmancoulter.com/techdocs

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Seda reagenti tuleb enne ja pärast viaali avamist hoida temperatuuril 2–8 °C ning valguse eest kaitstult.

Suletud viaali säilivusaeg stabiilsusuuringu põhjal: 1095 päeva.

Avatud viaali stabiilsus: reagent on stabiilne 180 päeva.

RIKNEMISE TUNNUSED

Igasugune muutus reagentide füüsilises välimuses võib viidata reagendi riknemisele ja seda ei tohi kasutada.

Lisateabe hankimiseks või kahjustatud toote saamisel helistage Beckman Coulteri klienditeenindusse numbril 800-742-2345 (USA või Kanada) või võtke ühendust kohaliku Beckman Coulteri esindajaga.

SISU

Naatriumasiidist konservant võib moodustada metallist kanalisatsioonitorudes plahvatusohtlikke ühendeid. Vt asutuse NIOSH teadaannet. Explosive Azide Hazard (Plahvatusohtliku asiidi oht) (16.8.76).
Vältimaks võimalikku asiidiühendite akumuleerimist, loputage äravoolutorusid pärast lahjendamata reagendi kõrvaldamist. Naatriumasiidi kõrvaldamine peab olema kooskõlas asjakohaste kohalike eeskirjadega.

VAJALIKUD, KUID KOMPLEKTI MITTEKUULUVAD MATERJALID

- Proovide kogumiseks vajalikud proovivõtukatsutid ja vahendid.
- Automaatpipetid ühekordselt kasutatavate otsakutega, mis võimaldavad teisaldada 20, 100 ja 500 µl.
- Plastist hemolüüsi katsutid.
- Erütrotsüütide lüüsireagent koos pesemisetapiga pärast lüüsi. Analüüsinäide VersaLyse (viitenr A09777).
- Leukotsüütide fikseerimisreagent. Näide Tootesarja IOTest 3 fikseerimisreagent (viitenr A07800).
- Puhver (PBS: 0,01 M naatriumfosfaat; 0,145 M naatriumkloriid; pH 7,2).
- Tsentrifuugige.
- Automaatsegisti (vibratsioonsegamise tüüpi).
- Voolutsütomeeter.

PROTSEDUUR REAGENDIGA VERSALYSE

1. Lisage igasse analüüsikatsutisse vastav kogus 20 µl kindlat tootesarja IOTest konjugeeritud antikeha.
2. Lisage igasse katsutisse 100 µl analüüsiproovi. Vibratsioonsegage ettevaatlikult katsuteid.
3. Inkubeerige valguse eest kaitstult 15–20 minutit toatemperatuuril (18–25 °C).
4. Seejärel lüüsige erütrotsüüdid. Lugege VersaLyse'i (viitenr A09777) teabelehte ja järgige eelistatavalt protseduuri nimega „samaaegse fikseerimisega", mis põhineb ekstemporaalselt ettevalmistatud 1 ml segu „Fix-and-Lyse" lisamisel. Vibratsioonsegage kohe üks sekund ja inkubeerige 10 minutit toatemperatuuril valguse eest kaitstult.
5. Tsentrifuugige 5 minutit toatemperatuuril kasutades sätet 150 x g.
6. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus.
7. Taassuspendeerige rakusade PBS-is, mille kogus on 3 ml.
8. Korrake etappi 6.
9. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus ja taassuspendeerige rakugraanuleid vahendiga:

- 0,5 ml või 1 ml PBS-i ja 0,1% formaldehüüdi, kui preparaate tuleb hoida vähem kui 24 tundi. (0,1% formaldehüüdi sisaldava PBS-i saamiseks võite lahjendada 12,5 µl tootesarja IOTest 3 10x kontsentratsioonil fikseerimislahust (viitenr A07800) PBS-is, mille kogus on) 1 ml.
- 0,5 ml või 1 ml formaldehüüdita PBS-iga, kui valmissegusid analüüsitakse 2 tunni jooksul.

Märkus Preparaate tuleb alati hoida temperatuuril 2–8 °C ja valguse eest kaitstult.

OODATUD VÄÄRTUSED

Ettevõttesisestes laborites töödeldi ülalkirjeldatud reagendiga täisvere proove, mis koguti 25 tõenäoliselt tervelt doonoritelt. Alljärgnev tabel annab ülevaate selle reagendiga saadud positiivsete huvipakkuvate sündmuste loendustulemustest:

Positiivne siht	Arv	Keskmine (%)	SH	CV (%)
Lümfotsüüdid	25	20,46	10,29	50,28

Need väärtused on mõeldud üksnes näitlikena. Iga laboratoorium peaks kindlaks määrama oma oodatavad vahemikud kohaliku tavapäraste doonorite populatsiooni alusel.

TOIMIMINE

Toimimisandmed saadakse kasutades ülalkirjeldatud protseduuri vähem kui 24 tundi vanadel antikoagulandi EDTA naatriumsoolaga steriilsetesse katsutitesse kogutud vereproovidel. Analüüs tehakse 2 tunni jooksul pärast immuunovärvimist.

SPETSIIFILISUS

CD57 molekul, esialgu nimega HNK- 1, on glükoproteiin molekulkaaluga 110–115 kDa. CD57 molekul on oligosahhariidi antigeenne ühend sulfaaditud glükuroonhappe jäägiga. Seda seostatakse erinevate mitmesugustest kudedest leitud polüpeptiidide, lipiidide ja kondroitiinsulfaadi proteoglükaanidega. CD57 molekul ekspresseerub vereloome-, neuroektodermaalsete, neuroendokriinsete rakkude alamrühmadel, vöötlihaskoel ja eesnäärme epiteelil (11, 12, 13, 14).

Esialgu tuvastati CD57 antigeen vereloomekoes enamikel suurtel granuleeritud lümfotsüütidest (LGL). Enamikul täiskasvanutel on CD57 antigeen ekspresseeritud NK-rakkude alamrühmadel ja CD8 positiivsetel T-lümfotsüütidel (13). CD57 molekul on ekspresseeritud luuüdi rakkude alamrühmadel ega näi olevat nabaväädivere lümfotsüütidelt leitav.

CD4+ / CD45RO+ T-lümfotsüütide alamrühm germinaalkeskme lümfisõlmedest ekspresseerib CD57 antigeeni (12, 13). Andmete aruanne selle kohta, et CD57 molekul osaleb rakkudevahelistes interaktsioonides. L-selektiini (CD62L) ja P-selektiini (CD62P) molekulid võivad olla CD57 puhul võimalikud ligandid (11, 15). NC1 monoklonaalne antikeha määrati CD57 klastrile 5. rahvusvahelisel inimese leukotsüütide diferentseerumise antigeeni alasel seminaril 1993. aastal USA-s Bostonis (16).

TÄPSUS

Positiivsete väärtuste protsent määrati täisverest. Igat proovi testiti 4 korda, kaks korda päevas, 1 päeva jooksul 2 instrumendil, kasutades 2 CD57-FITC monoklonaalsete antikehade reagentide partiid. Mõõtmised (% positiivne) tehti Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsiti CLSI meetodi EP5-A2 põhjal. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivsete mõõtmismeetodite täpsuse näitajate hindamine).

Meie sobivuskriteeriumid sõltuvad iga populatsiooni kohta mõõdetud positiivsete sündmuste arvust:

- Positiivse sündmuse korral < 1500, CV < 15%
- Positiivse sündmuse korral > 1500, CV < 10%

Lümfotsüüdid							
Positiivsete sündmuste arv (keskmine) = 804							
	Kasutajatevaheline	Tsütomeetritevaheline	Partiisisene	Partiidevaheline	Testidevaheline	Testisisene	Kokku
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
TULEMUSED	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

MÕÕTETÄPSUS

CD57-FITC mõõtetäpsust hinnati võrreldes tulemusi võrdlusreagendiga kui predikaadiga täisvereproovide komplektis, mida oli testitud Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsi- ja võrdlusreagendi erinevused määrati analüüsitulemuste erinevuse põhjal. Kui erisus jääb lubatud veavahemikku või kui p-väärtus ei näita statistiliselt olulist erinevust (> 0,05), loetakse kahe reagendi analüüsitulemused võrdväärseteks.

Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis.

Doonorite arv = 25				
Positiivne siht	Keskmine Δ	Δ% raku kriteeriumid	p-väärtus	TULEMUSED
Lümfotsüüdid	1,11	<5	2,71E-04	PASS

NULLPIIR JA TUVASTUSPIIR

Uuriti vastavalt CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Kliinilise labori mõõtmisprotseduuride avastamisvõime hindamise) nõuetele. Tuvastuspiir (LOD) on väikseim analüüdi kontsentratsioon, mida saab järjekindlalt määrata. Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis:

Positive Target	Nullpiir (rakku/µl)	Tuvastuspiir (rakku/µl)
Lümfotsüüdid CD3+ CD57+	1	2

PIIRANGUD

1. Voolutsütomeetria võib anda valed tulemused, kui tsütomeeter ei ole ideaalselt joondatud, kui fluorestsentsi lekkeid ei ole õigesti kompenseeritud ja kui piirkonnad ei ole hoolikalt paigutatud.
2. Eelistatav on kasutada pesemisetapiga RBC lüüsi tehnikat, kuna seda reagenti pole optimeeritud „pesemiseta“ lüüsi tehnikate jaoks.
3. Täpsed ja korratavad tulemused saadakse, kui kasutatavad protseduurid on kooskõlas tehnilise teabelehe ja heade laboritavadega.
4. Selle reagendi pööratud antikeha kalibreeritakse nii, et tagatud oleks parim spetsiifilise/mittespetsiifilise signaali suhe. Seetõttu on igas analüüsis oluline järgida reagendi- ja proovimahu suhet.
5. Hüperleukotsütoosi korral lahjendage verd PBS-is nii, et saadav väärtus oleks ligikaudu 5 x 10^9 leukotsüüti/l kohta (17).
6. Teatud haigusseisundite (näiteks raske neerupuudulikkuse või hemoglobinopaatia) korral võib erütrotsüütide lüüsimine olla aeglane, mittetäielik või isegi võimatu. Sellisel juhul on enne värvimist soovitatav mononukleaarsete rakkude isoleerimine tihedusgradiendi (näiteks Ficoll-gradiendi) abil (18).
7. Inimesevastaste monoklonaalsete antikehadega ravitud patsientidel võib spetsiifiliste antigeenide tuvastamise võime väheneda või puududa, sest need on terapeutiliste antikehade poolt osaliselt või täielikult blokeeritud.
8. CD57-FITC tulemuste tõlgendamisel tuleb arvestada patsiendi terviklikku kliinilist pilti, sh sümptomeid, kliinilist anamneesi, lisaanalüüside andmeid ja muud asjakohast teavet.

Vt näiteid ja viiteid lisast.

KAUBAMÄRGID

Beckman Coulter, stiliseeritud logo ning selles juhendis nimetatud ettevõtte Beckman Coulter toote- ja teenusemärgid on ettevõtte Beckman Coulter, Inc. kaubamärgid või registreeritud kaubamärgid Ameerika Ühendriikides ja teistes riikides.

LISATEAVE

Patsiendile / kasutajale / muule osapoolele Euroopa Liidus ja identse regulatsioonirežiimiga riikides (määrus (EL) nr 2017/746 in vitro diagnostikameditsiiniseadmete kohta), kui selle seadme kasutamise ajal või selle kasutamise tagajärjel on toimunud tõsine vahejuhtum, teatage sellest tootjale ja/või tema volitatud esindajale ning teie riiklikult pädevale asutusele.

Summary of Safety and Performance (Ohutuse ja kliinilise toimivuse kokkuvõte) on EUDAMED-andmebaasis: ec.europa.eu/tools/eudamed.

VERSIOONI AJALUGU

REVISION AD:	Avaldamise kuupäev: oktoober 2019

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AW	Mai 2022
Värskendused, mis vastavad Beckman Coulteri ülemaailmse märgistamise poliitikale ja IVD-R (EL) 2017/746 nõuetele:	
Lisatud osad	BSI 2797 number, sihtkasutaja, kliiniline tähtsus, kontsentratsioon, täpsus, mõõtetäpsus, nullpiir ja tuvastuspiir, lisateave, versiooni ajalugu.
Lisatud informatsioon	Vaata osa „Piirangud“
Fraseerimine või tüpograafiline värskendamine	Vaata osasid Protseduur, Toimimine, Piirangud, Hoiatus ja ettevaatusabinõud, Säilitamine ja stabiilsus.
Eemaldatud osad	Kasutusotstarvete, reagentide, laborisisese korratavuse, lineaarsuse näited
Uuendatud jaotised	Kasutusotstarve, GHS-i ohuklassifikatsioon, Riknemise tunnused, Protseduur, Lisa.

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AX	aprill 2023
Uuendatud jaotised	Lisada kasahhi keel
Uuendatud jaotised	Säilitamine ja stabiilsus

Muudetud versioon	AY
Muutmise kuupäev	mai 2024
Värskendatud tõlked	**Kliiniline tähtsus:**
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Muudetud versioon	AZ
Muutmise kuupäev	juuli 2024
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Sümboli tähis

Sümbolite mõisted on kättesaadavad veebilehel beckman.com/techdocs (dokument nr B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD57
Klon	NC1
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Cells from quail ciliary ganglia
Imunoglobulin	IgM
Vrsta	Miš
Pročišćavanje	Gel filtracija
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate
Molarni omjer	FITC / Ig: 19 - 24
λ ekscitacija	488 nm
Vršna emisija	525 nm
Pufer	PBS pH 7,2 uz 2 mg/mL BSA i 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano antitijelo CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Za *in vitro* dijagnostičku uporabu.

NAMJENA

To fluorokromom konjugirano antitijelo omogućuje kvalitativno i neautomatizirano prepoznavanje populacija stanica koje eksprimiraju antigen CD57 prisutan u humanim biološkim uzorcima uz pomoć protočne citometrije (pogledajte odjeljak „Uzorci" u nastavku).

NAČELO

Ovaj je test utemeljen na mogućnosti vezivanja specifičnih monoklonskih antitijela na antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično se bojenje leukocita izvodi inkubacijom uzorka s reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utječe, analiziraju se protočnom citometrijom.

Citometar toka mjeri difuziju svjetlosti i fluorescenciju stanica. Omogućuje razgraničavanje promatrane populacije unutar elektroničkog prozora definiranog na histogramu, koji stvara korelaciju između ortogonalne difuzije svjetlosti (bočnog raspršenja (BR)) i difuzije uskokutne svjetlosti (prednjeg raspršenja (PR)). Drugi histogrami koji kombiniraju dva od više različitih parametara dostupnih na citometru mogu se upotrebljavati kao pomoć u fazi ograđivanja ovisno o primjeni koju je odabrao korisnik.

Analizira se fluorescencija ograničenih stanica da bi se pozitivno obojeni događaji odvojili od neobojenih. Rezultati se izražavaju kao postotak pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobivene ograđivanjem.

PREDVIĐENI KORISNIK

Proizvod je namijenjen za profesionalnu laboratorijsku uporabu.

KLINIČKA RELEVANTNOST

CD57-FITC antitijelo je na CD57 koje se koristi za prepoznavanje i karakteriziranje stanica koje eksprimiraju antigen CD57 protočnom citometrijom. Ovaj proizvod samostalno ne može generirati nikakav dijagnostički zaključak niti je tome namijenjen.

Kada se upotrebljava u kombinaciji s drugim markerima, ovaj se proizvod može upotrebljavati u jednoj ili više sljedećih funkcija:

- Kao pomoć prilikom postavljanja diferencijalne dijagnoze u hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu te za praćenje pacijenata s poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć prilikom donošenja prognoze za pacijente s hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć prilikom postavljanja dijagnoze u pacijenata za koje se sumnja na imunodeficijenciju te za praćenje pacijenata s poznatom imunodeficijencijom.

Pogledajte sljedeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

UZORCI

Venska krv mora se uzeti sterilnim epruvetama koje kao antikoagulans sadrže EDTA sol.

Uzorke držite na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C) i nemojte ih tresti. Prije uzimanja testnog uzorka potrebno je homogenizirati uzorke pažljivim mućkanjem.

Uzorci venske krvi moraju se analizirati u roku od 24 sata od njihova uzimanja.

KONCENTRACIJA

Na web-mjestu www.beckman.com pogledajte Certifikat o analizi specifičan za lot koji upotrebljavate.

UPOZORENJE I MJERE OPREZA

1. Reagens nemojte upotrebljavati nakon isteka roka trajanja.
2. Nemojte zamrzavati.
3. Prije upotrebe pustite da dosegne sobnu temperaturu (18 – 25 °C).
4. Smanjite izlaganje svjetlu.
5. Izbjegavajte mikrobnu kontaminaciju reagensa ili može doći do netočnih rezultata.

6. Otopinama antitijela koje sadrže natrijev azid (NaN_3) potrebno je rukovati oprezno. Ne gutajte i izbjegavajte dodir s kožom, sluznicom i očima.

   Štoviše, natrijev azid u kiselom mediju može formirati potencijalno opasnu hidrazoičnu kiselinu. Ako je reagens potrebno odložiti u otpad, preporučuje se da ga razrijedite u velikoj količini vode prije nego što ga izlijete u odvodni sustav da biste izbjegli nakupljanje natrijeva azida u metalnim cijevima i spriječili opasnost od eksplozije.
7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno zaraznima te je njima potrebno rukovati oprezno (odnosno nositi zaštitne rukavice, odjeću i naočale).
8. Nikada ne pipetirajte ustima te izbjegavajte doticaj uzoraka s kožom, sluznicom i očima.
9. Epruvete s krvlju i otpadni materijal za rukovanje treba odložiti u jednokratne spremnike namijenjene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad potrebno je ukloniti u skladu s lokalnim zahtjevima.

KLASIFIKACIJA OPASNOSTI PREMA GHS-U

Nije klasificiran kao opasan

SDS Sigurnosni list dostupan je na adresi beckmancoulter.com/techdocs

POHRANA I STABILNOST

Reagens se mora čuvati na temperaturi između 2 i 8 °C te zaštićen od svjetlosti, kako prije, tako i poslije otvaranja bočice.

Vijek trajanja zatvorene bočice prema ispitivanju stabilnosti: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dana.

DOKAZ PROPADANJA

Svaka promjena fizičkog izgleda reagensa može upućivati na propadanje te se reagens ne smije upotrebljavati.

Ako su vam potrebne dodatne informacije ili ste primili oštećen proizvod, nazovite korisnički servis tvrtke Beckman Coulter na 800-742-2345 (u SAD-u ili Kanadi) ili se obratite lokalnom predstavniku tvrtke Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans s natrijevim azidom može stvoriti eksplozivne spojeve u metalnim cjevovodima. Pogledajte bilten NIOSH: Explosive Azide Hazard (Opasnost od eksplozije azida) (16. 8. 76.).
Da biste spriječili moguće taloženje komponenata azida, prilikom odlaganja nerazrijeđenog reagensa u otpad odvodne cijevi isperite vodom. Odlaganje natrijeva azida u otpad mora biti u skladu s odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU DIO KOMPLETA:

- Epruvete za uzorke i materijal potreban za uzimanje uzoraka.
- Automatske pipete s jednokratnim nastavcima za 20, 100 i 500 µL.
- Plastične hemolitičke epruvete.
- Reagens za liziranje eritrocita s fazom pranja nakon liziranja. Na primjer: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primjer: Otopina za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijeva fosfata, 0,145 M natrijeva klorida, pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska miješalica (tip vorteks).
- Citometar toka.

POSTUPAK S REAGENSOM VERSALYSE

1. Dodajte odgovarajući volumen 20 µL određenog konjugiranog antitijela IOTest u svaku testnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µL testnog uzorka u svaku epruvetu. Epruvete polako promiješajte u vorteks-miješalici.
3. Inkubirajte od 15 do 20 min na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C), zaštićeno od svjetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje eritrocita. Pogledajte brošuru VersaLyse (ref. A09777) i po mogućnosti slijedite postupak „uz istovremeno fiksiranje" koji se sastoji od dodavanja 1 mL svježe pripremljene mješavine za fiksiranje i liziranje. Odmah promiješajte u vorteks-miješalici jednu sekundu i inkubirajte 10 min pri sobnoj temperaturi, zaštićeno od svjetlosti.
5. Centrifugirajte 5 min pri 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću 3 mL PBS-a.
8. Ponovite korak 6.
9. Uklonite supernatant aspiracijom i stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću:

- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a plus 0,1 % formaldehida ako se pripravke planira čuvati manje od 24 sati. (PBS s 0,1 % formaldehida možete pripremiti razrjeđivanjem 12,5 µL otopine za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800) pri njezinoj 10X koncentraciji u 1 mL PBS-a).
- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a bez formaldehida, ako pripravak treba analizirati u roku od 2 sati.

Napomena: U svakom slučaju pripravke čuvajte zaštićene od svjetlosti na temperaturi između 2 i 8 °C.

OČEKIVANE VRIJEDNOSTI

U našim su laboratorijima obrađeni uzorci pune krvi naizgled zdravih donora (njih 25) pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati prikupljeni pomoću tog reagensa u svrhu brojanja pozitivnih relevantnih događaja navedeni su u tablici u nastavku:

Pozitivna ciljna vrijednost	Broj	Srednja vrijednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti	25	20,46	10,29	50,28

Te su vrijednosti samo okvirne. Svaki laboratorij mora utvrditi vlastite očekivane vrijednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o performansama dobivaju se prethodno opisanim postupkom na manje od 24 sata starim uzorcima krvi prethodno prikupljenima u sterilne epruvete uz EDTA sol kao antikoagulans. Analiza se provodi u roku od 2 sata nakon imunobojenja.

SPECIFIČNOST

Molekula CD57, izvorno nazvana HNK-1, glikoprotein je s relativnom atomskom masom 110 – 115 kDa. Molekula CD57 oligosaharinski je antigenski spoj s ostacima sumporne glukuronske kiseline. Povezana je s cijelim nizom polipeptida, lipida i proteoglikana kondroitin-sulfata iz različitih tkiva. Molekula CD57 izražava se na podskupovima hematopoetskih stanica, neuroektodermnih stanica, neuroendokrinih stanica te epitelu poprečno-prugastih mišića i prostate (11, 12, 13, 14).

Antigen CD57 prvotno je otkriven u hematopoetskom tkivu kod većine velikih granularnih limfocita (LGL-ova). U većine odraslih osoba antigen CD57 se izražava na podskupu NK-stanica i T-limfocitima pozitivnim na CD8 (13). Molekula CD57 izražava se na podskupu stanica koštane srži i čini se da nije prisutna kod limfocita iz krvi iz pupkovine.

Podskup T-limfocita s antigenima CD4+ / CD45RO+ iz limfnih čvorova sa zametnim centrima izražava antigen CD57 (12, 13). Podaci ukazuju na to da je molekula CD57 uključena u međustanične interakcije. Molekule L-selektin (CD62L) i P-selektin (CD62P) možda su ligandi za CD57 (11, 15). Monoklonsko antitijelo NC1 pridruženo je grupi CD57 na 5. međunarodnoj radionici o antigenima za razlikovanje humanih leukocita u Bostonu, SAD, 1993. godine (16).

PRECIZNOST

Postotne pozitivne vrijednosti utvrđene su pomoću pune krvi. Svaki je uzorak obrađen 4 puta, dvaput dnevno tijekom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagensa s monoklonskim antitijelima CD57-FITC. Mjerenja (% pozitivnih vrijednosti) provedena su s pomoću citometra toka Navios. Analiza je provedena na temelju CLSI metode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procjena radnih značajki preciznosti metoda kvantitativnog mjerenja).

Naši kriteriji prihvatljivosti ovise o broju pozitivnih događaja izmjerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivni događaj < 1500, CV < 15 %
- Ako je pozitivni događaj > 1500, CV < 10 %

Limfociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrijednost) = 804							
	Među operatorima	Među citometrima	Unutar lota	Među lotovima	Među obradama	Unutar obrade	Ukupno
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost mjerenja CD57-FITC procijenjena je usporedbom rezultata s referentnim reagensom kao predikatom na skupu uzoraka pune krvi obrađenima na protočnom citometru Navios. Odstupanje između testa i referentnog reagensa utvrđeno je na temelju razlike između rezultata testa. Ako je odstupanje unutar dopuštenog raspona pogreške ili ako p-vrijednost upućuje na to da nema značajne razlike (> 0,05), rezultati testa za dva reagensa smatraju se istovjetnima.

Dobiveni rezultati sažeti su u tablici u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivna ciljna vrijednost	Srednja vrijednost Δ	Kriterij stanica Δ %	p-vrijednost	REZULTATI
Limfociti	1,11	<5	2,71E-04	PASS

GRANICA SLIJEPE PROBE I GRANICA DETEKCIJE

Ispitivanje je izvedeno u skladu s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Procjena sposobnosti otkrivanja za postupke mjerenja u kliničkim laboratorijima). Granica detekcije (LOD) – najniža koncentracija analita koja se može dosljedno otkriti. Dobiveni rezultati sažeti su u sljedećoj tablici:

Positive Target	Granica slijepe probe (stanica/µL)	Granica detekcije (stanica/µL)
Limfociti CD3+ CD57+	1	2

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti pogrešne rezultate ako citometar nije savršeno poravnat, ako fluorescentna curenja nisu pravilno kompenzirana i ako regije nisu pažljivo pozicionirane.
2. Poželjno je upotrebljavati tehniku liziranja pomoću RBC-a uz korak pranja jer ovaj reagens nije optimiziran za tehnike liziranja „bez pranja”.
3. Točni i ponovljivi rezultati dobivat će se sve dok se postupci izvode u skladu s tehničkom brošurom i u skladu s dobrim laboratorijskim praksama.
4. Konjugirano antitijelo tog reagensa kalibrirano je tako da pruža najbolji omjer specifičnog i nespecifičnog signala. Zato je važno pridržavati se omjera volumena reagensa i volumena uzorka prilikom svakog testiranja.
5. U slučaju hiperleukocitoze razrijedite uzorak u PBS-u da biste dobili vrijednost od približno 5 x 10^9 leukocita/L (17).
6. Pri određenim bolestima, kao što je ozbiljno zatajenje bubrega ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak i nemoguće. U tom se slučaju prije bojenja preporučuje izoliranje jednojezgrenih stanica s pomoću gradijenta gustoće (na primjer, Ficoll) (18).
7. U pacijenata koji primaju terapiju monoklonskim antihumanim antitijelima detekcija određenih ciljanih antigena može biti smanjena ili nepostojeća zbog djelomičnog ili potpunog blokiranja terapijskih antitijela.

8. Rezultate CD57-FITC treba tumačiti u kontekstu ukupne kliničke slike pacijenta, uključujući simptome, anamnezu, podatke iz dodatnih testova i druge odgovarajuće informacije.

Za primjere i reference pogledajte Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizirani logotip te oznake proizvoda i usluga tvrtke Beckman Coulter žigovi su ili registrirani žigovi tvrtke Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim državama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta / korisnika / treću stranu u Europskoj uniji i u državama s identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskim proizvodima za in vitro dijagnostiku): ako tijekom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe dođe do ozbiljnog štetnog događaja, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovu ovlaštenom zastupniku te nadležnom nacionalnom tijelu.

Summary of Safety and Performance (Sažetak podataka o sigurnosti i performansama) potražite u bazi podataka EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

POVIJEST REVIZIJA

REVIZIJA AD:	Datum objave: listopad 2019.

REVIZIJA	**Datum objave**
AW	Svibanj 2022.
Ažuriranja radi usklađivanja s pravilnikom o globalnom označavanju tvrtke Beckman Coulter i u skladu sa zahtjevima uredbe (EU)2017/746 o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima (IVD-R):	
Dodani odjeljci	Broj BSI 2797, Ciljni korisnik, Klinička relevantnost, Koncentracija, Preciznost, Točnost, Granica slijepe probe i granica detekcije, Dodatne informacije, Povijest revizija.
Dodane informacije	Pogledajte odjeljke Ograničenja
Preformuliranje ili tipografska ažuriranja	Pogledajte odjeljke Postupak, Performanse, Ograničenja, Upozorenje i mjere opreza, Pohrana i stabilnost.
Uklonjeni odjeljci	Primjer kliničkih primjena, Reagensi, Unutarlaboratorijska obnovljivost, Linearnost
Ažurirani odjeljci	Namjena, Klasifikacija opasnosti prema GHS-u, Dokaz pogoršanja stanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum objave**
AX	Travanj 2023
Ažurirani odjeljci	Dodati kazaški
Ažurirani odjeljci	Čuvanje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Svibanj 2024
Ažurirani prijevodi	**Klinička relevantnost:**
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Srpanj 2024
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Pojmovnik simbola

Pojmovnik simbola dostupan je na web-mjestu beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Спецификации
Специфичност	CD57
Клонинг	NC1
Хибридома	SP2/0 x balb/c
Имуноген	Cells from quail ciliary ganglia
Имуноглобулин	IgM
Вид	Мишка
Пречистване	Гел-филтрация
Флуорохром	Fluorescein isothiocyanate
Моларно съотношение	FITC / Ig: 19 - 24
λ възбуждане	488 nm
Емисионен пик	525 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 mg/mL BSA и 0,1 % NaN_3

IOTest
Конюгирано антитяло
CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20 µL/тест

За *in vitro* диагностика.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Това флуорохром-конюгирано антитяло позволява качествена и неавтоматизирана идентификация с помощта на поточна цитометрия на клетъчни популации, експресиращи CD57 антиген, присъстващ в човешки биологични проби (вижте раздел „Проби“ по-долу).

ПРИНЦИП

Този тест се базира на способността на специфични моноклонални антитела да се свързват с антигенни детерминанти, експресирани от левкоцитите.

Специфично оцветяване на левкоцитите се извършва чрез инкубиране на пробата с реактива IOTest. След това червените кръвни телца се отстраняват чрез лизиране, а левкоцитите, които не се повлияват от този процес, се анализират чрез поточна цитометрия.

Поточният цитометър измерва разсейването на светлината и флуоресценцията на клетките. Това прави възможно разграничаването на популацията, която се изследва, в електронния прозорец, дефиниран на една хистограма, която корелира с ортогоналната дифузия на светлината (странично разсейване) и дифузията на тесноъгълна светлина (предно разсейване). Други хистограми, комбиниращи два от различните параметри на разположение на цитометъра, могат да бъдат използвани като основа в етапа на определяне на област за анализ в зависимост от приложението, избрано от потребителя.

Флуоресценцията на разграничените клетки се анализира, за да се разграничат позитивно оцветените събития от неоцветените такива. Резултатите се изразяват като процент на положителни събития във връзка с всички събития, получени от определянето на областта за анализ.

ПРЕДВИДЕН ПОТРЕБИТЕЛ

Този продукт е предназначен само за лабораторна професионална употреба.

КЛИНИЧНА ЗНАЧИМОСТ

CD57-FITC е антитяло CD57, използвано за идентифициране и характеризиране чрез поточна цитометрия на клетки, експресиращи CD57 антиген. Този продукт не може и не е предназначен самостоятелно да генерира каквото и да е диагностично заключение.

Когато се използва в комбинация с други маркери, този продукт може да се използва в една или повече от следните функции:

- Като помощно средство при поставяне на диференциална диагноза на хематологично абнормни пациенти, суспектни за хематопоетично новообразуване, и за проследяване на пациенти с известно хематопоетично новообразуване.
- Като помощно средство при създаване на прогноза за пациенти с хематопоетична неоплазма.
- Като помощно средство за диагностициране на пациенти със суспектен имунодефицит и проследяване на пациенти с известен имунодефицит.

Вижте следните справки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ПРОБИ

Венозна кръв трябва да се взема в стерилни епруветки, съдържащи сол EDTA като антикоагулант.

Пробите трябва да бъдат съхранявани при стайна температура (18–25°C) и не трябва да се разклащат. Пробите трябва да бъдат хомогенизирани чрез внимателно смесване, преди да се вземе пробата за теста.

Пробите трябва да бъдат анализирани в рамките на 24 часа от венопункturата.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Вижте Сертификата за анализ за конкретната партида на www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Не използвайте реактива след изтичане на срока на годност.
2. Не замразявайте.
3. Оставете на стайна температура (18–25°C) преди употреба.
4. Минимизирайте излагането на светлина.

5. Избягвайте микробно замърсяване на реактивите, в противен случай е възможно да се получат погрешни резултати.
6. С разтворите на антитела, съдържащи натриев азид (NaN_3), трябва да се работи внимателно. Не приемайте вътрешно и избягвайте всякакъв контакт с кожата, лигавицата и очите.

   В допълнение, в киселинна среда натриевият азид може да образува потенциално опасната хидразоена киселина. Ако тя трябва да се изхвърли, препоръчва се реактивът да се разреди в голям обем вода, преди да се излее в дренажната система, за да се избегне натрупването на натриев азид в металните тръби и да се предотврати риск от експлозия.
7. Всички кръвни проби трябва да се считат за потенциално заразни и с тях трябва да се борави внимателно (по-специално: носене на защитни ръкавици, облекло и очила).
8. Никога не пипетирайте с уста и избягвайте всякакви контакти между пробите и Вашата кожа, лигавица и очи.
9. Епруветките за кръв и материалите за еднократна употреба, използвани за боравене, трябва да се изхвърлят във временни контейнери, предназначени за изгаряне.
10. Реактивите и отпадъците трябва да бъдат елиминирани в съответствие с местните изисквания.

КЛАСИФИЦИЯ НА ОПАСНОСТИТЕ ПО GHS

Не е класифициран като опасен

SDS Информационният лист за безопасност е наличен на адрес beckmancoulter.com/techdocs

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Този реактив трябва да се съхранява при температури между 2 и 8°C и да бъде защитен от светлина преди и след отваряне на флакона.

Изследване на срок на годност при затворена епруветка и стабилност: 1095 дни.

Стабилност на отворен флакон: реактивът е стабилен за 180 дни.

ДАННИ ЗА ВЛОШАВАНЕ

Всяка промяна във физическия изглед на реактивите може да е признак за влошаване и реактивът не трябва да бъде използван.

За допълнителна информация или при получаване на повреден продукт се свържете с отдела за обслужване на клиенти на Beckman Coulter на тел. 800-742-2345 (САЩ или Канада) или се свържете с местния представител на Beckman Coulter.

СЪДЪРЖАНИЕ

Консервантът натриев азид може да образува експлозивни съединения в метални отводнителни тръбопроводи. Вижте Бюлетина на NIOSH: Explosive Azide Hazard (Бюлетин на Националния институт по безопасност и хигиена на труда: Опасност от експлозия на азид) (16/8/76).
За да избегнете възможно натрупване на азидни съединения, промивайте канализационните тръби с вода след изхвърляне на неразтворен реактив. Изхвърлянето на натриев азид трябва да бъде в съответствие с местните разпоредби.

НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СА ДОСТАВЕНИ С КОМПЛЕКТА:

- Епруветки за проби и материали, необходими за вземане на проби.
- Автоматични пипети с накрайници за еднократна употреба за 20, 100 и 500 µL.
- Пластмасови хемолизни епруветки.
- Реактив за лизис на червени кръвни телца с етап на отмиване след лизис. Например: VersaLyse (Реф. A09777).
- Реактив за левкоцитна фиксация. Например: IOTest 3 фиксиращ разтвор (Реф. A07800).
- Буфер (PBS: 0,01 M натриев фосфат; 0,145 M натриев хлорид; pH 7,2).
- Центрофугирайте.
- Автоматичен агитатор (тип вортекс).
- Поточен цитометър.

ПРОЦЕДУРА С РЕАКТИВ VERSALYSE

1. Добавете подходящия обем 20 µL от конкретното IOTest конюгирано антитяло към всяка тестова епруветка.
2. Добавете 100 µL от тестовата проба във всяка епруветка. Внимателно разбъркайте във вортекс епруветките.
3. Инкубирайте за 15 до 20 минути при стайна температура (18–25°C), като предпазвате от светлина.
4. След това се изпълнява лизиране на червените кръвни телца. Вижте брошурата на VersaLyse (Реф. A09777) и изпълнете за предпочитане процедурата, наречена „със съпътстващо фиксиране“, която се състои от добавяне на 1 mL от сместа „Фиксиране и лизиране“, приготвена за незабавно приложение. Незабавно завъртете епруветките с вортекс за една секунда и инкубирайте за 10 минути при стайна температура на защитено от светлина място.
5. Центрофугирайте 5 минути при 150 x g при стайна температура.
6. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация.
7. Разтворете отново клетъчната утайка, като използвате 3 mL PBS.
8. Повторете стъпка 6.
9. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация и ресуспендирайте клетъчната утайка с:

- 0,5 mL или 1 mL PBS плюс 0,1 % формалдехид, ако препаратите трябва да бъдат съхранявани по-малко от 24 часа. (Може да се получи 0,1 % формалдехид PBS чрез разреждане на 12,5 µL разтвор за фиксиране IOTest 3 (Реф. A07800) при 10X концентрация в 1 mL PBS).
- 0,5 mL или 1 mL PBS без формалдехид, ако препаратите ще бъдат анализирани в рамките на 2 часа.

Забележка: Във всички случаи съхранявайте препаратите при температури между 2 и 8°C и защитени от светлина.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

В нашите лаборатории бяха третирани пробите цялостна кръв на 25 видимо здрави донори с описания по-горе реактив. Получените с този реактив резултати за броя на положителните събития, които са от значение, са дадени в таблицата по-долу:

Положителна цел	Брой	Средна (%)	SD	CV (%)
Лимфоцити	25	20,46	10,29	50,28

Тези стойности са само представителни. Всяка лаборатория трябва да установи свои очаквани стойности от местната популация нормални донори.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данните за ефективността се получават с помощта на описаната по-горе процедура за кръвни проби до 24 часа, предварително събрани в стерилни епруветки със сол EDTA като антикоагулант. Анализ се извършва в рамките на 2 часа след имуноцветяване.

СПЕЦИФИЧНОСТ

Молекулата на CD57, първоначално наречена HNK- 1, е гликопротеин с молекулно тегло 110–115 kDa. Молекулата на CD57 е олигозахаридна антигенна субстанция с остатъци от сулфирана глюкуронова киселина. Тя се свързва с различни полипептиди, липиди и хондроитин сулфат протеогликани, открити при разнообразни тъкани. Молекулата на CD57 се експресира при подпопулации от хемопоетични клетки, невроектодермални клетки, невроендокринни клетки, напречнонабразденатa мускулна тъкан и простатните епителни клетки (11, 12, 13, 14).

CD57 антигенът първоначално е идентифициран в хемопоетичната тъкан на по-голямата част от големите гранулирани лимфоцити (LGL). При повечето възрастни CD57 антигенът се експресира от подпопулация на NK-клетки и CD8 позитивни Т-лимфоцити (13). Молекулата на CD57 се експресира от подпопулация на костномозъчните клетки и изглежда не може да бъде открита при лимфоцитите от пъпната връв.

Подпопулация на CD4+/CD45RO+ Т-лимфоцитите от герминативните центрове на лимфните възли експресира CD57 антигена (12, 13). Има данни, че CD57 се включва във взаимодействието на клетките помежду им. Молекулите на L-селектин (CD62L) и P-селектин (CD62P) могат да бъдат възможни лиганди за CD57 (11, 15). На 5-и Международен семинар по диференциращи антигени на човешките левкоцити в Бостън, САЩ, през 1993 г. NC1 моноклоналното антитяло е отнесено към CD57 клъстера (16).

ТОЧНОСТ

Процентните положителни стойности са определени посредством цялостна кръв. Всяка проба е обработена 4 пъти, два пъти на ден за 1 ден на 2 инструмента, като са използвани 2 партиди реактиви с CD57-FITC моноклонално антитяло. Измерванията (% положителни) са направени на поточен цитометър Navios. Анализът е проведен на основата на CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods. (Метод EP5-A2 на CLSI: Оценка на точността на методите за количествено измерване.)

Нашите критерии за приемливост зависят от броя положителни събития, измерени за всяка популация:

- Ако положителните събития са < 1500, CV < 15 %
- Ако положителните събития са > 1500, CV < 10 %

Лимфоцити							
Брой положителни събития (средно) = 804							
	Между оператори	Между цитометри	Вътрепартидна	Между партиди	Между цикли	В рамките на цикъл	Общо
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
РЕЗУЛТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТ

Точността на CD57-FITC е изследвана чрез сравняване на резултатите с референтен реактив като потвърждение върху група от проби от цялостна кръв, обработени на поточен цитометър Navios. Отклонението между тестовия и референтния реактив се определя въз основа на разликата между резултатите от теста. Ако отклонението е в рамките на допустимия обхват на грешка или p-стойността не показва значима разлика (> 0,05), резултатите от теста за двата реактива се считат за еквивалентни.

Получените резултати са обобщени в таблицата, дадена по-долу:

Брой донори = 25				
Положителна цел	Средна Δ	Критерии Δ % клетки	p-стойност	РЕЗУЛТАТИ
Лимфоцити	1,11	<5	2,71E-04	PASS

ГРАНИЦА НА СЛЯПА ПРОБА И ГРАНИЦА НА ОТКРИВАНЕ

Проведено е проучване в съответствие с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оценка на възможността за детекция за измервателни процедури в клинични лаборатории). Границата на откриване (LOD) е най-ниската концентрация на аналита, която може да бъде стабилно открита. Получените резултати са обобщени в следващата таблица:

Positive Target	Граница на сляпата проба (клетки/µL)	Граница на откриване (клетки/µL)
Лимфоцити CD3+ CD57+	1	2

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Поточната цитометрия може да даде неточни резултати, ако цитометърът не е бил идеално приравнен, ако течове на флуоресценция не са били правилно компенсирани или ако регионите не са били внимателно позиционирани.
2. Предпочита се използването на техника за лизиране на червени кръвни клетки със стъпка за промиване, тъй като този реактив не е оптимизиран за техники за лизиране „без промиване“.
3. Ще бъдат получени точни и възпроизводими резултати, при условие, че използваните процедури са в съответствие с техническата листовка и са съвместими с добрите лабораторни практики.

4. Конюгираното антитяло на този реактив е калибрирано, за да се осигури най-доброто съотношение между специфичен сигнал/неспецифичен сигнал. Затова е важно да се придържате към съотношението обем на реактива/обем на пробата във всеки тест.
5. В случай на хиперлевкоцитоза кръвта се разрежда в PBS, така че да се получи стойност приблизително 5 x 10^9 левкоцити/L (17).
6. При определени болестни състояния, например тежка бъбречна недостатъчност или хемоглобинопатии, лизирането на червените кръвни телца може да бъде бавно, непълно или дори невъзможно. В този случай се препоръчва да се изолират мононуклеарни клетки, като се използва градиент на плътността (Ficoll например) преди оцветяване (18).
7. При пациенти, лекувани с терапии с античовешко моноклонално антитяло, отриването на специфични целеви антигени може да бъде занижено или да липсват поради частично или цялостно блокиране от терапевтичното антитяло.
8. Резултатите от CD57-FITC трябва да се интерпретират спрямо общата клинична презентация на пациента, включваща: симптоми, клинична анамнеза, данни от допълнителни тестове и друга съответстваща информация.

Вижте Приложението за примери и справки.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ

Beckman Coulter, стилизираното лого и марките на продуктите и услугите на Beckman Coulter, присъстващи в този документ, са търговски марки или регистрирани търговски марки на Beckman Coulter, Inc. в САЩ и в други държави.

ДОПЪЛНИТЕЛНА ИНФОРМАЦИЯ

За пациенти/потребители/трети лица в Европейския съюз и в страни с идентичен регулаторен режим (Регламент 2017/746/ЕС относно ин витро диагностичните медицински изделия); ако по време на използването на това изделие или в резултат на използването му е настъпил сериозен инцидент, моля, съобщете за това на производителя и/или неговия упълномощен представител и на Вашия национален орган.

Summary of Safety and Performance (Обобщение на безопасността и работата) е налично в базата данни EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ХРОНОЛОГИЯ НА РЕДАКЦИИТЕ

РЕДАКЦИЯ AD:	Дата на издаване: октомври 2019 г.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AW	май 2022 г.
Актуализации с цел съответствие с Глобалната политика за етикетиране на Beckman Coulter и съгласно изискванията на Регламент (ЕС) 2017/746 за медицинските изделия за ин витро диагностика (IVD-R):	
Добавени раздели	Номер 2797 на BSI, Предвиден потребител, Клинична значимост, Концентрация, Прецизност, Точност, Граница на сляпата проба и граница на откриване, Допълнителна информация, Хронология на редакциите.
Добавена информация	Вижте разделите „Ограничения“
Актуализации във формулировките или типографията	Вижте раздели „Процедура“, „Работни характеристики“, „Ограничения“, „Предупреждения и предпазни мерки“, „Съхранение и стабилност“.
Премахнати раздели	Пример за клинични приложения, Реактиви, Вътрешнолабораторна възпроизводимост, Линейност
Актуализирани раздели	Предвидена употреба, Класификация на опасностите по GHS, Признаци за влошаване, Процедура, Приложение.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AX	Април 2023
Актуализирани раздели	Добавен е казахски
Актуализирани раздели	Съхранение и стабилност

Редактирана версия	AY
Редактирана дата	Май 2024
Актуализирани преводи	**Клинична значимост:**
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Редактирана версия	AZ
Редактирана дата	Юли 2024
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Легенда на символите

Речник на символите е наличен на beckman.com/techdocs (номер на документа B60062)

	規格
專一性	CD57
轉殖	NC1
融合瘤	SP2/0 x balb/c
免疫原	Cells from quail ciliary ganglia
免疫球蛋白	IgM
物種	小鼠
純化	凝膠過濾層析
螢光染料	Fluorescein isothiocyanate
莫耳比率	FITC/Ig： 19 - 24
λ 激發	488 nm
發射峰	525 nm
緩衝劑	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 及 0.1% NaN_3

IOTest
結合抗體
CD57-FITC

REF B49188 100 次檢測；2 mL, 20 µL/測試

***體外*診斷用。**

預期用途

使用此螢光染料結合的抗體，能夠以流式細胞分析儀器對人體生物檢體中出現的表現 CD57 抗原之細胞群進行非自動化定性鑑別（請參閱下列「檢體」部分）。

原理

本測試的基礎在於特異性單株抗體結合由白血球表現之抗原決定簇的能力。

以 IOTest 試劑與檢體反應，對白血球進行特異性染色。然後以溶解作用去除紅血球，而白血球不受此程序影響，並可透過流式細胞分析儀器進行分析。

流式細胞分析儀器可測量細胞的光漫射和螢光。這樣可以界定直方圖上定義的電子窗口內的目標群體，直方圖可以關聯光的正交漫射（側向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。細胞分析儀器上可用之結合兩個不同參數的其他直方圖，可用於支持圈選階段，這取決於使用者所選的應用。

為了區分陽性染色事件和未染色事件，對劃定細胞的螢光進行了分析。結果表示為陽性事件相對於圈選所得全部事件的百分比。

預期使用者

本產品應當用於實驗室內的專業用途。

臨床相關性

CD57-FITC 是一種 CD57 抗體，以流式細胞分析儀器使用此抗體庫可辨認表達 CD57 抗原的細胞並鑑別其特徵。單獨使用此程序並不足以診斷出任何結果。

本產品搭配其他標誌物使用時，可用於以下一或多個功能：

- 可輔助疑似罹患造血組織腫瘤之血液異常患者的鑑別診斷，並可監測已知罹患造血組織腫瘤的患者。
- 有助於罹患造血組織腫瘤之患者的預後情況。
- 可輔助診斷疑似罹患免疫不全疾病的患者，並監測已知罹患免疫不全疾病的患者。

請參閱下列參考資料：

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

檢體

靜脈血必須使用無菌試管抽取，此無菌試管中含有 EDTA 鹽作為抗凝劑。

檢體應存放在室溫 (18~25°C)，且不得搖晃。取用測試檢體前，應將檢體輕輕攪動，使之均勻化。

檢體必須在靜脈穿刺後 24 小時內進行分析。

濃度

請參閱 www.beckman.com 參閱各批次專屬的分析證書。

警告和預防措施

1. 請勿使用過期試劑。
2. 切勿冷凍。
3. 使用前，請將其恢復至室溫 (18~25°C)。
4. 儘量避免陽光直射。
5. 請避免試劑受到微生物污染，否則可能會出現錯誤結果。
6. 含有疊氮化鈉 (NaN_3) 的抗體溶液應謹慎處理。請勿內服，並避免接觸皮膚、黏膜和眼睛。

   此外，在酸性介質中，疊氮化鈉可形成具有潛在危害的疊氮酸。若需要對其進行處置，建議在試劑倒入排水系統前以大量清水稀釋，避免疊氮化鈉在金屬管道中累積並預防爆炸。
7. 所有血液檢體必須視為具有潛在傳染性，且必須小心處理（務必穿戴防護手套、防護衣和護目鏡）。

8. 切勿用嘴吸液，並避免檢體接觸皮膚、黏膜和眼睛。
9. 用於處理的血液試管和一次性材料應放入焚化專用的特殊容器中處置。
10. 應根據當地要求清除試劑和廢棄物。

GHS 危害分類

未歸類為危險物質

SDS 安全性資料表載於 beckmancoulter.com/techdocs

存儲和穩定性

在打開試劑瓶前後，試劑必須避光保存於 2~8°C。

穩定性研究的封閉式藥瓶有效期限：1095 天。

開瓶後穩定性：試劑穩定性可維持 180 天。

變質的證據

試劑外觀的任何變化表示可能發生變質，因此不應使用該試劑。

如需瞭解其他資訊，或如果收到已損壞的產品，請撥打 800-742-2345（美國或加拿大）聯絡貝克曼庫爾特客戶服務部，或聯絡您當地的貝克曼庫爾特代表。

內容物

疊氮化鈉防腐劑可能會在金屬排水管道中形成爆炸性化合物。 請參閱 NIOSH Bulletin： Explosive Azide Hazard（爆炸性疊氮化物危害）(76/8/16)。為防止疊氮化合物可能累積，丟棄未稀釋的試劑後請用水沖洗污水管。必須依照相關當地法規丟棄疊氮化鈉。

試劑盒未提供但卻需要的材料：

- 採樣時需要採樣試管和材料。
- 帶有可吸取 20、100 和 500 µL 一次性吸頭的自動移液器。
- 塑膠溶血試管。
- 用於溶解後洗滌階段的紅血球溶解試劑。舉例：VersaLyse (參考 A09777)。
- 白血球固定試劑。舉例：IOTest 3 固定液 (參考 A07800)。
- 緩衝劑 (PBS：0.01 M 磷酸鈉；0.145 M 氯化鈉；pH 7.2）。
- 離心機。
- 自動攪拌器（漩渦型）。
- 流式細胞分析儀器。

使用 VERSALYSE 試劑的程序

1. 向每個試管中添加 20 µL 適當體積的特異性 IOTest 結合抗體。
2. 向每個試管中添加 100 µL 測試檢體。輕輕漩渦振盪試管。
3. 在室溫 (18~25°C) 下避光反應 15~20 分鐘。
4. 然後將紅血球溶解。請參閱 VersaLyse (參考 A09777) 的手冊，最好按照名為「共伴固定」的程序操作，其包含添加臨時製備的 1 mL「固定加溶解」混合物。立即震盪 1 秒後，在室溫下避光反應 10 分鐘。
5. 在室溫下以 150 x g 離心 5 分鐘。
6. 吸除上清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新懸浮細胞團塊。
8. 重複第 6 步。
9. 吸除上清液並按照以下方式重新懸浮細胞團塊：

- 若製劑存放時間不超過 24 小時，則以 0.5 mL 或 1 mL PBS 加 0.1% 甲醛。（可在 1 mL PBS 中稀釋 10X 濃度的 12.5 µL IOTest 3 固定液 (參考 A07800)，得到含有 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 若製劑將在 2 小時內分析，使用 0.5 mL 或 1 mL PBS（無甲醛）。

註：在所有情況下，將製劑在 2~8°C 避光保存。

預期值

在我們的實驗室中，採用上述試劑處理 25 名明顯健康的捐贈者的全血檢體。使用該試劑進行陽性目標事件計數得到的結果如下表所示：

陽性目標	數量	平均值 (%)	SD	CV (%)
淋巴球	25	20.46	10.29	50.28

這些數值是具代表性的參考值。每個實驗室都應運用當地正常捐贈者族群的檢測結果，自行確立適用的預期值。

性能

對於之前採集在無菌試管（含有 EDTA 鹽作為抗凝劑）中短於 24 小時的血液檢體，使用上面描述的程序獲取了性能資料。在免疫染色後的 2 小時內進行分析。

專一性

CD57 分子（原名為 HNK- 1）是一種分子量為 110-115 kDa 的醣蛋白。CD57 分子是一種具有硫酸化葡醣醛酸殘基的寡醣抗原化合物。它可與存在於不同組織的各種多肽、脂類和硫酸軟骨素蛋白多醣連接。CD57 分子在造血細胞、神經外胚層細胞、神經內分泌細胞、橫紋肌和前列腺上皮細胞亞群上表達 (11, 12, 13, 14)。

CD57 抗原最初發現於造血組織的大多數大顆粒淋巴細胞 (LGL) 中。在大多數成人中，CD57 抗原在 NK 細胞亞群及 CD8 陽性 T 淋巴細胞上表達 (13)。CD57 分子在骨髓細胞亞群上表達，在臍帶血淋巴細胞上似乎未發現。

來自淋巴結生發中心的 CD4+ / CD45RO+ T 淋巴細胞亞群可表達 CD57 抗原 (12, 13)。資料報告表明 CD57 分子參與細胞間交互作用。L-選擇蛋白 (CD62L) 和 P-選擇蛋白 (CD62P) 分子可能是 CD57 的配位體 (11, 15)。在 1993 年於美國波士頓舉行的 5th International Workshop on Human Leucocyte Differenciation Antigen（第 5 屆 HLDA 人類白細胞分化抗原會議）上，將 NC1 單株抗體指定到 CD57 集群中 (16)。

準確度

使用全血測定了百分比陽性值。每項檢體皆使用 2 個批次的 CD57-FITC 單株抗體試劑，以 2 台儀器 1 天運行 2 次，共運行了 4 次。使用 Navios 流式細胞分析儀器檢測結果（陽性 %）。根據 CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：評估定量檢測方法的準確度性能）進行分析。

我們的接受標準視各族群所檢測的陽性事件數量而定：

- 若陽性事件數量 < 1,500，則 CV < 15%
- 若陽性事件數量 > 1,500，則 CV < 10%

淋巴球							
陽性事件數量（平均值）= 804							
	各操作者間	各台細胞分析儀器間	批內	批間	各次執行間	各次執行內	總計
CV (%)	2.00	1.01	4.48	1.26	1.85	3.56	4.76
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

準確性

評估 CD57-FITC 準確性的方式，是比較它與參考試劑用於添加了陽性細胞的一組全血檢體，在 Navios 流式細胞分析儀器上進行化驗時，其結果有何差異。根據測試結果間的差異，測定了測試與參考試劑之間的偏差。如果此偏倚在允許的誤差範圍內或 P 值並未顯示顯著差異 (> 0.05)，則兩種試劑的測試結果視為相當。

所得結果總結於下表：

捐贈者數量 = 25				
陽性目標	平均值差	細胞標準 Δ %	P 值	結果
淋巴球	1.11	<5	2.71E-04	PASS

空白檢體的偵測極限與偵測極限

按照 CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2，臨床實驗室測定程序的偵測能力評估）開展了一項試驗。偵測極限 (LOD) 是指可始終被偵測出的最低分析物濃度。所得結果總結於下表：

Positive Target	空白檢體的偵測極限（細胞數/µL）	偵測極限（細胞數/µL）
淋巴細胞 CD3+ CD57+	1	2

限制條件

1. 流式細胞分析儀器在下列情況下可能產生錯誤結果：細胞分析儀器未正確校正、螢光洩漏未正確補償、相關區域並未仔細定位。
2. 最好採用帶洗滌步驟的 RBC 溶解方法，因該試劑不能在「無洗滌」溶解方法中取得最佳效果。
3. 按照技術手冊採用相關流程並遵循優良實驗室操作規範，便可得到準確且可重複的結果。
4. 此試劑的結合抗體已經過校正，以提供最佳的特異性訊號/非特異性訊號比率。因此，在每次測試中遵守試劑體積/檢體體積比率很重要。
5. 如果白血球過多，請在 PBS 中稀釋血液，使白血球濃度約為 5 x 10^9 顆/L (17)。
6. 在嚴重腎衰竭、血色素病變等特定疾病狀態中，紅血球溶解可能會變得緩慢、不完全，甚至無法溶解。在這種情況下，建議在染色前使用密度梯度（例如聚蔗糖）分離單核球 (18)。
7. 使用抗人單株抗體療法治療患者時，由於治療抗體的部分或完全阻斷，偵測到的特定目標抗原可能會減少或完全偵測不到。
8. CD57-FITC 結果的判讀應結合患者的整體臨床表徵，包括：症狀、臨床病史、其他測試的資料以及其他相關資訊。

請參閱附錄以閱讀舉例和參考文獻。

商標

Beckman Coulter、徽標以及本文述及的貝克曼庫爾特公司產品和服務標記是美國貝克曼庫爾特有限公司在美國和其他國家的商標或註冊商標。

其他資訊

對於患者/使用者/第三方（在歐盟和有相同監管制度（體外診斷醫療裝置法規，2017/746/EU）的國家）；如果在使用中或由於使用而導致嚴重事件，請將情況回報製造商和/或授權代表，以及貴國主管機關。

Summary of Safety and Performance（安全與性能）的摘要請參見 EUDAMED 資料庫：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修訂歷程記錄

修訂版 AD：	發佈日期：2019 年 10 月

修訂	發行日期
AW	2022 年 5 月
更新以遵守貝克曼庫爾特公司全球標籤政策以及 IVD-R (EU)2017/746 規定：	
已新增部分	BSI 2797 編號、預期使用者、臨床相關性、濃度、精密度、準確性、空白檢體的偵測極限和偵測極限、其他資訊、修訂記錄。
已新增資訊	請參閱「限制」部分
修辭或印刷更新	請參閱「程序」、「性能」、「限制」、「警告和預防措施」、「存儲和穩定性」等部分。
已移除的部分	臨床應用範例、試劑、實驗室內再現性、線性
已更新部分	預期用途、GHS 危害分類、變質的證據、程序、附錄。

修訂	發行日期
AX	4 月 2023
已更新部分	新增哈薩克語
已更新部分	存儲和穩定性

修訂版本	AY
修訂日期	5 月 2024
已更新的譯文	**臨床關聯性**：
已更新部分	修訂歷史

修訂版本	AZ
修訂日期	7 月 2024
已更新部分	修訂歷史

符號釋義

符號術語表請參見網站：beckman.com/techdocs（文件編號 B60062）

	Specificații
Specificitate	CD57
Clonă	NC1
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Cells from quail ciliary ganglia
Imunoglobulină	IgM
Specie	Șoarece
Purificare	filtrare pe gel
Fluorocrom	Fluorescein isothiocyanate
Raport molar	FITC/Ig: 19 - 24
Excitare λ	488 nm
Vârful de emisie	525 nm
Soluție tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA și 0,1% NaN_3

IOTest
Anticorp conjugat
CD57-FITC

REF B49188 100 de teste; 2 ml, 20 µl/test

Pentru utilizare în diagnosticarea *in vitro*.

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

Acest anticorp conjugat cu fluorocrom permite identificarea calitativă și non-automată a populațiilor celulare care exprimă antigenul CD57 prezent în probele biologice umane prin citometrie în flux (consultați secțiunea „probe" de mai jos).

PRINCIPIU

Acest test se bazează pe abilitatea anticorpilor monoclonali specifici de a se lega de determinanții antigenici exprimați de leucocite.

Colorarea specifică a leucocitelor este efectuată prin incubarea probei cu reactivul IOTest. Eritrocitele sunt ulterior îndepărtate prin liză, iar leucocitele, care nu sunt afectate de acest proces, sunt analizate prin citometrie în flux.

Citometrul în flux măsoară difuzia luminii și fluorescența celulelor. Acesta face posibilă delimitarea populațiilor de interes în fereastra electronică definită pe o histogramă, care corelează difuzia ortogonală a luminii (Dispersia perpendiculară sau SS – Side Scatter) și difuzia luminii sub un unghi ascuțit (Dispersia pe direcția înainte sau FS – Forward Scatter). Alte histograme care combină doi dintre parametrii diferiți disponibili pe citometru pot fi utilizate ca suporturi în faza de stabilire a porților (gating) în funcție de aplicația aleasă de către utilizator.

Fluorescența celulelor delimitate se analizează pentru distingerea evenimentelor colorate pozitiv de cele necolorate. Rezultatele sunt exprimate ca procentaj de evenimente pozitive în raport cu toate evenimentele obținute de gating.

UTILIZATOR PRECONIZAT

Acest produs este destinat utilizării profesionale în laborator.

RELEVANȚĂ CLINICĂ

CD57-FITC este un anticorp CD57 utilizat pentru a identifica și caracteriza celulele care exprimă antigenul CD57 prin citometrie în flux. Acest produs în sine nu poate și nu este conceput pentru a genera concluzii cu rol de diagnostic.

Atunci când este utilizat în combinație cu alți markeri, acest produs poate fi utilizat pentru una sau mai multe dintre următoarele funcții:

- Pentru a ajuta la obținerea unui diagnostic diferențial pentru pacienții cu anormalități hematologice suspecți de neoplasm hematopoietic și la monitorizarea pacienților cu neoplasm hematopoietic diagnosticat.
- Pentru a ajuta la obținerea unui prognostic pentru pacienții cu neoplasm hematopoietic.
- Pentru a ajuta la diagnosticarea pacienților cu suspiciune de imunodeficiență și la monitorizarea pacienților cu imunodeficiență diagnosticată.

Consultați următoarele referințe:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROBE

Sângele venos trebuie recoltat utilizând eprubete sterile care conțin o sare de EDTA drept anticoagulant.

Se recomandă păstrarea probelor la temperatura camerei (18–25°C). Acestea nu se vor scutura. Se recomandă omogenizarea probelor prin agitare ușoară înainte de recoltarea probei de test.

Proba trebuie analizată în decurs de 24 de ore de la puncția venoasă.

CONCENTRAȚIE

Consultați certificatul de analiză specific lotului la adresa www.beckman.com.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Nu utilizați reactivul după data expirării.
2. Nu congelați.
3. Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei (18–25°C).
4. Reduceți la minimum expunerea la lumină.
5. Evitați contaminarea microbiană a reactivilor. În caz contrar, se pot obține rezultate false.
6. Soluțiile de anticorpi care conțin azidă de sodiu (NaN_3) trebuie manipulate cu atenție. A nu se ingera și a se evita contactul cu pielea, mucoasele și ochii.

În plus, într-un mediu acid, azida de sodiu poate forma acid hidrazoic, un compus potențial periculos. Dacă este necesară eliminarea reactivului, se recomandă ca acesta să fie diluat într-un volum mare de apă înainte de a fi vărsat în sistemul de canalizare pentru a evita acumularea de azidă de sodiu în conductele metalice și pentru a preveni riscul de explozie.

7. Toate probele de sânge trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie manipulate cu grijă (în special: purtarea de mănuși de protecție, halate și ochelari de protecție).
8. Nu pipetați niciodată cu gura și evitați contactul probelor cu pielea, mucoasele și ochii.
9. Eprubetele pentru sânge și materialele de unică folosință utilizate pentru manipulare trebuie eliminate în recipiente ad-hoc destinate incinerării.
10. Reactivii și deșeurile trebuie eliminați în conformitate cu cerințele locale.

CLASIFICAREA RISCURILOR ÎN SISTEMUL GHS

Nu este clasificat ca periculos

SDS Fișa tehnică de securitate este disponibilă la beckmancoulter.com/techdocs

DEPOZITAREA ȘI STABILITATEA

Înainte și după desigilarea fiolei, acest reactiv trebuie păstrat la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C într-un loc ferit de lumină.

Perioada de valabilitate în fiolă închisă în conformitate cu studiul de stabilitate: 1095 zile.

Stabilitatea fiolei desigilate: reactivul este stabil timp de 180 (de) zile.

DOVADĂ DE DETERIORARE

Orice modificare a aspectului fizic al reactivilor poate indica degradarea. În acest caz, nu se recomandă utilizarea reactivului.

Pentru informații suplimentare sau dacă s-a primit un produs deteriorat, sunați la Serviciul Clienți Beckman Coulter la 800-742-2345 (SUA sau Canada) sau contactați-vă reprezentantul Beckman Coulter local.

CONȚINUT

Azida de sodiu folosită drept conservant poate forma compuși cu risc de explozie în conductele de drenaj metalice. Consultați buletinul informativ al NIOSH: Explosive Azide Hazard (Azidă cu risc de explozie) (08/16/76).
Pentru a evita posibila acumulare de compuși de azidă, spălați cu apă conductele pentru evacuarea deșeurilor după eliminarea reactivului nediluat. Eliminarea azidei de sodiu trebuie realizată în conformitate cu reglementările locale aplicabile.

MATERIALE NECESARE, DAR NEFURNIZATE CU SETUL:

- Eprubete pentru probe și materiale necesare pentru prelevarea probelor.
- Pipete automate cu vârfuri de unică folosință pentru 20, 100 și 500 µl.
- Eprubete din plastic pentru hemoliză.
- Reactiv de liză a eritrocitelor cu faza de spălare după liză. De exemplu: VersaLyse (ref. A09777).
- Reactiv de fixare a leucocitelor. De exemplu: Soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800).
- Soluție tampon (PBS: 0,01 mol de fosfat de sodiu; 0,145 mol de clorură de sodiu; pH 7,2).
- Centrifugați.
- Agitator automat (tip Vortex).
- Citometru de flux.

PROCEDURA CU REACTIVUL VERSALYSE

1. În fiecare eprubetă de test, adăugați volumul adecvat de 20 µl de anticorpi conjugați IOTest specifici.
2. Adăugați 100 µl de probă de test în fiecare eprubetă. Amestecați cu grijă eprubetele în agitatorul vortex.
3. Incubați timp de 15–20 de minute la temperatura camerei (18–25°C) într-un loc ferit de lumină.
4. Apoi efectuați liza eritrocitelor. Consultați prospectul VersaLyse (ref. A09777) și urmați, de preferat, procedura denumită „cu fixare concomitentă”, care constă în adăugarea a 1 ml de amestec „Fixare și liză” preparat extemporaneu. Amestecați imediat în agitatorul vortex timp de o secundă și incubați timp de 10 minute la temperatura camerei, într-un loc ferit de lumină.
5. Centrifugați timp de 5 minute la 150 x g la temperatura camerei.
6. Îndepărtați supernatantul prin aspirare.
7. Resuspendați peleta de celule utilizând 3 ml de PBS.
8. Repetați pasul 6.
9. Îndepărtați supernatantul prin aspirare și resuspendați peleta de celule utilizând:

- 0,5 ml sau 1 ml de PBS plus 0,1% formaldehidă dacă preparatele trebuie păstrate mai puțin de 24 (de) ore. (O soluție PBS cu 0,1% formaldehidă poate fi obținută prin diluarea unei cantități de 12,5 µl de soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800) la concentrația sa de 10X în 1 ml de PBS).
- 0,5 ml sau 1 ml de PBS fără formaldehidă, dacă preparatele trebuie analizate în decurs de 2 (de) ore.

Observație: În toate cazurile, păstrați preparatele la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C, în locuri ferite de lumină.

VALORI PRECONIZATE

În laboratoarele noastre, probele de sânge integral de la 25 donatori aparent sănătoși au fost tratate utilizându-se reactivul descris mai sus. Rezultatele obținute pentru numărul de evenimente pozitive de interes cu acest reactiv sunt date în tabelul de mai jos:

Ținta pozitivă	Număr	Medie (%)	SD (deviație standard)	CV (%)
Limfocite	25	20,46	10,29	50,28

Aceste valori au doar caracter exemplificativ. Fiecare laborator trebuie să stabilească propriile valori așteptate de la populația locală de donatori normali.

PERFORMANȚĂ

Datele de performanță se obțin folosindu-se procedeul descris mai sus pe probe de sânge cu o vechime mai mică de 24 de ore recoltate anterior în eprubete sterile cu sare EDTA ca anticoagulant. Analiza se efectuează în decurs de 2 ore de la imunocolorare.

SPECIFICITATE

Molecula CD57, denumită inițial HNK-1, este o glicoproteină cu greutatea moleculară de 110–115 kDa. Molecula CD57 este un compus antigenic de oligozaharidă cu reziduuri de acid glucuronic sulfatat. Ea este legată de o varietate de polipeptide, lipide și proteoglicani de sulfat de condroitină, care se găsesc în diverse țesuturi. Molecula CD57 este prezentă în subseturi de celule hematopoietice, celule neuroectodermale, celule neuroendocrine, mușchi striat și epiteliu prostatic (11, 12, 13, 14).

Antigenul CD57 a fost identificat inițial în țesutul hematopoietic la majoritatea limfocitelor granulare mari (LGL). La cei mai mulți adulți antigenul CD57 este prezent într-un subset de celule NK și limfocite T pozitive CD8 (13). Molecula CD57 este prezentă într-un subset de celule din măduva osoasă și se pare că nu se regăsește în limfocitele din sângele din cordonul ombilical.

Antigenul CD57 este prezent într-un subset de limfocite T CD4+/CD45RO+ din noduli de limfă din centrul germinal (12, 13). Datele existente arată că molecula CD57 este implicată în interacțiunile celulă-celulă. Moleculele L-selectin (CD62L) și P-selectin (CD62P) pot fi posibili liganzi pentru CD57 (11, 15). Anticorpul monoclonal NC1 a fost asociat clusterului CD57 la 5th International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Al 5-lea simpozion pentru antigenii umani de diferențiere a leucocitelor), organizat la Boston, SUA, în 1993 (16).

PRECIZIE

Valorile procentuale pozitive au fost stabilite folosind sânge integral. Fiecare probă a fost analizată de 4 ori, de două ori pe zi timp de 1 zi, pe 2 instrumente, folosind 2 loturi de reactivi cu anticorp monoclonal CD57-FITC. Măsurătorile (% pozitive) au fost efectuate pe un citometru în flux Navios. Analiza a fost efectuată în conformitate cu metoda CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluarea performanței de precizie a metodelor de măsurare cantitativă).

Criteriile noastre de acceptare depind de numărul de evenimente pozitive măsurate pentru fiecare populație:

- Dacă evenimentul pozitiv < 1500, CV < 15%
- Dacă evenimentul pozitiv > 1500, CV < 10%

Limfocite							
Număr de evenimente pozitive (medie) = 804							
	Inter-operator	Inter-citometru	Intra-lot	Inter-lot	Inter-ciclu	Intra-testare	Total
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
REZULTATE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACURATEȚE

Acuratețea CD57-FITC a fost evaluată prin compararea rezultatelor cu un reactiv de referință ca predicat pe un set de probe de sânge integral analizate cu un citometru în flux Navios. Eroarea sistematică dintre test și reactivul de referință a fost determinată în funcție de diferența dintre rezultatele testului. Dacă eroarea sistematică se încadrează în intervalul de eroare permis sau dacă valoarea p nu indică o diferență semnificativă (> 0,05), rezultatele testului pentru cei doi reactivi sunt considerate ca fiind echivalente.

Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul de mai jos:

Număr de donatori = 25				
Ținta pozitivă	Medie Δ	Criterii celulă Δ%	Valoarea p	REZULTATE
Limfocite	1,11	<5	2,71E-04	PASS

LIMITA DE BLANC ȘI LIMITA DE DETECȚIE

A fost realizat un studiu în conformitate cu documentul CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluarea capacității de detecție în cazul procedurilor de măsurare din laborator). Limita de detecție (LOD) este cea mai redusă concentrație de analit care poate fi detectată în mod constant. Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul următor:

Positive Target	Limită de blanc (celulă/µl)	Limită de detecție (celulă/µl)
Limfocite CD3+ CD57+	1	2

LIMITĂRI

1. Citometria în flux poate furniza rezultate false dacă citometrul nu a fost aliniat perfect, dacă scurgerile de fluorescență nu au fost compensate corect și dacă regiunile nu au fost poziționate corect.
2. Este de preferat să se utilizeze o tehnică de liză a eritrocitelor (RBC) cu o etapă de spălare, deoarece acest reactiv nu a fost optimizat pentru tehnici de liză „fără spălare”.
3. Se vor obține rezultate corecte și reproductibile dacă procedurile utilizate respectă prospectul tehnic și bunele practici de laborator.
4. Anticorpul conjugat din acest reactiv este calibrat astfel încât să ofere cel mai bun raport semnal specific/semnal nespecific. Prin urmare, este important ca la fiecare test să se respecte raportul volum de reactiv/volum de probă.
5. În cazul unei hiperleucocitoze, diluați sângele în PBS astfel încât să obțineți o valoare de aproximativ 5 x 10^9 leucocite/l (17).
6. În anumite stări patologice, cum ar fi insuficiența renală severă sau hemoglobinopatiile, liza eritrocitelor poate fi lentă, incompletă sau chiar imposibilă. În acest caz, se recomandă izolarea celulelor mononucleare cu ajutorul unui gradient de densitate (de exemplu, Ficoll), înainte de colorare (18).
7. În cazul pacienților tratați cu terapii cu anticorp monoclonal anti-uman, detecția antigenilor specifici țintiți poate fi diminuată sau absentă din cauza blocării parțiale sau complete asigurată de anticorpul terapeutic.

8. Rezultatele CD57-FITC trebuie interpretate în lumina prezentării clinice integrale a pacientului, inclusiv: simptome, istoric clinic, date din teste suplimentare și alte informații corespunzătoare.

Consultați Anexa pentru exemple și referințe.

MĂRCI COMERCIALE

Beckman Coulter, logoul stilizat și mărcile de produse și servicii Beckman Coulter menționate aici sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Beckman Coulter, Inc. în Statele Unite și în alte țări.

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

În cazul unui pacient/utilizator/terț aflat în Uniunea Europeană sau în țări cu un regim de reglementare identic (Regulamentul 2017/746/UE privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro); dacă, în timpul utilizării acestui dispozitiv sau în urma utilizării acestuia, are loc un incident grav, raportați acest incident către producător și/sau reprezentantul său autorizat și către autoritatea națională din țara dvs.

Rezumatul secțiunilor Siguranță și Performanță este disponibil din baza de date EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORICUL REVIZUIRILOR

REVIZIA AD:	Data publicării: Octombrie 2019

REVIZIE	**Data publicării**
AW	Mai 2022
Se actualizează pentru a respecta politica globală de etichetare Beckman Coulter și cerințele regulamentului IVD-R (UE) 2017/746:	
Secțiuni adăugate	Număr BSI 2797, Utilizator propus, Relevanță clinică, Concentrație, Precizie, Acuratețe, Limita de blanc și limita de detecție, Informații suplimentare, Istoric revizuiri.
Informații adăugate	Consultați secțiunile Limitări
Actualizări referitoare la frazare și tipografice	Consultați secțiunile Procedură, Performanță, Limitări, Avertizări și măsuri de precauție, Depozitare și stabilitate.
Secțiuni eliminate	Exemplu de utilizări clinice, Reactivi, Reproductibilitate intralaborator, Liniaritate
Secțiuni actualizate	Utilizare propusă, Clasificarea riscurilor în sistemul GHS, Dovadă de deteriorare, Procedură, Anexă.

REVIZIE	**Data publicării**
AX	Aprilie 2023
Secțiuni actualizate	A fost adăugată limba kazahă
Secțiuni actualizate	Depozitare și stabilitate

Versiunea revizuită	AY
Data revizuirii	Mai 2024
Au fost actualizate traducerile	**Relevanță clinică:**
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Versiunea revizuită	AZ
Data revizuirii	Iulie 2024
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Cheie simboluri

Glosarul de simboluri este disponibil la beckman.com/techdocs (număr document B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD57
Klon	NC1
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Cells from quail ciliary ganglia
Imunoglobulin	IgM
Vrsta	Miš
Prečiščevanje	Gelna filtracija
Fluorokrom	Fluorescein isothiocyanate
Molarno razmerje	FITC/Ig: 19 - 24
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisij	525 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA in 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano protitelo CD57-FITC

REF B49188 100 testov; 2 ml, 20 µl/test

Za diagnostično uporabo *in vitro*.

NAMEN UPORABE

To protitelo, konjugirano s fluorokromi, omogoča kvalitativno in neavtomatizirano identifikacijo celičnih populacij, ki izražajo antigen CD57, prisoten v človeških bioloških vzorcih, z uporabo pretočne citometrije (oglejte si poglavje »Vzorci« spodaj).

NAČELO

Ta test temelji na sposobnosti specifičnih monoklonskih protiteles, da se vežejo na antigenske determinante, ki jih izražajo levkociti.

Specifično barvanje levkocitov izvedemo z inkubacijo vzorca z reagentom IOTest. Rdeče krvničke nato odstranimo z lizo, levkocite, na katere ta proces ne vpliva, pa analiziramo s pretočno citometrijo.

Pretočni citometer meri difuzijo svetlobe in fluorescenco celic. Omogoča razmejitev opazovane populacije v elektronskem oknu, opredeljenem v histogramu, ki je povezan z ortogonalno difuzijo svetlobe (stransko sipanje ali SS) in difuzijo svetlobe pri majhnemu kotu (sipanje naprej ali FS). Glede na uporabo, ki jo izbere uporabnik, lahko druge histograme, ki uporabljajo kombinacijo dveh različnih parametrov, ki so na voljo na citometru, uporabimo kot nosilce v fazi uokvirjanja.

Fluorescenco razmejenih celic analiziramo z namenom razlikovanja med pozitivno obarvanimi dogodki in tistimi, ki niso obarvani. Rezultati so izraženi kot odstotek pozitivnih dogodkov glede na vse dogodke, pridobljene z uokviranjem.

PREDVIDENI UPORABNIK

Izdelek je namenjen profesionalni laboratorijski uporabi.

KLINIČNI POMEN

CD57-FITC je protitelo CD57, ki se uporablja za identifikacijo in karakterizacijo celic, ki izražajo antigen CD57 s pomočjo pretočne citometrije. Ta izdelek sam ne more ustvariti in ni namenjen za ustvarjanje kakršnih koli diagnostičnih zaključkov.

Če se izdelek uporablja v kombinaciji z drugimi označevalci, se lahko uporablja pri eni ali več naslednjih funkcij:

- Uporablja se kot pripomoček pri diferencialnem diagnosticiranju hematološko neobičajnih bolnikov, pri katerih obstaja sum, da imajo hematopoetsko neoplazmo, in za spremljanje bolnikov z znano hematopoetsko neoplazmo.
- Za pomoč pri napovedi stanja bolnikov s hematopoetsko neoplazmo.
- Za pomoč pri diagnozi bolnikov s sumom na imunsko pomanjkljivost in spremljanje bolnikov z znano imunsko pomanjkljivostjo.

Oglejte si naslednje reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

VZORCI

Pri jemanju venske krvi je treba uporabiti sterilne epruvete, ki vsebujejo sol EDTA kot antikoagulant.

Vzorce je treba hraniti pri sobni temperaturi (18–25 °C) in jih ni dovoljeno pretresati. Vzorce je treba homogenizirati z rahlim stresanjem pred odvzemom testnega vzorca.

Vzorce je treba analizirati v 24 urah po venepunkciji.

KONCENTRACIJA

Oglejte si ustrezen certifikat o analizi za izbrano serijo na spletni strani www.beckman.com.

OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI

1. Ne uporabljajte reagenta po izteku roka uporabnosti.
2. Ne zamrzujte.
3. Pred uporabo počakajte, da se ogrejejo na sobno temperaturo (18–25 °C).
4. Čim manj izpostavljajte svetlobi.
5. Preprečite mikrobno kontaminacijo reagentov, sicer lahko pride do napačnih rezultatov.

6. Z raztopinami protiteles, ki vsebujejo natrijev azid (NaN_3), je treba ravnati previdno. Ne zaužijte in se izogibajte vsakršnemu stiku s kožo, sluznico in očmi.

   Poleg tega lahko natrijev azid v kislem mediju tvori potencialno nevaren vodikov azid. Če ga je treba odstraniti, je reagent priporočljivo razredčiti z veliko količino vode pred izlivanjem v kanalizacijo, da bi se izognili kopičenju natrijevega azida v kovinskih ceveh in preprečili nevarnost eksplozije.
7. Vse vzorce krvi je treba obravnavati kot potencialno kužne in je treba z njimi ravnati previdno (predvsem je treba nositi zaščitne rokavice, halje in očala).
8. Nikoli ne pipetirajte z usti in se izogibajte vsakršnemu stiku vzorcev s kožo, sluznico in očmi.
9. Epruvete za kri in material za enkratno uporabo je treba odstraniti v zabojnike na licu mesta, namenjene sežigu.
10. Reagente in odpadke je treba odstraniti skladno z lokalnimi predpisi.

KLASIFIKACIJA NEVARNOSTI PO GHS

Ni razvrščeno kot nevarno

SDS Varnostni list je na voljo na povezavi beckmancoulter.com/techdocs

SHRANJEVANJE IN OBSTOJNOST

Ta reagent je treba shranjevati pri temperaturi od 2 do 8 °C in zaščiteno pred svetlobo pred odprtjem vial in po njem.

Rok uporabnosti zaprte viale po študiji stabilnosti: 1095 dni.

Stabilnost odprte stekleničke: reagent je stabilen 180 dni.

DOKAZ O POSLABŠANJU STANJA

Vsaka sprememba fizičnega videza reagentov lahko kaže na poslabšanje stanja in reagenta ni dovoljeno uporabljati.

Za dodatne informacije ali ob prejemu poškodovanega izdelka pokličite službo za pomoč strankam družbe Beckman Coulter na številko 800-742-2345 (ZDA ali Kanada) ali se obrnite na lokalnega predstavnika podjetja Beckman Coulter.

VSEBINA

Konzervans iz natrijevega azida lahko tvori eksplozivne spojine v kovinskih odvodnih ceveh. Oglejte si NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16. 8. 76) (Nevarnost eksplozivnih azidov).
Da bi se izognili morebitnemu kopičenju azidnih spojin, po odstranjevanju nerazredčenega reagenta sperite odtočne cevi z vodo. Odstranjevanje natrijevega azida mora biti skladno z ustreznimi lokalnimi predpisi.

POTREBEN MATERIAL, KI NI PRILOŽEN V KOMPLETU:

- Epruvete za vzorčenje in material, potreben za vzorčenje.
- Samodejne pipete s konicami za enkratno uporabo za 20, 100 in 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizo.
- Reagent za lizo rdečih krvničk z izpiranjem po lizi. Na primer: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagent za fiksacijo levkocitov. Na primer: fiksirna raztopina IOTest 3 (Ref. A07800).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijev fosfat; 0,145 M natrijev klorid; pH 7,2).
- Centrifugirajte.
- Samodejni stresalnik (za stresanje).
- Pretočni citometer.

POSTOPEK Z REAGENTOM VERSALYSE

1. V vsako testno epruveto za testiranje dodajte ustrezno količino 20 µl specifičnega konjugiranega protitelesa IOTest.
2. V vsako epruveto dodajte 100 µl testnega vzorca. Epruvete nežno stresajte.
3. Inkubirajte ga 15 do 20 minut pri sobni temperaturi (18–25 °C), zaščitenega pred svetlobo.
4. Nato izvedite lizo rdečih celic. Oglejte si brošuro VersaLyse (Ref. A09777) in po možnosti upoštevajte postopek, imenovan »s hkratno fiksacijo«, po katerem je treba dodati 1 ml mešanice »Fix-and-Lyse«, pripravljene sprotno. Takoj stresajte eno sekundo in inkubirajte 10 minut pri sobni temperaturi, zaščiteno pred svetlobo.
5. Centrifugirajte 5 minut pri 150 x g na sobni temperaturi.
6. Supernatant odstranite z aspiracijo.
7. Celično usedlino znova suspendirajte z uporabo 3 ml PBS.
8. Ponovite 6. korak.
9. Supernatant odstranite z aspiracijo in znova suspendirajte celično usedlino z uporabo:

- 0,5 ml ali 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehida, če je pripravke treba hraniti manj kot 24 ur. (0,1-% formaldehid PBS lahko dobimo z redčenjem 12,5 µl fiksirne raztopine IOTest 3 (Ref. A07800) pri njeni 10X koncentraciji v 1 ml PBS).
- 0,5 ml ali 1 ml PBS brez formaldehida, če je pripravke treba analizirati v 2 urah.

Opomba: v vseh primerih pripravke hranite na temperaturi od 2 do 8 °C in zaščitite pred svetlobo.

PRIČAKOVANE VREDNOSTI

V naših laboratorijih smo z zgoraj opisanim reagentom obdelali vzorce polne krvi 25 na videz zdravih darovalcev. Rezultati, pridobljeni s štetjem pozitivnih dogodkov, ki nas zanimajo v zvezi s tem reagentom, so navedeni v spodnjih preglednicah:

Pozitivna tarča	Številka	Povprečje (%)	SD (SO)	CV (%)
Limfociti	25	20,46	10,29	50,28

Te vrednosti so zgolj reprezentativne. Vsak laboratorij mora določiti lastne pričakovane vrednosti za lokalno populacijo običajnih darovalcev.

USPEŠNOST

Podatke o zmogljivosti pridobimo z zgoraj opisanim postopkom na vzorcih krvi, starih manj kot 24 ur, ki so bili predhodno zbrani v sterilnih epruvetah s soljo EDTA kot antikoagulantom. Analizo se izvede v 2 urah po imunohistokemičnem barvanju.

SPECIFIČNOST

Molekula CD57, prvotno imenovana HNK-1, je glikoprotein z molekulsko maso 110–115 kDa. Molekula CD57 je oligosaharidna antigenska spojina s sulfatnimi ostanki glukuronske kisline. Povezana je z različnimi polipeptidi, lipidi in hondroitin sulfat proteoglikani, ki jih najdemo na različnih tkivih. Molekula CD57 je izražena na podmnožicah hematopoetskih celic, nevroektodermalnih celic, nevroendokrinih celic, ostrih mišičnih in prostatičnih epitelov (11, 12, 13, 14).

Antigen CD57 je bil sprva identificiran v hematopoetskem tkivu na večini velikih zrnatih limfocitov (LGL). Pri večini odraslih je antigen CD57 izražen na podskupini celic NK in limfocitov CD8 pozitivnih T (13). Molekula CD57 je izražena na podskupini celic kostnega mozga in je ni mogoče najti na limfocitih krvi popkovine.

Podskupina CD4+/CD45RO + T limfocitov iz bezgavk germinalnega centra izraža antigen CD57 (12, 13). Podatki kažejo, da je molekula CD57 vključena v interakcije med celicami. Molekule L-selektina (CD62L) in P-selektina (CD62P) so lahko ligandi za CD57 (11, 15). Monoklonsko protitelo NC1 je bilo dodeljeno grozdu CD57 na 5. International Workshop on Human Leucocyte Differenciation Antigen (mednarodna delavnica o antigenih diferenciacije človeških levkocitov) (HLDA) v Bostonu, ZDA, leta 1993 (16).

NATANČNOST

Odstotke pozitivnih vrednosti smo določili z uporabo polne krvi. Vsak vzorec je bil obravnavan 4-krat, dvakrat dnevno 1 dan na 2 napravah z uporabo 2 serij reagentov z monoklonskimi protitelesi CD57-FITC. Meritve (% pozitivnih) so bile opravljene na pretočnem citometru Navios. Analiza je bila izvedena na podlagi metode CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vrednotenje natančnosti kvantitativnih merilnih metod).

Naša merila sprejemljivosti so odvisna od števila pozitivnih dogodkov, izmerjenih za vsako populacijo:

- Če je pozitiven dogodek < 1.500, je CV < 15 %
- Če je pozitiven dogodek > 1.500, je CV < 10 %

Limfociti							
Število pozitivnih dogodkov (povprečje) = 804							
	Med upravljavci	Med citometri	Znotraj serije	Med serijami	Med postopki	Znotraj postopka	Skupaj
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost CD57-FITC smo ocenili s primerjavo rezultatov z referenčnim reagentom kot reagentom s potrjeno skladnostjo na nizu vzorcev polne krvi, obdelane na pretočnem citometru Navios. Odstopanje med testnim in referenčnim reagentom je bilo določeno na podlagi razlike med rezultati testa. Če je odstopanje znotraj dovoljenega območja napake ali vrednost p ne kaže pomembne razlike (> 0,05), se rezultati testov za oba reagenta štejejo za enakovredne.

Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Število darovalcev = 25				
Pozitivna tarča	Povprečje Δ	Δ % celičnega kriterija	vrednost p	REZULTATI
Limfociti	1,11	<5	2,71E-04	PASS

MEJA SLEPEGA VZORCA IN MEJA ZAZNAVANJA

Študija je bila izvedena skladno z metodo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zmogljivosti zaznavanja za merilne postopke v kliničnih laboratorijih). Meja zaznavanja (LOD) je najnižja koncentracija analita, ki jo je mogoče dosledno zaznati. Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Positive Target	Meja slepega vzorca (celic/µl)	Meja zaznavanja (celic/µl)
Limfociti CD3+ CD57+	1	2

OMEJITVE

1. S pretočno citometrijo lahko pride do napačnih rezultatov, če citometer ni bil točno nameščen, če puščanje fluorescence ni bilo ustrezno izravnano in če območja niso bila natančno pozicionirana.
2. Priporočljivo je uporabiti tehniko liziranja RBC s korakom pranja, saj ta reagent ni optimiziran za tehnike liziranja »brez pranja«.
3. Točne in ponovljive rezultate se bo doseglo, če se bo uporabilo postopke, ki so skladni s priloženim tehničnim listom in z načeli dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugirano protitelo tega reagenta je umerjeno, tako da zagotavlja najboljše razmerje med specifičnim/nespecifičnim signalnim razmerjem. Zato je pomembno, da pri vsakem testu upoštevamo razmerje med količino reagenta/količino vzorca.
5. V primeru hiperlevkocitoze razredčite kri v PBS, da se tako dobi vrednost približno 5 x 10^9 levkocitov/l (17).
6. Pri nekaterih bolezenskih stanjih, kot je huda ledvična odpoved ali hemoglobinopatije, je lahko liza rdečih krvničk počasna, nepopolna ali celo nemogoča. V tem primeru je priporočljivo izolirati mononuklearne celice z uporabo gradienta gostote (na primer Ficoll) pred barvanjem (18).
7. Pri bolnikih, ki se zdravijo s terapijo z antihumanimi monoklonskimi protitelesi, je lahko odkrivanje specifičnih ciljnih antigenov zmanjšano ali pa ga sploh ni zaradi delnega ali popolnega blokiranja s strani terapevtskega protitelesa.

8. Rezultate CD57-FITC je treba razlagati v luči celotne klinične slike bolnika, vključno s: simptomi, anamnezo, podatki dodatnih testov in drugimi ustreznimi podatki.

Primere in reference si oglejte v prilogi.

BLAGOVNE ZNAMKE

Beckman Coulter, stiliziran logotip ter znamke izdelkov in storitev podjetja Beckman Coulter, omenjene v tem dokumentu, so blagovne znamke ali registrirane blagovne znamke podjetja Beckman Coulter, Inc. v Združenih državah Amerike in drugih državah.

DRUGI PODATKI

Za bolnike/uporabnike/tretje osebe v Evropski uniji in v državah z enakim regulativnim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskih pripomočkih za in vitro diagnostiko): če med uporabo tega pripomočka ali kot rezultat njegove uporabe pride do resnega incidenta, o tem poročajte proizvajalcu in/ali njegovemu pooblaščenemu predstavniku in svojemu nacionalnemu organu.

Summary of Safety and Performance (Povzetek o varnosti in zmogljivosti) je na voljo v bazi podatkov EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ZGODOVINA REVIZIJ

REVIDIRANA IZDAJA AD:	Datum izdaje: Oktober 2019

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AW	Maj 2022
Posodobitve za skladnost z globalno politiko označevanja Beckman Coulter in v skladu z zahtevami IVD-R (EU) 2017/746:	
Dodana poglavja	Številka BSI 2797, predvideni uporabnik, klinični pomen, koncentracija, točnost, natančnost, meja slepega vzorca in meja zaznavanja, dodatne informacije, zgodovina revizij.
Dodatne informacije	Oglejte si poglavja Omejitve
Izrazne ali tipografske posodobitve	Oglejte si poglavja Postopek, Zmogljivost, Omejitve, Opozorila in previdnostni ukrepi, Shranjevanje in stabilnost.
Odstranjena poglavja	Primer klinične uporabe, reagenti, ponovljivost znotraj laboratorija, linearnost
Posodobljena poglavja	Predvidena uporaba, Klasifikacija nevarnosti po GHS, Dokaz o poslabšanju stanja, Postopek, Priloga.

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AX	April 2023
Posodobljena poglavja	Dodaj kazaščino
Posodobljena poglavja	Shranjevanje in stabilnost

Revidirana različica	AY
Revidiran datum	Maj 2024
Posodobljeni prevodi	**Klinični pomen:**
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Revidirana različica	AZ
Revidiran datum	Julij 2024
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Seznam simbolov

Glosar simbolov je na voljo na beckman.com/techdocs (številka dokumenta B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD57
Klon	NC1
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Cells from quail ciliary ganglia
Imunoglobulin	IgM
Vrste	Miš
Prečišćavanje	Upotrebite filtraciju
Fluorohrom	Fluorescein isothiocyanate
Molarni odnos	FITC/Ig: 19 - 24
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisije	525 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA i 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugovano antitelo CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 ml, 20 µl/testu

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.

NAMENA

Ovo fluorohromno-konjugovano antitelo omogućava kvalitativnu i neautomatizovanu identifikaciju ćelijskih populacija koje eksprimiraju CD57 antigen prisutnih u humanim biološkim uzorcima pomoću protočne citometrije (pogledati odeljak „Uzorci“ u nastavku).

PRINCIP

Ovaj test se zasniva na sposobnosti određenih monoklonskih antitela da se vežu za antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično bojenje leukocita se obavlja inkubiranjem uzorka sa reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utiče, analiziraju se protočnom citometrijom.

Protočni citometar meri difuziju svetlosti i fluorescenciju ćelija. On omogućava razgraničenje populacije od interesa u okviru elektronskog prozora definisanog na histogramu, što je u korelaciji sa ortogonalnom difuzijom svetlosti (bočno rasejanje ili SS) i difuzijom uskougaone svetlosti (prednje rasejanje ili FS). Drugi histogrami koji kombinuju dva različita parametra koja postoje na citometru mogu se koristiti kao podrška u fazi regulacije, u zavisnosti od primene koju je korisnik odabrao.

Fluorescencija ograničenih ćelija se analizira kako bi se razlikovali pozitivno obojeni događaji od neobojenih događaja. Rezultati su prikazani kao procenat pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobijene regulacijom.

PREDVIĐENI KORISNIK

Ovaj proizvod je namenjen za upotrebu od strane laboratorijskih stručnjaka.

KLINIČKI ZNAČAJ

CD57-FITC predstavlja CD57 antitelo korišćeno za identifikovanje i karakterizaciju ćelija koje eksprimiraju CD57 antigen pomoću protočne citometrije. Ovaj proizvod sam po sebi ne može da se koristi i nije namenjen za donošenje bilo kog dijagnostičkog zaključka.

Kada se koristi u kombinaciji sa drugim markerima, ovaj proizvod može da se koristi kod jedne ili više od sledećih funkcija:

- Kao pomoć u diferencijalnoj dijagnozi kod hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu i za nadgledanje pacijenata sa poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć u prognozi za pacijente koji imaju hematopoetsku neoplazmu.
- Kao pomoć u dijagnostikovanju kod pacijenata sa suspektnom imunodeficijencijom i nadgledanju pacijenata sa poznatom imunodeficijencijom.

Pogledajte sledeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

UZORCI

Uzorci iz venske krvi moraju se uzimati sterilnim epruvetama koje sadrže EDTA so kao antikoagulans.

Uzorke treba čuvati na sobnoj temperaturi (18–25°C) i ne tresti. Uzorke treba pre uzimanja uzorka za testiranje homogenizovati blagim mešanjem.

Uzorci se moraju analizirati u roku od 24 sati od venepunkcije.

KONCENTRACIJA

Pogledajte dokument „Certificate of Analysis“ (Sertifikat analize) za određeni lot na veb-sajtu www.beckman.com.

UPOZORENJE I MERE OPREZA

1. Ne koristite reagense nakon isteka roka trajanja.
2. Ne zamrzavajte.
3. Pre upotrebe sačekajte da se približi sobnoj temperaturi (18–25°C).
4. Izbegavati izloženost svetlosti.
5. Sprečite mikrobsku kontaminaciju reagenasa ili se mogu javiti netačni rezultati.
6. Rastvorima antitela koji sadrže natrijum azid (NaN_3) treba pažljivo rukovati. Ne uzimajte interno i izbegavajte svaki dodir sa kožom, sluzokožom i očima.

Pored toga, u kiseloj sredini, natrijum azid može formirati potencijalno opasnu hidrazoinsku kiselinu. Ako je potrebno da se odloži u otpad, preporučuje se da se reagens razblaži u velikoj zapremini vode pre sipanja u sistem kanalizacije kako bi se izbeglo taloženje natrijum azida u metalnim cevima i sprečila opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno infektivnim i njima se mora pažljivo rukovati (posebno: nošenje zaštitnih rukavica, odeće i zaštitnih naočara).
8. Nikada ne pipetirajte ustima i izbegavajte svaki kontakt uzoraka sa kožom, sluzokožom i očima.
9. Epruvete za uzorak krvi i potrošni materijal koji je korišćen za rukovanje treba odložiti u ad hoc kontejnere predviđene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad treba ukloniti prema lokalnim zahtevima.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno

SDS Dokument „Bezbednosni list“ dostupan je na internet stranici beckmancoulter.com/techdocs

SKLADIŠTENJE I STABILNOST

Ovaj reagens se mora čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C i zaštićen od svetlosti, pre i posle otvaranja bočice.

Ispitivanje roka trajanja zatvorene bočice u odnosu na stabilnost: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dan(a).

DOKAZI POGORŠANJA

Bilo koja promena u fizičkom izgledu reagensa može ukazivati na pogoršanje i reagens ne treba koristiti.

Za dodatne informacije ili ako dobijete oštećen proizvod, pozovite korisnički servis kompanije Beckman Coulter na broj 800-742-2345 (SAD ili Kanada) ili pozovite svog lokalnog predstavnika kompanije Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans sa natrijum azidom može formirati eksplozivna jedinjenja u metalnim odvodnim vodovima. Pogledajte „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (16.8.76.) (Bilten Nacionalnog instituta za bezbednost i zdravlje na radu: Opasnost od eksplozivnih azida).
Da biste sprečili moguće taloženje jedinjenja azida, isperite cevi za otpad vodom nakon odlaganja u otpad nerazblaženog reagensa. Odlaganje u otpad natrijum azida mora biti u skladu sa odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI SE NE ISPORUČUJU UZ KOMPLET:

- Epruvete za uzorkovanje i materijal potreban za uzorkovanje.
- Automatske pipete sa nastavcima za jednokratnu upotrebu za 20 100 µl i 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizu.
- Reagens za liziranje eritrocita sa fazom ispiranja nakon liziranja. Na primer: VersaLyse (referentni broj A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primer: IOTest 3 fiksativni rastvor (referentni broj A07800).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijum-fosfat; 0,145 M natrijum-hlorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska mešalica (vrtložnog tipa).
- Protočni citometar.

POSTUPAK SA VERSALYSE REAGENSOM

1. Dodajte odgovarajuću zapreminu 20 µl specifičnog IOTest konjugovanog antitela u svaku epruvetu za uzorak.
2. Dodajte 100 µl uzorka za testiranje u svaku epruvetu za uzorak. Pažljivo izmešajte epruvete u vrtložnoj mešalici.
3. Inkubirajte 15 do 20 minuta na sobnoj temperaturi (18–25°C), zaštićeno od svetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje crvenih ćelija. Pogledajte VersaLyse (referentni broj A09777) letak i poželjno pratite postupak pod nazivom „sa istovremenom fiksacijom“, koji se sastoji od dodavanja 1 ml nezavisno pripremljene smeše za fiksiranje i liziranje („Fix-and-Lyse“). Odmah izmešajte u vrtložnoj mešalici jednu sekundu i inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi, zaštićeno od svetlosti.
5. Centrifugirajte 5 minuta na 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Ponovo suspendujte talog ćelija u 3 ml PBS-a.
8. Ponovite korak br. 6.
9. Aspiracijom uklonite supernatant i ponovo suspendujte talog ćelija u:

- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a plus 0,1% formaldehida ako će se preparati čuvati kraće od ovog broja sati: 24. (PBS sa 0,1% formaldehida može se dobiti razblaživanjem 12,5 µl IOTest 3 rastvora za fiksiranje (referentni broj A07800) u 10X koncentraciji u 1 ml PBS-a).
- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a bez formaldehida ako će se preparati analizirati u roku od ovog broja sati – 2.

Napomena: U svim slučajevima preparate čuvajte na temperaturi između 2°C i 8°C i zaštićene od svetlosti.

OČEKIVANE VREDNOSTI

U našim laboratorijama, uzorci pune krvi 25 očigledno zdravih donora tretirani su pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati dobijeni za broj pozitivnih događaja od interesa sa ovim reagensom navedeni su u tabeli u nastavku:

Pozitivan cilj	Broj	Srednja vrednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti	25	20,46	10,29	50,28

Ove vrednosti treba da služe samo kao reprezentativne vrednosti. Svaka laboratorija treba da uspostavi sopstvene očekivane vrednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o delovanju dobijeni su pomoću prethodno opisanog postupka na manje od 24 sata starim uzorcima krvi koji su prethodno prikupljeni sterilnim epruvetama za uzorke sa EDTA solju kao antikoagulansom. Analiza se vrši u roku od 2 sata od imunobojenja.

SPECIFIČNOST

CD57 molekul, koji je prvobitno nazvan HNK- 1, je glikoprotein molekulske težine 110–115 kDa. CD57 molekul je oligosaharidno antigeno jedinjenje sa ostacima sulfatisane glukuronske kiseline. On je povezan sa različitim polipeptidima, lipidima i proteoglikanima hondroitin sulfata koji se nalaze na različitim tkivima. CD57 molekul se eksprimira na podskupovima hematopoetskih ćelija, neuroektodermalnih ćelija, neuroendokrinih ćelija, epitelu prugastih mišića i prostate (11, 12, 13, 14).

CD57 antigen je prvobitno identifikovan u hematopoetskom tkivu na većini velikih granuliranih limfocita (LGL) Kod većine odraslih osoba CD57 antigen je eksprimiran na podskupu NK ćelija i CD8 pozitivnih T limfocita (13). Molekul CD57 je eksprimiran na podskupu ćelija koštane srži i izgleda da se ne nalazi na limfocitima u krvi pupčanika.

Podskup CD4+ / CD45RO+ T limfocita iz limfnih čvorova germinativnog centra eksprimira CD57 antigen (12, 13). Podaci pokazuju da je CD57 molekul uključen u interakcije ćelija-ćelija. L-selektin (CD62L) i P-selektin (CD62P) molekuli mogu predstavljati eventualne ligande za CD57 (11, 15). NC1 monoklonalno antitelo je pridruženo klasteru CD57 na radionici „5th International Workshop on Human Leucocyte Differenciation Antigen“ (Peta Međunarodna konferencija o ljudskim antigenima leukocitne diferencijacije), koja je održana u Bostonu, u SAD, 1993. godine (16).

PRECIZNOST

Procenat pozitivnih vrednosti utvrđen je pomoću pune krvi. Svaki uzorak je analiziran 4 puta, dva puta dnevno tokom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagenasa monoklonskog antitela CD57-FITC. Merenja (% pozitivnog) su izvršena na Navios protočnom citometru. Analiza je obavljena na osnovu CLSI metoda EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procena preciznosti učinka kvantitativnih metoda merenja).

Naši kriterijumi prihvatljivosti zavise od broja pozitivnih događaja izmerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivan događaj <1.500, CV <15%
- Ako je pozitivan događaj >1.500, CV <10%

Limfociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrednost) = 804							
	Između više operatera	Između više citometara	Unutar jednog lota	Između više lotova	Između više analiziranja	Unutar jednog analiziranja	Ukupno
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TAČNOST

Tačnost testa CD57-FITC procenjena je poređenjem rezultata sa referentnim reagensom kao osnovom na kompletu uzoraka pune krvi analiziranim na Navios protočnom citometru. Odstupanje između testa i referentnog reagensa određeno je na osnovu razlike između rezultata testova. Ako je odstupanje u okviru dozvoljenog opsega greške ili p-vrednost ne ukazuje na značajnu razliku (>0,05), rezultati testova za ova dva reagensa se smatraju ekvivalentnim.

Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivan cilj	Srednja vrednost Δ	Δ % ćelijskih kriterijuma	p-vrednost	REZULTATI
Limfociti	1,11	<5	2,71E-04	PASS

LIMIT SLEPE PROBE I LIMIT DETEKCIJE

Izvršeno je ispitivanje u skladu s protokolom CLSI EP17-A2, „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Procena sposobnosti detekcije za postupke merenja u kliničkoj laboratoriji). Limit detekcije (LoD) je najniža koncentracija analita koja se može dosledno detektovati. Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli:

Positive Target	Limit slepe probe (ćelija/µl)	Limit detekcije (ćelija/µl)
Limfociti CD3+ CD57+	1	2

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti netačne rezultate ako citometar nije pravilno postavljen, ako fluorescentna curenja nisu ispravno kompenzirana ili ako regioni nisu pažljivo postavljeni.
2. Poželjno je koristiti tehniku liziranja RBC sa korakom ispiranja jer ovaj reagens nije optimizovan za tehnike liziranja „bez pranja“.
3. Tačni i ponovljivi rezultati će se dobijati sve dok su korišćeni postupci u skladu sa listom sa tehničkim podacima i postupci kompatibilni sa smernicama dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugovano antitelo ovog reagensa je kalibrisano tako da ponudi najbolji odnos specifičnog i nespecifičnog signala. Prema tome, važno je u svakom testu koristiti utvrđeni odnos zapremine reagensa i zapremine uzorka.
5. U slučaju hiperleukocitoze, razredite krv u PBS-u kako biste dobili vrednost od približno 5 x 10^9 leukocita/l (17).
6. U određenim stanjima bolesti, kao što su teška bubrežna insuficijencija ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak nemoguće. U tom slučaju se pre bojenja preporučuje izoliranje mononuklearnih ćelija upotrebom gradijenta gustine (na primer, fikol) (18).

7. Kod pacijenata lečenih terapijama antihumanim monoklonskim antitelima, detekcija specifičnih ciljanih antigena može biti umanjena ili odsutna usled delimične ili potpune blokade od strane terapijskog antitela.
8. Rezultate CD57-FITC testa treba tumačiti u svetlu celokupne kliničke slike pacijenta, uključujući: simptome, kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i druge prikladne informacije.

Za primere i referentne materijale pogledati Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizovani logotip i Beckman Coulter robni i servisni žigovi koji se navode u ovom dokumentu jesu žigovi ili registrovani žigovi kompanije Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim zemljama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta/korisnika/treću stranu u Evropskoj uniji i zemljama sa identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o in vitro dijagnostičkim medicinskim sredstvima); ako je tokom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe došlo do ozbiljnog incidenta, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlašćenom predstavniku i svom nacionalnom organu.

Dokument Summary of Safety and Performance (Sažetak informacija o bezbednosti i učinku) dostupan je u EUDAMED bazi podataka: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORIJA REVIZIJA

REVIZIJA AD:	Datum izdavanja: Oktobar, 2019.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AW	Maj 2022.
Ažurirano radi usklađenosti sa smernicama za globalno obeležavanje kompanije Beckman Coulter u skladu sa zahtevima IVD-R (EU)2017/746:	
Dodati odeljci	BSI 2797 broj, Predviđeni korisnik, Klinički značaj, Koncentracija, Preciznost, Tačnost, Limit slepe probe i limit detekcije, Dodatne informacije, Istorija revizija.
Dodate informacije	Pogledati odeljke Ograničenja
Ažuriranje formulacija ili tipografije	Pogledati odeljke Postupak, Učinak, Ograničenja, Upozorenja i mere opreza, Čuvanje i stabilnost.
Uklonjeni odeljci	Primeri kliničkih primena, Reagensi, Intralaboratorijska reproducibilnost, Linearnost
Dopunjeni odeljci	Namena, GHS klasifikacija opasnosti, Dokaz propadanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AX	April 2023
Dopunjeni odeljci	Dodajte kazaški
Dopunjeni odeljci	Skladištenje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Maj 2024
Ažurirani prevodi	**Klinički značaj:**
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Jul 2024
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Ključ za simbole

Rečnik simbola je dostupan na adresi beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Specifikācijas
Specifika	CD57
Klons	NC1
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunogēns	Cells from quail ciliary ganglia
Imūnglobulīns	IgM
Suga	Pele
Attīrīšana	gelfiltrācijas
Fluorohroms	Fluorescein isothiocyanate
Molārā attiecība	FITC/Ig: 19 - 24
λ ierosme	488 nm
Izstarojuma lielākā vērtība	525 nm
Buferšķīdums	PBS pH 7,2 ar 2 mg/ml BSA un 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugētā antiviela
CD57-FITC

REF B49188 100 testi; 2 ml, 20 µl uz testu

***In vitro* diagnostikas lietošanai.**

PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

Ar fluorohromu konjugētā antiviela nodrošina tādu šūnu populāciju kvalitatīvo un neautomatizēto noteikšanu, kam ir CD57 antigēna ekspresija un kas ir cilvēka bioloģiskajos paraugos, izmantojot plūsmas citometriju (skatīt tālāk sadaļu „Paraugi").

PRINCIPS

Šī testa pamatā ir specifisku monoklonālu antivielu spēja saistīties ar leikocītu izdalītām antigēnu determinantēm.

Leikocītu specifiskā iekrāsošana tiek veikta, inkubējot paraugu ar IOTest reaģentu. Pēc tam eritrocīti tiek atdalīti lizēšanas procesā, un leikocīti, ko šis process neietekmē, tiek analizēti, izmantojot plūsmas citometriju.

Plūsmas citometrs mēra gaismas difūziju un šūnu fluorescenci. Tādēļ ir iespējama interesējošās populācijas ierobežošana elektroniskajā logā, kas definēts histogrammā, kas korelē ar gaismas ortogonālo difūziju (sānu izkliede jeb SS) un šaurleņķa gaismas difūziju (priekšējā izkliede jeb FS). Kā papildu metodes sinhronizācijas procesā iespējams izmantot citas histogrammas, kurās iespējams kombinēt divus dažādus citometrā pieejamos parametrus atkarībā no lietotāja izvēlētā izmantojuma.

Tiek analizēta atdalīto šūnu fluorescence, lai atšķirtu pozitīvi iekrāsotos notikumus no neiekrāsotajiem. Rezultāti tiek izteikti kā procentuālais lielums no pozitīviem notikumiem attiecībā pret visiem notikumiem, kas iegūti selekcijā.

PAREDZĒTAIS LIETOTĀJS

Šis produkts ir paredzēts profesionālai lietošanai laboratorijā.

KLĪNISKAIS NOZĪMĪGUMS

CD57-FITC ir CD57 antiviela, ko izmanto, lai ar plūsmas citometriju noteiktu un raksturotu šūnas, kas ekspresē CD57 antigēnu. Ar vienu pašu šo izstrādājumu nevar iegūt nekādu diagnostisku secinājumu, un tas nav tam paredzēts.

Izmantojot kopā ar citiem marķieriem, šo izstrādājumu var lietot vienai vai vairākām tālāk norādītajām funkcijām.

- Lai palīdzētu veikt diferenciāldiagnostiku pacientiem ar hematoloģiskām patoloģijām, kuriem, iespējams, ir asinsrades neoplazma, un lai kontrolētu pacientus ar zināmu asinsrades neoplazmu.
- Lai palīdzētu noteikt prognozi pacientiem ar asinsrades neoplazmu.
- Lai palīdzētu noteikt diagnozi pacientiem, kuriem, iespējams, ir imūndeficīts, un lai uzraudzītu pacientus ar zināmu imūndeficītu.

Skatiet tālāk sniegtās atsauces.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PARAUGI

Venozās asinis jāņem, izmantojot sterilas mēģenes, kurās kā antikoagulants ir izmantots EDTA sāls.

Paraugi ir jāuzglabā istabas temperatūrā (18–25 °C), un tos nedrīkst sakratīt. Pirms testa parauga ņemšanas ir jāveic paraugu homogenizācija, viegli saskalojot paraugus.

Paraugu analīze ir jāveic 24 stundu laikā pēc vēnas punkcijas.

KONCENTRĀCIJA

Konkrētai partijai atbilstošo analīzes sertifikātu skatiet vietnē www.beckman.com.

BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

1. Neizmantojiet reaģentu pēc derīguma termiņa beigām.
2. Nedrīkst sasaldēt.
3. Pirms izmantošanas ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai (18–25 °C).
4. Minimizējiet ekspozīciju gaismas iedarbībai.
5. Izvairieties no reaģentu bakteriālas kontaminācijas, jo iespējami viltus rezultāti.
6. Strādājot ar antivielu šķīdumiem, kuru sastāvā ir nātrija azīds (NaN_3), jāievēro piesardzība. Neizmantojiet iekšķīgi un nepieļaujiet saskari ar ādu, gļotādu un acīm.

Turklāt skābā vidē nātrija azīds var radīt potenciāli bīstamo hidrazoīdskābi. Ja to nepieciešams izmest, reaģentu ieteicams šķīdināt lielā daudzumā ūdens un izliet to kanalizācijas sistēmā, lai novērstu nātrija azīda uzkrāšanos metāla caurulēs un novērstu sprādziena risku.

7. Visi asins paraugi ir jāuzskata par potenciāli infekcioziem, un ar tiem jārīkojas, ievērojot piesardzību (respektīvi, jāvalkā aizsargcimdi, aizsargtērpi un brilles).
8. Nekādā gadījumā neizmantojiet muti, lai darbotos ar pipeti. Paraugi nekādā gadījumā nedrīkst saskarties ar ādu, gļotādu un acīm.
9. Darbā izmantotās asiņu mēģenes un vienreizlietojamie materiāli ir jāizmet ad hoc konteineros, kas paredzēti sadedzināšanai.
10. Ir jāveic reaģentu un atkritumu utilizācija atbilstoši vietējām prasībām.

ĶĪMISKO VIELU KLASIFICĒŠANAS UN MARĶĒŠANAS VISPĀRĒJI SASKAŅOTĀS SISTĒMAS BĪSTAMĪBAS KLASIFIKĀCIJA

Nav klasificēts kā bīstams

SDS Drošības datu lapa ir pieejama vietnē beckmancoulter.com/techdocs

GLABĀŠANA UN STABILITĀTE

Reaģents ir jāuzglabā 2–8 °C temperatūrā un jāsargā no gaismas pirms un pēc flakona atvēršanas.

Aizvērta flakona glabāšanas laiks saskaņā ar stabilitātes pētījumu: 1095 dienas.

Atvērta flakona stabilitāte: reaģents ir stabils 180 dienas.

SADALĪŠANĀS PAZĪMES

Jebkuras reaģentu pazīmju izmaiņas var norādīt, ka reaģents sadalās un to nedrīkst izmantot.

Lai iegūtu papildu informāciju vai arī ja saņemtais izstrādājums ir bojāts, zvaniet Beckman Coulter klientu servisam pa tālruni 800-742-2345 (ASV vai Kanāda) vai sazinieties ar vietējo Beckman Coulter pārstāvi.

SATURS

Nātrija azīda konservants var izveidot sprādzienbīstamus savienojumus metāla notekcaurulēs. Skatīt NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (NIOSH biļetens: Azīdu sprādzienbīstamība) (16.8.76.).
Lai nepieļautu iespējamo azīda savienojumu uzkrāšanos, pēc neatšķaidītā reaģenta izmešanas izskalojiet kanalizācijas caurules ar ūdeni. Nātrija azīda izmešana ir jāveic saskaņā ar atbilstošajiem vietējiem noteikumiem.

NEPIECIEŠAMIE MATERIĀLI, KAS NEIETILPST KOMPLEKTĀ

- Paraugu ņemšanai nepieciešamās mēģenes un materiāli.
- Automātiskās pipetes ar vienreizlietojamiem uzgaļiem, kas paredzētas 20, 100 un 500 µl.
- Plastmasas hemolīzes mēģenes.
- Eritrocītu lizēšanas reaģents ar mazgāšanas fāzi pēc lizēšanas. Piemērs: VersaLyse (ats. A09777).
- Leikocītu fiksācijas reaģents. Piemērs: IOTest 3 fiksatīvais šķīdums (ats. A07800).
- Buferšķīdums (PBS: 0,01 M nātrija fosfāta; 0,145 M nātrija hlorīda; pH 7,2).
- Centrifugējiet.
- Automātisks maisītājs (samaisīšanas tipa).
- Plūsmas citometrs.

PROCEDŪRA AR REAĢENTU VERSALYSE

1. Pievienojiet katrai testa mēģenei atbilstošu daudzumu jeb 20 µl specifiskās IOTest konjugētās antivielas.
2. Pievienojiet 100 µl testa parauga katrai mēģenei. Saudzīgi samaisiet mēģenes.
3. Inkubējiet 15–20 minūtes istabas temperatūrā (18–25 °C), sargājot no gaismas.
4. Pēc tam veiciet eritrocītu lizēšanu. Skatiet VersaLyse (ats. A09777) lietošanas instrukciju, un ir vēlams izmantot procedūru ar nosaukumu „ar vienlaicīgu fiksāciju", kas tiek veikta, pievienojot 1 ml ekstemporāli izgatavota „Fix-and-Lyse" maisījuma. Nekavējoties samaisiet uz vienu sekundi un inkubējiet mēģeni 10 minūtes istabas temperatūrā, sargājot to no gaismas iedarbības.
5. Centrifugējiet 5 minūtes istabas temperatūrā, izmantojot 150 x g.
6. Aspirējot noņemiet virsējo slāni.
7. Atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu ar 3 ml PBS.
8. Atkārtojiet 6. darbību.
9. Aspirējot noņemiet virsējo slāni un atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu, izmantojot:

- 0,5 ml vai 1 ml PBS ar 0,1 % formaldehīda, ja preparātus ir paredzēts uzglabāt mazāk nekā 24 stundas. (0,1 % formaldehīda PBS var iegūt, atšķaidot 12,5 µl IOTest 3 fiksācijas šķīduma (ats. A07800) 10X koncentrācijā ar 1 ml PBS).
- 0,5 ml vai 1 ml PBS bez formaldehīda, ja ir paredzēts analizēt sagataves 2 stundu laikā.

Piezīme. Sagatavotos maisījums vienmēr uzglabājiet 2–8 °C temperatūrā un sargājiet no gaismas.

PAREDZAMĀS VĒRTĪBAS

Mūsu laboratorijās tika apstrādāti 25 acīmredzami veselu donoru pilnasins paraugi, izmantojot iepriekš aprakstīto reaģentu. Ar šo reaģentu iegūtie interesējošo pozitīvo notikumu rezultāti skaitliskā veidā ir sniegti tālāk tabulā.

Pozitīvais mērķis	Numurs	Aritmētiskais vidējais (%)	SN	Variācijas koeficients (%)
Limfocīti	25	20,46	10,29	50,28

Šīm vērtībām ir tikai raksturojošs nolūks. Katrai laboratorijai jānosaka savas paredzamās vērtības, kas iegūtas no veseliem vietējās populācijas donoriem.

VEIKTSPĒJA

Veiktspējas dati tiek iegūti, izmantojot iepriekš aprakstīto procedūru mazāk nekā 24 stundu veciem asins paraugiem, kas iepriekš paņemti sterilās mēģenēs ar EDTA sāli kā antikoagulantu. Analīze tiek veikta 2 stundu laikā pēc imūnkrāsošanas metodes izmantošanas.

SPECIFIKA

CD57 molekula, sākotnēji dēvēta HNK-1, ir glikoproteīns ar molekulmasu 110–115 kDa. CD57 molekula ir oligosaharīdu antigēnu savienojums ar sulfitētas glukuronskābes paliekām. Tā ir saistīta ar dažādiem polipeptīdiem, lipīdiem un hondroitīna sulfāta proteoglikāniem, kas atrasti uz dažādiem audiem. CD57 molekulu ekspresē hematopoētisko šūnu apakškopās, asinsrades šūnās, neiroektodermālās šūnās, neiroendokrīnās šūnās, šķērssvītrotajos muskuļos un prostatas epitēlijā (11, 12, 13, 14).

CD57 antigēnu sākotnēji identificēja hematopoētiskajos audos, lielākajā daļā lielo granulāro limfocītu (LGL). Vairumam pieaugušo CD57 antigēns tiek ekspresēts NK šūnu apakškopā un CD8 pozitīvajos T limfocītos (13). CD57 molekula ir izteikta kaulu smadzeņu šūnu apakškopā un, šķiet, nav atrasta nabassaites asins limfocītos.

CD4+ un CD45RO+ T limfocītu apakškopa no germinālā centra limfmezgliem ekspresē CD57 antigēnu (12, 13). Dati liecina par to, ka CD57 molekula ir iesaistīta šūnu mijiedarbībā. L-selektīna (CD62L) un P-selektīna (CD62P) molekulas var būt iespējamie CD57 ligandi (11, 15). NC1 monoklonālo antivielu piešķīra CD57 klasterim 5th International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigen (5. starptautiskā darbnīca saistībā ar cilvēku leikocītu diferencēšanas antigēnu), kas notika Bostonā, ASV, 1993. gadā (16).

PRECIZITĀTE

Procentuāli pozitīvās vērtības tika noteiktas, izmantojot pilnasinis. Katru paraugu analizēja 4 reizes: divreiz dienā 1 dienu 2 instrumentos, izmantojot 2 partijas CD57-FITC monoklonālu antivielu reaģentu. Mērījumus (% pozitīvs) veica Navios plūsmas citometrā. Analīzi veica, pamatojoties uz CLSI metodi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatīvo mērīšanas metožu precizitātes veiktspējas novērtēšana).

Mūsu pieņemšanas kritēriji ir atkarīgi no katrai populācijai noteikto pozitīvo notikumu skaita.

- Ja pozitīvs notikums < 1500, variācijas koeficients < 15 %
- Ja pozitīvs notikums > 1500, variācijas koeficients < 10 %

Limfocīti							
Pozitīvo notikumu skaits (aritmētiskais vidējais) = 804							
	Starp operatoriem	Starp citometriem	Partijā	Starp partijām	Starp analīzēm	Analīzē	Kopā
Variācijas koeficients (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
REZULTĀTI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRECIZITĀTE

CD57-FITC precizitāti novērtēja, pilnasins paraugu kopas, kas analizēti Navios plūsmas citometrā, rezultātus salīdzinot ar atsauces reaģentu kā predikātu. Novirzi starp testa un atsauces reaģentu noteica, pamatojoties uz testu rezultātu atšķirību. Ja novirze atbilst pieļaujamajam kļūdas diapazonam vai p vērtība neliecina par nozīmīgu atšķirību (> 0,05), tad abu reaģentu testu rezultāti uzskatāmi par līdzvērtīgiem.

Iegūtie rezultāti ir apkopoti nākamajā tabulā.

Donoru skaits = 25				
Pozitīvais mērķis	Aritmētiskais vidējais Δ	Δ % šūnu kritēriji	p vērtība	REZULTĀTI
Limfocīti	1,11	<5	2,71E-04	PASS

TUKŠO PARAUGU ROBEŽVĒRTĪBA UN NOTEIKŠANAS ROBEŽVERTĪBA

Pētījums tika veikts saskaņā ar CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klīniskās laboratorijas mērījumu procedūru noteikšanas spēju izvērtējums). Noteikšanas robežvērtība (NR) ir zemākā analīta koncentrācija, ko iespējams konsekventi noteikt. Iegūtie rezultāti ir apkopoti tālāk tabulā.

Positive Target	Tukšo paraugu robežvērtība (šūnas/µl)	Noteikšanas robežvērtība (šūnas/µl)
Limfocīti CD3+ CD57+	1	2

IEROBEŽOJUMI

1. Ja citometrs nav novietots precīzi līdzeni, ja nav pareizi kompensētas fluorescences noplūdes un ja reģioni nav uzmanīgi novietoti, plūsmas citometrija var radīt viltus rezultātus.
2. Ir ieteicams izmantot RBC lizēšanas paņēmienu ar mazgāšanas darbību, jo šis reaģents nav optimizēts izmantošanai lizēšanas paņēmienā „bez mazgāšanas".
3. Iegūtie rezultāti ir precīzi un reproducējami, ja visas izmantotās procedūras tiek izpildītas atbilstoši tehniskajai lietošanas instrukcijai un ir saskaņā ar labu laboratorijas praksi.
4. Šī reaģenta konjugētā antiviela ir kalibrēta tā, lai nodrošinātu labāko specifiska signāla/nespecifiska signāla attiecību. Tāpēc ir ļoti svarīgi ievērot reaģenta tilpuma/parauga tilpuma attiecību katrā testā.
5. Hiperleikocitozes gadījumā atšķaidiet asinis ar PBS, lai iegūtā vērtība būtu apmēram 5 x 10^9 leikocīti/l (17).
6. Dažos slimību stāvokļos, piemēram, izteiktas nieru mazspējas vai hemoglobinopātijas gadījumā, eritrocītu lizēšana var būt lēna, nepilnīga vai pat neiespējama. Šajā gadījumā pirms iekrāsošanas ir ieteicams izolēt mononukleārās šūnas, izmantojot blīvuma gradientu (piemēram, Ficoll) (18).
7. Pacientiem, ko ārstē ar anti-cilvēka monoklonālas antivielas līdzekļiem, specifisku mērķa antigēnu noteikšana var būt pasliktināta vai tās var nebūt, jo to daļēji vai pilnībā bloķē terapeitiskā antiviela.
8. CD57-FITC rezultāti jāinterpretē, ņemot vērā pacienta kopējo klīnisko prezentāciju, tajā skaitā simptomus, slimības vēsturi, papildu testu rādītājus un citu atbilstošu informāciju.

Pielikumā skatiet piemērus un atsauces.

PREČU ZĪMES

Beckman Coulter, stilizētais logotips un Beckman Coulter preču un pakalpojumu zīmes, kas minētas šeit, ir Beckman Coulter, Inc. preču zīmes vai reģistrētas preču zīmes Amerikas Savienotajās Valstīs un citās valstīs.

PAPILDINFORMĀCIJA

Attiecībā uz pacientiem/lietotājiem/trešajām personām Eiropas Savienībā vai valstīs ar identisku regulatīvo režīmu (Regula (ES) 2017/746 par in vitro diagnostikas medicīniskām ierīcēm); ja ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā rodas nopietns negadījums, informējiet par to ražotāju un/vai tā pilnvaroto pārstāvi, kā arī valsts iestādi.

Summary of Safety and Performance (Drošuma un veiktspējas kopsavilkums) ir pieejams EUDAMED datubāzē: ec.europa.eu/tools/eudamed.

PĀRSKATĪŠANAS VĒSTURE

AD VERSIJA:	Laidiena datums: 2019. gada oktobris

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AW	2022. gada maijs
Atjauninājumi atbilst Beckman Coulter vispārējai marķēšanas politikai un IVD-R (ES)2017/746 prasībām:	
Pievienotas iedaļas	BSI 2797 numurs, Paredzētais lietotājs, Klīniskais nozīmīgums, Koncentrācija, Precizitāte, Precizitāte, Tukšo paraugu robežvērtība un noteikšanas robežvērtība, Papildinformācija, Pārskatīšanas vēsture.
Pievienota informācija	Skatīt iedaļas Ierobežojumi.
Formulējuma vai tipogrāfiski atjauninājumi	Skatīt iedaļas Procedūra, Veiktspēja, Ierobežojumi, Brīdinājumi un piesardzības pasākumi, Glabāšana un Stabilitāte.
Izņemtās iedaļas	Klīniskā lietojuma piemērs, reaģenti, reproducējamība laboratorijā, linearitāte.
Atjauninātās sadaļas	Paredzētā lietošana, Ķīmisko vielu klasificēšanas un marķēšanas vispārēji saskaņotās sistēmas bīstamības klasifikācija, Sadalīšanās pazīmes, Procedūra, Pielikums.

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AX	Aprīlis 2023
Atjauninātās sadaļas	Pievienot kazahu valodu
Atjauninātās sadaļas	Glabāšana un stabilitāte

Pārskatītā versija	AY
Pārskatītā izdevuma datums	Maijs 2024
Atjauninātie tulkojumi	**Klīniskais nozīmīgums:**
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Pārskatītā versija	AZ
Pārskatītā izdevuma datums	Jūlijs 2024
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Simbolu skaidrojumi

Simbolu glosārijs ir pieejams vietnē beckman.com/techdocs (dokumenta numurs B60062)

	Специфікації
Специфічність	CD57
Клон	NC1
Гібридома	SP2/0 x balb/c
Імуноген	Cells from quail ciliary ganglia
Імуноглобулін	IgM
Вид	Миша
Очищення	гель-фільтрації
Флуорохром	Fluorescein isothiocyanate
Молярне співвідношення	FITC/Ig: 19 - 24
λ-збудження	488 нм
Пік випромінювання	525 нм
Буфер	Розчин ФСБ pH 7,2 плюс бичачий сироватковий альбумін (БСА) 2 мг/мл та 0,1% NaN_3

Кон'юговане антитіло IOTest CD57-FITC

REF B49188 100 тестів; 2 мл, 20 мкл/тест

Для діагностики *in vitro*.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Ці антитіла, кон'юговані з флуорохромом, забезпечують якісну та неавтоматизовану ідентифікацію популяцій клітин, що експресують антиген CD57, присутніх у біологічних пробах людини, за допомогою проточної цитометрії (див. розділ «Проби» нижче).

ПРИНЦИП

Цей тест базується на здатності специфічних моноклональних антитіл зв'язуватися з антигенними детермінантами, які експресуються лейкоцитами.

Специфічне забарвлення лейкоцитів здійснюється через інкубацію проби з реагентом IOTest. Еритроцити далі видаляють за допомогою лізису, а лейкоцити, на які не впливає цей процес, досліджують методом проточної цитометрії.

Проточний цитометр вимірює розсіювання світла та флуоресценцію клітин. Це робить можливим розмежування досліджуваної популяції всередині електронного вікна, що визначається на гістограмі, яка співвідносить ортогональне розсіювання світла (бічне розсіювання або Side Scatter — SS) і вузькокутове розсіювання світла (пряме розсіювання або Forward Scatter — FS). Інші гістограми, що поєднують два різні параметри, доступні на цитометрі, можна використовувати для допомоги на етапі гейтингу залежно від програми, вибраної користувачем.

Флуоресценція обмеженої популяції клітин аналізується, щоб розрізнити події з позитивно забарвленими клітинами й незабарвленими. Результати виражаються як відсоток позитивних подій відносно всіх подій, зареєстрованих за допомогою гейтингу.

ПЕРЕДБАЧУВАНИЙ КОРИСТУВАЧ

Цей продукт призначений для професійного використання в лабораторії.

КЛІНІЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ

CD57-FITC — це антитіло CD57, яке використовується для ідентифікації та характеристики клітин, що експресують антиген CD57, методом проточної цитометрії. Цей виріб за ізольованого використання не може застосовуватись для генерації жодних діагностичних висновків, він не призначений для цього.

Під час використання разом з іншими маркерами цей продукт можна використовувати в одному або декількох з нижченаведених застосувань.

- Як допоміжний засіб під час проведення диференціальної діагностики в пацієнтів з відхиленнями в результатах гематологічних досліджень із підозрою на наявність гематопоетичного новоутворення, а також для моніторингу пацієнтів з відомим гематопоетичним новоутворенням.
- У якості допоміжного засобу при прогнозуванні подальшого перебігу хвороби у пацієнтів з гематопоетичним новоутворенням.
- Як допоміжний засіб діагностики пацієнтів з підозрою на імунодефіцит і моніторингу пацієнтів з відомим імунодефіцитом.

Див. такі посилання:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ПРОБИ

Венозну кров потрібно брати в стерильні пробірки, що містять ангикоагулянт — сіль ЕДТА.

Проби слід зберігати за кімнатної температури (18–25°C), і їх не слід струшувати. Перш ніж узяти пробу для тестування, проби потрібно гомогенізувати за допомогою обережного перемішування.

Проби потрібно проаналізувати не пізніше ніж через 24 години після венепункції.

КОНЦЕНТРАЦІЯ

Див. сертифікат аналізу для серії на вебсайті www.beckman.com.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.
2. Не заморожуйте.
3. Доведіть до кімнатної температури (18–25°C) перед використанням.
4. Зведіть до мінімуму вплив світла.
5. Уникайте мікробної контамінації реагентів, інакше можуть бути отримані помилкові результати.

6. Розчини антитіл, які містять азид натрію (NaN_3), треба обробляти обережно. Не приймайте внутрішньо й уникайте будь-якого контакту зі шкірою, слизовими оболонками та очима.

   Крім того, у кислому середовищі азид натрію може утворити потенційно небезпечну азотистоводневу кислоту. Якщо його потрібно утилізувати, рекомендується розвести реагент у великій кількості води перед зливанням у водостічну систему, щоб уникнути накопичення азиду натрію на поверхні металевих труб і запобігти небезпеці вибуху.
7. Усі проби крові слід розглядати як потенційно інфекційні та поводитися з ними обережно (зокрема, використовуючи захисні рукавички, халати й окуляри).
8. У жодному разі не піпетуйте ротом та уникайте потрапляння проб на шкіру, слизові оболонки та в очі.
9. Пробірки для крові та одноразові матеріали, які використовуються для оброблення, слід викидати в спеціальні контейнери, вміст яких призначений для спалювання.
10. Реагенти та відходи потрібно утилізувати відповідно до місцевих вимог.

КЛАСИФІКАЦІЯ НЕБЕЗПЕКИ ЗА СИСТЕМОЮ GHS

Не класифікуються як небезпечні

SDS Паспорт безпеки доступний на сторінці beckmancoulter.com/techdocs

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Цей реагент потрібно зберігати за температури від 2 до 8°C у захищеному від світла місці, як до, так і після відкриття флакона.

Термін придатності вмісту закритого флакону відповідно до дослідження стабільності: 1095 день.

Стабільність після відкриття флакона: реагент стабільний 180 діб.

ОЗНАКИ ПСУВАННЯ

Будь-яка зміна зовнішнього вигляду реагентів може вказувати на псування, і реагент не слід використовувати.

Щоб отримати додаткову інформацію або повідомити про отримання пошкодженого продукту, зателефонуйте до Служби обслуговування клієнтів Beckman Coulter за номером 800-742-2345 (США або Канада) чи зверніться до місцевого представника компанії Beckman Coulter.

ЗМІСТ

Консервант азид натрію може утворювати вибухонебезпечні сполуки в металевих зливних трубопроводах. Див. Бюлетень Національного інституту з охорони праці та промислової гігієни (NIOSH) Explosive Azide Hazard (Вибухонебезпечні азиди) (16.8.76).
Щоб уникнути можливого утворення сполук азиду, промийте зливні труби водою відразу після утилізації нерозведеного реагенту. Реагенти, що містять азид натрію, треба утилізувати з дотриманням відповідних місцевих норм.

ПОТРІБНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ У КОМПЛЕКТ

- Пробірки для проб і матеріали, потрібні для забору проб.
- Автоматичні піпетки з одноразовими наконечниками на 20, 100 і 500 мкл.
- Пластикові пробірки для гемолізу.
- Реагент для лізису еритроцитів з етапом промивання після лізису. Наприклад: VersaLyse (Ref. A09777).
- Реагент для фіксації лейкоцитів. Наприклад: розчин для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800).
- Буфер (ФСБ: 0,01 моль фосфату натрію; 0,145 моль хлориду натрію; pH 7,2).
- Центрифугування.
- Автоматичний змішувач (типу вортекс).
- Проточний цитометр.

ПРОЦЕДУРА З РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

1. Додайте відповідний об'єм у кількості 20 мкл специфічних кон'югованих антитіл IOTest у кожну тестову пробірку.
2. Додайте 100 мкл проби для тестування в кожну пробірку. Обережно змішайте вміст пробірок вихровим способом.
3. Витримайте протягом 15–20 хвилин за кімнатної температури (18–25°C) у захищеному від світла місці.
4. Потім виконують лізис еритроцитів. Перегляньте вкладний листок VersaLyse (Ref. A09777) і за можливості дотримуйтеся процедури з одночасною фіксацією, яка полягає в додаванні 1 мл суміші Fix-and-Lyse, приготованої безпосередньо перед використанням. Відразу змішайте вихровим способом упродовж однієї секунди й витримайте протягом 10 хвилин за кімнатної температури в захищеному від світла місці.
5. Центрифугуйте за кімнатної температури протягом 5 хвилин зі швидкістю 150 g.
6. Видаліть надосадову рідину аспіратором.
7. Ресуспендуйте осад клітин у 3 мл ФСБ.
8. Повторіть крок 6.
9. Видаліть надосадову рідину аспіратором і ресуспендуйте осад клітин, використовуючи наведене далі.

- 0,5 мл або 1 мл ФСБ плюс 0,1% формальдегіду, якщо препарати передбачається зберігати менше ніж 24 годин. (Розчин ФСБ, що містить 0,1% формальдегіду, можна отримати за допомогою розведення 12,5 мкл розчину для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800) за його 10-кратної концентрації в 1 мл ФСБ).
- 0,5 мл або 1 мл ФСБ без формальдегіду, якщо препарати будуть аналізувати впродовж наступних 2 годин.

Примітка. У всіх випадках препарати слід зберігати в захищеному від світла місці за температури 2–8°C.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

У наших лабораторіях проби цільної крові 25 практично здорових донорів обробляли з використанням реагенту, описаного вище. Отримані результати підрахунку позитивних подій, які досліджуються, з використанням цього реагенту наведено в таблиці нижче:

Цільова позитивна популяція	Число	Середнє значення (%)	СВ	КВ (%)
Лімфоцити	25	20,46	10,29	50,28

Ці значення призначені лише для репрезентативних цілей. Кожна лабораторія має встановити власний діапазон очікуваних значень серед місцевої популяції здорових донорів.

ЕФЕКТИВНІСТЬ

Робочі показники ефективності отримуються з використанням процедури, описаної вище, на пробах крові, які були відібрані в стерильні пробірки із сіллю ЕДТА як антикоагулянтом, а також зберігалися менше ніж 24 години. Аналіз проводиться впродовж 2 годин після імунного фарбування.

СПЕЦИФІЧНІСТЬ

Молекула CD57, що спочатку була названа HNK-1, являє собою глікопротеїн з молекулярною масою 110–115 кДа. Молекула CD57 являє собою олігосахаридну антигенну сполуку з сульфатованими залишками глюкуронової кислоти. Вона пов'язана з різноманіттям поліпептидів, ліпідів і хондроїтин сульфат протеогліканів, знайдених на різних тканинах. Молекула CD57 експресується на підмножини кровотворних клітин, нейроектодермальних клітин, нейроендокринних клітин, смугастих м'язів і простатичного епітелію (11,12,13,14).

Антиген CD57 спочатку був ідентифікований в кровотворній тканині на більшості великих гранулярних лімфоцитів (ВГЛ). У більшості дорослих антиген CD57 експресується на підмножини клітин NK і CD8-позитивних Т-лімфоцитах (13). Молекула CD57 експресується на підмножини клітин кісткового мозку і, виходячи з даних, не знаходиться на лімфоцитах пуповинної крові.

Підмножина Т-лімфоцитів CD4+/CD45RO+ з зародкових центрів лімфовузлів експресує антиген CD57 (12,13). Існують дані про те, що молекула CD57 бере участь в міжклітинних взаємодіях. Молекули L-селектину (CD62L) і P-селектину (CD62P) можуть бути можливими лігандами для CD57 (11,15). Моноклональне антитіло NC1 було віднесено до кластеру CD57 під час п'ятого International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Міжнародного семінару з питань антигенів для диференціації лейкоцитів людини), що проходив у Бостоні, США, в 1993 році (16).

ПРЕЦИЗІЙНІСТЬ

Процент позитивних значень визначали за допомогою цільної крові. Кожну пробу обробляли 4 рази, двічі на добу впродовж 1 доби на 2 приладах, використовуючи 2 серії реагентів моноклональних антитіл CD57-FITC. Вимірювання (% позитивних значень) виконували на проточному цитометрі Navios. Аналіз проводили на основі методу CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оцінювання прецизійності кількісних методів вимірювання).

Наші критерії прийнятності залежать від кількості позитивних подій, виміряних для кожної популяції.

- Якщо кількість позитивних подій < 1500, КВ < 15%
- Якщо кількість позитивних подій > 1500, КВ < 10%

Лімфоцити							
Кількість позитивних подій (середнє значення) = 804							
	Між операторами	Між цитометрами	У межах однієї серії	Між серіями	Між серіями вимірювань	У межах однієї серії вимірювань	Усього
КВ (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
РЕЗУЛЬТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНІСТЬ

Точність CD57-FITC оцінювали через порівняння результатів з еталонним реагентом як контролем якості для набору проб цільної крові на проточному цитометрі Navios. Систематичну помилку між тестовим та еталонним реагентами визначали на основі різниці між результатами тесту. Якщо систематична помилка знаходиться в межах діапазону допустимої похибки або p-значення вказує на відсутність значущої різниці (> 0,05), тоді результати тесту для двох реагентів вважаються еквівалентними.

Отримані результати підсумовано в таблиці, наведеній нижче.

Кількість донорів = 25				
Цільова позитивна популяція	Середня Δ	Критерії Δ % клітин	p-значення	РЕЗУЛЬТАТИ
Лімфоцити	1,11	<5	2,71E-04	PASS

МЕЖА ХОЛОСТОЇ ПРОБИ Й МЕЖА ВИЯВЛЕННЯ

Дослідження проводилося відповідно до рекомендацій CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оцінювання можливості виявлення для методик клінічних лабораторних вимірювань). Межа виявлення (LOD) — це найнижча концентрація аналіту, яку стабільно можна виявити. Отримані результати підсумовано в наведеній нижче таблиці.

Positive Target	Межа холостої проби (клітин/мкл)	Межа виявлення (клітин/мкл)
Лімфоцити CD3+ CD57+	1	2

ОБМЕЖЕННЯ

1. Результати проточної цитометрії можуть бути помилковими, якщо вказане нижче не було виконано належним чином: вирівняно цитометр, скомпенсовано витік флуоресценції, здійснено позиціонування ділянок.
2. Бажано використовувати метод лізису еритроцитів з етапом промивання, оскільки цей реагент не оптимізовано для методів лізису «без промивання».

3. Буде отримано точні й відтворювані результати, якщо процедури застосовуються відповідно до технічної інструкції, що додається, і стандартів належної лабораторної практики.
4. Кон'юговані антитіла цього реагенту відкалібровано таким чином, щоб забезпечити краще співвідношення специфічного сигналу та неспецифічного сигналу. Тому важливо дотримуватися співвідношення об'єму реагенту та об'єму проби в кожному тесті.
5. У разі гіперлейкоцитозу кров слід розводити у ФСБ так, щоб отримати концентрацію приблизно 5×10^9 лейкоцитів/л (17).
6. У разі деяких захворювань або станів, як-от тяжка ниркова недостатність або гемоглобінопатії, лізис еритроцитів може бути повільним, неповним або навіть неможливим. У цьому разі рекомендується виділяти мононуклеарні клітини за градієнтом щільності (наприклад, з використанням фіколу) перед фарбуванням (18).
7. У пацієнтів, які отримують лікування антилюдськими моноклональними антитілами, виявлення специфічних цільових антигенів може бути зниженим або відсутнім через часткове або повне блокування терапевтичним антитілом.
8. Результати CD57-FITC слід інтерпретувати у світлі загальної клінічної картини пацієнта, включно із симптомами, клінічним анамнезом, даними додаткових тестів та іншою відповідною інформацією.

Див. приклади й посилання в додатку.

ТОРГОВЕЛЬНІ МАРКИ

Beckman Coulter, стилізований логотип, товарні знаки й сервісні марки Beckman Coulter, вказані тут, є торговельними марками або зареєстрованими торговельними марками компанії Beckman Coulter, Inc. у Сполучених Штатах Америки й інших країнах.

ДОДАТКОВА ІНФОРМАЦІЯ

Для пацієнта / користувача / третьої сторони в Європейському Союзі та в країнах з ідентичною системою нормативного регулювання (Регламент 2017/746/ЄС про медичні вироби для діагностики in vitro); якщо під час використання цього пристрою або в результаті його використання стався серйозний інцидент, повідомте про це виробнику й (або) його уповноваженому представнику та місцевому національному органу.

The Summary of Safety and Performance (Огляд безпеки та основних характеристик) доступний у базі даних EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ІСТОРІЯ ЗМІН

РЕДАКЦІЯ AD	Дата випуску: Жовтень 2019 р.

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AW	Травень 2022 р.
Оновлення мають відповідати Глобальній політиці щодо маркування компанії Beckman Coulter і вимогам IVD-R (ЄС)2017/746:	
Додані розділи	«Номер BSI 2797», «Цільовий користувач», «Клінічна значущість», «Концентрація», «Прецизійність», «Точність», «Межа холостої проби й межа виявлення», «Додаткова інформація», «Історія змін».
Додана інформація	Див. розділ «Обмеження»
Оновлення формулювання або типографічні оновлення	Див. розділи «Процедура», «Робочі показники», «Обмеження», «Попередження та застереження», «Зберігання та стабільність».
Видалені розділи	«Приклад клінічного застосування», «Реагенти», «Міжлабораторна відтворюваність», «Лінійність»
Оновлені розділи	«Призначення», «Класифікація небезпек GHS», «Ознаки погіршення характеристик», «Процедура», «Додаток».

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AX	Квітень 2023
Оновлені розділи	Додано казахську мову
Оновлені розділи	Зберігання й стабільність

Переглянута версія	AY
Дата перегляду	Травень 2024
Оновлені переклади	**Клінічна значущість:**
Оновлені розділи	Історія змін

Переглянута версія	AZ
Дата перегляду	Липень 2024
Оновлені розділи	Історія змін

Список символів

Глосарій символів доступний на сайті beckman.com/techdocs (документ № B60062)

	Especificações
Especificidade	CD57
Clone	NC1
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunógeno	Cells from quail ciliary ganglia
Imunoglobulina	IgM
Espécie	Camundongo
Purificação	Filtração em gel
Fluorocromo	Fluorescein isothiocyanate
Razão molar	FITC/Ig: 19 - 24
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	525 nm
Tampão	PBS com pH de 7,2 mais 2 mg/mL de BSA e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado CD57-FITC

REF B49188 100 testes; 2 mL, 20 µL/teste

Para uso em diagnóstico *in vitro.*

USO PREVISTO

Esse anticorpo conjugado com fluorocromo permite a identificação qualitativa e não automatizada das populações de células que expressam o antígeno CD57 presente em amostras biológicas humanas utilizando a citometria de fluxo (consulte a seção “Amostras” a seguir).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade que os anticorpos monoclonais específicos têm de se ligarem aos determinantes antigênicos expressos por leucócitos.

A coloração específica de leucócitos é realizada incubando-se a amostra com o reagente IOTest. As hemácias são então removidas por lise e os leucócitos, que não são afetados por esse processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citômetro de fluxo mede a difusão da luz e a fluorescência das células. Ele possibilita a delimitação da população de interesse na janela eletrônica definida por um histograma, que correlaciona a difusão ortogonal da luz (dispersão lateral ou SS) e a difusão da luz em ângulo estreito (dispersão frontal ou FS). Outros histogramas que combinam dois dos diferentes parâmetros disponíveis no citômetro podem ser utilizados como auxílio no estágio de delimitação, dependendo da aplicação escolhida pelo usuário.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são expressos como uma porcentagem dos eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos pela delimitação.

USUÁRIO PREVISTO

Este produto destina-se ao uso laboratorial profissional.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD57-FITC é um anticorpo para CD57 usado para identificar e caracterizar, por citometria de fluxo, as células que expressam o antígeno CD57. Este produto por si só não pode e não se destina a originar qualquer conclusão diagnóstica.

Quando usado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser usado com uma ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com anormalidades hematológicas com suspeita de terem neoplasia hematopoiética e para monitorar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.
- Para auxiliar no prognóstico de pacientes que possuem neoplasia hematopoiética.
- Para auxiliar no diagnóstico de pacientes com suspeita de imunodeficiência e monitorar pacientes com imunodeficiência conhecida.

Consulte as referências a seguir:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

AMOSTRAS

Sangue venoso deve ser coletado usando tubos estéreis contendo um sal de EDTA como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas em temperatura ambiente (18-25°C) e não devem ser agitadas. A amostra deve ser homogeneizada por agitação suave antes que a amostra para teste seja retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a coleta.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não use o reagente após o prazo de validade.
2. Não congele.
3. Deixe atingir a temperatura ambiente antes de usar (18-25°C).
4. Minimize a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, pois isso pode gerar falsos resultados.

6. As soluções de anticorpos contendo azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não utilize internamente e evite o contato com a pele, mucosas e olhos.

   Além disso, em um meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazoico potencialmente perigoso. Se precisar descartar essa substância, recomenda-se que o reagente seja diluído em um grande volume de água antes de despejá-lo no sistema de drenagem para evitar o acúmulo de azida sódica nos canos de metal e o risco de explosão.
7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas como potencialmente infecciosas e devem ser manipuladas com cuidado (em particular: uso de luvas, jalecos e óculos de proteção).
8. Nunca coloque a pipeta na boca e evite qualquer contato das amostras com a pele, mucosas e olhos.
9. Os tubos de sangue e o material descartável utilizado para manuseio deve ser descartado em recipientes ad hoc destinados à incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO DO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Folha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido entre 2 e 8°C e protegido da luz, antes e depois do frasco ter sido aberto.

Validade do frasco fechado de acordo com o estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente é estável por 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DETERIORAÇÃO

Qualquer alteração no aspecto físico dos reagentes poderá indicar deterioração e o reagente não deverá ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, entre em contato com o serviço de atendimento ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou entre em contato com o representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em canos de escoamento metálicos. Consulte o Boletim do NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health [Instituto de segurança e saúde ocupacional dos EUA]): Explosive Azide Hazard (Perigos de explosão de azida) (16/8/76).
Para evitar o possível acúmulo de compostos de azida, enxágue os canos de escoamento com água após o descarte do reagente não diluído. O descarte da azida sódica deve ser efetuado de acordo com as normas locais apropriadas.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostra e material necessário para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 20, 100 e 500 µL.
- Tubos plásticos de hemólise.
- Reagente de lise de hemácias com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: Reagente VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: Solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Tampão (PBS: fosfato de sódio a 0,01 M; cloreto de sódio a 0,145 M; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citômetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM O REAGENTE VERSALYSE

1. Adicione o volume apropriado de 20 µL de anticorpo conjugado específico IOTest a cada tubo de teste.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos em temperatura ambiente (18-25°C), protegido da luz.
4. Em seguida, faça a lise das hemácias. Consulte o folheto da VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento chamado “with concomitant fixation (com fixação concomitante)”, que consiste em adicionar 1 mL da mistura de fixação e lise preparada extemporaneamente. Agite em vórtex imediatamente durante um segundo e incube durante 10 minutos em temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue por 5 minutos a 150 x g em temperatura ambiente.
6. Retire o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita a etapa 6.
9. Retire o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular usando:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído, se as preparações forem mantidas por um prazo inferior a 24 horas. (É possível obter uma solução PBS com 0,1% de formaldeído diluindo-se 12,5 µL de Solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na concentração de 10X em 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído, se as preparações forem analisadas dentro de 2 horas.

Nota: Em qualquer dos casos, mantenha as preparações entre 2 e 8°C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Em nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 doadores aparentemente saudáveis foram tratadas usando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos positivos de interesse com esse reagente são fornecidos na tabela a seguir:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP (Desvio padrão)	CV (%)
Linfócitos	25	20,46	10,29	50,28

Esses valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores esperados da população local de doadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos usando o procedimento descrito anteriormente em amostras de sangue com menos de 24 horas, coletadas previamente em tubos estéreis com sal de EDTA como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

A molécula do CD57, originalmente denominada HNK- 1, é uma glicoproteína com peso molecular de 110–115 kDa. A molécula do CD57 é um composto antigênico oligossacarídeo com resíduos de ácido glicurônico sulfatado. Ele está ligado a vários polipeptídeos, lipídios e proteoglicanos de sulfato de condroitina presentes em vários tipos de tecidos. A molécula do CD57 é expressa em subgrupos de células hematopoiéticas, células neuroectodérmicas, células neuroendócrinas, músculos estriados e epitélio prostático (11, 12, 13, 14).

O antígeno CD57 foi inicialmente identificado no tecido hematopoiético na maioria dos grandes linfócitos granulares (LGL). Na maioria dos adultos, o antígeno CD57 é expresso num subgrupo de células NK e linfócitos T positivos para CD8 (13). A molécula CD57 é expressa num subgrupo de células da medula óssea, e parece não estar presente nos linfócitos do sangue do cordão umbilical.

Um subgrupo de linfócitos T CD4+/CD45RO+ de nódulos linfáticos do centro germinativo expressa o antígeno CD57 (12, 13). Os dados indicam que a molécula CD57 está envolvida em interações célula-célula. As moléculas de L-seletina (CD62L) e P-seletina (CD62P) podem ser possíveis ligandos para CD57 (11, 15). O anticorpo monoclonal NC1 foi atribuído ao agrupamento de CD57 durante o 5º International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Workshop internacional sobre antígenos de diferenciação de leucócitos humanos), em Boston, EUA, em 1993 (16).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados usando-se sangue total. Cada amostra foi processada 4 vezes, duas vezes por dia durante 1 dia em 2 instrumentos, usando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD57-FITC. As medições (% de positivos) foram realizadas no citômetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação de desempenho de precisão de métodos de medição quantitativos).

Nossos critérios de aceitação dependem do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Se eventos positivos <1.500, CV <15%
- Se eventos positivos >1.500, CV <10%

Linfócitos							
Número de eventos positivos (média) = 804							
	Entre operadores	Entre citômetros	Dentro do lote	Entre lotes	Entre processamentos	Dentro do processamento	Total
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD57-FITC foi avaliada comparando-se os resultados com um reagente de referência como o predicado em um conjunto de amostras de sangue total processadas em um citômetro de fluxo Navios. A tendência entre o reagente de teste e o de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados dos testes. Se a tendência estiver dentro da faixa de erro aceitável ou o valor p não indicar diferenças significativas (>0,05), então os resultados dos testes para os dois reagentes são considerados como equivalentes.

Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Número de doadores = 25				
Alvo positivo	Δ média	Critérios de Δ % de células	valor p	RESULTADOS
Linfócitos	1,11	<5	2,71E-04	PASS

LIMITE DE BRANCO E LIMITE DE DETECÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com a diretriz EP17-A2 do CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de detecção para procedimentos de medição de laboratório clínico). O Limite de detecção (LOD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detectada consistentemente. Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite de branco (células/µL)	Limite de detecção (células/µL)
Linfócitos CD3+ CD57+	1	2

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo pode produzir resultados falsos se o citômetro não for alinhado perfeitamente, se os vazamentos de fluorescência não forem corretamente compensados e se as regiões não forem cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível usar uma técnica de lise de RBC com uma etapa de lavagem, já que esse reagente não foi otimizado para técnicas de lise “sem lavagem”.
3. Serão obtidos resultados exatos e reproduzíveis desde que os procedimentos utilizados estejam em conformidade com o folheto técnico e sejam compatíveis com as boas práticas de laboratório.
4. O anticorpo conjugado desse reagente é calibrado para oferecer a melhor razão entre sinal específico e sinal não específico. Por isso, é importante manter a razão entre volume do reagente e volume da amostra em cada teste.
5. No caso de hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (17).

6. Em certos estados da doença, como insuficiência renal grave e hemoglobinopatias, a lise das hemácias pode ser lenta, incompleta ou até mesmo impossível. Nesse caso, recomenda-se isolar as células mononucleadas usando um gradiente de densidade (Ficoll, por exemplo) antes da coloração (18).
7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a detecção dos antígenos-alvo específicos pode ser diminuída ou não ocorrer devido ao bloqueio parcial ou total pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de CD57-FITC devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, histórico clínico, dados de testes adicionais e outras informações apropriadas.

Consulte o anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logotipo estilizado e as marcas dos produtos e serviços da Beckman Coulter mencionados neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registradas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e em outros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/usuário/terceiro na União Europeia e em países com regime regulatório idêntico (Regulamentação 2017/746/UE sobre In vitro Diagnostic Medical Devices [Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro]), se, durante o uso deste dispositivo ou como resultado de seu uso, ocorrer um incidente grave, relate-o ao fabricante e/ou ao seu representante autorizado e à sua autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível no banco de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO AD:	Data de publicação: outubro de 2019

REVISÃO	**Data de publicação**
AW	Maio de 2022
Atualizações para o cumprimento da Global labelling Policy (Política de rotulagem global) da Beckman Coulter e de acordo com os requisitos da IVD-R (UE)2017/746:	
Seções adicionadas	Número BSI 2797, Usuário previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite de branco e limite de detecção, Informações adicionais, Histórico de revisão.
Informações adicionadas	Consulte as seções: Limitações
Atualizações tipográficas ou de fraseado	Consulte as seções Procedimento, Desempenho, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Seções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Seções atualizadas	Uso previsto, Classificação de perigo do GHS, Evidência de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de publicação**
AX	Abril 2023
Seções atualizadas	Adicionar cazaque
Seções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revisada	AY
Data da revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Versão revisada	AZ
Data da revisão	Julho 2024
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (documento número B60062)

	Specificaties
Specificiteit	CD57
Kloon	NC1
Hybridoom	SP2/0 x balb/c
Immunogeen	Cells from quail ciliary ganglia
Immunoglobuline	IgM
Soort	Muis
Purificatie	Gelfiltratie
Fluorochroom	Fluorescein isothiocyanate
Molaire verhouding	FITC/Ig: 19 - 24
λ excitatie	488 nm
Emissiepiek	525 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA en 0,1% NaN_3

IOTest

Geconjugeerd antilichaam CD57-FITC

REF B49188 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

BEOOGD GEBRUIK

Met dit fluorochroom-geconjugeerde antilichaam kunnen celpopulaties die het CD57-antigeen tot expressie brengen, kwalitatief en niet-geautomatiseerd worden geïdentificeerd in menselijke biologische monsters met behulp van flowcytometrie (zie het gedeelte 'Monsters' hieronder).

PRINCIPE

Deze test is gebaseerd op het vermogen van specifieke monoklonale antilichamen om zich te binden aan de antigene determinanten die tot expressie worden gebracht door leukocyten.

Specifieke kleuring van de leukocyten wordt uitgevoerd door het monster te incuberen met het IOTest -reagens. De rode cellen worden vervolgens via lysering verwijderd en de leukocyten (die ongevoelig zijn voor dit proces) worden geanalyseerd voor middel van flowcytometrie.

De flowcytometer meet de lichtdiffusie en de fluorescentie van cellen. Het maakt de afbakening van de betrokken populatie mogelijk binnen het elektronische venster gedefinieerd op een histogram, wat de orthogonale verspreiding van licht (zijwaartse verstrooiing of ZV) in verband brengt met de verspreiding van smalhoekig licht (voorwaartse verstrooiing of VV). Andere histogrammen die twee van de verschillende beschikbare parameters op de cytometer combineren, kunnen worden gebruikt als ondersteuning bij de gating-fase, afhankelijk van de door de gebruiker gekozen toepassing.

De fluorescentie van de afgeperkte cellen wordt geanalyseerd om de positief-gekleurde gebeurtenissen te onderscheiden van de niet-gekleurde. De resultaten worden uitgedrukt als een percentage van positieve gebeurtenissen ten opzichte van alle gebeurtenissen verzameld door de gating.

BEOOGDE GEBRUIKER

Dit product is bedoeld voor professioneel gebruik in het laboratorium.

KLINISCHE RELEVANTIE

Het CD57-FITC is een CD57-antilichaam dat wordt gebruikt om door middel van flowcytometrie cellen te identificeren en te karakteriseren die het CD57-antigeen tot expressie brengen. Dit product alleen kan niet worden gebruikt voor en is niet bedoeld voor de totstandbrenging van diagnostische conclusies.

Bij gebruik in combinatie met andere markers kan dit product worden gebruikt voor een of meer van de volgende functies:

- Ter ondersteuning van de differentiaaldiagnostiek bij patiënten met een hematologische afwijking met verdenking op het hebben van een hematopoiëtisch neoplasma en ter controle van patiënten met een bekend hematopoiëtisch neoplasma.
- Ter ondersteuning van de prognose van patiënten met hematopoiëtisch neoplasma.
- Ter ondersteuning van de diagnose van patiënten met vermoedelijke immunodeficiëntie en het bewaken van patiënten met bekende immunodeficiëntie.

Zie de volgende referenties:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MONSTERS

Veneus bloed moet worden afgenomen met steriele buisjes die EDTA-zout bevatten als anticoagulans.

De monsters moeten op kamertemperatuur (18-25 °C) worden gehouden en mogen niet worden geschud. De monsters moeten gehomogeniseerd worden door licht te schudden voordat het testmonster wordt afgenomen.

De monsters moeten worden geanalyseerd binnen 24 uur van venapunctie.

CONCENTRATIE

Zie batch-specifiek analysecertificaat op www.beckman.com.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Gebruik het reagens niet na de uiterste houdbaarheidsdatum.
2. Niet invriezen.
3. Laat het op kamertemperatuur (18-25 °C) komen voor gebruik.
4. Beperk de blootstelling aan licht.

5. Vermijd microbiële verontreiniging van de reagentia, anders kunnen verkeerde resultaten optreden.
6. Antilichaamoplossingen die natriumazide (NaN_3) bevatten moeten voorzichtig gehanteerd worden. Niet innemen en elk contact met huid, slijmvliezen en ogen vermijden.

   In een zuur medium kan natriumazide bovendien de potentieel gevaarlijke waterstofazide vormen. Indien verwijdering nodig is, wordt het aanbevolen om het reagens te verdunnen in een groot volume water voordat het in het afvoersysteem wordt gegoten, om de accumulatie van natriumazide in metalen buizen en explosiegevaar te vermijden.
7. Alle bloedmonsters moeten worden beschouwd als mogelijk besmettelijk en moeten voorzichtig worden gehanteerd (met name: veiligheidshandschoenen, -jas en -bril dragen).
8. Pipetteer nooit met de mond en vermijd elk contact van de monster met huid, slijmvliezen en ogen.
9. Bloedbuisjes en wegwerpmateriaal die gebruikt zijn, moeten verwijderd worden in afvalcontainers bestemd voor verbranding.
10. Reagentia en afval moeten verwijderd worden volgens de plaatselijke voorschriften.

GHS GEVARENCLASSIFICATIE

Niet geclassificeerd als gevaarlijk

SDS Het veiligheidsinformatieblad is beschikbaar op beckmancoulter.com/techdocs

OPSLAG EN STABILITEIT

Dit reagens moet tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht worden bewaard, voor- en nadat het buisje wordt geopend.

Houdbaarheidsdatum van ongeopend buisje volgens stabiliteitsstudie: 1095 dagen.

Stabiliteit van geopend buisje: het reagens is stabiel gedurende 180 dagen.

BEWIJS VAN BEDERF

Elke wijziging in de fysieke verschijning van de reagentia kan wijzen op aantasting; het reagens mag dan niet langer gebruikt worden.

Bel voor meer informatie, of als het product beschadigd is, met de klantenservice van Beckman Coulter op 800-742-2345 (VS of Canada) of neem contact op met uw plaatselijke vertegenwoordiger van Beckman Coulter.

INHOUD

Een conserveringsmiddel van natriumazide kan explosieve verbindingen vormen in metalen afvoerleidingen. Zie NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (Explosiegevaar van azide, 16-08-1976).
Om de ophoping van azideverbindingen te vermijden, spoelt u de afvoerbuizen met water na verwijdering van onverdund reagens. Natriumazide moet worden verwijderd volgens de toepasselijke plaatselijke voorschriften.

BENODIGD MATERIAAL DAT NIET IS MEEGELEVERD IN DE KIT:

- Monsterbuisjes en materiaal vereist voor monsterneming.
- Automatische pipetten met wegwerppunten voor 20, 100 en 500 µL.
- Plastic hemolysebuisjes.
- Ontbindingsreagens voor rode cellen met spoelfase na de lysis. Bijvoorbeeld: VersaLyse (ref. A09777).
- Fixatiereagens voor leukocyten. Bijvoorbeeld: IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfaat; 0,145 M natriumchloride; pH 7,2).
- Centrifugeer.
- Automatische schudder (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MET VERSALYSE-REAGENS

1. Voeg het juiste volume 20 µL van specifiek IOTest geconjugeerd antilichaam toe aan elk testbuisje.
2. Voeg 100 µL van het testmonster toe aan elk buisje. Wervel de buisjes voorzichtig.
3. Incubeer 15 tot 20 minuten op kamertemperatuur (18-25 °C), beschermd tegen licht.
4. Lyseer vervolgens de rode cellen. Raadpleeg de VersaLyse-bijsluiter (ref. A09777) en volg bij voorkeur de procedure genaamd 'met gelijktijdige fixatie', die bestaat uit het toevoegen van 1 mL ‘fixeer-en-lyseer’-oplossing die ex tempore wordt bereid. Wervel onmiddellijk gedurende één seconde en incubeer 10 minuten op kamertemperatuur, beschermd tegen licht.
5. Centrifugeer gedurende 5 minuten bij 150 x g op kamertemperatuur.
6. Verwijder het supernatant door opzuiging.
7. Suspendeer de celpellet opnieuw met 3 mL van PBS.
8. Herhaal stap 6.
9. Verwijder het supernatant door opzuiging en suspendeer de celpellet opnieuw met:

- 0,5 mL of 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyde, indien de bereidingen minder dan 24 uur worden bewaard. (Een PBS met 0,1% formaldehyde kan worden verkregen door 12,5 µL IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800) bij de 10X-concentratie te verdunnen in 1 mL PBS).
- 0,5 mL of 1 mL PBS zonder formaldehyde, indien de bereidingen moeten worden geanalyseerd binnen 2 uur.

Opmerking: houd de bereidingen in alle gevallen tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht.

VERWACHTE WAARDEN

In onze laboratoria werden de volbloedmonsters van 25 ogenschijnlijk gezonde donoren behandeld met het hierboven beschreven reagens. De verkregen resultaten voor de telling van de relevante positieve gebeurtenissen voor dit reagens worden in de onderstaande tabel weergegeven:

Positieve target	Nummer	Gemiddeld (%)	SD	VC (%)
Lymfocyten	25	20,46	10,29	50,28

Deze waarden zijn uitsluitend bedoeld als referentie. Elk laboratorium moet zijn eigen verwachte waarden bepalen op basis van de lokale populatie van normale donoren.

PRESTATIES

Prestatiegegevens worden verkregen met de hierboven beschreven procedure op minder dan 24 uur oude bloedmonsters die eerder zijn verzameld in steriele buisjes met EDTA-zout als anticoagulans. De analyse wordt uitgevoerd binnen 2 uur na immunokleuring.

SPECIFICITEIT

De CD57-molecule, oorspronkelijk aangeduid als HNK- 1, is een glycoproteïne met een moleculair gewicht van 110-115 kDa. De CD57-molecule is een oligosacharide antigene verbinding met gesulfateerde glucuronzuurresiduen. Deze is gekoppeld aan tal van polypeptiden, lipiden en chondroïtinesulfaat-protoglycanen aangetroffen op diverse weefsels. De CD57-molecule wordt tot expressie gebracht op subsets hematopoëtische cellen, neuro-ectodermale cellen, neuro-endocrine cellen, gestreepte spieren en prostaatepitheel (11, 12, 13, 14).

Het CD57-antigeen is aanvankelijk geïdentificeerd in hematopoëtisch weefsel op de meeste grote, granulaire lymfocyten (LGL). Bij de meeste volwassenen wordt het CD57-antigeen tot expressie gebracht op een subset NK-cellen en op CD8-positieve T-lymfocyten (13). De CD57-molecule wordt tot expressie gebracht op een subset botmergcellen en lijkt niet te worden aangetroffen op navelstrengbloed-lymfocyten.

Een subset CD4+ / CD45RO+ T-lymfocyten uit germinale centra in lymfeklieren brengt het CD57-antigeen tot expressie (12, 13). Uit gegevens blijkt dat het CD57-molecuul betrokken is bij cel-cel-interacties. L-selectine (CD62L) en P-selectine (CD62P)-moleculen zijn mogelijke liganden voor CD57 (11, 15). Het NC1 monoklonale antilichaam werd toegeschreven aan de CD57-differentiatiecluster tijdens de 5th International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5e internationale workshop over differentiatie-antigenen van humane leukocyten), gehouden in Boston, VS, in 1993 (16).

PRECISIE

De procentuele positieve waarden werden bepaald met behulp van volbloed. Elk monster werd 4 maal getest, tweemaal per dag gedurende 1 dag op 2 instrumenten, waarbij gebruik werd gemaakt van 2 batches CD57-FITC monoklonale antilichaamreagentia. Metingen (% positief) werden uitgevoerd op de Navios-flowcytometer. Analyse werd uitgevoerd op basis van de CLSI-methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluatie van de precisie van kwantitatieve meetmethoden).

Onze acceptatiecriteria zijn afhankelijk van het aantal positieve gebeurtenissen dat voor elke populatie wordt gemeten:

- In het geval van een positieve gebeurtenis <1500, VC <15%
- In het geval van een positieve gebeurtenis >1500, VC <10%

Lymfocyten							
Aantal positieve gebeurtenissen (gemiddelde) = 804							
	Tussen gebruikers	Tussen cytometers	Van dezelfde batch	Tussen batches	Tussen runs	Tijdens run	Totaal
VC (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
RESULTATEN	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NAUWKEURIGHEID

De nauwkeurigheid van CD57-FITC werd beoordeeld door de resultaten te vergelijken met een referentiereagens als het vergelijkbare hulpmiddel op een reeks volbloedmonsters die op een Navios-flowcytometer werden uitgevoerd. De afwijking tussen test- en referentiereagens werd bepaald op basis van het verschil tussen de testresultaten. Als de afwijking binnen het toegestane foutbereik ligt of de p-waarde geen significant verschil (>0,05) aangeeft, worden de testresultaten voor de twee reagentia als gelijkwaardig beschouwd.

De resultaten worden samengevat in de onderstaande tabel:

Aantal donoren = 25				
Positieve target	Gemiddelde Δ	Δ % Celcriteria	p-waarde	RESULTATEN
Lymfocyten	1,11	<5	2,71E-04	PASS

BLANCOLIMIET EN DETECTIELIMIET

Een studie is uitgevoerd in overeenstemming met CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluatie van detectiecapaciteit voor meetprocedures in klinische laboratoria). Het detectielimiet (LOD) is de laagste concentratie analiet die consistent kan worden gedetecteerd. De verkregen resultaten worden samengevat in de volgende tabel:

Positive Target	Blancolimiet (cel/µL)	Detectielimiet (cel/µL)
Lymfocyten CD3+ CD57+	1	2

BEPERKINGEN

1. Flowcytometrie kan leiden tot verkeerde resultaten indien de cytometer niet perfect is uitgelijnd, indien fluorescentielekken niet juist zijn gecompenseerd en indien de gebieden niet zorgvuldig zijn gepositioneerd.
2. Gebruik bij voorkeur een RBC-lyseertechniek met een wasstap, aangezien dit reagens niet is geoptimaliseerd voor lyseertechnieken zonder wassen.
3. Nauwkeurige en reproduceerbare resultaten worden verkregen zolang de gebruikte procedures in overeenstemming zijn met de technische brochure en compatibel met goede laboratoriumpraktijken.

4. Het geconjugeerde antilichaam van dit reagens wordt gekalibreerd om de beste verhouding van specifiek signaal/niet-specifiek signaal te bieden. Daarom is het belangrijk dat de verhouding van reagensvolume/monstervolume in acht wordt genomen bij elke test.
5. In het geval van een hyperleukocytose verdunt u het bloed in PBS om een waarde van ongeveer 5 x 10^9 leukocyten/L te verkrijgen (17).
6. In sommige stadia van een aandoening, zoals ernstig nierfalen of hemoglobinopathieën, kan de ontbinding van rode cellen traag verlopen, onvolledig of zelfs onmogelijk zijn. In dit geval wordt het aanbevolen om cellen met één kern te isoleren met een dichtheidsgradiënt (bijvoorbeeld Ficoll) voorafgaand aan de kleuring (18).
7. Bij patiënten die worden behandeld met anti-humane monoklonale antilichaamtherapieën kan de detectie van de specifieke doelantigenen verminderd of afwezig zijn als gevolg van een gedeeltelijke of volledige blokkering door het therapeutische antilichaam.
8. De CD57-FITC-resultaten moeten worden geïnterpreteerd in het licht van het totale klinische beeld van de patiënt, met onder meer: symptomen, klinische anamnese, gegevens van aanvullende tests en andere relevante informatie.

Zie de bijlage voor voorbeelden en referenties.

Handelsmerken

Beckman Coulter, het gestileerde logo en de merken van Beckman Coulter-producten en -services in dit document zijn handelsmerken of gedeponeerde handelsmerken van Beckman Coulter, Inc. in de Verenigde Staten en andere landen.

AANVULLENDE INFORMATIE

Voor patiënten/gebruikers/derden in de EU en in landen met soortgelijke regelgeving (Verordening 2017/746/EU inzake in-vitro diagnostische medische apparaten); als er zich tijdens of als gevolg van het gebruik van dit apparaat een ernstig incident voordoet, dient u dit te melden bij de fabrikant en/of diens bevoegde vertegenwoordiger en bij uw nationale autoriteiten.

Het overzicht van de veiligheid en prestaties is beschikbaar in de database EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed

REVISIEGESCHIEDENIS

REVISIE AD:	Uitgiftedatum: Oktober 2019

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AW	Mei 2022
Bijgewerkt om te voldoen aan het wereldwijde etiketteringsbeleid van Beckman Coulter en volgens de vereisten van IVD-R (EU)2017/746:	
Toegevoegde paragrafen	BSI 2797-nummer, Beoogde gebruiker, Klinische relevantie, Concentratie, Precisie, Nauwkeurigheid, Blancolimiet en detectiegrens, Aanvullende informatie, Revisiegeschiedenis.
Toegevoegde informatie	Zie paragraaf Beperkingen
Bijgewerkte formulering of typografie	Zie paragrafen Procedure, Prestaties, Beperkingen, Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen, Opslag en Stabiliteit.
Verwijderde paragrafen	Voorbeeld van klinische toepassingen, Reagentia, Reproduceerbaarheid intra-laboratoria, Lineariteit
Bijgewerkte paragrafen	Beoogd gebruik, GHS-gevarenclassificatie, Bewijs van bederf, Procedure, Bijlage.

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AX	April 2023
Bijgewerkte paragrafen	Toevoegen Kazachs
Bijgewerkte paragrafen	Opslag en stabiliteit

Bijgewerkte versie	AY
Herzieningsdatum	Mei 2024
Bijgewerkte vertalingen	**Klinische relevantie:**
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Bijgewerkte versie	AZ
Herzieningsdatum	Juli 2024
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Verklaring van symbolen

Overzicht met verklaring van symbolen is beschikbaar op beckman.com/techdocs (documentnummer B60062)

	Thông số kỹ thuật
Độ đặc hiệu	CD57
Dòng vô tính	NC1
Tế bào lai	SP2/0 x balb/c
Chất sinh miễn dịch	Cells from quail ciliary ganglia
Globulin miễn dịch	IgM
Các loài	Chuột
Tinh chế	Tách gel
Chất nhuộm huỳnh quang	Fluorescein isothiocyanate
Tỷ lệ mol	FITC/Ig: 19 - 24
Kích thích λ	488 nM
Đỉnh phát xạ	525 nM
Dung dịch đệm	PBS pH 7,2 cộng với 2 mg/mL BSA và 0,1% NaN_3

Kháng thể cộng hợp IOTest CD57-FITC

REF B49188 100 xét nghiệm; 2 mL, 20 µL/xét nghiệm

Dùng cho chẩn đoán *in vitro*.

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Kháng thể cộng hợp chất nhuộm huỳnh quang này cho phép xác định theo phương thức định tính và không tự động các quần thể tế bào biểu hiện kháng nguyên CD57 có trong mẫu sinh học của người bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy (xem phần "Mẫu" bên dưới).

NGUYÊN TẮC

Xét nghiệm này dựa trên khả năng liên kết của kháng thể đơn dòng đặc hiệu với yếu tố quyết định kháng nguyên biểu hiện bởi bạch cầu.

Nhuộm đặc hiệu bạch cầu bằng cách ủ mẫu với thuốc thử IOTest. Sau đó, loại bỏ tế bào hồng cầu bằng cách ly giải và tế bào bạch cầu không bị ảnh hưởng bởi quá trình này sẽ được phân tích bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy.

Máy đếm tế bào dòng chảy đo mức khuếch tán ánh sáng và phát huỳnh quang của các tế bào. Điều này giúp phân định được quần thể quan tâm trong cửa sổ điện tử được xác định trên biểu đồ, tương quan với sự khuếch tán trực giao ánh sáng (Tán xạ góc bên hay SS) và khuếch tán ánh sáng góc hẹp (Tán xạ góc thẳng hay FS). Có thể dùng các biểu đồ khác (kết hợp hai trong các thông số có sẵn trên máy đếm tế bào) để hỗ trợ trong giai đoạn khoanh vùng tùy thuộc vào ứng dụng mà người dùng chọn.

Huỳnh quang của các tế bào đã phân định được phân tích để phân biệt các sự kiện nhuộm dương tính với các sự kiện không nhuộm. Kết quả được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm số sự kiện dương tính so với tất cả sự kiện thu được từ việc khoanh vùng.

ĐỐI TƯỢNG SỬ DỤNG

Sản phẩm này chỉ dùng cho mục đích chuyên môn trong phòng xét nghiệm.

TÍNH THÍCH HỢP VỀ LÂM SÀNG

CD57-FITC là một kháng thể CD57 dùng để nhận dạng và xác định đặc điểm của các tế bào biểu thị kháng nguyên CD57 bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy. Chỉ riêng sản phẩm này không thể và không nhằm tạo ra bất kỳ kết luận chẩn đoán nào.

Khi kết hợp với các chỉ dấu khác, có thể dùng sản phẩm này trong một hoặc nhiều chức năng sau:

- Để hỗ trợ chẩn đoán phân biệt những bệnh nhân bị bất thường về huyết học nghi ngờ mắc ung thư máu và để theo dõi những bệnh nhân đã được xác định là mắc ung thư máu.
- Để hỗ trợ tiên lượng những bệnh nhân bị ung thư máu.
- Để hỗ trợ chẩn đoán bệnh nhân bị nghi ngờ suy giảm miễn dịch và theo dõi bệnh nhân đã xác định là bị suy giảm miễn dịch.

Xem tài liệu tham khảo sau đây:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MẪU

Phải lấy mẫu máu tĩnh mạch vào ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA.

Phải bảo quản mẫu ở nhiệt độ phòng (18–25°C) và không lắc mẫu. Phải khuấy nhẹ mẫu trước khi lấy mẫu xét nghiệm để mẫu có trạng thái đồng nhất.

Phải phân tích các mẫu trong vòng 24 giờ sau khi lấy từ tĩnh mạch.

NỒNG ĐỘ

Xem Giấy chứng nhận phân tích theo lô cụ thể tại www.beckman.com.

CẢNH BÁO VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG NGỪA

1. Không dùng thuốc thử đã hết hạn sử dụng.
2. Không làm đông lạnh.
3. Để dung dịch trở về nhiệt độ phòng (18–25°C) trước khi sử dụng.
4. Giảm thiểu tiếp xúc với ánh sáng.
5. Tránh làm thuốc thử bị nhiễm khuẩn, nếu không, có thể dẫn đến kết quả sai.

6. Phải xử lý cẩn thận dung dịch kháng thể chứa natri azit (NaN_3). Không được uống và tránh mọi tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.

   Ngoài ra, trong môi trường axit, natri azit có thể tạo thành axit hydrazoic nguy hiểm. Nếu cần phải thải bỏ, bạn nên pha loãng thuốc thử trong nhiều nước trước khi thải vào hệ thống thoát nước để tránh tích tụ natri azide trong ống kim loại và để tránh nguy cơ nổ.
7. Phải coi tất cả mẫu máu là có nguy cơ lây nhiễm và xử lý cẩn thận (cụ thể: đeo găng tay, mặc áo choàng và đeo kính bảo vệ).
8. Tuyệt đối không dùng pipet bằng miệng và tránh để mẫu tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.
9. Phải bỏ ống máu và vật liệu dùng một lần đã dùng để xử lý trong thùng chứa đặc biệt cho mục đích thiêu hủy.
10. Phải thải bỏ thuốc thử và chất thải theo yêu cầu của địa phương.

PHÂN LOẠI MỐI NGUY HIỂM THEO GHS

Không được phân loại là chất nguy hiểm

SDS Phiếu dữ liệu an toàn có sẵn tại beckmancoulter.com/techdocs

BẢO QUẢN VÀ ĐỘ ỔN ĐỊNH

Phải bảo quản thuốc thử này ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng, trước và sau khi mở ống.

Hạn sử dụng của ống khi chưa mở nắp theo nghiên cứu về độ ổn định: 1095 ngày.

Độ ổn định của ống đã mở: thuốc thử ổn định trong 180 ngày.

BẰNG CHỨNG BIẾN CHẤT

Mọi sự biến đổi về vẻ ngoài của thuốc thử có thể là dấu hiệu suy giảm chất lượng và bạn không nên dùng thuốc thử đó.

Để biết thêm thông tin hoặc nếu bạn nhận được sản phẩm bị hỏng, hãy gọi điện cho Dịch vụ khách hàng của Beckman Coulter theo số 8007422345 (Hoa Kỳ hoặc Canada) hoặc liên hệ với Đại diện của Beckman Coulter tại địa phương bạn.

HÀM LƯỢNG

Chất bảo quản natri azit có thể hình thành hợp chất nổ trong ống dẫn bằng kim loại. Xem Thông Báo của Viện quốc gia về an toàn và sức khỏe nghề nghiệp (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Nguy cơ nổ azit) (16/8/76).
Để tránh khả năng tích tụ hợp chất azit, hãy xả sạch các ống thải bằng nước sau khi xử lý vứt bỏ thuốc thử chưa pha loãng. Phải xử lý vứt bỏ natri azit theo đúng quy định sở tại.

VẬT LIỆU CẦN DÙNG (KHÔNG KÈM THEO BỘ THUỐC THỬ):

- Ống lấy mẫu và vật liệu cần dùng để lấy mẫu.
- Pipet tự động có đầu hút dùng một lần để lấy mẫu có thể tích 20, 100 và 500 µL.
- Ống chứa mẫu tan huyết bằng nhựa.
- Thuốc thử ly giải hồng cầu với bước rửa sau khi ly giải. Ví dụ: VersaLyse (Số tham chiếu A09777).
- Thuốc thử cố định Leucocyte. Ví dụ: Dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800).
- Dung dịch đệm (PBS: 0,01 Mol natri photphat; 0,145 Mol natri clorua; pH 7,2).
- Máy ly tâm.
- Máy trộn tự động (loại khuấy).
- Máy đếm tế bào dòng chảy.

QUY TRÌNH VỚI THUỐC THỬ VERSALYSE

1. Thêm 20 µL kháng thể cộng hợp IOTest đặc hiệu phù hợp vào từng ống xét nghiệm.
2. Thêm 100 µL mẫu xét nghiệm vào từng ống. Lắc nhẹ các ống.
3. Ủ trong 15 đến 20 phút ở nhiệt độ phòng (18–25°C), tránh ánh sáng.
4. Sau đó, ly giải hồng cầu. Tham khảo tờ hướng dẫn về VersaLyse (Số tham chiếu A09777) và tốt nhất là làm theo quy trình tên là “có cố định đồng thời”, bao gồm thêm 1 mL hỗn hợp “Cố định và ly giải” được chuẩn bị tùy ứng. Lắc ngay trong một giây và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.
5. Quay ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 150 x g tại nhiệt độ phòng.
6. Hút bỏ dịch nổi.
7. Tái huyền phù viên tế bào bằng 3 mL PBS.
8. Lặp lại bước 6.
9. Hút bỏ dịch nổi và tái huyền phù viên tế bào bằng:

- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS cộng với 0,1% formaldehyde nếu sử dụng chế phẩm trong vòng chưa đến 24 giờ. (Có thể thu được PBS chứa 0,1% formaldehyde bằng cách pha loãng 12,5 µL dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800) ở nồng độ 10X trong 1 mL PBS).
- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS không có formaldehyde, nếu phân tích các chế phẩm trong vòng 2 giờ.

Ghi chú: Trong mọi trường hợp, phải bảo quản chế phẩm ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng.

GIÁ TRỊ DỰ KIẾN

Trong phòng xét nghiệm của chúng tôi, mẫu máu toàn phần của 25 người hiến khỏe mạnh được điều trị bằng thuốc thử mô tả ở trên. Bảng dưới đây trình bày kết quả đếm số lượng sự kiện dương tính quan tâm với thuốc thử này:

Mục tiêu dương tính	Số	Giá trị trung bình (%)	SD	CV (%)
Tế bào lympho	25	20,46	10,29	50,28

Các giá trị sau chỉ có tính chất đại diện. Mỗi phòng xét nghiệm phải thiết lập giá trị dự kiến riêng từ quần thể người hiến bình thường của mình.

HIỆU SUẤT

Dữ liệu hiệu suất thu được bằng cách sử dụng quy trình mô tả ở trên với các mẫu máu được thu thập dưới 24 giờ trong các ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA. Phân tích trong vòng 2 giờ sau khi nhuộm hóa mô miễn dịch.

ĐỘ ĐẶC HIỆU

Phân tử CD57, có tên gốc là HNK- 1, là một glycoprotein với trọng lượng phân tử là 110–115 kDa. Phân tử CD57 là hợp chất kháng nguyên oligosaccharide với phần dư của axit glucuronic được sunfat hóa. Phân tử này được liên kết với nhiều polypeptit, lipid và proteoglycan chondroitin sulfat được tìm thấy trên các mô đa dạng. Phân tử CD57 được biểu hiện trên tập hợp con của tế bào gốc tạo máu, tế bào ngoại bì thần kinh, tế bào thần kinh nội tiết, cơ vân và biểu mô tuyến tiền liệt (11, 12, 13, 14).

Kháng nguyên CD57 ban đầu được xác định trong mô tạo máu trên phần lớn các tế bào lympho hạt lớn (LGL). Ở hầu hết người trưởng thành, kháng nguyên CD57 biểu hiện trên một tập hợp con của tế bào NK và tế bào lympho T dương tính CD8 (13). Phân tử CD57 được biểu hiện trên một tập hợp phụ tế bào tủy xương và hầu như không được tìm thấy trên tế bào lympho máu tủy sống.

Tập hợp con của tế bào lympho T CD4+/CD45RO+ từ các hạch bạch huyết trung tâm mầm biểu hiện kháng nguyên CD57 (12, 13). Dữ liệu báo cáo rằng phân tử CD57 có liên quan đến các hoạt động tương tác tế bào. Các phân tử L-selectin (CD62L) và P-selectin (CD62P) có thể là các phối tử cho CD57 (11, 15). Kháng thể đơn dòng NC1 đã được chỉ định cho cụm CD57 tại 5th International Workshop on Human Leucocyte Differenciation Antigen (Hội thảo quốc tế về Kháng nguyên biệt hóa bạch cầu ở người lần thứ 5) tại Boston, Hoa Kỳ, năm 1993 (16).

ĐỘ CHỤM

Tỷ lệ phần trăm của các giá trị dương tính được xác định bằng cách sử dụng máu toàn phần. Mỗi mẫu được chạy 4 lần, hai lần một ngày trong 1 ngày trên 2 thiết bị sử dụng 2 lô thuốc thử kháng thể đơn dòng CD57-FITC. Các phép đo (% dương tính) được thực hiện trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Phân tích được tiến hành theo phương pháp EP5-A2 của CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Đánh giá hiệu suất độ chụm của phương pháp đo định lượng).

Tiêu chí chấp nhận của chúng tôi phụ thuộc vào số lượng sự kiện dương tính đo được cho mỗi quần thể:

- Nếu sự kiện dương tính <1.500, CV <15%
- Nếu sự kiện dương tính >1.500, CV <10%

Tế bào lympho							
Số sự kiện dương tính (Giá trị trung bình) = 804							
	Giữa những người thao tác	Giữa các máy đếm tế bào	Trong lô	Giữa các lô	Giữa các lần chạy	Trong lần chạy	Toàn phần
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
KẾT QUẢ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ĐỘ CHÍNH XÁC

Độ chính xác của CD57-FITC được đánh giá bằng cách so sánh kết quả với thuốc thử tham chiếu để khẳng định trên một tập hợp các mẫu máu toàn phần chạy trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Độ lệch giữa xét nghiệm và thuốc thử tham chiếu được xác định dựa trên sự chênh lệch giữa các kết quả xét nghiệm. Nếu độ lệch nằm trong phạm vi sai số cho phép hoặc giá trị p cho thấy không có sự khác biệt đáng kể (> 0,05), thì kết quả xét nghiệm cho hai thuốc thử được coi là tương đương.

Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Số người hiến = 25				
Mục tiêu dương tính	Giá trị trung bình Δ	Tiêu chí tế bào Δ %	giá trị p	KẾT QUẢ
Tế bào lympho	1,11	<5	2,71E-04	PASS

GIỚI HẠN TRỐNG VÀ GIỚI HẠN PHÁT HIỆN

Một nghiên cứu đã được thực hiện theo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Đánh giá khả năng phát hiện cho các quy trình đo lường trong phòng xét nghiệm lâm sàng). Giới hạn phát hiện (LOD) là nồng độ thấp nhất của chất phân tích có thể phát hiện một cách nhất quán. Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Positive Target	Giới hạn trống (tế bào/µL)	Giới hạn phát hiện (tế bào/µL)
Tế bào lympho CD3+ CD57+	1	2

GIỚI HẠN

1. Phương pháp đếm tế bào dòng chảy có thể cho kết quả sai nếu điều chỉnh máy đếm tế bào không phù hợp, nếu mức bù huỳnh quang rò rỉ không phù hợp và nếu định vị các vùng không cẩn thận.
2. Tốt nhất là sử dụng kỹ thuật ly giải RBC có bước rửa vì thuốc thử này chưa được tối ưu hóa cho các kỹ thuật ly giải "không rửa".
3. Sẽ thu được kết quả chính xác và có thể tái lặp nếu sử dụng quy trình theo tờ hướng dẫn kỹ thuật và phù hợp với biện pháp xét nghiệm hợp lý.
4. Kháng thể cộng hợp của thuốc thử này được hiệu chuẩn để đưa ra tỷ lệ tín hiệu đặc hiệu/tín hiệu không đặc hiệu tốt nhất. Do đó, điều quan trọng là phải tuân thủ tỷ lệ thể tích thuốc thử/thể tích mẫu trong mỗi xét nghiệm.
5. Trong trường hợp tăng bạch cầu, hãy pha loãng máu trong PBS để thu được giá trị xấp xỉ 5 x 10^9 bạch cầu/L (17).
6. Trong một số tình trạng bệnh, chẳng hạn như suy thận nặng hoặc bệnh rối loạn máu, hồng cầu có thể ly giải chậm, ly giải không hoàn toàn, hoặc thậm chí là không thể ly giải. Trong trường hợp này, bạn nên phân lập tế bào đơn nhân bằng phương pháp ly tâm phân lớp theo tỷ trọng (ví dụ: Ficoll) trước khi nhuộm (18).

7. Ở những bệnh nhân được điều trị bằng các liệu pháp kháng thể đơn dòng kháng người, khả năng phát hiện các kháng nguyên mục tiêu đặc hiệu có thể giảm đi hoặc không xảy ra do bị kháng thể điều trị chặn một phần hoặc toàn bộ.
8. Phải diễn giải kết quả CD57-FITC dựa trên toàn bộ các dấu hiệu lâm sàng của bệnh nhân, bao gồm: triệu chứng, tiền sử lâm sàng, dữ liệu từ các xét nghiệm khác và thông tin thích hợp khác.

Xem Phụ lục để biết ví dụ và tài liệu tham khảo.

NHÃN HIỆU

Beckman Coulter, logo cách điệu và các nhãn hiệu sản phẩm cũng như dịch vụ của Beckman Coulter nêu trong tài liệu này là nhãn hiệu hoặc nhãn hiệu đã đăng ký của Beckman Coulter, Inc. ở Hoa Kỳ và các quốc gia khác.

THÔNG TIN BỔ SUNG

Đối với bệnh nhân/người dùng/bên thứ ba tại Liên minh Châu Âu và ở các quốc gia có chế độ quản lý giống nhau (Quy định 2017/746/EU về Thiết bị y tế chẩn đoán In vitro); nếu xảy ra sự cố nghiêm trọng trong quá trình sử dụng thiết bị này hoặc do sử dụng thiết bị này, vui lòng báo cáo cho nhà sản xuất và/hoặc đại diện ủy quyền của nhà sản xuất cũng như cơ quan có thẩm quyền tại quốc gia của bạn.

Summary of Safety and Performance (Tóm tắt về an toàn và hiệu suất) có trong cơ sở dữ liệu EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

LỊCH SỬ SỬA ĐỔI

PHIÊN BẢN AD:	Ngày phát hành: Tháng 10 năm 2019

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AW	Tháng 05 năm 2022
Cập nhật để tuân thủ Chính sách ghi nhãn toàn cầu của Beckman Coulter và theo các yêu cầu IVD-R (EU) 2017/746:	
Bổ sung các phần	Số BSI 2797, Đối tượng sử dụng, Tính thích hợp về lâm sàng, Nồng độ, Độ chụm, Độ chính xác, Giới hạn trống và giới hạn phát hiện, Thông tin bổ sung, Lịch sử sửa đổi.
Bổ sung thông tin	Xem các phần Giới hạn
Cập nhật cách diễn đạt hoặc câu chữ	Xem các phần Quy trình, Hiệu suất, Giới hạn, Cảnh báo và Biện pháp phòng ngừa, Bảo quản và Độ ổn định.
Các phần bị xóa	Ví dụ về các ứng dụng lâm sàng, Thuốc thử, Khả năng tái lập trong phòng xét nghiệm, Độ tuyến tính
Các phần cập nhật	Mục đích sử dụng, Phân loại mối nguy hiểm theo GHS, Bằng chứng biến chất, Quy trình, Phụ lục.

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AX	Tháng 4 2023
Các phần cập nhật	Thêm tiếng Kazakh
Các phần cập nhật	Bảo quản và độ ổn định

Phiên bản sửa đổi	AY
Ngày sửa đổi	Tháng 5 2024
Đã cập nhật bản dịch	**Tính thích hợp về lâm sàng:**
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Phiên bản sửa đổi	AZ
Ngày sửa đổi	Tháng 7 2024
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Bảng chú giải các ký hiệu

Danh mục thuật ngữ ký hiệu có sẵn tại beckman.com/techdocs (số tài liệu B60062)

	Сипаттамалары
Ерекшелік	CD57
Клон	NC1
Гибридома	SP2/0 x balb/c
Иммуноген	Cells from quail ciliary ganglia
Иммунды глобулин	IgM
Түрлері	Тышқан
Тазарту	Гель-хроматография
Флуорохром	Fluorescein isothiocyanate
Молярлық қатынасы	FITC / Ig: 19 - 24
λ қозу	488 нм
Эмиссияның жоғарғы шегі	525 нм
Буфер	PBS pH 7,2 + 2 мг / мл BSA және 0,1% NaN_3

Конъюгацияланған
IOTest антиденесі
CD57-FITC

REF B49188 100 сынақ; 2 мл, 20 мкл / сынақ

***In vitro* диагностикасында пайдалануға арналған.**

ПАЙДАЛАНУ МАҚСАТЫ

Бұл флуорохроммен конъюгацияланған антидене адамның биологиялық үлгілерінде CD57 антигеннің болуын көрсететін жасуша популяциясын ағын цитометриясы көмегімен сапалы және автоматтандырылмаған анықтауға мүмкіндік береді (төмендегі «Үлгілер» бөлімін қараңыз).

ҚАҒИДА

Бұл сынақ нақты моноклоналды антиденелердің лейкоциттер айқындайтын антигендік детерминанттармен байланысу қабілетіне негізделген.

Лейкоциттердің арнайы бояуы үлгіні IOTest реагентімен инкубациялау арқылы жүзеге асады. Сол кезде эритроциттер лизис арқылы шығарылады, ал осы процесс әсер етпейтін лейкоциттерге ағын цитометриясы арқылы талдау жасалады.

Ағын цитометрі жарық диффузиясы мен жасушалардың флуоресценттенуін өлшейді. Бұл гистограммада анықталған электронды терезеде қызығушылық популяциясын ажыратуға мүмкіндік береді, ол жарықтың ортогональды диффузиясын (бүйірлік шашырау немесе SS) және тар бұрышты жарықтың диффузиясын (тікелей шашырау немесе FS) байланыстырады. Цитометрде қолжетімді екі түрлі параметрді біріктіретін басқа гистограммаларды пайдаланушы таңдаған қолданбаға байланысты гейтинг кезеңінде тірек ретінде пайдалануға болады.

Оң боялған оқиғаларды боялмаған оқиғалардан ажырату үшін шектеулі жасушалардың флуоресценттенуіне талдау жүргізілді. Оның нәтижесі оң оқиғалардың гейтинг арқылы алынған барлық оқиғаларға қатынасының пайыздық көрсеткіші ретінде көрсетіледі.

МАҚСАТТЫ ПАЙДАЛАНУШЫ

Бұл өнім зертханалық жағдайда кәсіби пайдалануға арналған.

КЛИНИКАЛЫҚ МАҢЫЗЫ

CD57-FITC – ағын цитометриясы арқылы CD57 антигенін экспрессиялайтын жасушаларды сәйкестендіру және сипаттау үшін пайдаланылатын CD57 антиденесі. Бұл өнімді жалғыз өзін пайдаланып қандай да бір диагностикалық қорытынды жасау мүмкін емес және жасауға арналмаған.

Басқа маркерлермен бірлесіп пайдаланылғанда, бұл өнімді келесі функциялардың біреуінде немесе бірнешеуінде пайдалануға болады:

- Гемопоэтикалық неоплазмаға күдікті гематологиялық аномальды пациенттерді дифференциалды диагностикалауға көмектесу және белгілі гемопоэтикалық неоплазмасы бар пациенттерді бақылау үшін.
- Гемопоэтикалық жаңа ісігі бар пациенттерге болжау жасауға көмектесу.
- Иммундық тапшылыққа күдікті емделушілерді диагностикалауға көмектесу және белгілі иммун тапшылығы бар емделушілерді бақылау.

Келесі анықтамаларды қараңыз:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ҮЛГІЛЕР

Көктамыр қанын антикоагулянт ретінде EDTA тұзы бар стерильді түтіктердің көмегімен алу керек.

Үлгілерді бөлме температурасында (18–25°C) сақтау керек және оларды шайқауға болмайды. Үлгілерді сынақ үлгісін алмастан бұрын жеңіл араластыру жолымен гомогендеу керек.

Үлгілерді көк тамырды тескен соң 24 сағат ішінде талдау қажет.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Нақты топтама бойынша талдау сертификатын мына сайттан қараңыз www.beckman.com.

ЕСКЕРТУ ЖӘНЕ САҚТЫҚ ШАРАЛАРЫ

1. Жарамдылық мерзімі өткеннен кейін реагентті қолдануға болмайды.
2. Қатыруға болмайды.
3. Оны пайдаланбас бұрын, температурасының бөлме температурасына (18–25°C) жетуін күтіңіз.
4. Жарық әсерін азайтыңыз.

5. Реагенттердің микробтармен ластануына жол бермеңіз немесе жалған нәтижелер орын алуы мүмкін.
6. Құрамында натрий азиды бар антидене ерітінділермен (NaN_3) жұмыс істегенде абай болу керек. Ішке қабылдамаңыз. Теріге, шырышты қабыққа және көзге тиігізбеңіз.

   Оған қоса, қышқылды ортада натрий азиды ықтимал қауіпті азотты сутек қышқылын түзуі мүмкін. Оны жою қажет болған жағдайда реагентті алдымен судың көп мөлшерінде сұйылтып, артынан кәріз жүйесіне төгуге кеңес беріледі. Осылайша, натрий азидының металл құбырларда жиналуын болдырмай, жарылыс қаупінің алдын алуға болады.
7. Қанның барлық үлгілері ықтимал жұқпалы деп есептелуі және сақтықпен өңделуі (атап айтқанда: қорғаныс қолғабын, халат және көзілдірік кию) керек.
8. Ешқашан оны аузыңызға құймаңыз және үлгілерді теріге, шырышты қабыққа және көзге тигізбеңіз.
9. Өңдеу үшін пайдаланылатын қан түтіктері мен бір реттік материалдарды өртеуге арналған арнайы контейнерлерге тастау керек.
10. Реагенттер мен қалдықтар жергілікті талаптарға сәйкес жойылуы тиіс.

GHS ҚАУІПТЕР КЛАССИФИКАЦИЯСЫ

Қауіпті деп жіктелмейді

SDS Қауіпсіздік парағы beckmancoulter.com/techdocs мекенжайы бойынша қолжетімді

САҚТАУ ЖӘНЕ ТҰРАҚТЫЛЫҚ

Құтыны ашпай тұрып және оны ашқаннан кейін, бұл реагентті 2–8°C температурада жарықтан қорғалған жерде сақтау керек.

Тұрақтылық зерттеуіне сәйкес жабық күйіндегі сауыт сөресінің жарамдылық мерзімі: 1095 күндер.

Ашық құтының тұрақтылығы: реагент 180 күн бойы тұрақты болады.

ЗАҚЫМДАЛУ БЕЛГІЛЕРІ

Реагенттердің сыртқы түрінің кез келген өзгерісі олардың зақымдалғандығын көрсетуі мүмкін және реагентті пайдаланбаған жөн.

Қосымша ақпарат алу үшін немесе зақымдалған өнімді алған жағдайда 800-742-2345 (АҚШ немесе Канада) арқылы Beckman Coulter тұтынушыларға қызмет көрсету орталығына қоңырау шалыңыз немесе жергілікті Beckman Coulter компаниясының өкіліне хабарласыңыз.

МАЗМҰНЫ

Натрий азиді консерванты металдан жасалған құбыр желілерінде жарылғыш қосылыстар түзуі мүмкін. NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76) (NIOSH бюллетенін қараңыз: азидтердің жарылу қаупі (16.08.1976)).
Азид қосылыстарының ықтимал түзілуін болдырмау үшін сұйылтылмаған реагентті жойғаннан кейін су құбырларын шайыңыз. Натрий азидін жою тиісті жергілікті ережелерге сәйкес жүзеге асырылуы тиіс.

ҚАЖЕТТІ, БІРАҚ ЖИНАҚПЕН БІРГЕ ЖЕТКІЗІЛМЕГЕН МАТЕРИАЛДАР

- Үлгі алу түтіктері және үлгі алу үшін қажетті материал.
- 20, 100 және 500 мкл ерітінділерге арналған бір реттік ұшы бар автоматты тамызғыштар.
- Эритроциттер гемолизіне арналған пластикалық түтіктер.
- Лизистен кейін жуу әдісі пайдаланылатын эритроцит лизисінің реагенті. Мысалы: VersaLyse (Сілт A09777).
- Лейкоцит фиксация реагенті. Мысалы: IOTest 3 бекіту ерітіндісі (A07800 қараңыз).
- Буфер (PBS: 0,01 М натрий фосфаты; 0,145 М натрий хлориді; pH 7,2).
- Центрифугалау
- Автоматты араластырғыш (араластырғыш түрі).
- Ағын цитометрі.

VERSALYSE РЕАГЕНТІ КӨМЕГІМЕН ОРЫНДАЛАТЫН ПРОЦЕДУРА

1. Әр түтікке белгілі бір конъюгацияланған IOTest антиденесінің 20 тиісті мкл көлемін қосыңыз.
2. Әр түтікке сынақ үлгісінің 100 мкл қосыңыз. Түтіктерді абайлап араластырыңыз.
3. Жарықтан қорғалған бөлме температурасында (18–25°C) 15–20 минут инкубациялаңыз.
4. Содан соң қызыл жасушалардың лизисін орындаңыз. VersaLyse (анық. A09777) парақшасын қарап, жоспардан тыс дайындалған 1 мл «Бекіту және еріту» қоспасын қосудан тұратын «ілеспе бекітумен» деп аталатын процедураны орындаңыз. Бір секунд дереу араластырыңыз және жарықтан қорғалған бөлме температурасында 10 минут бойы инкубациялаңыз.
5. 150 x г шамасында 5 минут бойы бөлме температурасында центрифугалаңыз.
6. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастаңыз.
7. 3 мл PBS ерітіндісін пайдаланып, жасуша массасын қайта ерітіңіз.
8. 6-қадамды қайталаңыз.
9. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастап, жасуша массасын төмендегіні қолдану арқылы қайта ерітіңіз:

- Егер препараттар 24 сағаттан аз сақталатын болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне 0,1% формальдегид қосылады. (0,1% формальдегидті PBS ерітіндісі 12,5 мкл IOTest 3 бекіту ерітіндісін (анық. A07800) 10 еселік концентрациясында 1 мл PBS ерітіндісін сұйылту арқылы алуға болады).
- Егер 2 сағат ішінде талдануы керек болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне формальдегид қосылмайды.

Ескертпе: барлық жағдайда препараттарды 2–8°C температурада, күн көзінен алыс жерде сақтау керек.

КҮТІЛЕТІН МӘНДЕР

Біздің зертханаларда 25 тиісті дені сау донорлардан жаңа алынған қан үлгілері жоғарыда сипатталған реагентпен өңделді. Осы реагентпен қызығушылық тудыратын оң оқиғаларды санау үшін алынған нәтижелер төмендегі кестеде келтірілген:

Оңтайлы нысана	Сан	Орташа мән (%)	SD	CV (%)
Лимфоциттер	25	20,46	10,29	50,28

Бұл мәндер тек ұсыну үшін арналған. Әр зертхана қалыпты донорлардың жергілікті популяциясынан күтілетін өзіндік мәндерді белгілеуі керек.

ӨНІМДІЛІК

Өнімділік жөніндегі деректер 24 сағаттық үлгілерді пайдаланып, жоғарыда сипатталған процедура арқылы алынады. Бұл үлгілер алдын ала антикоагулянт ретінде EDTA тұзы арқылы стерильді түтіктерге жиналады. Талдау иммундық бояудан соң 2 сағат ішінде жасалады.

ЕРЕКШЕЛІГІ

CD57 молекуласы бастапқыда HNK-1 деп аталады, молекулалық салмағы 110 - 115 кДа болатын гликопротеин. CD57 молекуласы сульфатталған глюкурон қышқылының қалдықтары бар олигосахаридті антигендік қосылыс болып табылады. Ол әртүрлі тіндерде кездесетін әртүрлі полипептидтермен, липидтермен және хондроитин сульфат протеогликандарымен байланысты. CD57 молекуласы гемопоэтикалық жасушалардың, нейроэктодермальды жасушалардың, нейроэндокриндік жасушалардың, жолақты бұлшықеттердің және простатикалық эпителийдің ішкі жиындарында көрінеді (11, 12, 13, 14).

CD57 антигені бастапқыда ірі түйіршікті лимфоциттердің (LGL) көпшілігінде гемопоэтикалық тінде анықталды. Ересектердің көпшілігінде CD57 антигені NK жасушаларының және CD8 оң Т лимфоциттерінің ішкі жиынында экспрессияланады (13). CD57 молекуласы сүйек кемігі жасушаларының бір бөлігінде экспрессияланған және кіндік қанының лимфоциттерінен табылмайтын сияқты.

Герминальды орталық лимфа түйіндерінен CD4+ / CD45RO+ Т лимфоциттерінің ішкі жиыны CD57 антигенін экспрессиялайды (12, 13). Деректер CD57 молекуласының жасуша-жасуша әрекеттесуіне қатысатыны туралы хабарлайды. L-selektin (CD62L) және P-selektin (CD62P) молекулалары CD57 үшін ықтимал лигандтар болуы мүмкін (11, 15). NC1 моноклоналды антиденесі 1993 жылы АҚШ-тың Бостон қаласында өткен 5th International Workshop on Human Leucocyte Differenciation Antigen («Адам лейкоциттерінің дифференциация антигені» атты 5-ші халықаралық семинар) кезінде CD57 дифференциация кластеріне жатқызылды (16).

ДӘЛДІК

Оң мәндердің пайызы жаңа алынған қанды қолдану арқылы анықталды. Әрбір үлгі CD57-FITC моноклоналды антидене реагентінің 2 топтамасын пайдаланып 2 аспапта 1 күн бойы күніне екі рет 4 рет талданды. Өлшемдер (% оң) Navios ағын цитометрінде жүргізілді. Талдау CLSI EP5-A2 әдісі негізінде жүргізілді: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Сандық өлшеу әдістерінің дәлдік өнімділігін бағалау).

Біздің қабылдау критерийлері әрбір популяция үшін өлшенген оң оқиғалардың санына байланысты:

- Оң оқиға болса <1500, CV <15%
- Оң оқиға болса >1500, CV <10%

Лимфоциттер							
Оң оқиғалар саны (Орташа мән) = 804							
	Аралық оператор	Цитометраралық	Топтама ішілік	Топтама аралық	Жүгіру арасында	Жүгіру ішінде	Жалпы
CV (%)	2,00	1,01	4,48	1,26	1,85	3,56	4,76
НӘТИЖЕЛЕР	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ДҰРЫСТЫҚ

CD57-FITC дұрыстығы Navios ағын цитометрінде өңделген жаңа алынған қан үлгілерінің жинағындағы, предикат ретінде анықтамалық реагентпен нәтижелерді салыстыру арқылы бағаланған. Сынақ пен анықтамалық реагент арасындағы ауытқу, сынақ нәтижелері арасындағы айырмашылық негізінде анықталған. Егер қателік рұқсат етілген қателер ауқымында болса немесе p-мәні айтарлықтай айырмашылықты көрсетпесе (>0,05), онда екі реагенттің сынау нәтижелері баламалы болып саналады.

Алынған нәтижелер келесі кестеде толық көрсетілген:

Донорлар саны = 25				
Оңтайлы нысана	Орташа мән Δ	Δ % Жасуша критерийлері	p-мәні	НӘТИЖЕЛЕР
Лимфоциттер	1,11	<5	2,71E-04	PASS

БОС СЫНАМА ШЕГІ ЖӘНЕ АНЫҚТАУ ШЕГІ

Зерттеу CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, клиникалық зертханалық өлшеу процедураларын анықтау мүмкіндігін бағалау) нұсқауына сәйкес жүргізілді. Анықтау шегі (LOD) – бұл рет-ретімен анықтауға болатын аналиттің ең төмен концентрациясы. Алынған нәтижелер келесі кестеде жинақталған:

Positive Target	Бос сынама шегі (жасуша/мкл)	Анықтау шегі (жасуша/мкл)
Лимфоциттер CD3+ CD57+	1	2

ШЕКТЕУЛЕР

1. Цитометр дұрыс бапталмаған, флуоресценттенудің ағып кетуі дұрыс өтелмеген және аймақтар мұқият орналастырмаған жағдайда, ағын цитометриясы қате нәтижелер беруі мүмкін.
2. RBC лизис әдісін жуу қадамымен пайдаланған жөн, себебі бұл реагент «жуусыз» лизис әдістері үшін оңтайландырылмаған.
3. Жүргізілген процедуралар техникалық нұсқау брошюрасына сәйкес және тиісті зертханалық тәжірибемен үйлесімді болған жағдайда ғана дұрыс, әрі жаңғыртылуы мүмкін нәтижелерді алуға болады.
4. Осы реагенттің конъюгацияланған антиденесі арнайы сигнал мен арнайы емес сигналдың ең жақсы қатынасын қамтамасыз ететіндей калибрленген. Сондықтан әрбір сынақты жүргізгенде реагент көлемінің үлгі көлеміне қатынасын сақтау маңызды.

5. гиперлейкоцитоз жағдайында шамамен 5 x 10^9 лейкоцит/л (17) мәнін алу үшін PBS ерітіндісінде қанды сұйылтыңыз.
6. Кейбір жіті бүйрек жеткіліксіздігі немесе гемоглобинопатия сияқты аурулар жағдайында, эритроциттер лизисі баяу, толық емес немесе тіпті мүмкін емес болуы мүмкін. Бұл жағдайда бояудан бұрын тығыздық градиентін (мысалы, Ficoll) пайдаланып мононуклеарлы жасушаларды оқшаулап алу ұсынылады (18).
7. Адамға қарсы моноклоналды антиденелер терапиясымен емделген пациенттерде арнайы мақсатты антигендерді анықтау емдік антиденеңің ішінара немесе толық бұғатталуына байланысты төмендеуі немесе болмауы мүмкін.
8. Нәтижелер CD57-FITC пациенттің жалпы клиникалық деректері тұрғысынан түсіндірілуге тиіс, соның ішінде: симптомдар, клиникалық анамнез, қосымша сынақтардың деректері және басқа тиісті ақпарат.

Мысалдар мен анықтамалар алу үшін қосымшаны қараңыз.

САУДА БЕЛГІЛЕРІ

Beckman Coulter, стильденген логотип, сонымен қатар Beckman Coulter өнім мен қызмет көрсету белгілері — бұл АҚШ және басқа елдердегі Beckman Coulter, Inc. сауда белгілері немесе тіркелген сауда белгілері.

ҚОСЫМША АҚПАРАТ

Еуропалық Одақтағы және бірдей реттеу режимі (зертханалық жағдайдағы медициналық диагностикалық құрылғылар туралы 2017/746/ЕО қаулысы) бар елдердегі пациент/пайдаланушы/үшінші тарап үшін; егер осы құрылғыны пайдалану кезінде немесе оны пайдалану нәтижесінде елеулі оқиға орын алса, өндірушіге және/немесе оның уәкілетті өкіліне және ұлттық органыңызға хабарлаңыз.

Қауіпсіздік пен өнімділік бойынша қорытынды мәліметтер EUDAMED дерекқорында қолжетімді: ec.europa.eu/tools/eudamed.

Өзгерту тарихы

AD ҚАЙТА ҚАРАУ:	Шығарылған күні: Қазан 2019

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AW	Мамыр 2022 ж.
Beckman Coulter ғаламдық таңбалау саясатына және IVD-R (ЕО) 2017/746 талаптарына сәйкес жасалған жаңартулар:	
Қосылған бөлімдер	«BSI 2797 нөмірі», «Мақсатты пайдаланушы», «Клиникалық маңызы», «Концентрациясы», «Анықтық», «Дұрыстық», «Бос сынама шегі және анықтау шегі», «Қосымша ақпарат», «Өзгерту тарихы».
Қосылған ақпарат	«Шектеулер» бөлімінен қараңыз
Фразалар және типографиялық жаңартулар	«Процедура», «Өнімділік», «Шектеулер», «Ескерту және сақтық шаралары» «Сақтау және тұрақтылық» бөлімдерін қараңыз.
Жойылған бөлімдер	«Клиникалық қолдану мысалы», «Реагенттер», «Зертханаішілік жаңғыртылу», «Сызықтық»
Жаңартылған бөлімдер	«Пайдалану мақсаты», «GHS қауіптер классификациясы», «Зақымдалу белгілері», «Процедура», «Қосымша».

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AX	Сәуір 2023
Жаңартылған бөлімдер	Қазақ тілін қосу
Жаңартылған бөлімдер	Сақтау және тұрақтылық

Қайта қаралған нұсқасы	AY
Қайта қаралған күні	Мамыр 2024
Жаңартылған аудармалар	**Клиникалық маңызы:**
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Қайта қаралған нұсқасы	AZ
Қайта қаралған күні	Шілде 2024
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Таңбалар пернесі

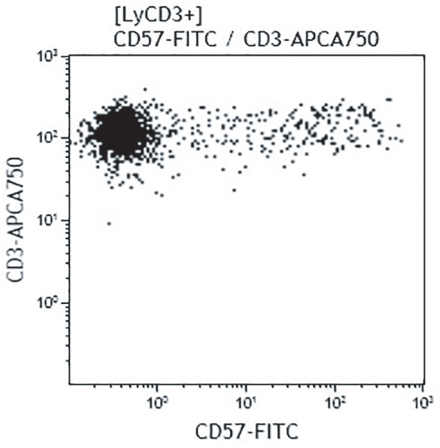
Таңбалар глоссарийі beckman.com/techdocs сайтында (құжат нөмірі: B60062) қолжетімді

APPENDIX

- EXAMPLES

Whole blood samples stained with IOTest CD57-FITC Conjugated Antibody and CD3-APC-Alexa Fluor 750 Conjugated Antibody.

Acquisition is performed with a Beckman Coulter Navios flow cytometer equipped with the Navios analysis software.



REFERENCES

1. Hutchinson JA, Weigand K, Adenugba A, Kronenberg K, Haarer J, Zeman F, Riquelme P, Hornung M, Ahrens N, Schlitt HJ, Geissler EK, Werner JM. "Predicting Early Viral Control under Direct-Acting Antiviral Therapy for Chronic Hepatitis C Virus Using Pretreatment Immunological Markers." Front Immunol. 2018 Feb 7.
2. Barrett L, Stapleton SN, Fudge NJ, Grant MD, "Immune resilience in HIV-infected individuals seronegative for cytomegalovirus.", AIDS. 2014 Sep 10.
3. Rohon P, Porkka K, Mustjoki S, "Immunoprofiling of patients with chronic myeloid leukemia at diagnosis and during tyrosine kinase inhibitor therapy.", Eur J Haematol. 2010 Nov.
4. Greenberg SA, Pinkus JL, Amato AA, Kristensen T, Dorfman DM, "Association of inclusion body myositis with T cell large granular lymphocytic leukaemia.", Brain. 2016 May.
5. Nielsen CM, White MJ, Bottomley C, Lusa C, Rodriguez-Galan A, Turner SE, Goodier MR, Riley EM, "Impaired NK Cell Responses to Pertussis and H1N1 Influenza Vaccine Antigens in Human Cytomegalovirus-Infected Individuals.", J Immunol. 2015 May 15.
6. Kumagai T, Nakaseko C, Nishiwaki K, Yoshida C, Ohashi K, Takezako N, Takano H, Kouzai Y, Murase T, Matsue K, Morita S, Sakamoto J, Wakita H, Sakamaki H, Inokuchi K, "Dasatinib cessation after deep molecular response exceeding 2 years and natural killer cell transition during dasatinib consolidation.", Cancer Sci. 2018 Jan.
7. Dosani T, Mailankody S, Korde N, Manasanch E, Bhutani M, Tageja N, Roschewski M, Kwok M, Kazandjian D, Costello R, Burton D, Zhang Y, Liewehr D, Steinberg SM, Maric I, Landgren O, "Host-related immunodeficiency in the development of multiple myeloma.", Leuk Lymphoma. 2018 May.
8. Harms RZ, Lorenzo-Arteaga KM, Ostlund KR, Smith VB, Smith LM, Gottlieb P, Sarvetnick N, "Abnormal T Cell Frequencies Including Cytomegalovirus-Associated Expansions Distinguish Seroconverted Subjects at Risk for Type 1 Diabetes.", Front Immunol. 2018 Oct 22.
9. David JA, Huang JZ, "Diagnostic Utility of Flow Cytometry Analysis of Reactive T Cells in Nodular Lymphocyte-Predominant Hodgkin Lymphoma.", Am J Clin Pathol. 2016 Jan.
10. B. H. Davis, J.T. Holden, M. C. Bene, et al. "2006 Bethesda International Consensus Recommendations on the Flow Cytometric Immunophenotypic Analysis of Hematolymphoid Neoplasia: Medical Indications." Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 72B:S5-S13 (2007).
11. Lanier, L.L., Hemperly, J.J., "CD56 and CD57 cluster workshop report", 1995, Leucocyte Typing V, White Cell Differentiation Antigens. Schlossman, S.F., et al., Eds., Oxford University Press, 1398-1400.
12. Funaro, A., Cafforio, P., Horenstein, E., Magrini, E., Ardeleanu, C., Geuna, M., Meneveri, R., Ginelli, E., Malavasi, F., "Human CD57, a link molecule between leucocytes and neural cells", 1995, Leucocyte Typing V, White Cell Differentiation Antigens. Schlossman, S.F., et al., Eds., Oxford University Press, 1435-1436.
13. Funaro, A., Malavasi, F., "CD workshop panel report", 1998, Leucocyte Typing VI, White cell Differentiation Antigens, Kishimoto, T., et al, Eds., Garland Publishing, Inc., 274-276.
14. Arber, D.A., Weiss, L.M., "CD57: A review", 1995, Appl. Immunohistochem., 3, 3, 137-152.
15. Needham, L.K., Schnaar, R.L., "The HNK-1 rective sulfoglucuronyl glycolipids are ligants for L-selectin and P-selectin but not E-selectin, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, 1359- 1363.
16. Ritz, J., Trinchieri, G., Lanier, L.L., "NK-cell antigens: section report", 1995, Leucocyte Typing V, White Cell Differentiation Antigens. Schlossman, S.F., et al., Eds., Oxford University Press, 1367-1372.
17. H42-A2 Vol.27 No. 16. P30. Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry; Approved Guideline - Second Edition.
18. Ibrahim FF, Ghannam MM, Ali FM., "Effect of dialysis on erythrocyte membrane of chronically hemodialyzed patients"., 2002. Ren Fail., Nov;24(6):779-90.

IMMUNOTECH SAS 是贝克曼库尔特公司的旗下公司，地址：130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France，电话：+(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda
Alameda Rio Negro, 500, 15 andar, Torre B Alphaville Industrial
CEP 06.454-000 Barueri, São Paulo, Brasil
CNPJ: 42.160.812/0001-44 Telefone: 0800-771-8818

製造販売業者: ベックマン·コールター株式会社
〒135-0063
東京都江東区有明三丁目5 番7号
TOC有明ウエストタワー

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

 IMMUNOTECH SAS A Beckman Coulter Company, 130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France, +(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

BECKMAN COULTER
MADE IN France

CE 2797

IOTest
Conjugated Antibody
CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0.5 mL, 10 µL / test

TABLE OF CONTENTS

English . . . 2
Français (France) (fr-fr) . . . 6
Deutsche (de-de) . . . 10
Italiano (it-it) . . . 14
Español (es-es) . . . 18
Português (Portugal) (pt-pt) . . . 22
Dansk (da-dk) . . . 26
Svenska (sv-se) . . . 30
Norsk (nb-no) . . . 34
Suomi (fi-fi) . . . 38
Ελληνικά (el-gr) . . . 42
日本語 (ja-jp) . . . 46
中文（中国）(zh-cn) . . . 50
Lietuvių (lt-lt) . . . 54
Magyar (hu-hu) . . . 58
Polski (pl-pl) . . . 62
Čeština (cs-cz) . . . 66
Slovák (sk-sk) . . . 70
한국어 (ko-kr) . . . 74
Türkçe (tr-tr) . . . 78
Русский (ru-ru) . . . 82
Eestlane (et-ee) . . . 86
Hrvatski (hr-hr) . . . 90
Български (bg-bg) . . . 94
中文（台灣）(zh-tw) . . . 98
Română (ro-ro) . . . 102
Slovenščina (sl-si) . . . 106
Srpski (sr-rs) . . . 110
Latviešu (lv-lv) . . . 114
Українська (uk-ua) . . . 118
Português (Brasil) (pt-br) . . . 122
Nederlands (nl-nl) . . . 126
Tiếng Việt (vi-vn) . . . 130
Қазақша (kk-kz) . . . 134
APPENDIX . . . 138
REFERENCES . . . 139

© 2024 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

	Specifications
Specificity	CD20
Clone	B9E9 (HRC20)
Hybridoma	X63 x balb/c
Immunogen	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Immunoglobulin	IgG2a
Species	Mouse
Purification	Affinity chromatography
Fluorochrome	Pacific Blue
Molar ratio	Pacific Blue / Ig: 5.30 - 6.50
λ excitation	405 nm
Emission Peak	455 nm
Buffer	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA and 0.1% NaN_3

IOTest
Conjugated Antibody
CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0.5 mL, 10 µL / test

For *in vitro* diagnostic use.

INTENDED USE

This fluorochrome-conjugated antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the CD20 antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

PRINCIPLE

This test is based on the ability of specific monoclonal antibodies to bind to the antigenic determinants expressed by leucocytes.

Specific staining of the leucocytes is performed by incubating the sample with the IOTest reagent. The red cells are then removed by lysis and the leucocytes, which are unaffected by this process, are analyzed by flow cytometry.

The flow cytometer measures light diffusion and the fluorescence of cells. It makes possible the delimitation of the population of interest within the electronic window defined on a histogram, which correlates the orthogonal diffusion of light (Side Scatter or SS) and the diffusion of narrow-angle light (Forward Scatter or FS). Other histograms combining two of the different parameters available on the cytometer can be used as supports in the gating stage depending on the application chosen by the user.

The fluorescence of the delimited cells is analyzed in order to distinguish the positively-stained events from the unstained ones. The results are expressed as a percentage of positive events in relation to all the events acquired by the gating.

INTENDED USER

This product is intended for laboratory professional use.

CLINICAL RELEVANCE

The CD20-Pacific Blue is a CD20 antibody used to identify and characterize cells expressing the CD20 antigen by flow cytometry. This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.

When used in combination with other markers, this product can be used in one or more of the following functions:

- To aid in the differential diagnosis of hematologically abnormal patients suspected of having hematopoietic neoplasm and to monitor patients with known hematopoietic neoplasm.
- To aid in the prognosis of patients having hematopoietic neoplasm.

See following references :

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

SAMPLES

Venous blood must be taken using sterile tubes containing an EDTA salt as the anticoagulant.

The samples should be kept at room temperature (18 – 25°C) and not shaken. The samples should be homogenized by gentle agitation prior to taking the test sample.

The samples must be analyzed within 24 hours of venipuncture.

CONCENTRATION

See lot specific Certificate of Analysis at www.beckman.com.

WARNING AND PRECAUTIONS

1. Do not use the reagent beyond the expiry date.
2. Do not freeze.
3. Let it come to room temperature (18 – 25°C) before use.
4. Minimize exposure to light.
5. Avoid microbial contamination of the reagents, or false results may occur.

6. Antibody solutions containing sodium azide (NaN_3) should be handled with care. Do not take internally and avoid all contact with the skin, mucosa and eyes.

   Moreover, in an acid medium, sodium azide can form the potentially dangerous hydrazoic acid. If it needs to be disposed of, it is recommended that the reagent be diluted in a large volume of water before pouring it into the drainage system so as to avoid the accumulation of sodium azide in metal pipes and to prevent the risk of explosion.
7. All blood samples must be considered as potentially infectious and must be handled with care (in particular: the wearing of protective gloves, gowns and goggles).
8. Never pipet by mouth, and avoid all contact of the samples with the skin, mucosa and eyes.
9. Blood tubes and disposable material used for handling should be disposed of in ad hoc containers intended for incineration.
10. Reagents and waste should be eliminated according to local requirements.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

SDS Safety Data Sheet is available at beckmancoulter.com/techdocs

STORAGE AND STABILITY

This reagent must be kept at between 2 and 8°C and protected from light, before and after the vial has been opened.

Closed vial shelf life per stability study: 1095 days.

Stability of opened vial: the reagent is stable for 180 days.

EVIDENCE OF DETERIORATION

Any change in the physical appearance of the reagents may indicate deterioration and the reagent should not be used.

For additional information, or if damaged product is received, call Beckman Coulter Customer Service at 800-742-2345 (USA or Canada) or contact your local Beckman Coulter Representative.

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).
To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

MATERIALS NEEDED BUT NOT SUPPLIED WITH KIT:

- Sampling tubes and material necessary for sampling.
- Automatic pipettes with disposable tips for 10, 100 and 500 µL.
- Plastic haemolysis tubes.
- Red cell lysis reagent with washing stage after lysis. For example: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leucocyte fixation reagent. For example : IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800).
- Buffer (PBS: 0.01 M sodium phosphate; 0.145 M sodium chloride; pH 7.2).
- Centrifuge.
- Automatic agitator (Vortex type).
- Flow cytometer.

PROCEDURE WITH VERSALYSE REAGENT

1. Add the appropriate volume 10 µL of specific IOTest conjugated antibody to each test tube.
2. Add 100 µL of the test sample to each tube. Vortex the tubes gently.
3. Incubate for 15 to 20 minutes at room temperature (18 – 25°C), protected from light.
4. Then perform lysis of the red cells. Refer to VersaLyse (Ref. A09777) leaflet and follow preferably the procedure called “with concomitant fixation”, which consists of adding 1 mL of the “Fix-and-Lyse” mixture prepared extemporaneously. Vortex immediately for one second and incubate for 10 minutes at room temperature, protected from light.
5. Centrifuge for 5 minutes at 150 x g at room temperature.
6. Remove the supernatant by aspiration.
7. Resuspend the cell pellet using 3 mL of PBS.
8. Repeat step 5.
9. Remove the supernatant by aspiration and resuspend the cell pellet using:

- 0.5 mL or 1 mL of PBS plus 0.1% of formaldehyde if the preparations are to be kept less than 24 hours. (A 0.1% formaldehyde PBS can be obtained by diluting 12.5 µL of the IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800) at its 10X concentration in 1 mL of PBS).
- 0.5 mL or 1 mL of PBS without formaldehyde, if the preparations are to be analyzed within 2 hours.

Note: In all cases, keep the preparations between 2 and 8°C and protected from light.

EXPECTED VALUES

In our laboratories, the whole blood samples of 25 apparently healthy donors were treated using the reagent described above. The results obtained for the count of the positive events of interest with this reagent are given in the table below :

Positive Target	Number	Mean (%)	SD	CV (%)
Lymphocytes	25	13.51	5.57	41.25

These values are intended to be representative only. Each laboratory should establish its own expected values from the local population of normal donors.

PERFORMANCE

Performance data are obtained using the procedure described above on less than 24 hour-old blood samples previously collected in sterile tubes with EDTA salt as anticoagulant. Analysis is performed within 2 hours following immunostaining.

SPECIFICITY

The B9E9 (HRC20) clone was assigned to CD20 during the 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens, held in Boston, USA, in 1993 (WS Code: CD20.12, Section B) (11).

PRECISION

The percent positive values were determined using Whole Blood. Each sample was run 4 times, twice a day for 1 day on 2 instruments using 2 lots of CD20-Pacific Blue Monoclonal Antibody Reagents. Measurements (% positive) were made on Navios flow cytometer. Analysis was conducted based on the CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.

Our acceptance criteria is dependent on the number of positive events measured for each population:

- If positive event <1500, CV <15%
- If positive event >1500, CV <10%

Lymphocytes							
Number of positive events (Mean) = 945							
	Inter-Operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-run	Intra-run	Total
CV (%)	2.87	2.83	5.53	1.70	2.64	3.92	6.44
RESULTS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURACY

The accuracy of CD20-Pacific Blue was assessed by comparing the results with a reference reagent as the predicate on a set of whole blood samples run on a Navios flow cytometer. The bias between test and reference reagent was determined based on the difference between test results. If the bias is within the allowable error range or the p-value indicates no significant difference (> 0.05), then test results for the two reagents are considered as equivalent.

The results obtained are summarized in the following table below:

Number of donors = 25				
Positive Target	Mean Δ	Δ % Cell criteria	p-value	RESULTS
Lymphocytes	-0.65	<3	0.059	PASS

LIMIT OF BLANK AND LIMIT OF DETECTION

A study was conducted in accordance with CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures. The Limit of Detection (LOD) is the lowest concentration of analyte that can be consistently detected. Results obtained are summarized in the following table:

Positive Target	Limit of Blank (cell/µL)	Limit of Detection (cell/µL)
Lymphocytes	2	3

LIMITATIONS

1. Flow cytometry may produce false results if the cytometer has not been aligned perfectly, if fluorescence leaks have not been correctly compensated for and if the regions have not been carefully positioned.
2. It is preferable to use a RBC lysis technique with a washing step, as this reagent has not been optimized for "no wash" lysis techniques.
3. Accurate and reproducible results will be obtained as long as the procedures used are in accordance with the technical insert leaflet and compatible with good laboratory practices.
4. The conjugated antibody of this reagent is calibrated so as to offer the best specific signal/non-specific signal ratio. Therefore, it is important to adhere to the reagent volume/sample volume ratio in every test.
5. In the case of a hyperleucocytosis, dilute the blood in PBS so as to obtain a value of approximately 5 x 10^9 leucocytes/L (12).
6. In certain disease states, such as severe renal failure or haemoglobinopathies, lysis of red cells may be slow, incomplete or even impossible. In this case, it is recommended to isolate mononucleated cells using a density gradient (Ficoll, for example) prior to staining (13).
7. In patients treated with anti-human monoclonal antibody therapies, detection of the specific targeted antigens may be diminished or absent due to partial or complete blocking by the therapeutic antibody.
8. The CD20-Pacific Blue results should be interpreted in light of the total clinical presentation of the patient, including: symptoms, clinical history, data from additional tests, and other appropriate information.

See the Appendix for examples and references.

TRADEMARKS

Beckman Coulter, the stylized logo, and the Beckman Coulter product and service marks mentioned herein are trademarks or registered trademarks of Beckman Coulter, Inc. in the United States and other countries.

Pacific Blue is a trademark of Molecular Probes, Inc.

ADDITIONAL INFORMATION

For a patient/user/third party in the European Union and in countries with identical regulatory regime (Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices); if, during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorized representative and to your national authority.

The Summary of Safety and Performance is available from the EUDAMED database: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISION HISTORY

REVISION AD:	Release date : October 2019

REVISION	**Release Date**
AW	March 2022
Updates to comply with the Beckman Coulter Global labelling Policy and according to IVD-R (EU)2017/746 requirements:	
Added sections	BSI 2797 Number, Intended User, Clinical Relevance, Concentration, Precision, Accuracy, Limit of blank and limit of detection, Additional Information, Revision History.
Added information	See sections Limitations
Phrasing or typographic updates	See sections Procedure, Performance, Limitations, Warning and Precautions, Storage and Stability.
Removed sections	Example of clinical applications, Reagents, Intra-laboratory reproducibilty, Linearity
Updated sections	Intended Use, GHS Hazard Classification, Evidence of deterioration, Procedure, Appendix.

REVISION	**Release Date**
AX	April 2023
Updated sections	Add Kazakh
Updated sections	Storage and stability

Revised Version	AY
Revised Date	May 2024
Updated Translations	**Clinical relevance :**
Updated sections	Revision History

Revised Version	AZ
Revised Date	July 2024
Updated sections	Revision History

Symbols Key

Glossary of Symbols is available at beckman.com/techdocs (document number B60062)

	Spécifications
Spécificité	CD20
Clone	B9E9 (HRC20)
Hybridome	X63 x balb/c
Immunogène	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Immunoglobuline	IgG2a
Espèce	Souris
Purification	Chromatographie d'affinité
Fluorochrome	Pacific Blue
Rapport molaire	Pacific Blue/Ig : 5,30 - 6,50
Excitation λ	405 nm
Pic d'émission	455 nm
Solution tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA et 0,1 % NaN_3

IOTest
Anticorps conjugué CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Pour un usage diagnostique *in vitro.*

UTILISATION

Cet anticorps conjugué-fluorochrome permet l'identification qualitative non automatisée des populations de cellules exprimant l'antigène CD20 présent dans les échantillons biologiques humains à l'aide d'une cytométrie en flux (voir la section « Échantillons » ci-dessous).

PRINCIPE

Ce test est fondé sur la capacité d'anticorps monoclonaux spécifiques de se lier à des déterminants antigéniques exprimés par les leucocytes.

Une coloration spécifique des leucocytes est effectuée en incubant l'échantillon avec le réactif IOTest. Les globules rouges sont ensuite supprimés par lyses et les leucocytes, qui ne sont pas affectés par cette procédure, sont analysés par cytométrie en flux.

Le cytomètre en flux mesure la diffusion de la lumière et la fluorescence des cellules. Il rend possible la délimitation de la population d'intérêt au sein de la fenêtre électronique définie sur un histogramme, qui met en corrélation la diffusion orthogonale de la lumière (diffusion latérale ou SS) et la diffusion de la lumière en angle étroit (dispersion avant ou FS). D'autres histogrammes combinant deux des différents paramètres disponibles sur le cytomètre peuvent être utilisés comme supports dans la phase de gating en fonction de l'application choisie par l'utilisateur.

La fluorescence des cellules délimitées est analysée de manière à distinguer les événements colorés positifs de ceux qui ne le sont pas. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'événements positifs par rapport à tous les événements acquis grâce à la méthode de gating.

UTILISATEUR PRÉVU

Ce produit est destiné à un usage professionnel en laboratoire.

PERTINENCE CLINIQUE

Le CD20-Pacific Blue est un anticorps CD20 utilisé pour identifier et caractériser les cellules exprimant l'antigène CD20 par cytométrie en flux. Ce produit seul ne peut pas et n'est pas destiné à générer une quelconque conclusion diagnostique.

Lorsqu'il est utilisé conjointement avec d'autres marqueurs, ce produit peut être utilisé pour l'une ou plusieurs des fonctions suivantes :

- Aider au diagnostic différentiel des patients ayant une hématologie anormale et suspectés d'être atteints d'un néoplasme hématopoïétique et surveiller les patients atteints d'un néoplasme hématopoïétique connu.
- Faciliter le prognostic des patients ayant un néoplasme hématopoïétique.

Voir les références suivantes :

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ÉCHANTILLONS

Le sang veineux doit être prélevé avec des tubes stériles contenant un sel EDTA comme anticoagulant.

Les échantillons doivent être conservés à température ambiante (18–25 °C) et ne doivent pas être agités. Les échantillons doivent être homogénéisés par agitation douce avant de prélever l'échantillon de test.

Les échantillons doivent être analysés dans les 24 heures qui suivent la ponction veineuse.

CONCENTRATION

Voir le certificat d'analyse du lot spécifique sur www.beckman.com.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Ne pas utiliser le réactif au-delà de la date de péremption.
2. Ne pas congeler.
3. Laisser le réactif passer à la température ambiante (18–25 °C) avant de l'utiliser.
4. Minimiser l'exposition à la lumière.
5. Éviter la contamination microbienne des réactifs, ou des résultats erronés peuvent se produire.
6. Les solutions d'anticorps contenant de l'azide de sodium (NaN_3) doivent être manipulées avec précautions. Ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau, les muqueuses et les yeux.

En outre, dans un milieu acide, l'azide de sodium peut former le potentiellement dangereux acide hydrazoïque. S'il doit être éliminé, il est recommandé de diluer le réactif dans un grand volume d'eau avant de le verser dans le système de drainage afin d'éviter l'accumulation d'azide de sodium dans les tubes métalliques et de prévenir le risque d'explosion.

7. Tous les échantillons de sang doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés avec soin (en particulier : port de gants, de blouses et de lunettes de protection).
8. Ne jamais pipetter avec la bouche et éviter tout contact des échantillons avec la peau, les muqueuses et les yeux.
9. Les tubes de prélèvement sanguin et les matériaux jetables utilisés pour la manipulation doivent être éliminés dans des conteneurs appropriés prévus pour incinération.
10. Les réactifs et les déchets doivent être éliminés conformément aux exigences locales.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux

SDS La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVATION ET STABILITÉ

Ce réactif doit être conservé entre 2 et 8 °C, à l'abri de la lumière, avant et après l'ouverture du flacon.

Durée de conservation du flacon fermé selon l'étude de stabilité : 1095 jours.

Stabilité du flacon ouvert : le réactif est stable pendant 180 jours.

PREUVE DE DÉTÉRIORATION

Tout changement de l'apparence physique des réactifs peut indiquer une détérioration et le réactif ne doit pas être utilisé.

Pour plus de renseignements ou si un produit défectueux est livré, appeler le service client de Beckman Coulter au 800-742-2345 (USA ou Canada), ou votre représentant de Beckman Coulter local.

CONTENU

Les agents de conservation à base d'azide de sodium peuvent former des composés explosifs dans les conduites d'évacuation métalliques. Voir le bulletin NIOSH : Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Dangers d'explosion de l'azide).
Pour éviter l'accumulation potentielle des composés d'azide, rincer les tuyaux d'évacuation à l'eau après l'élimination de réactifs non dilués. L'élimination de l'azide de sodium doit se faire conformément aux réglementations locales en vigueur.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI AVEC CE COFFRET:

- Les tubes d'échantillonnage et le matériel nécessaires pour l'échantillonnage.
- Pipettes automatiques aux embouts jetables pour 10, 100 et 500 µL.
- Tubes d'hémolyse en plastique.
- Réactif de lyse des érythrocytes avec étape de lavage post-lyse. Par exemple : VersaLyse (Réf. A09777).
- Réactif de fixation de leucocyte. Par exemple : Solution fixative IOTest 3 (Réf. A07800).
- Tampon (PBS : 0,01 M phosphate de sodium ; 0,145 M chlorure de sodium ; pH 7,2).
- Centrifugeuse.
- Agitateur automatique (type vortex).
- Cytomètre en flux.

PROCÉDURE AVEC RÉACTIF VERSALYSE

1. Ajouter le volume approprié 10 µL d'anticorps conjugués IOTest spécifique dans chaque tube de test.
2. Ajouter 100 µL de l'échantillon à tester dans chaque tube. Vortexer doucement les tubes.
3. Incuber pendant 15 à 20 minutes à température ambiante (18–25 °C), à l'abri de la lumière.
4. Puis effectuer la lyse des globules rouges. Consulter la notice VersaLyse (Réf. A09777) et suivre de préférence la procédure appelée « with concomitant fixation » (avec fixation concomitante), qui consiste à ajouter 1 mL du mélange « Fixer et Lyser » préparé à n'importe quel moment. Vortexer immédiatement pendant une seconde et incuber pendant 10 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière.
5. Centrifuger pendant 5 minutes à 150 x g à température ambiante.
6. Retirer le surnageant par aspiration.
7. Remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant 3 mL de PBS.
8. Répéter l'étape 5.
9. Éliminer le liquide surnageant par aspiration et remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant :

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS plus 0,1 % de formaldéhyde si les préparations doivent être conservées moins de 24 heures. (Un PBS à 0,1 % de formaldéhyde peut être obtenu en diluant 12,5 µL de solution de fixation IOTest 3 (Réf. A07800) à 10 fois sa concentration dans 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sans formaldéhyde, si les préparations doivent être analysées dans les 2 heures.

Remarque : dans tous les cas, conserver les préparations entre 2 et 8 °C et à l'abri de la lumière.

VALEURS ATTENDUES

Dans nos laboratoires, les échantillons de sang total de 25 donneurs apparemment sains ont été traités à l'aide du réactif décrit ci-dessus. Les résultats obtenus pour le compte des événements positifs d'intérêt pour ce réactif sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Cible positive	Nombre	Moyenne (%)	ET (Écart type)	CV (%)
Lymphocytes	25	13,51	5,57	41,25

Ces valeurs sont censées être uniquement représentatives. Chaque laboratoire doit établir ses valeurs attendues à partir d'une population locale de donneurs normaux.

PERFORMANCE

Les données de performance sont obtenues à l'aide de la procédure décrite ci-dessus sur des échantillons de sang de moins de 24 heures préalablement collectés dans des tubes stériles contenant du sel EDTA comme anticoagulant. L'analyse est effectuée dans les 2 heures suivant l'immunocoloration.

SPÉCIFICITÉ

Le clone B9E9 (HRC20) a été assigné au CD20 au cours de 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5e HLDA Workshop sur les Antigènes de Différenciation des Leucocytes Humains), qui s'est tenu à Boston, aux États-Unis, en 1993 (Code WS : CD20.12, Section B) (11).

PRÉCISION

Les valeurs de percentile positives ont été déterminées à l'aide de sang total. Chaque échantillon a été analysé 4 fois, deux fois par jour pendant 1 jour sur 2 instruments à l'aide de 2 lots de réactifs d'anticorps monoclonal CD20-Pacific Blue. Les mesures (% positif) ont été effectuées sur le cytomètre en flux Navios. L'analyse a été conduite conformément au document CLSI Méthode EP5-A2 : Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Évaluation de la performance de précision des méthodes de mesures quantitatives).

Notre critère d'acceptation est dépendant du nombre d'événements positifs mesurés pour chaque population :

- Si événement positif < 1 500, CV < 15 %
- Si événement positif > 1 500, CV < 10 %

Lymphocytes							
Nombre d'événements positifs (Moyenne) = 945							
	Inter-opérateur	Inter-cytomètre	Intra-lot	Inter-lot	Inter-analyse	Intra-analyse	Total
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
RÉSULTATS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUDE

L'exactitude de CD20-Pacific Blue a été évaluée en comparant les résultats avec un réactif de référence comme prédicat sur un ensemble d'échantillons de sang total analysé sur un cytomètre en flux Navios. L'écart systématique entre le test et le réactif de référence a été déterminé en fonction de la différence entre les résultats du test. Si l'écart systématique se situe dans la plage d'erreurs autorisée ou que la valeur p n'indique aucune différence significative (> 0,05), alors les résultats du test pour les deux réactifs sont considérés comme équivalent.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Nombre de donneurs = 25				
Cible positive	Moyenne Δ	Critères de cellules Δ %	Valeur-p	RÉSULTATS
Lymphocytes	-0,65	<3	0,059	PASS

LIMITE DU BLANC ET LIMITE DE DÉTECTION

Une étude a été conduite conformément au document CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Évaluation des capacités de détection des procédures de mesures biologiques cliniques). La limite de détection (LOD) est la concentration la plus basse d'analyte qui peut être systématiquement détectée. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Positive Target	Limite du blanc (cellules/µL)	Limite de détection (cellules/µL)
Lymphocytes	2	3

LIMITES

1. La cytométrie en flux peut produire des résultats erronés si le cytomètre n'a pas été parfaitement aligné, si les fuites de fluorescence n'ont pas été correctement compensées et si les régions n'ont pas été soigneusement positionnées.
2. Il est préférable d'utiliser une technique de lyse des GR comprenant une étape de lavage, comme ce réactif n'a pas été optimisé pour les techniques de lyse « sans lavage ».
3. Des résultats précis et reproductibles seront obtenus tant que les procédures utilisées sont en conformité avec la notice technique et compatibles avec les bonnes pratiques de laboratoire.
4. L'anticorps conjugué de ce réactif est étalonné de manière à offrir le meilleur ratio de signal spécifique/signal non spécifique. Par conséquent, il est important de respecter le ratio de volume de réactif/volume d'échantillon à chaque test.
5. En cas d'hyperleucocytose, diluer le sang dans du PBS de façon à obtenir une valeur d'approximativement 5 x 10^9 leucocytes/L (12).
6. Dans certains états pathologiques, tels qu'une grave insuffisance rénale ou une hémoglobinopathie, la lyse des globules rouges peut être lente, incomplète ou même impossible. Dans ce cas, il est recommandé d'isoler les cellules mononucléées à l'aide d'un gradient de densité (Ficoll, par exemple) avant la coloration (13).
7. Chez les patients traités par thérapie d'anticorps monoclonal anti-humain, la détection d'antigènes ciblés spécifiques peut être diminuée ou absente en raison d'un blocage partiel ou total par l'anticorps thérapeutique.
8. Les résultats de CD20-Pacific Blue doivent être interprétés à la lumière du tableau clinique complet du patient, y compris : les symptômes, l'anamnèse, les résultats de tests supplémentaires et toute autre information appropriée.

Voir l'annexe pour des exemples et des références.

MARQUES

Beckman Coulter, le logo stylisé et les marques des produits et des services Beckman Coulter mentionnées ici sont des marques ou des marques déposées de Beckman Coulter, Inc. aux États-Unis et dans d'autres pays.

Pacific Blue est une marque de Molecular Probes, Inc.

INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES

Pour un patient/utilisateur/tiers de l'Union européenne et des pays ayant le même régime réglementaire (Règlement 2017/746/UE relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro) ; si, lors de l'utilisation de ce dispositif ou suite à son utilisation, un incident important se produit, veuillez le rapporter au fabricant et/ou à son représentant autorisé et à l'autorité nationale de votre pays.

Le Summary of Safety and Performance (Résumé de sécurité et de performance) est disponible sur la base de données EUDAMED : ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

RÉVISION AD :	Date de publication : octobre 2019

RÉVISION	**Date de publication**
AW	Mars 2022
Mises à jour pour se conformer aux exigences de la politique d'étiquetage générale de Beckman Coulter et aux exigences IVD-R (UE)2017/746 :	
Ajout de sections	Numéro BSI 2797, Utilisateur prévu, Pertinence clinique, Concentration, Exactitude, Précision, Limite du blanc et limite de détection, Informations supplémentaires, Historique de révisions.
Ajout d'informations	Voir les sections Limites
Mises à jour typographiques et de formulations	Voir les sections Procédure, Performance, Limites, Avertissement et précautions, Conservation et stabilité.
Suppression de sections	Exemple d'applications cliniques, réactifs, reproductibilité intra-laboratoire, linéarité
Sections mises à jour	Utilisation, Classification des risques SGH, Preuve de détérioration, Procédure, Annexe.

RÉVISION	**Date de publication**
AX	Avril 2023
Sections mises à jour	Ajouter le kazakh
Sections mises à jour	Conservation et stabilité

Version révisée	AY
Date de révision	Mai 2024
Traductions mises à jour	**Pertinence clinique :**
Sections mises à jour	Historique des révisions

Version révisée	AZ
Date de révision	Juillet 2024
Sections mises à jour	Historique des révisions

Légende des symboles

Un glossaire des symboles est disponible sur beckmancoulter.com/techdocs (document numéro B60062)

	Spezifikationen
Spezifität	CD20
Klon	B9E9 (HRC20)
Hybridom	X63 x balb/c
Immunogen	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Immunglobulin	IgG2a
Spezies	Maus
Aufreinigung	Affinitätschromatographie
Fluorochrom	Pacific Blue
Molverhältnis	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
λ-Anregung	405 nm
Emissionspeak	455 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA und 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugierter Antikörper CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

***In-vitro*-Diagnostikum.**

VERWENDUNGSZWECK

Dieser mit einem Fluorochrom konjugierte Antikörper ermöglicht mithilfe der Durchflusszytometrie eine qualitative und nicht automatisierte Identifikation von Zellpopulationen, die das CD20-Antigen exprimieren, das in biologischen Proben menschlicher Herkunft vorhanden ist (siehe den Abschnitt „Proben“ unten).

PRINZIP

Dieser Test basiert auf der Fähigkeit bestimmter monoklonaler Antikörper, an die durch Leukozyten exprimierten antigenen Determinanten zu binden.

Die spezifische Färbung der Leukozyten erfolgt durch Inkubation der Probe mit dem IOTest-Reagenz. Die Erythrozyten können dann mittels Lyse entfernt werden. Die von diesem Vorgang unberührten Leukozyten werden mittels Durchflusszytometrie analysiert.

Das Durchflusszytometer misst die Lichtstreuung und die Fluoreszenz der Zellen. Es ermöglicht die Abgrenzung der gewünschten Population innerhalb des auf einem Histogramm definierten elektronischen Fensters, welches die orthogonale Lichtstreuung (Seitwärtsstreuung, SW) und die Streuung des Lichts im flachen Winkel (Vorwärtsstreuung, VW) in Beziehung zueinander setzt. Andere Histogramme, die zwei der auf dem Zytometer verfügbaren Parameter kombinieren, können zur Unterstützung beim Gating eingesetzt werden, je nachdem welche Anwendung der Benutzer ausgewählt hat.

Die Fluoreszenz der einzelnen Zellen wird analysiert, um die positiv angefärbten Ereignisse von den nicht angefärbten zu unterscheiden. Die Ergebnisse werden als Prozentsatz positiver Ereignisse relativ zu allen durch das Gating erfassten Ereignissen angegeben.

VORGESEHENER BENUTZER

Dieses Produkt ist für den Einsatz durch Laborfachkräfte vorgesehen.

KLINISCHE RELEVANZ

CD20-Pacific Blue ist ein CD20-Antikörper zur durchflusszytometrischen Identifikation und Charakterisierung von Zellen, die das CD20-Antigen exprimieren. Es ist weder möglich noch vorgesehen, alleine anhand dieses Produkts zu einer diagnostischen Schlussfolgerung zu kommen.

Bei Verwendung in Verbindung mit anderen Markern kann dieses Produkt für einen oder mehrere der folgenden Zwecke eingesetzt werden:

- Als Hilfsmittel zur Differenzialdiagnose von hämatologisch anormalen Patienten mit Verdacht auf ein hämatopoetisches Neoplasma und zur Überwachung von Patienten mit bestätigtem hämatopoetischem Neoplasma.
- Als Hilfsmittel bei der Prognose für Patienten mit hämatopoetischem Neoplasma.

Siehe die nachstehenden Literaturhinweise:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROBEN

Venöses Blut muss mit sterilen Röhrchen entnommen werden, die ein EDTA-Salz als Antikoagulanz enthalten.

Die Proben bei Raumtemperatur (18–25 °C) aufbewahren und nicht schütteln. Die Proben vor Entnahme der Testprobe durch vorsichtiges Schütteln homogenisieren.

Die Proben müssen innerhalb von 24 Stunden analysiert werden.

KONZENTRATION

Siehe das chargenspezifische Analysezertifikat unter www.beckman.com.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Das Reagenz nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden.
2. Nicht einfrieren.
3. Vor der Verwendung auf Raumtemperatur (18–25 °C) bringen.
4. Vor Licht schützen.
5. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien muss vermieden werden, damit kein falsches Ergebnis erzielt wird.
6. Antikörperlösungen, die Natriumazid (NaN_3) enthalten, vorsichtig handhaben. Nicht einnehmen und Berührungen mit Haut, Schleimhäuten und Augen vermeiden.

Zudem kann Natriumazid in einem sauren Medium zur Bildung potenziell gefährlicher Stickstoffwasserstoffsäure führen. Zur Entsorgung des Reagenzes wird empfohlen, das Reagenz mit viel Wasser zu verdünnen, bevor es in das Abwassersystem gegossen wird, um einer Ansammlung von Natriumazid in den Metallrohren und dem Risiko einer Explosion vorzubeugen.

7. Blutproben sind als potenziell infektiös zu betrachten und müssen mit Vorsicht gehandhabt werden (insbesondere durch Tragen von Schutzhandschuhen, -kittel und -brille).
8. Niemals mit dem Mund pipettieren und jeglichen Kontakt der Proben mit Haut, Schleimhaut und Augen vermeiden.
9. Blutröhrchen und Einwegmaterial, das zur Handhabung verwendet wird, müssen in dafür vorgesehenen, für die Verbrennung bestimmten Behältern entsorgt werden.
10. Reagenzien und Abfälle sind entsprechend den örtlichen Anforderungen zu entsorgen.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft

SDS Das Sicherheitsdatenblatt ist auf beckmancoulter.com/techdocs verfügbar.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Dieses Reagenz muss vor und nach dem Öffnen des Fläschchens lichtgeschützt zwischen 2 und 8 °C gelagert werden.

Haltbarkeit der geschlossenen Durchstechflasche gemäß Stabilitätsstudie: 1095 Tage.

Stabilität geöffneter Fläschchen: Das Reagenz ist 180 Tage lang stabil.

VERFALLSANZEICHEN

Ein verändertes Aussehen der Reagenzien kann ein Verfallsanzeichen sein. Entsprechende Reagenzien dürfen nicht verwendet werden.

Wenn Sie weitere Informationen wünschen oder falls das Produkt beschädigt bei Ihnen eintrifft, setzen Sie sich (innerhalb der USA und Kanada) unter der Rufnummer 800-742-2345 mit dem Kundendienst von Beckman Coulter bzw. außerhalb dieser Länder mit dem für Sie zuständigen Beckman Coulter-Mitarbeiter in Verbindung.

INHALT

Natriumazid als Konservierungsmittel kann in metallischen Abflussleitungen explosive Verbindungen bilden. Siehe NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (NIOSH-Bulletin: Gefahr durch explosive Azide).
Um eine mögliche Akkumulation von Azidverbindungen zu vermeiden, die Abwasserrohre nach der Entsorgung von unverdünntem Reagenz mit Wasser spülen. Natriumazid muss entsprechend den örtlichen behördlichen Vorschriften entsorgt werden.

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT IM KIT ENTHALTENE ARTIKEL:

- Probenahmeröhrchen und für die Probenahme benötigte Materialien.
- Automatische Pipetten mit Einwegspritzen für 10, 100 und 500 µL.
- Hämolyseröhrchen aus Kunststoff.
- Reagenz zur Lyse der Erythrozyten mit Waschstufe nach der Lyse. Beispiel: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagenz zur Leukozytenfixierung. Beispiel: IOTest 3-Fixierungslösung (Ref. A07800).
- Puffer (PBS: 0,01 M Natriumphosphat; 0,145 M Natriumchlorid; pH 7,2).
- Zentrifuge.
- Automatisches Mischgerät (Typ Vortex-Mischer).
- Durchflusszytometer.

VERFAHREN MIT VERSALYSE-REAGENZ

1. Jedem Teströhrchen das korrekte Volumen (10 µL) des entsprechenden konjugierten IOTest-Antikörpers zugeben.
2. 100 µL der Testprobe in jedes Röhrchen geben. Die Röhrchen sachte mittels Vortex-Mischer mischen.
3. Bei Raumtemperatur (18–25 °C) 15 bis 20 Minuten lang lichtgeschützt inkubieren.
4. Im Anschluss die Erythrozyten lysieren. Das Merkblatt für VersaLyse (Ref. A09777) beachten und vorzugsweise das Verfahren mit dem Titel „with concomitant fixation“ (mit gleichzeitiger Fixierung) befolgen, das eine Zugabe von 1 mL des spontan zubereiteten „Fix-and-Lyse“(Fixierung und Lyse)-Gemisches vorsieht. Sofort eine Sekunde lang auf dem Vortex-Mischer mischen und 10 Minuten lang lichtgeschützt bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Bei 150 x g 5 Minuten lang bei Raumtemperatur zentrifugieren.
6. Den Überstand absaugen.
7. Das Zellpellet in 3 mL PBS resuspendieren.
8. Schritt 5 wiederholen.
9. Den Überstand absaugen und das Zellpellet resuspendieren mit:

- 0,5 mL oder 1 mL PBS plus 0,1 % Formaldehyd, wenn die Präparate weniger als 24 Stunden aufbewahrt werden sollen. (Ein 0,1%iges Formaldehyd-PBS-Gemisch kann hergestellt werden, indem 12,5 µL der IOTest 3-Fixierlösung (Ref. A07800) bei 10-facher Konzentration in 1 mL PBS verdünnt werden.)
- 0,5 mL oder 1 mL PBS ohne Formaldehyd, wenn die Präparate innerhalb von weniger als 2 Stunden analysiert werden sollen.

Hinweis: Die Präparate in jedem Fall zwischen 2 und 8 °C und vor Licht geschützt aufbewahren.

ERWARTETE WERTE

In unseren Laboren wurden die Vollblutproben von 25 scheinbar gesunden Spendern unter Verwendung des oben beschriebenen Reagenzes behandelt. Die Ergebnisse für die Anzahl der positiven Ereignisse von Interesse, die mit diesem Reagenz erzielt wurden, sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt:

Positives Ziel	Nummer	Mittelwert (%)	SD	VK (%)
Lymphozyten	25	13,51	5,57	41,25

Die Werte dienen nur zu Veranschaulichungszwecken. Jedes Labor muss anhand der örtlichen Population normaler Spender eigene erwartete Werte festlegen.

LEISTUNG

Leistungsdaten werden unter Anwendung des oben beschriebenen Verfahrens mit weniger als 24 Stunden alten Blutproben ermittelt, die zuvor in sterile Röhrchen mit EDTA-Salz als Antikoagulanz entnommen wurden. Die Analyse erfolgt innerhalb von 2 Stunden nach der Immunfärbung.

SPEZIFITÄT

Der Klon B9E9 (HRC20) wurde 1993 auf dem 5. HILDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (HILDA-Workshop über die Differenzierungsantigene der menschlichen Leukozyten) in Boston, USA (WS Code: CD20.12, Sektion B) dem Molekül CD20 zugeordnet (11).

PRÄZISION

Die prozentualen positiven Werte wurden unter Verwendung von Vollblut bestimmt. Jede Probe wurde zweimal täglich 1 Tag lang unter Verwendung von 2 Chargen der Reagenzien mit dem monoklonalen Antikörper CD20-Pacific Blue 4 Mal auf 2 Instrumenten analysiert. Messungen (% positiv) wurden mit dem Navios-Durchflusszytometer vorgenommen. Die Analyse folgte den Vorgaben der CLSI-Methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Beurteilung der Präzisionsleistung von quantitativen Messmethoden).

Unsere Akzeptanzkriterien sind abhängig von der Anzahl an positiven Ereignissen, die für jede Population gemessen werden:

- Wenn positives Ereignis < 1 500, VK < 15 %
- Wenn positives Ereignis > 1 500, VK < 10 %

Lymphozyten							
Anzahl der positiven Ereignisse (Mittelwert) = 945							
	Zwischen Bedienern	Zwischen Durchflusszytometern	Innerhalb einer Charge	Zwischen Chargen	Zwischen Läufen	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
VK (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
ERGEBNISSE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit von CD20-Pacific Blue wurde anhand eines Vergleichs der Ergebnisse mit einem Referenzreagenz als Prädikat für einen Satz aus Vollblutproben bewertet, die auf einem Navios-Durchflusszytometer analysiert wurden. Die Abweichung zwischen Test- und Referenzreagenz wurde auf der Grundlage der Differenz zwischen Testergebnissen bestimmt. Sollte die Abweichung innerhalb des zulässigen Fehlerbereichs liegen oder der p-Wert keine signifikante Differenz (> 0,05) nahelegen, gelten die Testergebnisse für die beiden Reagenzien als gleichwertig.

Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Anzahl der Spender = 25				
Positives Ziel	Mittelwert Δ	Δ % Zellkriterien	p-Wert	ERGEBNISSE
Lymphozyten	-0,65	<3	0,059	PASS

GRENZWERT FÜR LEERWERT UND NACHWEISGRENZE

Es wurde eine Studie gemäß CLSI-Dokument EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluierung des Detektionsvermögens von klinischen Labormessverfahren), durchgeführt. Die Nachweisgrenze (LOD) ist die niedrigste Konzentration des Analyten, die durchweg nachgewiesen werden kann. Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Positive Target	Grenzwert für Leerwert (Zelle/µL)	Nachweisgrenze (Zelle/µL)
Lymphozyten	2	3

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Die Durchflusszytometrie kann falsche Ergebnisse liefern, wenn das Zytometer nicht perfekt ausgerichtet wurde, wenn Fluoreszenzlecks nicht korrekt kompensiert wurden und wenn die Bereiche nicht sorgfältig positioniert wurden.
2. Vorzugsweise sollte eine ERY-Lysetechnik mit einem Waschschritt angewandt werden, da dieses Reagenz nicht für Lysetechniken ohne Waschen optimiert wurde.
3. Genaue und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, sofern die verwendeten Verfahren der technischen Packungsbeilage entsprechen und mit der guten Laborpraxis kompatibel sind.
4. Der konjugierte Antikörper dieses Reagenzes ist so kalibriert, dass er das beste Verhältnis von spezifischem zu unspezifischem Signal bietet. Daher ist es wichtig, das Verhältnis Reagenzvolumen/Probenvolumen bei jedem Test einzuhalten.
5. Im Falle einer Hyperleukozytose das Blut in PBS verdünnen, um einen Wert von ungefähr 5 x 10^9 Leukozyten/L zu erhalten(12).
6. Bei bestimmten Krankheitszuständen, beispielsweise einem schweren Nierenversagen oder Hämoglobinopathien, kann die Lyse der Erythrozyten möglicherweise nur langsam oder unvollständig erfolgen oder sogar unmöglich sein. In diesem Fall empfiehlt es sich, vor dem Färben einkernige Zellen mittels eines Dichtegradienten (beispielsweise Ficoll) zu isolieren (13).
7. Bei Patienten, die sich Therapien mit anti-humanen monoklonalen Antikörpern unterziehen, kann das Nachweisvermögen für die spezifischen anvisierten Antigene aufgrund einer teilweisen oder vollständigen Blockierung durch die therapeutischen Antikörper vermindert sein oder gänzlich ausbleiben.

8. Die Ergebnisse für CD20-Pacific Blue müssen unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde für den Patienten interpretiert werden, einschließlich Symptomen, klinischer Vorgeschichte, Daten zusätzlicher Tests sowie sonstiger relevanter Informationen.

Beispiele und Literaturhinweise siehe Anhang.

MARKEN

Beckman Coulter, das stilisierte Logo und die in diesem Dokument erwähnten Beckman Coulter-Produkt- und Dienstleistungsmarken sind in den USA und anderen Ländern Marken oder eingetragene Marken von Beckman Coulter, Inc.

Pacific Blue ist eine Marke von Molecular Probes, Inc.

WEITERE INFORMATIONEN

Für einen Patienten/Benutzer/Dritten in der Europäischen Union und in Ländern mit identischer Regulierungspraxis (Verordnung 2017/746/EU über In-vitro-Diagnostika) gilt Folgendes: Sollte es im Rahmen der Verwendung dieses Produktes oder infolge der Verwendung dieses Produktes zu einem schwerwiegenden Zwischenfall gekommen sein, ist dieser dem Hersteller und/oder dessen Bevollmächtigten sowie der nationalen Behörde zu melden.

Die „Summary of Safety and Performance“ (Bericht über Sicherheit und Leistung) kann aus der EUDAMED-Datenbank abgerufen werden: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSVERLAUF

REVISION AD:	Freigabedatum: Oktober 2019

REVISION	**Freigabedatum**
AW	März 2022
Aktualisierungen vorgenommen, um den Vorgaben der globalen Etikettierungsrichtlinie von Beckman Coulter und den Vorgaben nach IVD-R (EU) 2017/746 zu entsprechen:	
Abschnitte hinzugefügt	Nummer nach BSI 2797; Vorgesehener Benutzer; Klinische Anwendung; Konzentration; Präzision; Genauigkeit; Grenzwert für Leerwert und Nachweisgrenze; Weitere Informationen; Revisionsübersicht.
Informationen hinzugefügt	Siehe Abschnitt Einschränkungen
Formulierung oder Typografie aktualisiert	Siehe die Abschnitte Verfahren; Leistung; Einschränkungen; Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen; Lagerung und Stabilität.
Abschnitte gestrichen	Beispiel für klinische Anwendungen; Reagenzien; Reproduzierbarkeit innerhalb des Labors; Linearität
Aktualisierte Abschnitte	Verwendungszweck; GHS-Gefahrstoffklassifizierung; Verfallsanzeichen; Verfahren; Anhang.

REVISION	**Freigabedatum**
AX	April 2023
Aktualisierte Abschnitte	Kasachisch hinzufügen
Aktualisierte Abschnitte	Lagerung und Stabilität

Überarbeitete Version	AY
Überarbeitungsdatum	Mai 2024
Aktualisierte Übersetzungen	**Klinische Relevanz:**
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Überarbeitete Version	AZ
Überarbeitungsdatum	Juli 2024
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Liste der Symbole

Das Glossar der Symbole ist auf beckman.com/techdocs (Dokumentnummer B60062) verfügbar.

	Specifiche
Specificità	CD20
Clone	B9E9 (HRC20)
Ibridoma	X63 x balb/c
Immunogeno	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Immunoglobulina	IgG2a
Specie	Topo
Purificazione	Cromatografia di affinità
Fluorocromo	Pacific Blue
Rapporto molare	Pacific Blue / Ig: 5,30 - 6,50
Eccitazione λ	405 nm
Picco di emissione	455 nm
Tampone	PBS pH 7,2 più 2 mg/mL di BSA e NaN_3 0,1%

IOTest

Anticorpo coniugato CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Per uso diagnostico *in vitro.*

USO PREVISTO

Questo anticorpo coniugato con fluorocromo consente l'identificazione qualitativa e non automatizzata di popolazioni cellulari che esprimono l'antigene CD20 presente nei campioni biologici umani mediante citometria a flusso (vedere la sezione "Campioni" di seguito).

PRINCIPIO

Questo test si basa sulla capacità di specifici anticorpi monoclonali di legarsi ai determinanti antigenici espressi dai leucociti.

La colorazione specifica dei leucociti viene eseguita incubando il campione con il reagente IOTest. Gli eritrociti vengono quindi rimossi tramite lisi e i leucociti, non interessati da questo processo, vengono analizzati tramite citometria a flusso.

Il citometro a flusso misura la diffusione di luce e la fluorescenza delle cellule. Ciò consente la delimitazione della popolazione di interesse con la finestra elettronica definita in un istogramma, che correla la diffusione ortogonale della luce (scattering laterale o SS) e la diffusione della luce ad angolo stretto (scattering frontale o FS). Altri istogrammi che combinano due dei diversi parametri disponibili sul citometro possono essere usati come supporti nella fase di determinazione del gate in base alle applicazioni scelte dall'utente.

La fluorescenza delle cellule delimitate viene analizzata per distinguere gli eventi colorati in modo positivo e quelli non colorati. I risultati sono espressi come percentuale di eventi positivi in relazione a tutti gli eventi acquisiti mediante determinazione del gate.

UTENTE PREVISTO

Questo prodotto è destinato all'uso professionale in laboratorio.

RILEVANZA CLINICA

CD20-Pacific Blue è un anticorpo CD20 utilizzato per identificare e caratterizzare le cellule che esprimono l'antigene CD20 mediante citometria a flusso. Questo prodotto da solo non può e non intende generare alcuna conclusione diagnostica.

Se impiegato in combinazione con altri marcatori, questo prodotto può essere utilizzato con una o più delle seguenti funzioni:

- Come supporto nella diagnosi differenziale di pazienti con anomalie ematologiche e sospetta neoplasia ematopoietica e nel monitoraggio di pazienti con neoplasia ematopoietica nota.
- Come supporto nella prognosi di pazienti con neoplasia ematopoietica.

Vedere i riferimenti seguenti:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

CAMPIONI

I campioni di sangue venoso devono essere prelevati utilizzando provette sterili contenenti un sale EDTA come anticoagulante.

I campioni devono essere conservati a temperatura ambiente (18-25 °C) e non devono essere agitati. I campioni devono essere omogeneizzati agitandoli con delicatezza prima di prelevare il campione per il test.

I campioni devono essere analizzati entro 24 ore dalla venipuntura.

CONCENTRAZIONE

Vedere il Certificato di analisi specifico del lotto sul sito www.beckman.com.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza.
2. Non congelare.
3. Prima dell'uso, portare a temperatura ambiente (18-25 °C).
4. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce.
5. Evitare la contaminazione microbica dei reagenti, poiché potrebbe falsare i risultati.
6. Le soluzioni di anticorpi che contengono sodio azide (NaN_3) devono essere maneggiate con cura. Non ingerire ed evitare qualsiasi contatto con cute, mucose e occhi.

Inoltre, in un mezzo acido, il sodio azide può formare acido idrazoico, che è potenzialmente pericoloso. Per lo smaltimento, si consiglia di diluire il reagente in un grande volume di acqua prima di versarlo nell'impianto di scarico, in modo da evitare l'accumulo di sodio azide nelle tubazioni metalliche ed evitare il rischio di esplosione.

7. Tutti i campioni di sangue devono essere considerati potenzialmente infetti e devono essere maneggiati con cura (in particolare, indossando guanti, camici e occhiali protettivi).
8. Non pipettare mai usando la bocca ed evitare il contatto dei campioni con la pelle, le mucose e gli occhi.
9. Le provette per il sangue e i materiali monouso usati per la manipolazione devono essere smaltiti in appositi contenitori destinati all'inceneritore.
10. I reagenti e i rifiuti devono essere smaltiti conformemente alla normative locali.

CLASSIFICAZIONE DEI PERICOLI GHS

Classificato come non pericoloso

SDS La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile all'indirizzo beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Questo reagente deve essere mantenuto a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce, prima e dopo l'apertura della fiala.

Durata di conservazione della fiala chiusa secondo studi di stabilità: 1095 giorni.

Stabilità di una fiala aperta: il reagente è stabile per 180 giorni.

INDICI DI DETERIORAMENTO

Qualsiasi cambiamento dell'aspetto fisico dei reagenti può indicare un deterioramento. In tale caso, non utilizzare il reagente.

Per ulteriori informazioni, o nel caso in cui il prodotto ricevuto risulti danneggiato, rivolgersi all'assistenza clienti Beckman Coulter al numero 800-742-2345 (USA o Canada) o mettersi in contatto con il rappresentante locale Beckman Coulter.

SOMMARIO

Il conservante sodio azide può formare composti esplosivi nelle tubazioni metalliche di scarico. Vedere il bollettino NIOSH: Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Bollettino dell'Istituto Nazionale per la Sicurezza e la Salute sul Lavoro: Rischio di esplosione del sodio azide).
Per evitare il possibile accumulo di azidi, lavare i tubi di scarico con acqua dopo lo smaltimento del reagente puro. Il sodio azide deve essere eliminato conformemente alle normative locali applicabili.

COMPONENTI NECESSARI MA NON FORNITI CON IL KIT:

- Provette per campioni e materiale necessario per il campionamento.
- Pipette automatiche con punte monouso per 10, 100 e 500 µL.
- Provette per emolisi in plastica.
- Reagente per lisi degli eritrociti con fase di lavaggio successiva alla lisi. Ad esempio: VersaLyse (Rif. A09777).
- Reagente di fissaggio dei leucociti. Ad esempio: Soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800).
- Tampone (PBS: 0,01 M di fosfato di sodio, 0,145 M di cloruro di sodio, pH 7,2).
- Centrifugare.
- Agitatore automatico (tipo Vortex).
- Citometro a flusso.

PROCEDURA CON REAGENTE VERSALYSE

1. Aggiungere il volume appropriato (10 µL) dell'anticorpo coniugato IOTest specifico a ogni provetta di test.
2. Aggiungere 100 µL di campione del test in ogni provetta. Agitare delicatamente le provette con Vortex.
3. Incubare a temperatura ambiente (18-25 °C) per 15-20 minuti, al riparo dalla luce.
4. Quindi eseguire la lisi degli eritrociti. Consultare il foglietto illustrativo di VersaLyse (Rif. A09777) e seguire preferibilmente la procedura denominata "with concomitant fixation" (con fissazione concomitante), che consiste nell'aggiungere 1 mL della miscela fissante e lisante preparata estemporaneamente. Miscelare immediatamente con Vortex per un secondo e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente, al riparo dalla luce.
5. Centrifugare per 5 minuti a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Rimuovere il surnatante mediante aspirazione.
7. Risospendere il pellet cellulare utilizzando 3 mL di PBS.
8. Ripetere il passaggio 5.
9. Eliminare il surnatante tramite aspirazione e risospendere il pellet cellulare tramite:

- 0,5 mL o 1 mL di PBS più 0,1% di formaldeide, se i preparati devono essere conservati per meno di 24 ore. È possibile ottenere PBS con formaldeide allo 0,1% diluendo 12,5 µL di soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800) alla sua concentrazione di 10X in 1 mL di PBS.
- 0,5 mL o 1 mL di PBS senza formaldeide, se i preparati devono essere analizzati entro 2 ore.

Nota: in tutti i casi, mantenere i preparati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce.

VALORI ATTESI

Nei nostri laboratori, i campioni di sangue intero di donatori apparentemente sani 25 sono stati trattati utilizzando il reagente descritto sopra. I risultati ottenuti dal conteggio degli eventi positivi pertinenti a questo reagente sono riportati nella tabella di seguito:

Target positivo	Numero	Media (%)	SD	CV (%)
Linfociti	25	13,51	5,57	41,25

Tali valori sono forniti unicamente a scopo indicativo. Ogni laboratorio deve definire i propri valori attesi a partire dalla popolazione locale di donatori normali.

PRESTAZIONI

I dati delle prestazioni si ottengono adottando la procedura descritta in precedenza su campioni di sangue raccolti da meno di 24 ore in provette sterili con anticoagulante EDTA. L'analisi viene eseguita entro 2 ore dall'immunocolorazione.

SPECIFICITÀ

Il clone B9E9 (HRC20) è stato riconosciuto come specifico per l'antigene CD20 nel corso del 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5° workshop HLDA sugli antigeni di differenziazione dei leucociti umani), tenutosi a Boston, Stati Uniti, nel 1993 (Codice WS: CD20.12, Sezione B) (11).

PRECISIONE

I valori percentuali positivi sono stati determinati utilizzando sangue intero. Ogni campione è stato analizzato 4 volte, due volte al giorno per 1 giorno su 2 strumenti utilizzando 2 lotti di reagenti per anticorpi monoclonali CD20-Pacific Blue. Le misurazioni (% positive) sono state eseguite sul citometro a flusso Navios. L'analisi è stata condotta secondo il metodo EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Valutazione delle prestazioni di precisione dei metodi di misurazione quantitativa).

I nostri criteri di accettazione dipendono dal numero di eventi positivi misurati per ogni popolazione:

- Se evento positivo < 1.500, CV < 15%
- Se evento positivo > 1.500, CV < 10%

Linfociti							
Numero di eventi positivi (media) = 945							
	Inter-operatore	Inter-citometro	Intra-lotto	Inter-lotto	Inter-analisi	Intra-analisi	Totale
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
RISULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURATEZZA

L'accuratezza di CD20-Pacific Blue è stata valutata confrontando i risultati con un reagente di riferimento come predicato su una serie di campioni di sangue intero eseguiti su un citometro a flusso Navios. La distorsione tra il reagente in esame e quello di riferimento è stata determinata in base alla differenza tra i risultati del test. Se la distorsione rientra nell'intervallo di errore consentito o il valore p indica che non vi è una differenza significativa (> 0,05), allora i risultati dei test per i due reagenti sono considerati equivalenti.

I risultati ottenuti sono riepilogati nella tabella seguente:

Numero di donatori = 25				
Target positivo	Δ medio	Criteri cellulari Δ %	Valore p	RISULTATI
Linfociti	-0,65	<3	0,059	PASS

LIMITE DEL BIANCO E LIMITE DI RILEVAZIONE

È stato effettuato uno studio in conformità al documento EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Valutazione delle capacità di rilevamento delle procedure di misurazione del laboratorio clinico). Il limite di rilevazione (LoD) è la più bassa concentrazione di analita che può essere costantemente rilevata. I risultati ottenuti sono riepilogati nella seguente tabella:

Positive Target	Limite del bianco (cellula/µL)	Limite di rilevazione (cellula/µL)
Linfociti	2	3

LIMITAZIONI

1. La citometria a flusso può produrre falsi risultati se il citometro non viene allineato perfettamente, le perdite di fluorescenza non vengono correttamente compensate e le regioni non vengono posizionate attentamente.
2. È preferibile utilizzare una tecnica di lisi RBC con una fase di lavaggio, in quanto il reagente non è stato ottimizzato per tecniche di lisi "senza lavaggio".
3. Seguendo le procedure descritte nel foglietto illustrativo con le informazioni tecniche, compatibili con le buone pratiche di laboratorio, è possibile ottenere risultati accurati e riproducibili.
4. L'anticorpo coniugato di questo reagente è calibrato in modo da offrire un rapporto segnale specifico/segnale non specifico ottimale. Di conseguenza, è importante rispettare il rapporto fra volume di reagente e volume di campione in tutti i test.
5. In caso di iperleucocitosi, diluire il sangue in PBS in modo da ottenere un valore di circa 5 x 10^9 leucociti/L (12).
6. In alcuni stati patologici, come insufficienza renale grave o emoglobinopatie, la lisi degli eritrociti può risultare lenta, incompleta o persino impossibile. In questo caso, è consigliabile isolare le cellule mononucleate usando un gradiente di densità (ad esempio, Ficoll) prima della colorazione (13).
7. In pazienti trattati con terapie a base di anticorpi monoclonali anti-umani, il rilevamento di antigeni specifici può essere minore o assente a causa del blocco parziale o completo da parte dell'anticorpo terapeutico.
8. I risultati CD20-Pacific Blue devono essere interpretati alla luce del quadro clinico completo del paziente che comprende: sintomatologia, anamnesi clinica, risultati di altri test e altre informazioni appropriate.

Per esempi e riferimenti, vedere l'appendice.

MARCHI COMMERCIALI

Beckman Coulter, il logo stilizzato ed i marchi commerciali dei prodotti e servizi di Beckman Coulter menzionati qui, sono marchi commerciali o marchi commerciali registrati di Beckman Coulter, Inc., negli Stati Uniti e in altri paesi.

Pacific Blue è un marchio commerciale di Molecular Probes, Inc.

INFORMAZIONI AGGIUNTIVE

Per un paziente/utente/terza parte nell'Unione Europea e in paesi con identico regime normativo (Regolamento 2017/746/UE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro): se, durante l'utilizzo di questo dispositivo o in seguito al suo utilizzo, si fosse verificato un incidente grave, si prega di segnalarlo al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e all'autorità nazionale competente.

Il Summary of Safety and Performance (Sintesi relativa alla sicurezza e alle prestazioni) è disponibile nel database EUDAMED all'indirizzo: ec.europa.eu/tools/eudamed.

CRONOLOGIA REVISIONI

REVISIONE AD:	Data di pubblicazione: Ottobre 2019

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AW	Marzo 2022
Aggiornamenti conformi alla politica sull'etichettatura globale di Beckman Coulter e ai requisiti IVD-R (UE)2017/746:	
Sezioni aggiunte	Numero BSI 2797, Utente previsto, Rilevanza clinica, Concentrazione, Precisione, Accuratezza, Limite del bianco e limite di rilevazione, Informazioni aggiuntive, Cronologia revisioni.
Aggiunta di informazioni	Vedere le sezioni Limitazioni
Aggiornamenti testuali o tipografici	Vedere le sezioni Procedura, Prestazioni, Limitazioni, Avvertenze e precauzioni, Conservazione e stabilità.
Sezioni rimosse	Esempio di applicazioni cliniche, Reagenti, Riproducibilità intra-laboratorio, Linearità
Sezioni aggiornate	Uso previsto, Classificazione pericoli GHS, Indici di deterioramento, Procedura, Appendice.

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AX	Aprile 2023
Sezioni aggiornate	Aggiungere la lingua kazaka
Sezioni aggiornate	Conservazione e stabilità

Versione revisionata	AY
Data di revisione	Maggio 2024
Traduzioni aggiornate	**Rilevanza clinica:**
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Versione revisionata	AZ
Data di revisione	Luglio 2024
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Legenda dei simboli

Il Glossario dei simboli è disponibile all'indirizzo beckman.com/techdocs (documento numero B60062)

	Especificaciones
Especificidad	CD20
Clon	B9E9 (HRC20)
Hibridoma	X63 x balb/c
Inmunógeno	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Inmunoglobulina	IgG2a
Especie	Ratón
Purificación	Cromatografía de afinidad
Fluorocromo	Pacific Blue
Proporción molar	Pacific Blue / Ig: 5,30 - 6,50
Excitación λ	405 nm
Pico de emisión	455 nm
Tampón	PBS pH 7,2 más 2 mg/mL BSA y 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticuerpo conjugado CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Para uso diagnóstico *in vitro.*

USO PREVISTO

Este anticuerpo conjugado con un fluorocromo permite la identificación cualitativa y no automatizada de poblaciones de células que expresan el antígeno CD20 presente en muestras biológicas humanas mediante citometría de flujo (véase la sección «Muestras» más adelante).

PRINCIPIO

Esta prueba se basa en la capacidad de anticuerpos monoclonales específicos para unirse a los determinantes antigénicos expresados por leucocitos.

La tinción específica de los leucocitos se realiza incubando la muestra con el reactivo IOTest. A continuación, se eliminan los eritrocitos mediante lisis y los leucocitos, que no se ven afectados por este proceso, se analizan mediante citometría de flujo.

El citómetro de flujo mide la dispersión de la luz y la fluorescencia de las células. Permite acotar la población de interés dentro de una ventana electrónica, definida en un histograma que correlaciona la dispersión lateral de luz (Side Scatter o SS) con la dispersión frontal de la luz (Forward Scatter o FS). Se pueden utilizar otros histogramas que combinen dos de los distintos parámetros disponibles en el citómetro como apoyo para la fase de selección en función de la aplicación utilizada por el usuario.

La fluorescencia de las células acotadas se analiza para distinguir los eventos con tinción positiva de los eventos sin teñir. Los resultados se expresan como un porcentaje de eventos positivos en relación con todos los eventos adquiridos mediante la selección.

USUARIO PREVISTO

Este producto está diseñado para su uso en un laboratorio profesional.

IMPORTANCIA CLÍNICA

El reactivo CD20-Pacific Blue es un anticuerpo frente a CD20 utilizado para identificar y caracterizar células que expresan el antígeno CD20 mediante citometría de flujo. Este producto por sí solo no puede y no está diseñado para generar una conclusión diagnóstica.

Cuando se usa en combinación con otros marcadores, este producto puede utilizarse en una o más de las siguientes funciones:

- Ayudar al diagnóstico diferencial de pacientes con anomalías hematológicas en los que se sospecha la presencia de una neoplasia hematopoyética y realizar el seguimiento de pacientes con una neoplasia hematopoyética conocida.
- Ayudar en el pronóstico de pacientes que padecen una neoplasia hematopoyética.

Consulte las siguientes referencias:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MUESTRAS

La sangre venosa debe recogerse en tubos de muestra estériles que contengan una sal de EDTA como anticoagulante.

Las muestras deben mantenerse a temperatura ambiente (18-25 °C) y no agitarse. Antes de tomar la muestra de prueba, es necesario homogeneizarla mediante una agitación suave.

Las muestras deben analizarse en el plazo de 24 horas tras la venopunción.

CONCENTRACIÓN

Consulte el certificado de análisis específico del lote en www.beckman.com.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. No use el reactivo después de la fecha de caducidad.
2. No lo congele.
3. Déjelo a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su utilización.
4. Minimice el tiempo de exposición a la luz.
5. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, ya que esto puede provocar resultados falsos.
6. Las soluciones de anticuerpo que contienen azida sódica (NaN_3) deben manipularse con precaución. No ingerir y evitar todo contacto con la piel, la mucosa y los ojos.

Asimismo, en un medio ácido, la azida sódica puede formar ácido hidrazoico potencialmente peligroso. Cuando se vaya a desechar, se recomienda diluir el reactivo en abundante agua antes de verterlo en el sistema de drenaje para evitar la acumulación de azida sódica en tubos metálicos y el riesgo de explosión.

7. Todas las muestras sanguíneas deben considerarse posiblemente infecciosas y deben manipularse con cuidado (en especial, hay que llevar guantes, bata y gafas de protección).
8. No pipetee nunca con la boca y evite todo contacto de las muestras con la piel, las mucosas y los ojos.
9. Los tubos para sangre y el material desechable utilizados para la manipulación deben eliminarse en recipientes especiales previstos para la incineración.
10. Los reactivos y los desechos deben eliminarse de acuerdo con los requisitos locales.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico

SDS La ficha de datos de seguridad está disponible en beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Este reactivo debe conservarse entre 2 y 8 °C en un lugar protegido de la luz, antes y después de abrir el vial.

Vida útil del vial cerrado según estudio de estabilidad: 1095 días.

Estabilidad del vial abierto: el reactivo es estable durante 180 días.

SIGNOS DE DETERIORO

Cualquier cambio en el aspecto físico de los reactivos puede indicar un deterioro, por lo que no debe utilizarse el reactivo.

Para obtener información adicional o si el producto está dañado, llame al servicio de atención al cliente de Beckman Coulter en el 800-742-2345 (EE. UU. o Canadá) o póngase en contacto con su representante local de Beckman Coulter.

CONTENIDO

El conservante de azida sódica puede formar compuestos explosivos en las tuberías metálicas del desagüe. Véase el NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Boletín de NIOSH: Peligro de explosión con la azida) (16/8/76).
Para evitar la posible acumulación de compuestos de azida, limpie con agua los tubos de desagüe tras la eliminación del reactivo sin diluir. Para desechar la azida sódica deben seguirse las normativas locales adecuadas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS CON EL KIT:

- Tubos y material de muestras necesarios para el muestreo.
- Pipetas automáticas para puntas desechables de 10, 100 y 500 µL.
- Tubos de hemólisis de plástico.
- Reactivo de lisis de glóbulos rojos con estado de lavado después de la lisis. Por ejemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reactivo de fijación de leucocitos. Por ejemplo: Solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800).
- Tampón (PBS: 0,01 M de fosfato de sodio; 0,145 M de cloruro sódico; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de flujo.

PROCEDIMIENTO CON EL REACTIVO VERSALYSE

1. Añada el volumen adecuado de 10 µL de anticuerpo conjugado de IOTest específico a cada tubo de ensayo.
2. Añadir 100 µL de la muestra problema a cada tubo. Mezclar suavemente los tubos en el Vórtex.
3. Incube entre 15 y 20 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C) y protegido de la luz.
4. A continuación, lleve a cabo la lisis de los eritrocitos. Consulte la ficha técnica VersaLyse (Ref. A09777) y siga preferiblemente el procedimiento denominado «with conconmitant fixation» (con fijación concomitante), que consiste en añadir 1 mL de la mezcla «Fijar y lisar» preparada extemporáneamente. Agite inmediatamente con vórtex durante un segundo e incube durante 10 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Elimine el sobrenadante mediante aspiración.
7. Vuelva a suspender el sedimento celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita el paso 5.
9. Retire el sobrenadante mediante aspiración y vuelva a suspender el sedimento celular con:

- 0,5 mL o 1 mL de PBS más el 0,1 % de formaldehído si las preparaciones deben conservarse menos de 24 horas. (Se puede obtener un 0,1 % de PBS de formaldehído mediante la dilución de 12,5 µL de la solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800) a su concentración de 10x en 1 mL de PBS).
- 0,5 mL o 1 mL de PBS sin formaldehído si las preparaciones deben analizarse en un plazo de 2 horas.

Nota: En todos los casos, mantenga las preparaciones protegidas de la luz entre 2 y 8 °C.

VALORES ESPERADOS

Se trataron en nuestros laboratorios las muestras de sangre total de 25 donantes aparentemente sanos utilizando el reactivo descrito. Los resultados obtenidos del recuento de eventos de interés positivos con este reactivo se proporcionan en la siguiente tabla:

Objetivo positivo	Cantidad	Media (%)	DE	CV (%)
Linfocitos	25	13,51	5,57	41,25

Estos valores tienen carácter meramente ilustrativo. Cada laboratorio deberá establecer sus valores esperados según la población local de donantes normales.

RENDIMIENTO

Los datos de rendimiento se obtuvieron utilizando el procedimiento descrito anteriormente en muestras de sangre con menos de 24 horas desde su extracción en tubos estériles con sal de EDTA como anticoagulante. El análisis se realizó en el plazo de 2 horas desde su inmunotinción.

ESPECIFICIDAD

El clon B9E9 (HRC20) se asignó al CD20 en el transcurso del 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5º Taller de HLDA sobre Antígenos de Diferenciación de los Leucocitos Humanos), Boston, EE. UU., en 1993 (WS Código: CD20.12, Sección B) (11).

PRECISIÓN

Los valores porcentuales positivos se determinaron utilizando sangre total. Cada muestra se procesó 4 veces, dos veces al día durante 1 día en 2 instrumentos utilizando 2 lotes de reactivos de anticuerpo monoclonal CD20-Pacific Blue. Las mediciones (% de positivos) se realizaron en un citómetro de flujo Navios. El análisis se realizó según el método EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluación del rendimiento de la precisión de los métodos de medición cuantitativos).

Nuestro criterio de aceptación depende del número de eventos positivos determinado en cada población:

- Si el número de eventos positivos es < 1500, CV < 15 %
- Si el número de eventos positivos es > 1500, CV < 10 %

Linfocitos							
Número de eventos positivos (media) = 945							
	Entre operadores	Entre citómetros	Intralote	Entre lotes	Entre análisis	Intraanálisis	Total
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUD

La exactitud de CD20-Pacific Blue se evaluó comparando los resultados con un reactivo de referencia como valor previsto en un conjunto de muestras de sangre total procesadas en un citómetro de flujo Navios. El sesgo entre la muestra problema y el reactivo de referencia se determinó en función de la diferencia entre los resultados de la prueba. Si el sesgo está dentro del rango de error permitido o el valor p indica una diferencia no significativa (> 0,05), entonces los resultados de la prueba de los dos reactivos se consideran equivalentes.

Los resultados obtenidos se resumen en la tabla que se muestra a continuación:

Número de donantes = 25				
Objetivo positivo	Δ medio	Criterios de Δ % de células	Valor p	RESULTADOS
Linfocitos	-0,65	<3	0,059	PASS

LÍMITE DE BLANCO Y LÍMITE DE DETECCIÓN

Se realizó un estudio conforme a la norma EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluación de la capacidad de detección para procedimientos de medición en laboratorios clínicos). El límite de detección (LD) es la concentración de analito más baja que se puede detectar sistemáticamente. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla siguiente:

Positive Target	Límite de Blanco (células/µL)	Límite de Detección (células/µL)
Linfocitos	2	3

LIMITACIONES

1. La citometría de flujo puede producir resultados falsos si el citómetro no se ha alineado a la perfección, si las fugas de fluorescencia no se han compensado correctamente y si las regiones no se han colocado con atención.
2. Es preferible utilizar una técnica de lisis de ERIT con un paso de lavado, ya que este reactivo no se ha optimizado para técnicas de lisis «sin lavado».
3. Se obtendrán resultados exactos y reproducibles siempre que los procedimientos utilizados sean conformes al folleto técnico y compatibles con las prácticas correctas de laboratorio.
4. El anticuerpo conjugado de este reactivo se calibra para ofrecer la mejor relación de señal específica/señal no específica. Por lo tanto, es importante cumplir la relación de volumen del reactivo/volumen de la muestra en cada prueba.
5. En caso de hiperleucocitosis, diluya la sangre en PBS para obtener un valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucocitos/L (12).
6. En algunos estados de la enfermedad, como el fallo renal grave o las hemoglobinopatías, la lisis de los eritrocitos puede ser lenta, incompleta o incluso imposible. En este caso, se recomienda aislar las células mononucleares por gradiente de densidad (por ejemplo, Ficoll) antes de la tinción (13).
7. En pacientes tratados con terapias con anticuerpos monoclonales anti-humanos, la detección de los antígenos diana específicos puede estar disminuida o ausente debido al bloqueo parcial o completo por el anticuerpo terapéutico.
8. Los resultados de CD20-Pacific Blue deben interpretarse a la luz del cuadro clínico total del paciente, incluidos: síntomas, historial clínico, datos de pruebas adicionales y demás información pertinente.

Consulte el anexo para ver ejemplos y referencias.

MARCAS COMERCIALES

Beckman Coulter, el logotipo estilizado y las marcas de productos y servicios de Beckman Coulter aquí mencionadas son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de Beckman Coulter, Inc. en Estados Unidos y otros países.

Pacific Blue es una marca comercial de Molecular Probes, Inc.

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para pacientes/usuarios/terceros de la Unión Europea y países con el mismo régimen normativo (Reglamento 2017/746/UE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro); si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produjese un incidente grave, informe al fabricante y/o a su representante autorizado y a la autoridad nacional.

El Summary of Safety and Performance (Resumen de seguridad y rendimiento) está disponible en la base de datos EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIAL DE REVISIONES

REVISIÓN AD:	Fecha de publicación: Octubre de 2019

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AW	Marzo de 2022
Actualizaciones para cumplir con la política de etiquetado global de Beckman Coulter y conforme a los requisitos del Reglamento (UE)2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro:	
Se han añadido secciones	Número BSI 2797, Usuario previsto, Rendimiento clínico, Concentración, Precisión, Exactitud, Límite de blanco y límite de detección, Información adicional, Historial de revisiones.
Información añadida	Véase la sección Limitaciones
Actualizaciones de redacción y tipográficas	Véanse las secciones Procedimiento, Rendimiento, Limitaciones, Advertencias y precauciones, Conservación y Estabilidad.
Se han eliminado secciones	Ejemplo de aplicaciones clínicas, Reactivos, Reproducibilidad intralaboratorio, Linealidad
Se han actualizado las secciones	Uso previsto, Clasificación de material peligroso según el SGA, Signos de deterioro, Procedimiento, Anexo.

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AX	Abril 2023
Se han actualizado las secciones	Añadir kazajo
Se han actualizado las secciones	Conservación y Estabilidad

Versión revisada	AY
Fecha de revisión	Mayo 2024
Traducciones actualizadas	**Relevancia clínica:**
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Versión revisada	AZ
Fecha de revisión	Julio 2024
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Lista de símbolos

El glosario de símbolos está disponible en beckman.com/techdocs (número de documento B60062)

	Especificações
Especificidade	CD20
Clone	B9E9 (HRC20)
Hibridoma	X63 x balb/c
Imunogénio	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Imunoglobulina	IgG2a
Espécie	Rato
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	Pacific Blue
Razão molar	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
λ de excitação	405 nm
Pico de emissão	455 nm
Tampão	PBS com pH 7,2 mais 2 mg/mL de ASB e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Para fins de diagnóstico *in vitro.*

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Este anticorpo conjugado com fluorocromos permite a identificação qualitativa e não automatizada de populações de células que expressam o antigénio CD20 presente em amostras biológicas humanas utilizando citometria de fluxo (consulte a secção «Amostras» abaixo).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade de os anticorpos monoclonais específicos se ligarem aos determinantes antigénicos expressados por leucócitos.

A coloração específica dos leucócitos é realizada incubando a amostra com o reagente IOTest. Em seguida, os glóbulos vermelhos são removidos por lise e os leucócitos, que não são afetados por este processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citómetro de fluxo mede a difusão de luz e a fluorescência das células. Permite delimitar a população de interesse dentro da janela eletrónica definida num histograma que correlaciona a difusão ortogonal de luz (dispersão lateral ou DL) e a difusão de luz em ângulos estreitos (dispersão frontal ou DF). É possível utilizar outros histogramas que combinam dois dos vários parâmetros disponíveis no citómetro como suporte na fase de delimitação, consoante a aplicação escolhida pelo utilizador.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são apresentados como uma percentagem de eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos por meio da delimitação.

UTILIZADOR PREVISTO

Este produto destina-se a ser utilizado por profissionais de laboratório.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD20-Pacific Blue é um anticorpo de CD20 utilizado para identificar e caracterizar células que expressam o antigénio CD20 por citometria de fluxo. Este produto, por si só, não pode e não se destina a gerar qualquer conclusão de diagnóstico.

Quando utilizado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser utilizado numa ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com alterações hematológicas, suspeitos de padecerem de neoplasia hematopoiética, e para monitorizar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.
- Para auxiliar no prognóstico de pacientes com neoplasia hematopoiética.

Consulte as seguintes referências:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

AMOSTRAS

O sangue venoso deve ser recolhido utilizando tubos estéreis que contenham um sal de AEDT como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas à temperatura ambiente (18–25 °C) e não devem ser agitadas. As amostras devem ser homogeneizadas, agitando-as levemente, antes de a amostra de teste ser retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a punção venosa.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o Certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não utilize o reagente depois da data de validade.
2. Não congele.
3. Aguarde que fique à temperatura ambiente (18–25 °C) antes da utilização.
4. Evite a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, caso contrário, poderão ocorrer falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos que contêm azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não ingira e evite qualquer contacto com a pele, as mucosas e os olhos.

Adicionalmente, num meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazóico potencialmente perigoso. Se a sua eliminação for necessária, é recomendável que o reagente seja diluído num grande volume de água antes de ser vertido no sistema de drenagem, para evitar a acumulação de azida sódica em tubos metálicos e prevenir o risco de explosão.

7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas potencialmente infeciosas e manuseadas com cuidado (em especial, devem ser usados óculos, batas e luvas de proteção).
8. Nunca pipete com a boca e evite qualquer contacto das amostras com a pele, as mucosas e os olhos.
9. Os tubos de sangue e os materiais descartáveis utilizados para manuseamento devem ser eliminados em recipientes específicos destinados a incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Ficha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido a uma temperatura entre 2 e 8 °C e protegido da luz, antes e após a abertura do frasco.

Vida útil em frasco fechado para estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente permanece estável durante 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DEGRADAÇÃO

Uma alteração no aspeto físico dos reagentes poderá indicar deterioração, pelo que o reagente não deve ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, contacte a assistência ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou contacte o seu representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em sistemas de canalizações metálicas. Consulte o boletim do NIOSH: Explosive Azide Hazards (Perigos de explosão da azida) (16-8-76).
Para evitar a possível acumulação de compostos de azida, enxague as condutas de resíduos com água após a eliminação do reagente não diluído. A eliminação de azida sódica deve ser efetuada de acordo com os regulamentos locais adequados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostras e materiais necessários para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 10, 100 e 500 µL.
- Tubos de plástico para hemólise.
- Reagente de lise de glóbulos vermelhos com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Tampão (PBS: 0,01 M de fosfato de sódio; 0,145 M de cloreto de sódio; pH 7,2).
- Centrifugue.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM REAGENTE VERSALYSE

1. Adicione o volume adequado de 10 µL de anticorpo conjugado com IOTest específico a cada tubo de teste.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos à temperatura ambiente (18–25 °C), protegido da luz.
4. Em seguida, realize a lise dos glóbulos vermelhos. Consulte o folheto VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento denominado «with concomitant fixation» (com fixação concomitante) que consiste em adicionar 1 mL da mistura de «Fixação e lise» preparada extemporaneamente. Agite imediatamente em vórtex durante um segundo e incube durante 10 minutos à temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g à temperatura ambiente.
6. Remova o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular com 3 mL de PBS.
8. Repita o passo 5.
9. Remova o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular com o seguinte:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído se as preparações se destinarem a ser mantidas por menos de 24 horas. (É possível obter PBS com 0,1% de formaldeído diluindo 12,5 µL de solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na respetiva concentração de 10X em 1 mL de SSTF).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído se as preparações se destinarem a ser analisadas no prazo de 2 horas.

Nota: Mantenha sempre as preparações entre 2 e 8 °C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Nos nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 dadores aparentemente saudáveis foram tratadas utilizando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos de interesse positivos com este reagente são fornecidos na tabela abaixo:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP	CV (%)
Linfócitos	25	13,51	5,57	41,25

Estes valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores esperados a partir da população local de dadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos utilizando o procedimento descrito acima em amostras de sangue colhidas há menos de 24 horas em tubos de amostra estéreis com sal de AEDT como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

O clone B9E9 (HRC20) foi atribuído a CD20 durante o 5.º HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Workshop HLDA sobre antigénios de diferenciação de leucócitos humanos), em Boston, EUA, em 1993 (Código WS: CD20.12, Secção B) (11).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados utilizando sangue total. Cada amostra foi executada 4 vezes, duas vezes por dia para 1 dia em 2 instrumentos, utilizando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD20-Pacific Blue. As medições (% de positivos) foram realizadas no citómetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação do desempenho de precisão dos métodos de medição quantitativos).

Os nossos critérios de aceitação estão dependentes do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Em caso de eventos positivos <1500, CV <15%
- Em caso de eventos positivos >1500, CV <10%

Linfócitos							
Número de eventos positivos (média) = 945							
	Interoperador	Intercitómetro	Intralote	Interlote	Interprocessamento	Intraprocessamento	Total
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD20-Pacific Blue foi avaliada através da comparação dos resultados com um reagente de referência como equivalente, num conjunto de amostras de sangue total executadas num citómetro de fluxo Navios. A tendência entre o teste e o reagente de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados do teste. Se a tendência se encontrar dentro do intervalo de erro permitido ou o valor p não indicar uma diferença significativa (>0,05), os resultados do teste de ambos os reagentes são considerados equivalentes.

Os resultados obtidos encontram-se resumidos na tabela abaixo:

Número de dadores = 25				
Alvo positivo	Δ médio	Critérios celulares de % Δ	Valor p	RESULTADOS
Linfócitos	-0,65	<3	0,059	PASS

LIMITE DO BRANCO E LIMITE DE DETEÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com o CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de deteção para procedimentos de medição em laboratórios clínicos). O Limite de deteção (LD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detetada consistentemente. Os resultados obtidos são resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite do branco (célula/µL)	Limite de deteção (célula/µL)
Linfócitos	2	3

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo poderá produzir falsos resultados se o citómetro não tiver sido perfeitamente alinhado, se as fugas de fluorescência não tiverem sido compensadas corretamente e se as regiões não tiverem sido cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível utilizar uma técnica de lise de RBC com um passo de lavagem, uma vez que este reagente não foi otimizado para técnicas de lise «sem lavagem».
3. Serão obtidos resultados exatos e reprodutíveis desde que os procedimentos utilizados estejam de acordo com o folheto técnico e cumpram as boas práticas laboratoriais.
4. O anticorpo conjugado deste reagente é calibrado para proporcionar a melhor relação entre sinal específico/sinal não específico. Por conseguinte, é importante respeitar a relação entre volume do reagente/volume da amostra em todos os testes.
5. No caso de uma hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (12).
6. Em determinados estados de doença, como insuficiência renal grave ou hemoglobinopatias, a lise de glóbulos vermelhos poderá ser lenta, incompleta ou até impossível. Neste caso, recomenda-se isolar células mononucleadas utilizando um gradiente de densidade (por exemplo, Ficoll) antes da coloração (13).
7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a deteção dos antigénios específicos visados pode ser reduzida ou inexistente devido ao bloqueio parcial ou total causado pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de CD20-Pacific Blue devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, historial clínico, dados de testes adicionais e outras informações relevantes.

Consulte o Anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logótipo estilizado e as marcas de produtos e serviços da Beckman Coulter mencionadas neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e noutros países.

Pacific Blue é uma marca comercial da Molecular Probes, Inc.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/utilizador/terceiro na União Europeia e em países com um regime regulamentar idêntico (Regulamento 2017/746/UE relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico in vitro): se, durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, ocorrer um incidente grave, comunique-o ao fabricante e/ou ao respetivo representante autorizado e à autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível a partir da base de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÕES

REVISÃO AD:	Data de lançamento: Outubro de 2019

REVISÃO	**Data de lançamento**
AW	Março de 2022
Atualizações no sentido de cumprir a política de rotulagem da Beckman Coulter Global e os requisitos do regulamento IVD-R (UE)2017/746:	
Secções adicionadas	Número BSI 2797, Utilizador previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite do branco e limite de deteção, Informações adicionais, Histórico de revisões.
Informações adicionadas	Consulte as secções Limitações
Atualizações à fraseologia ou tipografia	Consulte as secções Procedimento, Realização, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Secções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Secções atualizadas	Utilização prevista, Classificação de perigo GHS, Indícios de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de lançamento**
AX	Abril 2023
Secções atualizadas	Adicionar cazaque
Secções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revista	AY
Data de revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Versão revista	AZ
Data de revisão	Julho 2024
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (número do documento B60062)

	Specifikationer
Specificitet	CD20
Klon	B9E9 (HRC20)
Hybridom	X63 x balb/c
Immunogen	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Immunoglobulin	IgG2a
Arter	Mus
Oprensning	Affinitets-kromatografi
Fluorokrom	Pacific Blue
Molarforhold	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
λ-magnetisering	405 nm
Emissionsspids	455 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA og 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugeret antistof CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Til *in vitro* diagnostisk brug.

TILSIGTET BRUG

Dette fluorokromkonjugerede antistof muliggør, ved hjælp af flowcytometri, kvalitativ og ikke-automatiseret identifikation af cellepopulationer, der udtrykker CD20-antigenet, som findes i humane biologiske prøver (se afsnittet ”Prøver” forneden).

PRINCIP

Denne test er baseret på specifikke monoklonale antistoffers evne til at binde sig til de antigene determinanter, der udtrykkes af leukocytter.

Den specifikke farvning af leukocytterne udføres ved inkubation af prøven med IOTest-reagenset. Erytrocytterne fjernes derefter med lysering, og leukocytterne, som ikke påvirkes af denne proces, analyseres ved flowcytometri.

Flowcytometeret måler lysets diffusion og cellernes fluorescens. Dette gør det muligt at afgrænse interessepopulationen inden for det elektroniske vindue, der defineres på et histogram, som korrelerer den ortogonale diffusion af lys (Side Scatter (sidespredning) eller SS) og diffusionen af lys med en snæver vinkel (Forward Scatter (forlæns spredning) eller FS). Andre histogrammer, der kombinerer to af de forskellige parametre, der er til rådighed på cytometret, kan benyttes som støtte under gating-trinnet, afhængig af den af brugeren valgte applikation.

De afgrænsede cellers fluorescens analyseres med henblik på at kunne skelne de positive farvningshændelser fra de ufarvede. Resultaterne udtrykkes som en procentdel af positive hændelser i relation til alle de hændelser, som erhverves ved gatingen.

TILSIGTET BRUGER

Dette produkt er beregnet til professionel brug i laboratoriet.

KLINISK RELEVANS

CD20-Pacific Blue er et CD20-antistof, der anvendes til at identificere og karakterisere celler, der udtrykker CD20-antigenet ved flowcytometri. Dette produkt, anvendt alene, kan ikke og er ikke beregnet til at generere nogen diagnostisk konklusion.

Anvendt i kombination med andre markører kan dette produkt benyttes i en eller flere af følgende funktioner:

- Til hjælp ved differentialdiagnosticering af hæmatologisk unormale patienter ved formodning om hæmatopoietisk neoplasme, samt til overvågning af patienter med kendt hæmatopoietisk neoplasme.
- Til hjælp ved prognosticering af patienter med hæmatologisk neoplasi.

Se følgende referencer:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PRØVER

Prøver af venøst blod skal udtages i sterile prøverør, der indeholder et EDTA-salt som antikoagulant.

Prøverne skal opbevares ved stuetemperatur (18-25 °C) og må ikke rystes. Prøverne skal homogeniseres ved forsigtig omrysten før udtagning af analyseprøven.

Prøverne skal behandles inden for 24 timer efter venepunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analysecertifikat på www.beckman.com.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Brug ikke reagenset efter udløbsdatoen.
2. Må ikke nedfryses.
3. Bring det til stuetemperatur (18-25 °C) før brug.
4. Minimér eksponering for lys.
5. Undgå mikrobiel kontaminering reagenserne, idet det kan føre til fejlagtige resultater.
6. Antistofopløsninger, der indeholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsigtighed. Må ikke indtages, og undgå enhver kontakt med hud, slimhinder og øjne.

I syremedier kan natriumazid desuden danne den potentielt farlige hydrogenazid. Hvis det skal bortskaffes, anbefales det, at reagenset fortyndes i en stor mængde vand, inden det hældes i kloakken, for at undgå ophobning af natriumazid i metalrør og dermed forebygge risikoen for eksplosioner.

7. Alle blodprøver skal anses som potentielt smittefarlige og skal behandles forsigtigt (husk især at bruge beskyttelseshandsker, forklæde og beskyttelsesbriller).
8. Sug aldrig med munden, og undgå at prøverne kommer i kontakt med hud, slimhinde og øjne.
9. Blodprøvetagningsrør og engangsmateriale, der bruges i forbindelse med håndteringen, skal bortskaffes i ad hoc-beholdere, der er beregnet til bortskaffelse.
10. Reagenser og affald skal bortskaffes i henhold til gældende lokale krav.

GHS FAREKLASSIFIKATION

Ikke klassificeret som farlig

SDS Sikkerhedsdatablad er tilgængelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Dette reagens skal opbevares ved mellem 2 og 8 °C og beskyttes mod lys før og efter, at hætteglasset er åbnet.

Stabilitet i lukket hætteglas: 1095 dage.

Stabilitet i åbent hætteglas: Reagenset er stabilt i 180 dage.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Ændringer i den måde, reagenset ser ud på, kan være tegn på forringelse, og reagenset må ikke anvendes.

Ring til Beckman Coulters kundeservice på 800-742-2345 (USA eller Canada), eller kontakt den lokale Beckman Coulter-repræsentant for at få flere oplysninger, eller hvis du modtager et beskadiget produkt.

INDHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive forbindelser i drænledninger af metal. Se NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (Fare for eksplosiv azid). For at undgå en eventuel akkumulering af azidforbindelser, skylles afløbsrør med vand efter bortskaffelse af ufortyndet reagens. Natriumazid skal bortskaffes i overensstemmelse med relevante lokale forskrifter.

PÅKRÆVEDE MATERIALER, SOM IKKE LEVERES MED SÆT:

- Prøvetagningsrør og materiale, der er påkrævet til prøvetagning.
- Automatiske pipetter med engangsspidser til 10, 100 og 500 µL.
- Plasthæmolyserør.
- Reagens til lysering af erytrocytter med vaskefase efter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens til leukocytfiksering. For eksempel: IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumphosphat; 0,145 M natriumchlorid; pH 7,2).
- Centrifuge
- Automatisk omrører (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MED VERSALYSE-REAGENS

1. Tilsæt det relevante volumen 10 µL af specifikt IOTest-konjugeret ansistof i hvert testrør.
2. Tilføj 100 µL af prøven til hvert prøverør. Vortex rørene forsigtigt.
3. Inkubér i 15 til 20 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C), beskyttet mod lys.
4. Udfør derefter analyse af de røde celler. Se brochure fra VersaLyse (ref. A09777) og følg den foretrukne procedure kaldet “med sideløbende fiksering”, som består i at tilsætte 1 mL af blandingen “Fix-and-Lyse”, der fremstilles samtidig. Vortex øjeblikkeligt i et sekund, og inkubér i 10 minutter ved stuetemperatur, beskyttet imod lys.
5. Centrifugér i 5 minutter ved 150 x g ved stuetemperatur.
6. Fjern supernatanten via aspiration.
7. Resuspender cellepelleten med 3 mL PBS.
8. Gentag trin 5.
9. Fjern supernatanten vha. aspiration, og resuspender cellepelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyd, hvis præparaterne skal opbevares mindre end 24 timer. (En formaldehyd-PBS på 0,1% kan opnås ved fortynding af 12,5 µL af IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800) ved dets 10X koncentration i 1 mL af PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uden formaldehyd, hvis præparaterne skal analyseres inden for 2 timer.

Bemærk: Præparaterne skal under alle omstændigheder beskyttes mod lys og opbevares ved 2-8 °C.

FORVENTEDE VÆRDIER

I vores laboratorier blev fuldblodsprøver, fra 25 umiddelbart raske donorer, behandlet med det ovenfor beskrevne reagens. De opnåede resultater for optælling af relevante positive hændelser med dette reagens er angivet i nedenstående tabel:

Positivt mål	Antal	Middelværdi (%)	SD	CV (%)
Lymfocytter	25	13,51	5,57	41,25

Disse værdier er beregnet til kun at være repræsentative. Hvert laboratorium bør fastlægge deres egne forventede værdier fra den lokale population af raske donorer.

YDEEVNE

Præstationsdata opnås, når proceduren beskrevet foroven, anvendes på mindre end 24 timer gamle blodprøver, tidligere indsamlet i sterile prøverør med EDTA-salt som antikoagulant. Analyse skal foretages senest 2 timer efter immunfarvning.

SPECIFICITET

Klonen B9E9 (HRC20) blev tildelt CD20 under den 5. HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (HLDA-workshop om differentiering af humane leukocyt-antigener), der blev afholdt i Boston, USA, i 1993 (WS-kode: CD20.12, afsnit B) (11).

PRÆCISION

De procentvise positive værdier blev bestemt ved anvendelse af fuldblod. Hver prøve blev kørt 4 gange, to gange dagligt i 1 dag, på 2 instrumenter med CD20-Pacific Blue monoklonale antistofreagenser fra 2 lots. Målingerne (% positiv) blev foretaget på Navios-flowcytometer. Analysen blev udført i henhold til CLSI-protokollen EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering af kvantitative målemetoders præcisionsevne).

Vores acceptkriterier afhænger af antallet af positive hændelser målt for hver population:

- Hvis positiv hændelse < 1500, CV < 15%
- Hvis positiv hændelse > 1500, CV < 10%

Lymfocytter							
Antal positive hændelser (middelværdi) = 945							
	Inter-operatør	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-kørsel	Intra-kørsel	I alt
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØJAGTIGHED

Nøjagtigheden af CD20-Pacific Blue blev vurderet ved sammenligning af resultaterne med et referencereagens som prædikat på et sæt fuldblodsprøver, kørt på et Navios-flowcytometer. Bias mellem test- og referencereagens blev bestemt på basis af forskellen mellem testresultaterne. Hvis bias er inden for det tilladte fejlområde, eller hvis p-værdien ikke indikerer nogen signifikant forskel (> 0,05), anses testresultaterne for de to reagenser for at være ækvivalente.

De opnåede resultater opsummeres i nedenstående tabel:

Antal donorer = 25				
Positivt mål	Middelværdi Δ	Δ % cellekriterie	p-værdi	RESULTATER
Lymfocytter	-0,65	<3	0,059	PASS

GRÆNSE FOR BLANK OG DETEKTIONSGRÆNSE

En undersøgelse blev gennemført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering af detektionsevne for kliniske laboratoriemåleprocedurer). Detektionsgrænsen (LOD) er den laveste koncentration af analyt, der kan detekteres konsekvent. De opnåede resultater er opsummeret i nedenstående tabel:

Positive Target	Grænse for blank (celle/µL)	Detektionsgrænse (celle/µL)
Lymfocytter	2	3

BEGRÆNSNINGER

1. Flowcytometri kan give forkerte resultater, hvis cytometeret ikke er perfekt justeret, hvis der ikke er blevet kompenseret korrekt for fluorescenslækager, eller hvis områderne ikke er blevet placeret omhyggeligt.
2. Det anbefales at anvende en RBC-lyseringsteknik med et vasketrin, da dette reagens ikke er blevet optimeret til ”no wash”-lyseringsteknikker.
3. Der genereres nøjagtige og reproducerbare resultater, så længe de anvendte procedurer er i overensstemmelse med de tekniske anvisninger på indlæsgssedlen og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerede antistof for dette reagens kalibreres for at kunne tilbyde det bedste specifikke forhold mellem signal/ikke-specifikt signal. Det er derfor vigtigt at overholde forholdet mellem reagensvolumen og prøvevolumen i hver enkelt test.
5. I tilfælde af en hyperleukocytose skal blodet fortyndes i PBS for at opnå en værdi på ca. 5×10^9 leukocytter/L (12).
6. I visse sygdomstilstande, f.eks. alvorligt nyresvigt eller hæmoglobinopatier, kan lysering af røde celler være langsom, ufuldstændig eller endog umulig. I dette tilfælde anbefales det at isolere enkernede celler ved hjælp af en densitetsgradient (f.eks. Ficoll) forud for farvningen (13).
7. Hos patienter behandlet med anti-humane monoklonale antistofterapier, kan påvisning af de respektive specifikke antigener være formindsket eller fraværende, på grund af delvis eller fuldstændig blokering af det terapeutiske antistof.
8. CD20-Pacific Blue-resultaterne bør fortolkes i lyset af patientens samlede kliniske præsentation, herunder symptomer, sygehistorie, data fra andre tests samt anden relevant information.

Se Tillæg for eksempler og referencer.

VAREMÆRKER

Beckman Coulter, det stiliserede logo og de Beckman Coulter produkt- og servicemærker, der er omtalt heri, er varemærker eller registrerede varemærker tilhørende Beckman Coulter, Inc. i USA og andre lande.

Pacific Blue er et varemærke tilhørende Molecular Probes, Inc.

YDERLIGERE OPLYSNINGER

For en patient/bruger/tredjepart i Den Europæiske Union og i lande med identisk lovgivningsmæssig reguleringsordning (forordning 2017/746/EU om medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik); hvis der er sket en alvorlig hændelse under brugen af dette apparat eller som et resultat af dens anvendelse, skal du rapportere den til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og til din nationale myndighed.

Summary of Safety and Performance (Sammenfatning af Sikkerhed og Ydeevne) er tilgængeligt fra EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVISION AD:	Frigivelsesdato: Oktober 2019

REVISION	**Udgivelsesdato**
AW	Marts 2022
Opdateringer for at sikre overholdelse af Beckman Coulters globale mærkningspolitik og overensstemmelse med IVD-R (EU)2017/746:	
Tilføjede afsnit	BSI 2797-nummer, Tilsigtet bruger, Klinisk relevans, Koncentration, Præcision, Nøjagtighed, Grænse for blank og detektionsgrænse, Yderligere oplysninger, Revisionshistorik.
Tilføjet information	Se afsnittet Begrænsninger
Opdatering af formulering eller typografi	Se afsnittene Procedure, Præstation, Begrænsninger, Advarsel og forholdsregler, Opbevaring og Holdbarhed.
Fjernede afsnit	Eksempel på klinisk anvendelse, Reagenser, Intra-laboratorie reproducerbarhed, Linearitet
Opdaterede afsnit	Tilsigtet brug, GHS-fareklassifikation, Tegn på forringelse, Procedure, Tillæg.

REVISION	**Udgivelsesdato**
AX	April 2023
Opdaterede afsnit	Kasakhisk er blevet tilføjet
Opdaterede afsnit	Opbevaring og holdbarhed

Revideret version	AY
Revisionsdato	Maj 2024
Opdaterede oversættelser	**Klinisk relevans:**
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Revideret version	AZ
Revisionsdato	Juli 2024
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Symbolnøgle

En ordliste over symboler findes på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Specifikationer
Specificitet	CD20
Klon	B9E9 (HRC20)
Hybridom	X63 x balb/c
Immunogen	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Immunglobulin	IgG2a
Arter	Mus
Rening	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	Pacific Blue
Molförhållande	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
λ excitering	405 nm
Emissionstopp	455 nm
Buffert	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA och 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugerad antikropp CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

För *in vitro* diagnostiskt bruk.

AVSEDD ANVÄNDNING

Denna fluorokromkonjugerade antikropp möjliggör kvalitativ och ej automatiserad identifiering av cellpopulationer som uttrycker CD20-antigenet som förekommer i humana biologiska prover med användning av flödescytometri (se avsnittet ”Prov” nedan).

PRINCIP

Detta test är baserat på förmågan hos specifika monoklonala antikroppar att bindas till de antigena determinanter som uttrycks av leukocyter.

Specifik färgning av leukocyterna utförs genom att inkubera provet med IOTest-reagenset. De röda cellerna avlägsnas sedan via lysering och leukocyterna, som inte påverkas av denna process, analyseras med flödescytometri.

Flödescytometern mäter ljusdiffusion och fluorescens av celler. Det möjliggör avgränsningen av populationen av intresse i det elektroniska fönstret definierat i ett histogram, som korrelerar den rätvinkliga ljusspridningen (sidospridning eller SS) och spridningen av snävt ljus (framåtspridning eller FS). Andra histogram som kombinerar två av de tillgängliga parametrarna på cytometern, kan användas som stöd i gating-skedet beroende på tillämpningen som användaren har valt.

Fluorescensen av de begränsade cellerna analyseras för att skilja ut positivt färgade händelser från ofärgade händelser. Resultaten uttrycks som en procentandel av positiva händelser i relation till alla händelser som samlats in med hjälp av gating.

AVSEDD ANVÄNDARE

Denna produkt är avsedd för yrkesmässig laboratorieanvändning.

KLINISK RELEVANS

CD20-Pacific Blue är en CD20-antikropp som används för att identifiera och egenskapsbestämma celler som uttrycker CD20-antigenen med hjälp av flödescytometri. Denna produkt kan inte och är inte avsedd för att ta fram en diagnostisk slutsats.

Vid användning i kombination med andra markörer kan denna produkt användas i en eller flera av följande funktioner:

- Som hjälp vid differentialdiagnostisering av hematologiskt onormala patienter som misstänks ha en hematopoetisk tumör eller för övervakning av patienter med känd hematopoetisk tumör.
- Som hjälp vid prognostisering av patienter med blodsjukdomar.

Se följande referenser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROV

Venblod måste tas i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant.

Proverna bör förvaras i rumstemperatur (18–25 °C) och inte skakas. Prover bör vara homogeniserade genom försiktig omrörning innan provet tas.

Proverna måste analyseras inom 24 timmar efter venpunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analyscertifikat på www.beckman.com.

VARNING OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Använd inte reagenset efter utgångsdatumet.
2. Får ej frysas.
3. Låt den komma till rumstemperatur (18–25 °C) före användning.
4. Minimera exponering för ljus.
5. Undvik mikrobiell kontaminering av reagens. Det kan leda till felaktiga resultat.
6. Antikroppslösningar som innehåller natriumazid (NaN_3) bör hanteras med försiktighet. Inta inte internt och undvik all kontakt med hud, slemhinnor och ögon.

I syramedium kan natriumazid dessutom bilda potentiellt farlig hydrazinsyra. Om reagensen måste kasseras rekommenderar vi att den späds ut med en stor volym vatten innan den hälls ut i avloppssystemet för att undvika explosionsrisk och att natriumazid ackumuleras i metallrören.

7. Alla blodprover måste betraktas som potentiellt smittsamma och ska hanteras med försiktighet (i synnerhet vad gäller användande av skyddshandskar, rockar och skyddsglasögon).
8. Pipettera aldrig med munnen och se till att proverna inte kommer i kontakt med hud, slemhinnor och ögon.
9. Blodprovsrör och engångsmaterial som används för hantering ska kasseras i särskilda behållare avsedda för förbränning.
10. Reagens och avfall ska kasseras i enlighet med lokala krav.

RISKKLASSIFICERING ENLIGT GHS

Ej klassat som farligt

SDS Säkerhetsdatablad finns tillgängligt på beckmancoulter.com/techdocs

FÖRVARING OCH STABILITET

Detta reagens måste hållas mellan 2 och 8 °C och skyddas mot ljus, före och efter att ampullen öppnats.

Hållbarhet för sluten ampull per stabilitetsstudie: 1095 dagar.

Stabilitet i öppen ampull: reagenset är stabilt i 180 dagar.

TECKEN PÅ FÖRSÄMRING

Alla förändringar i reagensens fysiska utseende kan indikera försämring och att reagenset inte ska användas.

För mer information eller om en skadad produkt tas emot, ring Beckman Coulter kundtjänst på 800-742-2345 (USA eller Kanada) eller kontakta din lokala Beckman Coulter-representant.

INNEHÅLL

Konserveringsmedlet natriumazid kan bilda explosiva föreningar i avloppsledningar av metall. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (76-8-16) (Bulletin från den amerikanska motsvarigheten till arbetsmiljöverket: Fara för azidexplosion).
För att undvika risken för ansamling av azidföreningar ska avloppsrören spolas igenom med vatten efter att outspädda reagenser har kasserats. Kassering av natriumazid måste ske i enlighet med tillämpliga lokala regler.

MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE FÖLJER MED KITET:

- Provrör och nödvändigt material för provtagning.
- Automatiska pipetter med engångsspetsar för 10, 100 och 500 µL.
- Hemolysrör av plast.
- Lyseringsreagens för röda blodceller med tvätt efter lyseringen. Till exempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens för leukocytfixering. Till exempel: IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800).
- Buffert (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Centrifugera.
- Automatisk omrörare (Vortex-typ).
- Flödescytometer.

PROCEDUR MED VERSALYSE-REAGENS

1. Tillsätt lämplig volym 10 µL av specifikt IOTest-konjugerad antikropp till varje provrör.
2. Tillsätt 100 µL av testprovet i varje provrör. Vortexblanda provrören försiktigt.
3. Inkubera i 15 till 20 minuter vid rumstemperatur (18–25 °C) och skyddat mot ljus.
4. Utför sedan lysering av de röda blodkropparna. Se bladet VersaLyse (ref. A09777) och följ företrädesvis proceduren som benämns ”med samtidig fixering”, som består av att tillsätta 1 mL av ”Fixera-och-lysera”-blandningen som beretts strax innan. Vortexblanda omedelbart i en sekund och inkubera i 10 minuter vid rumstemperatur och skyddat mot ljus.
5. Centrifugera i 5 minuter vid 150 x g vid rumstemperatur.
6. Avlägsna ytskiktet genom aspiration.
7. Återsuspendera cellpelleten med 3 mL PBS.
8. Upprepa steg 5.
9. Avlägsna ytskiktet genom aspiration och återsuspendera cellpelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL av PBS plus 0,1 % formaldehyd om preparaten är avsedda att förvaras mindre än 24 timmar. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan erhållas genom spädning av 12,5 µL av IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800) i dess 10X-koncentration i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS utan formaldehyd, om preparaten är avsedda att analyseras inom 2 timmar.

Anmärkning: Behåll i samtliga fall beredningarna vid 2 till 8 °C och skyddade från ljus.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

I våra laboratorier behandlades helblodsprov från 25 till synes friska donatorer med den reagens som beskrivs ovan. Erhållna resultat för antalet positiva händelser av intresse med denna reagens anges i tabellen nedan:

Positivt mål	Nummer	Medelvärde (%)	SD	CV (%)
Lymfocyter	25	13,51	5,57	41,25

Dessa värden är endast avsedda att vara representativa. Varje laboratorium ska fastställa sina egna förväntade värden utifrån den lokala populationen med normala donatorer.

PRESTANDA

Prestandadata erhålls med proceduren som beskrivs ovan på blodprov som är färskare än 24 timmar som tagits i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant. Analys utförs inom 2 timmar efter immunfärgning.

SPECIFICITET

B9E9 (HRC20) klon tilldelades CD20 under 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5:e HLDA workshop om differentieringsantigener på humana leukocyter) som hölls i Boston, USA, år 1993 (WS kod: CD20.12, sektion B) (11).

PRECISION

Procentvärdet för positiva värden bestämdes med helblod. Varje prov kördes 4 gånger, två gånger om dagen under 1 dag på 2 instrument med 2 loter CD20-Pacific Blue monoklonala antikroppsreagens. Mätningar (% positiva) utfördes på Navios flödescytometer. Analys utfördes baserat på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Utvärdering av precisionsprestanda för kvantitativa mätmetoder).

Våra acceptanskriterier beror på antalet positiva händelser som uppmäts för varje population:

- Om positiv händelse < 1 500, CV < 15 %
- Om positiv händelse > 1 500, CV < 10 %

Lymfocyter							
Antal positiva händelse (medelvärde) = 945							
	Mellan operatörer	Mellan cytometrar	Inom lot	Mellan loter	Mellan körningar	Inom körning	Totalt
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
RESULTAT	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NOGGRANNHET

Noggrannheten hos CD20-Pacific Blue bedömdes genom att jämföra resultaten med en referensreagens som predikat på en uppsättning helblodsprov körda på en Navios flödescytometer. Bias mellan test- och referensreagens bestämdes baserat på skillnaden mellan testresultat. Om bias ligger inom tillåtet felintervall eller p-värdet anger att det inte finns någon signifikant skillnad (> 0,05), så anses testresultaten för de två reagenserna vara likvärdiga.

Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell nedan:

Antal donatorer = 25				
Positivt mål	Medelvärde Δ	Δ % cellkriterier	p-värde	RESULTAT
Lymfocyter	-0,65	<3	0,059	PASS

BLANKGRÄNS OCH DETEKTIONSGRÄNS

En studie genomfördes i enlighet med CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Utvärdering av detekteringsförmåga för kliniska laboratoriemätningsprocedurer). Detektionsgräns (LoD) är den lägsta analytkoncentrationen som konsekvent kan detekteras. Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell:

Positive Target	Blankgräns (cell/µL)	Detektionsgräns (cell/µL)
Lymfocyter	2	3

BEGRÄNSNINGAR

1. Flödescytometri kan ge falska resultat om cytometern inte har justerats perfekt, om fluorescensläckor inte har kompenserats korrekt och om regionerna inte har placerats noggrant.
2. Det är bäst att använda en RBC-lyseringsteknik med ett tvättsteg, eftersom denna reagens inte optimerats för lyseringstekniker ”utan tvätt”.
3. Noggranna och reproducerbara resultat kommer att erhållas så länge de förfaranden som används är i enlighet med den tekniska bipacksedeln och förenliga med god laboratoriepraxis.
4. Den konjugerade antikroppen för detta reagens är kalibrerad för att erbjuda det bästa specifik signal/icke-specifik signal-förhållandet. Därför är det viktigt att följa reagensvolym/provvolym-förhållandet i varje test.
5. Vid hyperleukocytos, späd blodet i PBS för att erhålla ett värde på cirka 5 x 10^9 leukocyter/L (12).
6. Vid vissa sjukdomstillstånd, såsom vid mycket svår njursvikt eller hemoglobinopatier, kan lysering av röda celler vara långsam, ofullständig eller till och med omöjlig. I detta fall är det rekommenderat att isolera mononukleära celler med användning av en densitetsgradient (till exempel Ficoll) innan färgningen (13).
7. Hos patienter som behandlas med anti-human monoklonala antikroppar kan detektering av de specifika eftersökta antigenerna minska eller utebli på grund av delvis eller fullständig blockering från behandlingens antikropp.
8. Resultat för CD20-Pacific Blue bör tolkas med tanke på patientens totala kliniska bild, inklusive: symptom, anamnes, information från övriga test och annan lämplig information.

Se bilagan för exempel och referenser.

VARUMÄRKEN

Beckman Coulter, den stiliserade logotypen och Beckman Coulters produkt- och tjänstmärken som nämns häri är varumärken eller registrerade varumärken som tillhör Beckman Coulter, Inc. i USA eller andra länder.

Pacific Blue är ett varumärke som tillhör Molecular Probes, Inc.

YTTERLIGARE INFORMATION

För en patient/användare/tredje part inom EU och i länder med identiskt regelsystem (förordning 2017/746/EU om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik); om, vid användning av denna enhet eller som ett resultat av dess användning, en allvarlig incident inträffat ska den rapporteras till tillverkaren och/eller till dess auktoriserade representant och till den nationella myndigheten.

Summary of Safety and Performance (Sammanfattning av säkerhet och prestanda) finns tillgänglig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVIDERING AD:	Publiceringsdatum: Oktober 2019

REVISION	**Publiceringsdatum**
AW	Mars 2022
Uppdateringar för att uppfylla Beckman Coulter globala etiketteringspolicy och kraven i IVD-R (EU)2017/746:	
Tillagda avsnitt	BSI 2797 Nummer, Avsedd användare, Klinisk relevans, Koncentration, Precision, Noggrannhet, Blankgräns och detektionsgräns, Ytterligare information, Revisionshistorik.
Tillagd information	Se avsnittet Begränsningar
Ordval eller typografiska uppdateringar	Se avsnitten Procedur, Prestanda, Begränsningar, Varningar och försiktighetsåtgärder, Förvaring och stabilitet.
Borttagna avsnitt	Exempel på kliniska tillämpningar, Reagens, Reproducerbarhet inom laboratorium, Linearitet
Uppdaterade avsnitt	Avsedd användning, Faroklassificering enligt GHS, Tecken på försämring, Procedur, Bilaga.

REVISION	**Publiceringsdatum**
AX	April 2023
Uppdaterade avsnitt	Lägg till kazakiska
Uppdaterade avsnitt	Förvaring och hållbarhet

Reviderad version	AY
Datum för revidering	Maj 2024
Uppdaterade översättningar	**Klinisk relevans:**
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Reviderad version	AZ
Datum för revidering	Juli 2024
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Teckenförklaring för symboler

Ordlista för symboler finns på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Spesifikasjoner
Spesifisitet	CD20
Klon	B9E9 (HRC20)
Hybridom	X63 x balb/c
Immunogen	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Immunoglobulin	IgG2a
Art	Mus
Rensing	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	Pacific Blue
Molart forhold	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
λ-eksitasjon	405 nm
Strålingstopp	455 nm
Buffer	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/mL BSA og 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugert antistoff CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

For *in vitro*-diagnose.

TILTENKT BRUK

Dette fluorokromkonjugerte antistoffet muliggjør kvalitativ og ikke-automatisert identifisering av cellepopulasjoner som uttrykker CD20-antigenet som finnes i humane biologiske prøver, ved hjelp av flowcytometri (se avsnittet «Prøver» nedenfor).

PRINSIPP

Denne testen er basert på evnen spesifikke monoklonale antistoffer har til å binde seg til antigendeterminantene uttrykt av leukocytter.

Spesifikk farging av leukocyttene utføres ved inkubering av prøven med IOTest-reagenset. De røde cellene fjernes deretter ved lysering, og leukocyttene, som er uberørt av denne prosessen, analyseres ved flowcytometri.

Flytcytometeret måler lysdiffusjon og cellenes fluorescens. Det gjør det mulig å avgrense populasjonen som skal undersøkes innenfor det elektroniske vinduet som er definert på et histogram, og som korrelerer den ortogonale lysspredningen (sidespredning eller SS) og spredningen av trangvinklet lys (foroverpredning eller FS). Andre histogrammer som kombinerer to av de ulike parametrene på cytometeret kan brukes som støtte ved gatingstadiet, avhengig av programmet som velges av brukeren.

Fluorescensen i de avgrensede cellene analyseres for å skille de positivt fargede hendelsene fra de ufargede. Resultatene er uttrykt som en prosentandel positive hendelser i forhold til alle hendelser innhentet ved gatingen.

TILTENKT BRUKER

Dette produktet skal brukes av profesjonelle brukere på laboratorier.

KLINISK RELEVANS

CD20-Pacific Blue er et CD20-antistoff som brukes til å identifisere og karakterisere celler som uttrykker CD20-antigenet, ved hjelp av flowcytometri. Dette produktet alene kan ikke og er ikke ment å generere en diagnostisk konklusjon.

Når dette produktet brukes i kombinasjon med andre markører, kan det brukes i én eller flere av følgende funksjoner:

- For å bistå ved differensialdiagnostisering av hematologisk unormale pasienter med mistenkt hematopoietisk neoplasi og følge opp pasienter med kjent hematopoietisk neoplasi.
- For å bidra ved prognostisering av pasienter med hematopoietisk neoplasi.

Se følgende referanser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PRØVER

Veneblod må tas ved bruk av sterile rør som inneholder EDTA-salt som antikoagulant.

Prøvene skal oppbevares i romtemperatur (18–25 °C) og ikke ristes. Prøvene skal homogeniseres ved forsiktig risting før du tar testprøven.

Prøvene må analyseres innen 24 timer etter venepunksjon.

KONSENTRASJON

Se lot-spesifikt analysesertifikat på www.beckman.com.

ADVARSEL OG FORHOLDSREGLER

1. Reagenset må ikke brukes etter utløpsdatoen.
2. Må ikke fryses.
3. La det nå romtemperatur (18–25 °C) før bruk.
4. Bør ikke utsettes for lys.
5. Unngå mikrobiell kontaminering av reagensene, ellers kan det gi feil resultater.
6. Antistoffløsninger som inneholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsiktighet. Ikke til innvortes bruk. Unngå all kontakt med hud, slimhinner og øyne.

Videre kan natriumazid i et syremedium danne potensielt farlig hydrogenazid. Hvis reagenset må kasseres, anbefales det at det fortynnes i store mengder vann før det tømmes i avløpssystemet, slik at man unngår opphopning av natriumazid i metallrør, og for å hindre eksplosjonsfare.

7. Alle blodprøver må betraktes som potensielt smittefarlige og må håndteres med forsiktighet (gjelder spesielt: bruk av vernehansker, laboratoriefrakk og vernebriller).
8. Pipetter aldri med munnen, og unngå at prøvene kommer i kontakt med huden, slimhinnene og øynene.
9. Blodprøverør og engangsmateriale som brukes til håndtering, skal kastes i beholdere beregnet for forbrenning.
10. Reagenser og avfall skal kastes i henhold til lokale krav.

GHS-FAREKLASSIFISERING

Ikke klassifisert som farlig

SDS Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPPBEVARING OG STABILITET

Dette reagenset må oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttes mot lys før og etter at flasken er åpnet.

Holdbarhet i lukket flaske ifølge stabilitetsstudie: 1095 dager.

Stabilitet for åpnet flaske: reagenset er stabilt i 180 dager.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Endringer i reagensenes fysiske utseende kan være tegn på redusert kvalitet, og slike reagenser skal ikke brukes.

For ytterligere informasjon eller hvis produktet mottas skadet, kan Beckman Coulter kundeservice 800-742-2345 (USA og Canada) eller den lokale Beckman Coulter-representanten kontaktes.

INNHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive blandinger i metalliske avløpsrør. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Fare for eksplosive azider) (16.8.76). For å unngå mulig opphopning av azidforbindelser må avløpsrør skylles med vann etter avhending av ufortynnet reagens. Avfallshåndtering av natriumazid må skje i samsvar med relevante lokale forskrifter.

NØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE FØLGER MED SETTET:

- Prøvetakingsrør og materiale nødvendig for prøvetaking.
- Automatiske pipetter med engangsspisser til 10, 100 og 500 µL.
- Hemolyserør av plast.
- Rød cellelyseringsreagens med vasketrinn etter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Leukocytt-fikseringsreagens. For eksempel: IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Sentrifuger.
- Automatisk omrører (vortekstype).
- Flytcytometer.

PROSEDYRE MED VERSALYSE-REAGENS

1. Tilsett riktig volum 10 µL spesifikt konjugert IOTest-antistoff i hvert testrør.
2. Tilsett 100 µL av testprøven i hvert rør. Vorteks rørene forsiktig.
3. Inkuber i 15 til 20 minutter ved romtemperatur (18–25 °C), beskyttet mot lys.
4. Utfør deretter lysering av de røde blodcellene. Les brosjyren VersaLyse (ref. A09777), og prøv å følge prosedyren kalt «with concomitant fixation» (med samtidig fiksering) som består av å tilsette 1 mL av «fikserings- og lyseringsblandingen» som klargjøres prompte. Bland på vorteksmikser umiddelbart i ett sekund, og inkuber i 10 minutter ved romtemperatur, beskyttet mot lys.
5. Sentrifugeres i 5 minutter ved 150 x g ved romtemperatur.
6. Fjern supernatanten ved aspirasjon.
7. Resuspender cellepelleten i 3 mL PBS.
8. Gjenta trinn 5.
9. Fjern supernatanten ved aspirasjon, og resuspender cellepelleten ved hjelp av:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS pluss 0,1 % formaldehyd hvis preparatene skal oppbevares i mindre enn 24 timer. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan oppnås ved å fortynne 12,5 µL IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800) ved 10X konsentrasjon i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uten formaldehyd hvis preparatene skal analyseres innen 2 timer.

Merk: I alle tilfeller skal preparatene oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttet mot lys.

FORVENTEDE VERDIER

I våre laboratorier ble fullblodsprøvene fra 25 tilsynelatende friske donorer behandlet med reagenset beskrevet over. Resultatene som ble oppnådd for telling av de aktuelle positive hendelsene med dette reagenset, er angitt i tabellen nedenfor:

Positivt mål	Nummer	Gjennomsnitt (%)	SD	VK (%)
Lymfocytter	25	13,51	5,57	41,25

Disse verdiene er bare representative. Hvert enkelt laboratorium bør fastsette egne forventede verdier ut fra den lokale populasjon av normaldonorer.

YTELSE

Ytelsesdata er fremskaffet ved bruk av prosedyren som er beskrevet ovenfor på mindre enn 24 timer gamle blodprøver som tidligere er samlet i sterile rør med EDTA-salt som antikoagulant. Analysen utføres innen 2 timer etter immunfarging.

SPESIFISITET

B9E9 (HRC20)-klonen ble tildelt til CD20 under 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5. HLDA-workshop for humane leukocyttdifferenseringsantigener), avholdt i Boston i USA i 1993 (WS-kode: CD20.12, avsnitt B) (11).

PRESISJON

Prosentandelen positive verdier ble bestemt med fullblod. Hver prøve ble kjørt 4 ganger, to ganger om dagen i 1 dag på 2 instrumenter med 2 partier CD20-Pacific Blue monoklonale antistoffreagenser. Målinger (% positiv) ble foretatt på et Navios-flytcytometer. Analysen ble utført basert på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering av presisjonsytelse ved kvantitative målemetoder).

Våre godkjenningskriterier er avhengige av antall positive hendelser som måles for hver populasjon:

- Hvis positiv hendelse < 1 500, VK < 15 %
- Hvis positiv hendelse > 1 500, VK < 10 %

Lymfocytter							
Antall positive hendelser (gjennomsnitt) = 945							
	Mellom operatører	Mellom cytometere	Innenfor samme lot	Mellom loter	Mellom kjøringer	Innenfor samme kjøring	Total
VK (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØYAKTIGHET

Nøyaktigheten til CD20-Pacific Blue ble vurdert ved å sammenligne resultatene med et referansereagens som predikatet på et sett med fullblodsprøver kjørt på et Navios-flytcytometer. Skjevheten mellom test- og referansereagens ble bestemt basert på forskjellen mellom testresultater. Hvis skjevheten er innenfor det tillatte feilområdet eller p-verdien angir ingen vesentlig forskjell (> 0,05), anses testresultatene for de to reagensene som tilsvarende.

De oppnådde resultatene er oppsummert i den følgende tabellen:

Antall donorer = 25				
Positivt mål	Gjennomsnittlig Δ	Δ % cellekriterier	p-verdi	RESULTATER
Lymfocytter	-0,65	<3	0,059	PASS

GRENSE FOR BLANKPRØVE OG DETEKSJONSGRENSE

En studie ble gjennomført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering av deteksjonsevne for måleprosedyrer på kliniske laboratorier). Deteksjonsgrensen (LOD) er den laveste analyttkonsentrasjonen som kan detekteres konsekvent. Resultatene som ble oppnådd, er oppsummert i tabellen nedenfor:

Positive Target	Grense for blankprøve (celle/µL)	Deteksjonsgrense (celle/µL)
Lymfocytter	2	3

BEGRENSNINGER

1. Flowcytometri kan gi falske resultater hvis cytometeret ikke har blitt justert nøyaktig, hvis fluorescenslekkasjer ikke er kompensert riktig, og hvis regionene ikke er nøye plassert.
2. Det er best å bruke en RBC-lyseringsteknikk med et vasketrinn, ettersom dette reagenset ikke er optimert for lyseringsteknikker uten vask.
3. Nøyaktige og reproduserbare resultater vil oppnås så lenge de anvendte prosedyrene er i samsvar med det tekniske pakningsvedlegget og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerte antistoffet til dette reagenset er kalibrert for å oppnå best mulig forhold mellom spesifikt signal og ikke-spesifikt signal. Derfor er det viktig å overholde forholdet mellom reagensvolum og prøvevolum i hver test.
5. Ved hyperleukocytose fortynnes blodet i PBS for å oppnå en verdi på omtrent 5 x 10^9 leukocytter/L (12).
6. Ved visse sykdomstilstander, for eksempel alvorlig nyresvikt eller hemoglobinopatier, kan lyseringen av røde celler være langsom, ufullstendig eller til og med umulig. I dette tilfellet anbefales det å isolere mononukleærerte celler ved hjelp av en densitetsgradient (for eksempel Ficoll) før farging (13).
7. Hos pasienter som behandles med antihumane, monoklonale antistoffbehandlinger, kan deteksjon av bestemte målantigener reduseres eller være fraværende på grunn av delvis eller fullstendig blokkering av det terapeutiske antistoffet.
8. CD20-Pacific Blue-resultatene skal tolkes i lys av den totale kliniske vurderingen av pasienten, inkludert: symptomer, klinisk historie, data fra flere tester og annen aktuell informasjon.

Se vedlegget for eksempler og referanser.

VAREMERKER

Beckman Coulter, den stiliserte logoen og vare- og servicemerkene til Beckman Coulter som er omtalt her, er varemerker eller registrerte varemerker som tilhører Beckman Coulter, Inc. i USA og andre land.

Pacific Blue er et varemerke for Molecular Probes, Inc.

TILLEGGSINFORMASJON

For pasient/bruker/tredjepart i EU og land med identisk regelverk (EUs forordning nr. 2017/746 om in vitro-diagnostisk medisinsk utstyr); hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av dette utstyret, eller som et resultat av bruken, skal dette rapporteres til produsenten og/eller den autoriserte representanten samt til nasjonal myndighet.

Summary of Safety and Performance (Sammendrag av sikkerhet og ytelse) er tilgjengelig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISJONSHISTORIE

REVISJON AD:	Utgivelsesdato: Oktober 2019

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AW	Mars 2022
Oppdateringer skal overholde de globale merkingsreglene til Beckman Coulter og være i samsvar med krav iht. IVD-R (EU)2017/746:	
Innsatte avsnitt	BSI 2797-nummer, Tiltenkt bruker, Klinisk relevans, Konsentrasjon, Presisjon, Nøyaktighet, Grense for blankprøve og deteksjonsgrense, Tilleggsinformasjon, Revisjonshistorie.
Innsatt informasjon	Se avsnittet Begrensninger
Oppdatering av formulering eller typografi	Se avsnittene Prosedyre, Ytelse, Begrensninger, Advarsler og forholdsregler, Oppbevaring og stabilitet.
Fjernede avsnitt	Eksempel på kliniske bruksområder, Reagenser, Reproduserbarhet innenfor samme laboratorium, Linearitet
Oppdaterte avsnitt	Tiltenkt bruk, GHS-fareklassifisering, Tegn på nedbryting, Prosedyre, Vedlegg.

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AX	april 2023
Oppdaterte avsnitt	Lagt til kasakhisk
Oppdaterte avsnitt	Oppbevaring og stabilitet

Revidert versjon	AY
Revisjonsdato	mai 2024
Oppdatert oversettelser	**Klinisk relevans:**
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Revidert versjon	AZ
Revisjonsdato	juli 2024
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Symbolforklaring

Symbolordliste er tilgjengelig på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Tekniset tiedot
Spesifisyys	CD20
Klooni	B9E9 (HRC20)
Hybridooma	X63 x balb/c
Immunogeeni	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Immunoglobuliini	IgG2a
Lajit	Hiiri
Puhdistus	Affiniteettikromatografia
Fluorokromi	Pacific Blue
Moolisuhde	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
λ-viritys	405 nm
Säteilyhuippu	455 nm
Puskuri	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA:ta ja 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugoitunut vasta-aine CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 testiä; 0,5 ml, 10 µl / test

Diagnostiseen *in vitro* -käyttöön.

KÄYTTÖTARKOITUS

Tämän fluorokromikonjugoidun vasta-aineen avulla voidaan kvalitatiivisesti ja muilla kuin automaattisilla tavoilla tunnistaa solupopulaatioita, jotka ilmentävät ihmisen biologisissa näytteissä esiintyvää CD20-antigeeniä virtaussytometriaa käyttämällä (katso jäljempää kohta Näytteet).

PERIAATE

Testi perustuu tiettyjen monoklonaalisten vasta-aineiden kykyyn sitoutua leukosyyttien ilmentämiin antigeenideterminantteihin.

Leukosyyttien spesifinen värjäys tehdään inkuboimalla näyte IOTest-reagenssilla. Punasolut poistetaan sen jälkeen lyysaamalla, ja leukosyytit, joihin tämä prosessi ei vaikuta, analysoidaan virtaussytometrialla.

Virtaussytometri mittaa valonhajontaa ja solujen fluoresenssia. Sen avulla on mahdollista rajata kiinnostuksen kohteena olevan populaatio pylväskaavioon määritetyssä elektronisessa ikkunassa, jossa ortogonaalinen valonhajonta (sivusironta eli SS) vastaa kapean kulman valonhajontaa (eteenpäinsironta eli FS). Muita sytometrin kahta eri parametria yhdistäviä pylväskaavioita voidaan käyttää rajaamisvaiheen tukena käyttäjän valitseman sovelluksen mukaan.

Rajattujen solujen fluoresenssi analysoidaan, jotta positiivisesti värjäytyneet tapahtumat voidaan erottaa värjäytymättömistä tapahtumista. Tulokset ilmaistaan positiivisten tapahtumien prosenttimääränä suhteessa kaikkiin rajauksella kerättyihin tapahtumiin.

AIOTTU KÄYTTÄJÄ

Tämä tuote on tarkoitettu ammattimaiseen laboratoriokäyttöön.

KLIININEN RELEVANSSI

CD20-Pacific Blue on CD20-vasta-aine, jonka avulla tunnistetaan ja karakterisoidaan CD20-antigeenia ilmentävät solut virtaussytometrialla. Tämä tuote yksinään ei voi eikä sen ole tarkoitus tuottaa mitään diagnostisia johtopäätöksiä.

Kun sitä käytetään yhdessä muiden merkkiaineiden kanssa, tuotetta voidaan käyttää yhteen tai useaan seuraavista toiminnoista:

- Erotusdiagnostiikan tueksi hematologisesti poikkeavilla potilailla, joilla epäillään olevan hematopoieettisia kasvaimia, ja sellaisten potilaiden seurantaan, joilla tiedetään olevan hematopoieettisia kasvaimia.
- Avuksi ennusteen tekemiseen potilaista, joilla on hematopoieettinen neoplasma.

Katso seuraavat viitteet:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

NÄYTTEET

Laskimoverinäytteet on otettava käyttäen steriilejä putkia, joissa on antikoagulanttina EDTA-suolaa.

Näytteet on säilytettävä huoneenlämmössä (18–25 °C), eikä niitä saa ravistaa. Näytteet on homogenoitava sekoittamalla hellävaraisesti ennen testinäytteen ottamista.

Näytteet on analysoitava 24 tunnin sisällä laskimopunktiosta.

PITOISUUS

Katso eräkohtainen analyysitodistus osoitteesta www.beckman.com.

VAROITUS JA VAROTOIMET

1. Älä käytä reagenssia viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
2. Ei saa jäätyä.
3. Anna sen lämmetä huoneenlämpöiseksi (18–25 °C) ennen käyttöä.
4. Minimoi altistuminen valolle.
5. Vältä reagenssien mikrobikontaminaatiota, muutoin vaarana ovat virheelliset tulokset.
6. Natriumatsidia (NaN_3) sisältäviä vasta-aineliuoksia tulee käsitellä varoen. Sitä ei saa niellä, ja sen joutumista iholle, limakalvoille ja silmiin on vältettävä.

Lisäksi happamassa liuoksessa natriumatsidi voi muodostaa mahdollisesti vaarallista hydratsoehappoa. Jos reagenssi on hävitettävä, se on suositeltavaa laimentaa suureen vesimäärään ennen sen kaatamista viemäriin, jotta natriumatsidia ei pääse kertymään metalliputkiin ja vältetään räjähdysvaara.

7. Kaikkia verinäytteitä on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina, ja niitä on käsiteltävä varovaisesti (erityisesti on muistettava suojakäsineiden, -pukujen ja -lasien käyttö).
8. Älä koskaan pipetoi suulla ja vältä näytteiden kaikkea kosketusta ihoon, limakalvoihin ja silmiin.
9. Veriputket ja käsittelyyn käytetyt kertakäyttöiset materiaalit on hävitettävä poltettaviksi tarkoitetuissa ad hoc -astioissa.
10. Reagenssit ja jätteet on hävitettävä paikallisten vaatimusten mukaisesti.

GHS-VAARALUOKITUS

Ei luokiteltu vaaralliseksi

SDS Käyttöturvallisuustiedote on saatavana osoitteessa beckmancoulter.com/techdocs

SÄILYTYS JA STABILITEETTI

Tätä reagensseja on säilytettävä 2–8 °C:n lämpötilassa ja suojattava valolta ennen ampullin avaamista ja sen jälkeen.

Suljetun ampullin säilyvyysaika stabiliteettitutkimuksen mukaan: 1095 päivää.

Avatun ampullin stabiliteetti: reagenssi on stabiili 180 päivän ajan.

MERKIT PILAANTUMISESTA

Mahdolliset muutokset reagenssin fyysisessä ulkonäössä voivat viitata huonontumiseen, eikä reagenssia saa tällöin käyttää.

Jos tarvitset lisätietoja tai jos sait vahingoittuneen tuotteen, soita Beckman Coulter -asiakaspalveluun numeroon 800 742 2345 (USA ja Kanada) tai ota yhteyttä Beckman Coulterin paikalliseen edustajaan.

SISÄLTÖ

Natriumatsidi-säilöntäaine saattaa muodostaa räjähtäviä yhdisteitä metallisissa viemäriputkissa. Katso NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.08.1976). Huuhtele viemäriputket vedellä laimentamattoman reagenssin poiston jälkeen mahdollisen atsidiyhdisteiden kerääntymisen estämiseksi. Hävitä natriumatsidi asianmukaisten paikallismääräysten mukaisesti.

TARVITTAVAT MATERIAALIT, JOITA EI TOIMITETA SARJAN MUKANA:

- Näytteenottoon tarvittavat näytteenottoputket ja materiaalit.
- Automaattiset pipetit, joissa kertakäyttökärjet 10, 100 ja 500 µl.
- Muoviset hemolyysiputket.
- Punasolujen lyysireagenssi ja pesuvaihe lyysin jälkeen. Esimerkiksi: VersaLyse (viite A09777).
- Leukosyyttien kiinnitysreagenssi. Esimerkiksi: IOTest 3 -fiksatiiviliuos (viite A07800).
- Puskuri (PBS: 0,01 M natriumfosfaattia, 0,145 M natriumkloridia, pH 7,2).
- Sentrifugi.
- Automaattinen sekoitin (Vortex-/pyörretyyppinen).
- Virtaussytometri.

VERSALYSE-REAGENSSIN MENETTELY

1. Lisää asianmukainen tilavuus 10 µl spesifiä IOTest-konjugoitua vasta-ainetta jokaiseen testiputkeen.
2. Lisää 100 µl testinäytettä kuhunkin putkeen. Sekoita putkia vorteksilla varovaisesti.
3. Inkuboi 15–20 minuuttia huoneenlämmössä (18–25 °C), valolta suojattuna.
4. Tee sitten punasolujen lyysaus. Tutustu VersaLyse (viite A09777) -selosteeseen ja noudata mieluiten menettelyä, jonka nimessä on maininta ”rinnakkaiskiinnityksen kanssa” ja johon sisältyy ohje lisätä 1 ml kiinnitys- ja lyysiseosta, joka on valmistettu kyseistä tapausta varten. Sekoita välittömästi vorteksilla yhden sekunnin ajan ja inkuboi 10 minuuttia huoneenlämmössä, valolta suojattuna.
5. Sentrifugoi 150 x g 5 minuutin ajan huoneenlämmössä.
6. Poista supernatantti aspiroimalla.
7. Suspendoi solupelletti uudelleen käyttämällä 3 ml PBS:ää.
8. Toista vaihe 5.
9. Poista supernatantti aspiroimalla ja suspendoi solupelletti käyttämällä:

- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää plus 0,1 % formaldehydiä, jos valmisteet aiotaan säilyttää alle 24 tuntia. (0,1 % formaldehydiä sisältävä PBS saadaan laimentamalla 12,5 µl IOTest 3 -fiksatiiviliuosta (viite A07800) sen 10-kertaisella pitoisuudella 1 ml:aan PBS:ää).
- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää ilman formaldehydiä, jos valmisteet tullaan analysoimaan 2 tunnin sisällä.

Huomautus: Pidä valmisteet kaikissa tapauksissa 2–8 °C:n lämpötilassa ja valolta suojattuna.

ODOTETUT ARVOT

Laboratorioissamme 25 ilmeisesti terveen luovuttajan kokoverinäytteet käsiteltiin edellä kuvatulla reagenssilla. Seuraavassa taulukossa esitetään tällä reagenssilla saadut tulokset, kun kiinnostuksen kohteena olleet positiiviset tapahtumat laskettiin:

Positiivinen kohde	Lukumäärä	Keskiarvo (%)	SD	CV (%)
Lymfosyytit	25	13,51	5,57	41,25

Nämä arvot on tarkoitettu vain esimerkeiksi. Jokaisen laboratorion tulee luoda omat odotetut arvonsa paikallisen normaalien luovuttajien populaation mukaan.

SUORITUSKYKY

Suorituskykytiedot saadaan edellä kuvatulla menetelmällä käyttämällä alle 24 tunnin ikäisistä näytteistä, jotka on aiemmin kerätty steriileihin putkiin, joissa antikoagulanttina on EDTA-suola. Analyysi suoritetaan 2 tunnin kuluessa immunovärjäyksestä.

SPESIFISYYS

B9E9 (HRC20) -klooni määritettiin kuuluvaksi ryhmään CD20 viidennessä ihmisleukosyyttien differentiaatioantigeenejä käsitelleessä seminaarissa (Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens, HLDA), joka pidettiin Bostonissa, Yhdysvalloissa, vuonna 1993 (WS-koodi: CD20.12, kohta B) (11).

TARKKUUS

Prosentuaaliset positiiviset arvot määritettiin käyttämällä kokoverta. Jokainen näyte käsiteltiin 4 kertaa, kahdesti päivässä päivänä 1 2 laitteessa käyttämällä 2 erää CD20-Pacific Blue monoklonaalisia vasta-ainereagensseja. Mittaukset (% positiivisia) tehtiin Navios-virtaussytometrillä. Analyysi tehtiin perustuen CLSI:n menetelmään EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivisten mittausmenetelmien tarkkuussuorituskyvyn arviointi).

Hyväksyntäkriteerimme on riippuvainen kussakin populaatiossa mitattujen positiivisten tapahtumien määrästä:

- Jos tapahtuma on positiivinen < 1 500, CV < 15 %
- Jos tapahtuma on positiivinen > 1 500, CV < 10 %

Lymfosyytit							
Positiivisten näytteiden lukumäärä (keskiarvo) = 945							
	Käyttäjien välinen	Sytometrin sisäinen	Erän sisäinen	Erien välinen	Ajojen välinen	Ajon sisäinen	Yhteensä
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
TULOKSET	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ULKOINEN TARKKUUS

Kohteen CD20-Pacific Blue tarkkuus arvioitiin vertaamalla tuloksia viitereagenssiin, joka toimi Navios-virtaussytometrilla käsitellyn kokoverinäytesarjan predikaattina. Testireagenssin ja vertailureagenssin välinen poikkeama määritettiin testitulosten välisen eron perusteella. Jos poikkeama on sallitun virhealueen rajoissa tai p-arvo ei osoita merkityksellistä eroa (> 0,05), näiden kahden reagenssin testituloksia pidetään vastaavina.

Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Luovuttajien määrä = 25				
Positiivinen kohde	Keskiarvo Δ	Δ % -solukriteeri	p-arvo	TULOKSET
Lymfosyytit	-0,65	<3	0,059	PASS

NOLLAMITTAUKSEN YLÄRAJA JA MITTAUKSEN ALARAJA

Tutkimus tehtiin CLSI EP17-A2:n mukaisesti, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Detektiokyvyn arviointi kliinisissä laboratoriomittausmenettelyissä). Mittauksen alaraja (LoD) on analyytin alhaisin pitoisuus, joka voidaan havaita johdonmukaisesti. Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Positive Target	Nollamittauksen yläraja (solu/µl)	Mittauksen alaraja (solu/µl)
Lymfosyytit	2	3

RAJOITUKSET

1. Virtaussytometrialla saadut tulokset voivat olla virheellisiä, jos sytometri on kohdistettu epätarkasti, jos fluoresenssivuotoja ei ole kompensoitu oikein ja jos alueita ei ole sijoitettu tarkasti.
2. On suositeltavaa käyttää punasolujen lyysaukseen pesuvaiheen sisältävää tekniikkaa, koska tätä reagenssia ei ole optimoitu lyysaustekniikoille, joihin ei sisälly pesua.
3. Tulokset oivat tarkkoja ja toistettavissa, kunhan käytetyt menetelmät ovat teknisen selosteen mukaisia ja noudattavat hyviä laboratoriokäytäntöjä.
4. Tämän reagenssin konjugoitu vasta-aine kalibroidaan siten, että saadaan paras spesifisen signaalin ja epäspesifisen signaalin suhde. Siksi on tärkeää noudattaa reagenssin tilavuuden / näytteen suhdetta jokaisessa testissä.
5. Jos kyseessä on hyperleukosytoosi, laimenna veri PBS:ään siten, että saat arvoksi noin 5 x 10^9 leukosyyttiä/l (12).
6. Tietyissä sairaustiloissa, kuten vaikeassa munuaisten vajaatoiminnassa tai hemoglobinopatioissa, punasolujen hajoaminen voi olla hidasta, epätäydellistä tai jopa mahdotonta. Tässä tapauksessa yksitumaiset solut on suositeltavaa eristää käyttämällä tiheysgradienttia (esimerkiksi Ficoll) ennen värjäystä (13).
7. Potilailla, joita on hoidettu muun kuin ihmisen monoklonaalisilla vasta-aineilla, kohdeantigeenin havaitseminen voi heikentyä tai estyä osittain tai kokonaan hoidossa käytetyn vasta-aineen vaikutuksesta.
8. CD20-Pacific Blue-tulosten tulkinnassa on otettava huomioon potilaan kaikki kliiniset tiedot, mukaan lukien oireet, kliininen historia, lisätestien tiedot ja muut asianmukaiset tiedot.

Katso esimerkkejä ja viitteitä liitteestä.

TAVARAMERKIT

Beckman Coulter, tyylitelty logo ja tässä mainitut Beckman Coulter -tuotteiden ja palveluiden merkit ovat Beckman Coulter, Inc:in tavaramerkkejä tai rekisteröityjä tavaramerkkejä Yhdysvalloissa ja muissa maissa.

Pacific Blue on Molecular Probes, Inc:n tavaramerkki.

LISÄTIETOJA

Potilaalle / käyttäjälle / kolmannelle osapuolelle Euroopan unionin alueella ja maissa, joissa on samanlainen sääntelyjärjestelmä (in vitro -diagnostiikkaan tarkoitettuja lääkinnällisiä laitteita koskeva asetus 2017/746/EU): jos tämän laitteen käytön aikana tai sen käytön seurauksena on tapahtunut vakava tapahtuma, ilmoita siitä valmistajalle ja/tai valmistajan valtuutetulle edustajalle sekä kansalliselle viranomaiselle.

Turvallisuutta ja suorituskykyä koskeva yhteenveto on saatavilla EUDAMED-tietokannasta osoitteesta ec.europa.eu/tools/eudamed.

TARKISTUSHISTORIA

VERSIO AD:	Julkaisupäivä: Lokakuu 2019

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AW	Maaliskuu 2022
Päivitetty noudattamaan Beckman Coulterin maailmanlaajuista merkintämenettelyä ja IVD-R (EU)2017/746 -standardin vaatimuksia:	
Lisätyt osat	BSI 2797 -numero, Käyttötarkoituksen mukainen käyttäjä, Kliininen relevanssi, Pitoisuus, Tarkkuus, Ulkoinen tarkkuus, Nollamittauksen yläraja ja mittauksen alaraja, Lisätietoja, Tarkistushistoria.
Lisätyt tiedot	Katso kohta Rajoitukset
Sanamuodot tai typografiset päivitykset	Katso kohdat Menettely, Suorituskyky, Rajoitukset, Varoitus ja varotoimet, Säilytys ja stabiliteetti.
Poistetut osat	Esimerkki kliinisistä käyttötarkoituksista, Reagenssit, Laboratorionsisäinen toistettavuus, Lineaarisuus
Päivitetyt osat	Käyttötarkoitus, GHS-vaaraluokitus, Merkit pilaantumisesta, Menettely, Liite.

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AX	Huhtikuu 2023
Päivitetyt osat	Lisää kazakki
Päivitetyt osat	Säilytys ja stabiliteetti

Tarkistettu versio	AY
Tarkistuksen päivämäärä	Toukokuu 2024
Päivitetyt käännökset	**Kliininen merkitys:**
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Tarkistettu versio	AZ
Tarkistuksen päivämäärä	Heinäkuu 2024
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Symboliluettelo

Symbolisanasto on saatavana osoitteessa beckman.com/techdocs (asiakirjan numero B60062)

	Προδιαγραφές
Ειδικότητα	CD20
Κλώνος	B9E9 (HRC20)
Υβρίδωμα	X63 x balb/c
Ανοσογόνο	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Ανοσοσφαιρίνη	IgG2a
Είδος	Μυς
Κάθαρση	Χρωματογραφία συγγένειας
Φθορόχρωμα	Pacific Blue
Γραμμομοριακή αναλογία	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
διέγερση λ	405 nm
Μέγιστη τιμή εκπομπών	455 nm
Ρυθμιστικό Διάλυμα	PBS pH 7,2 συν 2 mg/mL BSA και 0,1% NaN_3

IOTest
Συζευγμένο αντίσωμα
CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Αυτό το συζευγμένο με φθοροχρώματα αντίσωμα επιτρέπει την ποιοτική και μη αυτοματοποιημένη ταυτοποίηση των κυτταρικών πληθυσμών που εκφράζουν το αντιγόνο CD20 που απαντάται σε ανθρώπινα βιολογικά δείγματα, με χρήση κυτταρομετρίας ροής (δείτε την παρακάτω ενότητα «Δείγματα»).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Αυτή η εξέταση βασίζεται στην ικανότητα συγκεκριμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων να δεσμεύονται στους αντιγονικούς καθοριστές που εκφράζονται από τα λευκοκύτταρα.

Η ειδική χρώση των λευκοκυττάρων πραγματοποιείται μέσω της επώασης του δείγματος με το αντιδραστήριο IOTest. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια αφαιρούνται στη συνέχεια με λύση και τα λευκοκύτταρα, τα οποία δεν επηρεάζονται από αυτήν τη διαδικασία, αναλύονται με κυτταρομετρία ροής.

Το κυτταρόμετρο ροής μετρά τη διάχυση φωτός και τον φθορισμό των κυττάρων. Καθιστά δυνατή την οριοθέτηση του πληθυσμού ενδιαφέροντος εντός του ηλεκτρονικού παραθύρου που ορίζεται σε ένα ιστόγραμμα, το οποίο συσχετίζει την ορθογώνια διάχυση φωτός (πλάγια σκέδαση ή SS) και τη διάχυση φωτός κλειστής γωνίας (πρόσθια σκέδαση ή FS). Άλλα ιστογράμματα που συνδυάζουν δύο από τις διαθέσιμες διαφορετικές παραμέτρους του κυτταρόμετρου μπορούν να χρησιμοποιηθούν υποστηρικτικά κατά το στάδιο της οριοθέτησης, ανάλογα με την εφαρμογή που επιλέγει ο χρήστης.

Ο φθορισμός των οριοθετημένων κυττάρων αναλύεται προκειμένου να είναι δυνατή η διάκριση μεταξύ των θετικά σημασμένων συμβάντων και των μη σημασμένων συμβάντων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ποσοστό των θετικών συμβάντων σε σχέση με το σύνολο των συμβάντων που ελήφθησαν από την οριοθέτηση.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΟΣ ΧΡΗΣΤΗΣ

Αυτό το προϊόν προορίζεται για επαγγελματική εργαστηριακή χρήση.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΝΑΦΕΙΑ

Το CD20-Pacific Blue είναι ένα αντίσωμα CD20 που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό κυττάρων που εκφράζουν το αντιγόνο CD20 με κυτταρομετρία ροής. Αυτό το προϊόν από μόνο του δεν μπορεί να παράγει οποιοδήποτε διαγνωστικό συμπέρασμα και δεν προορίζεται για αυτήν τη χρήση.

Όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλους δείκτες, αυτό το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μία ή περισσότερες από τις ακόλουθες λειτουργίες:

- Ως βοήθημα στη διαφορική διάγνωση μη φυσιολογικών αιματολογικά ασθενών με υποψία αιμοποιητικής νεοπλασίας και για την παρακολούθηση ασθενών με γνωστή αιμοποιητική νεοπλασία.
- Ως βοήθημα στην πρόγνωση ασθενών με αιμοποιητική νεοπλασία.

Δείτε τις ακόλουθες παραπομπές:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Τα δείγματα φλεβικού αίματος πρέπει να διατηρούνται σε αποστειρωμένα σωληνάρια που περιέχουν άλας EDTA ως αντιπηκτικό.

Τα δείγματα θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) και δεν θα πρέπει να ανακινούνται. Πριν από τη λήψη του δείγματος προς εξέταση, τα δείγματα πρέπει να ομογενοποιούνται με ήπια ανάδευση.

Τα δείγματα πρέπει να αναλύονται εντός 24 ωρών από τη φλεβοκέντηση.

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ

Δείτε το ειδικό για την παρτίδα πιστοποιητικό ανάλυσης στη διεύθυνση www.beckman.com.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

1. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης.
2. Μην καταψύχετε.
3. Αφήστε το να περιέλθει σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) πριν από τη χρήση.
4. Ελαχιστοποιήστε την έκθεση στο φως.
5. Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διαφορετικά ενδέχεται να προκύψουν ψευδή αποτελέσματα.

6. Να χειρίζεστε τα διαλύματα αντισωμάτων που περιέχουν αζίδιο του νατρίου (NaN_3) με προσοχή. Μην εισπνέετε και αποφεύγετε κάθε επαφή με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.

   Επιπλέον, σε όξινο μέσο, το αζίδιο του νατρίου μπορεί να σχηματίσει ένα δυνητικά επικίνδυνο υδραζωτικό οξύ. Αν χρειαστεί να απορριφθεί, συνιστάται η αραίωση του αντιδραστηρίου με μεγάλη ποσότητα νερού πριν από την έκχυση στο αποχετευτικό σύστημα, προκειμένου να αποφευχθεί η συσσώρευση αζιδίου του νατρίου στις μεταλλικές σωληνώσεις και να αποτραπεί ο κίνδυνος έκρηξης.
7. Πρέπει να θεωρείτε όλα τα δείγματα αίματος δυνητικά μολυσματικά και να τα χειρίζεστε με προσοχή (ειδικότερα: να φοράτε προστατευτικά γάντια, ποδιές και γυαλιά).
8. Μην χρησιμοποιείτε ποτέ πιπέτα με το στόμα και αποφεύγετε κάθε επαφή των δειγμάτων με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.
9. Τα σωληνάρια αίματος και το υλικό μίας χρήσης που χρησιμοποιούνται για τον χειρισμό πρέπει να απορρίπτονται σε ειδικά δοχεία που προορίζονται για αποτέφρωση.
10. Τα αντιδραστήρια και τα απόβλητα πρέπει να απομακρύνονται σύμφωνα με τις τοπικές απαιτήσεις.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ GHS

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο

SDS Το δελτίο δεδομένων ασφάλειας διατίθεται στη διεύθυνση beckmancoulter.com/techdocs

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Πρέπει να φυλάσσετε αυτό το αντιδραστήριο σε θερμοκρασία 2 έως 8 °C και να το προστατεύετε από το φως πριν και μετά το άνοιγμα του φιαλιδίου.

Διάρκεια ζωής κλειστού φιαλιδίου ανά μελέτη σταθερότητας: 1095 ημέρες.

Σταθερότητα ανοιχτού φιαλιδίου: το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό για 180 ημέρες.

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ

Οποιαδήποτε μεταβολή στην εμφάνιση των αντιδραστηρίων είναι πιθανό να υποδεικνύει αλλοίωση και το αντιδραστήριο δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται.

Για επιπλέον πληροφορίες ή σε περίπτωση παραλαβής ελαττωματικού προϊόντος, επικοινωνήστε με την υπηρεσία εξυπηρέτησης πελατών της Beckman Coulter στο 800-742-2345 (για ΗΠΑ και Καναδά) ή με τον τοπικό αντιπρόσωπο της Beckman Coulter.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Το συντηρητικό αζιδίου του νατρίου μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικές ενώσεις στους μεταλλικούς αποχετευτικούς αγωγούς. Δείτε το ενημερωτικό δελτίο του NIOSH: Explosive Azide Hazard (Κίνδυνος έκρηξης αζιδίου) (16/8/76)
Για να αποφύγετε την ενδεχόμενη συσσώρευση ενώσεων αζιδίου, να εκπλένετε τους σωλήνες αποβλήτων με νερό μετά την απόρριψη μη αραιωμένου αντιδραστηρίου. Η απόρριψη του αζιδίου του νατρίου πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους αντίστοιχους τοπικούς κανονισμούς.

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΚΙΤ:

- Σωλήνες δειγματοληψίας και υλικό που είναι απαραίτητο για τη δειγματοληψία.
- Αυτόματες πιπέτες με ρύγχη μιας χρήσης για 10, 100 και 500 µL.
- Πλαστικά σωληνάρια αιμόλυσης.
- Αντιδραστήριο λύσης ερυθροκυττάρων με στάδιο πλύσης μετά τη λύση. Για παράδειγμα: VersaLyse (Ref. A09777).
- Αντιδραστήριο μονιμοποίησης λευκοκυττάρων. Για παράδειγμα: Διάλυμα μονιμοποίησης IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ρυθμιστικό διάλυμα (PBS: 0,01 M φωσφορικό νάτριο, 0,145 M χλωριούχο νάτριο, pH 7,2).
- Φυγόκεντρος.
- Αυτόματος αναδευτήρας (τύπου περιδίνησης).
- Κυτταρόμετρο ροής.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ VERSALYSE

1. Προσθέστε τον κατάλληλο όγκο 10 µL ειδικού συζευγμένου αντισώματος IOTest σε κάθε δοκιμαστικό σωληνάριο.
2. Προσθέστε 100 µL του αναλυόμενου δείγματος σε κάθε σωληνάριο. Περιδινήστε απαλά τα σωληνάρια.
3. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) για 15 έως 20 λεπτά, προστατεύοντας από το φως.
4. Στη συνέχεια, πραγματοποιήστε λύση των ερυθροκυττάρων. Ανατρέξτε στο φύλλο οδηγιών του VersaLyse (Ref. A09777) και ακολουθήστε κατά προτίμηση τη διαδικασία «με ταυτόχρονη μονιμοποίηση», που περιλαμβάνει την προσθήκη 1 mL μείγματος «μονιμοποίησης και λύσης», το οποίο παρασκευάστηκε πρόχειρα. Περιδινήστε αμέσως επί ένα δευτερόλεπτο και επωάστε επί 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, προστατεύοντας από το φως.
5. Φυγοκεντρήστε για 5 λεπτά στα 150 x g σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση.
7. Πραγματοποιήστε επαναιώρηση του κυτταρικού ιζήματος με 3 mL PBS.
8. Επαναλάβετε το βήμα 5.
9. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση και επαναιωρήστε το κυτταρικό ίζημα με:

- 0,5 mL ή 1 mL PBS συν 0,1% φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να φυλαχθούν για λιγότερο από 24 ώρες. (Μπορείτε να παρασκευάσετε διάλυμα 0,1% φορμαλδεΰδης/PBS με αραίωση 12,5 µL του μονιμοποιητικού διαλύματος IOTest 3 (Ref. A07800) 10πλάσιας συγκέντρωσης σε 1 mL PBS).
- 0,5 mL ή 1 mL PBS χωρίς φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να αναλυθούν εντός 2 ωρών.

Σημείωση: Σε κάθε περίπτωση, φυλάσσετε τα παρασκευάσματα προστατευμένα από το φως, σε θερμοκρασία μεταξύ 2 και 8 °C.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Στα εργαστήριά μας, τα δείγματα ολικού αίματος από 25 φαινομενικά υγιείς δότες υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με χρήση του αντιδραστηρίου που περιγράφεται παραπάνω. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν για την καταμέτρηση των θετικών συμβάντων ενδιαφέροντος με αυτό το αντιδραστήριο παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

Θετικός στόχος	Αριθμός	Μέση τιμή (%)	SD	CV (%)
Λεμφοκύτταρα	25	13,51	5,57	41,25

Οι τιμές αυτές παρέχονται αποκλειστικά για ενδεικτικούς σκοπούς. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να ορίσει τις δικές του αναμενόμενες τιμές βάσει του τοπικού πληθυσμού των φυσιολογικών δοτών.

ΑΠΟΔΟΣΗ

Τα δεδομένα απόδοσης λαμβάνονται με χρήση της διαδικασίας που περιγράφηκε παραπάνω σε δείγματα αίματος ηλικίας μικρότερης των 24 ωρών που συλλέχθηκαν προηγουμένως σε αποστειρωμένα σωληνάρια με άλας EDTA ως αντιπηκτικό. Η ανάλυση εκτελείται εντός 2 ωρών από την ανοσοχρώση.

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Ο κλώνος B9E9 (HRC20) αντιστοιχίστηκε στο CD20 κατά τη διάρκεια του 5ου Συνεδρίου HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Συνάντηση εργασίας για τα αντιγόνα διαφοροποίησης των ανθρώπινων λευκοκυττάρων) που πραγματοποιήθηκε στη Βοστόνη των ΗΠΑ το 1993 (Κώδικας WS: CD20.12, ενότητα B) (11).

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Οι ποσοστιαίες θετικές τιμές προσδιορίστηκαν με χρήση ολικού αίματος. Κάθε δείγμα αναλύθηκε 4 φορές, δύο φορές την ημέρα για 1 ημέρα σε 2 όργανα με χρήση 2 παρτίδων αντιδραστηρίων μονοκλωνικού αντισώματος CD20-Pacific Blue. Οι μετρήσεις (% θετικών) πραγματοποιήθηκαν σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με βάση τη μέθοδο CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Αξιολόγηση της απόδοσης ακρίβειας για μεθόδους ποσοτικής μέτρησης).

Τα κριτήρια έγκρισης εξαρτώνται από τον αριθμό των θετικών συμβάντων που μετρώνται για κάθε πληθυσμό:

- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος <1.500, <15% CV
- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος >1.500, <10% CV

Λεμφοκύτταρα							
Αριθμός θετικών συμβάντων (μέσος όρος) = 945							
	Μεταξύ χειριστών	Μεταξύ κυτταρόμετρων	Εντός παρτίδας	Μεταξύ παρτίδων	Μεταξύ αναλύσεων	Εντός ανάλυσης	Σύνολο
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ακρίβεια του CD20-Pacific Blue αξιολογήθηκε με σύγκριση των αποτελεσμάτων με ένα αντιδραστήριο αναφοράς ως μέσο πρόγνωσης, σε ένα σύνολο δειγμάτων ολικού αίματος που αναλύθηκε σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Το συστηματικό σφάλμα μεταξύ εξέτασης και αντιδραστηρίου αναφοράς προσδιορίστηκε με βάση τη διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δοκιμής. Εάν το συστηματικό σφάλμα βρίσκεται εντός του επιτρεπόμενου εύρους σφαλμάτων ή η τιμή p δεν υποδεικνύει καμία σημαντική διαφορά (>0,05), τα αποτελέσματα δοκιμών για τα δύο αντιδραστήρια θεωρούνται ισοδύναμα.

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον πίνακα που ακολουθεί:

Αριθμός δοτών = 25				
Θετικός στόχος	Μέση τιμή Δ	Κριτήρια κυττάρων Δ %	Τιμή p	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
Λεμφοκύτταρα	-0,65	<3	0,059	PASS

ΟΡΙΟ ΤΥΦΛΟΥ ΚΑΙ ΟΡΙΟ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

Διεξήχθη μια μελέτη με βάση τις οδηγίες του CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Αξιολόγηση της ικανότητας ανίχνευσης για διαδικασίες μέτρησης κλινικών εργαστηρίων). Το όριο ανίχνευσης (OA) είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση αναλυόμενης ουσίας που μπορεί να ανιχνευτεί σταθερά. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Positive Target	Όριο τυφλού (κύτταρο/μL)	Όριο ανίχνευσης (κύτταρο/μL)
Λεμφοκύτταρα	2	3

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Η κυτταρομετρία ροής ενδέχεται να παράγει ψευδή αποτελέσματα αν το κυτταρόμετρο δεν είναι σωστά ευθυγραμμισμένο, αν οι διαρροές φθορισμού δεν έχουν αντισταθμιστεί σωστά και αν οι περιοχές δεν έχουν τοποθετηθεί προσεκτικά.
2. Η τεχνική λύσης RBC είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται με ένα βήμα πλύσης, καθώς το συγκεκριμένο αντιδραστήριο δεν έχει βελτιστοποιηθεί για τεχνικές λύσης «χωρίς πλύση».
3. Ακριβή και επαναλήψιμα αποτελέσματα προκύπτουν στο μέτρο που οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι σύμφωνες με το ένθετο τεχνικών οδηγιών και συμβατές με τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές.
4. Το συζευγμένο αντίσωμα αυτού του αντιδραστηρίου είναι βαθμονομημένο ώστε να προσφέρει την καλύτερη αναλογία ειδικής σήμανσης/μη ειδικής σήμανσης. Γι' αυτό είναι σημαντικό να τηρείτε την αναλογία όγκου αντιδραστηρίου/όγκου δείγματος σε κάθε εξέταση.
5. Σε περίπτωση υπερλευκοκυττάρωσης, αραιώστε το αίμα σε PBS ώστε να επιτευχθεί τιμή περίπου 5 x 10^9 λευκοκύτταρα/L (12).
6. Σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις, όπως η σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια ή οι αιμοσφαιρινοπάθειες, η λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων ενδέχεται να είναι αργή, ατελής ή και ανέφικτη. Σε αυτήν την περίπτωση, συνιστάται η απομόνωση των μονοπύρηνων κυττάρων με διαβάθμιση πυκνότητας (για παράδειγμα Ficoll) πριν από τη χρώση (13).
7. Σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπείες με αντι-ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα, η ανίχνευση των ειδικών στοχευόμενων αντιγόνων ενδέχεται να είναι μειωμένη ή να απουσιάζει λόγω μερικού ή πλήρους αποκλεισμού από το θεραπευτικό αντίσωμα.

8. Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων του CD20-Pacific Blue θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η συνολική κλινική εικόνα του ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων των συμπτωμάτων, του κλινικού ιστορικού, των δεδομένων πρόσθετων εξετάσεων και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Δείτε το Παράρτημα για παραδείγματα και παραπομπές.

ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ

Η επωνυμία Beckman Coulter, το τυποποιημένο λογότυπο και τα σήματα προϊόντων και υπηρεσιών της Beckman Coulter που αναφέρονται στο παρόν είναι εμπορικά σήματα ή σήματα κατατεθέντα της Beckman Coulter, Inc. στις Ηνωμένες Πολιτείες και σε άλλες χώρες.

Η επωνυμία Pacific Blue είναι εμπορικό σήμα της Molecular Probes, Inc.

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Για ασθενή/χρήστη/τρίτους στην Ευρωπαϊκή Ένωση και σε χώρες με όμοιο ρυθμιστικό καθεστώς (Οδηγία 2017/746/ΕΕ σχετικά με τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα), εάν, κατά τη χρήση αυτής της συσκευής ή ως αποτέλεσμα της χρήσης της, προκύψει σοβαρό περιστατικό, πρέπει να το αναφέρετε στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στις εθνικές αρχές της χώρας στην οποία κατοικείτε.

Το Summary of Safety and Performance (Σύνοψη ασφάλειας και απόδοσης) είναι διαθέσιμο στη βάση δεδομένων EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΕΩΝ

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ AD:	Ημερομηνία έκδοσης: Οκτώβριος 2019

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AW	Μάρτιος 2022
Ενημερώσεις για την επίτευξη συμμόρφωσης με την παγκόσμια πολιτική σήμανσης της Beckman Coulter και σύμφωνα με τις απαιτήσεις IVD-R (ΕΕ)2017/746:	
Προσθήκη ενοτήτων	Αριθμός BSI 2797, προβλεπόμενος χρήστης, κλινική συνάφεια, συγκέντρωση, πιστότητα, ακρίβεια, όριο τυφλού και όριο ανίχνευσης, πρόσθετες πληροφορίες, ιστορικό αναθεωρήσεων.
Προσθήκη πληροφοριών	Δείτε τις ενότητες «Περιορισμοί»
Εκφραστικές ή τυπογραφικές ενημερώσεις	Δείτε τις ενότητες «Διαδικασία», «Απόδοση», «Περιορισμοί», «Προειδοποίηση και προφυλάξεις», «Αποθήκευση και σταθερότητα».
Αφαίρεση ενοτήτων	Παράδειγμα κλινικών εφαρμογών, αντιδραστήρια, διεργαστηριακή επαναληψιμότητα, γραμμικότητα
Ενημερωμένες ενότητες	Προβλεπόμενη χρήση, Ταξινόμηση επικινδυνότητας κατά GHS, Ενδείξεις αλλοίωσης, Διαδικασία, Παράρτημα.

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AX	Απρίλιος 2023
Ενημερωμένες ενότητες	Προσθήκη Καζακικών
Ενημερωμένες ενότητες	Φύλαξη και σταθερότητα

Αναθεωρημένη έκδοση	AY
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Μάιος 2024
Ενημέρωση μεταφράσεων	**Κλινική συνάφεια:**
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθεωρημένη έκδοση	AZ
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Ιούλιος 2024
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Υπόμνημα συμβόλων

Το γλωσσάριο συμβόλων είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση beckman.com/techdocs (αριθμός εγγράφου B60062)

	仕様
特異性	CD20
クローン	B9E9 (HRC20)
ハイブリドーマ	X63 x balb/c
免疫原	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
免疫グロブリン	IgG2a
動物種	マウス
精製	アフィニティークロマトグラフィー
蛍光色素	Pacific Blue
モル比	Pacific Blue / Ig： 5.30 - 6.50
λ励起	405 nm
発光のピーク	455 nm
緩衝化剤	PBS(pH 7.2) + 2 mg/mL BSAおよび0.1% NaN_3

IOTest

コンジュゲート抗体
CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0.5 mL, 10 µL / test

体外診断用。

用途

この蛍光色素結合抗体混合物により、フローサイトメトリーを用いてヒト生物検体に存在するCD20抗原を発現する細胞集団の定性的かつ非自動での同定が可能になります（以下の「検体」の項を参照）。

原理

このテストは、白血球が発現する抗原決定因子に対する特異的モノクローナル抗体の結合能に基づいています。

白血球の特異的染色は、検体をIOTest試薬とインキュベートすることによって行います。次に、赤血球を溶解によって除去し、このプロセスの影響を受けない白血球をフローサイトメトリーによって分析します。

フローサイトメーターは、細胞の光拡散および蛍光を測定します。これにより、直角散乱光（側方散乱、SS）および鋭角散乱光（前方散乱、FS）と相関するヒストグラム上で規定した電子枠内で対象集団の限界設定が可能になります。ユーザーが選択したアプリケーションに依存して、サイトメーターで利用可能な種々のパラメーターの2つを組み合わせたその他のヒストグラムが、ゲーティング段階の補助として利用できます。

陽性染色イベントと未染色イベントを鑑別するために、区分した細胞の蛍光を測定します。結果は、ゲーティングで得られた全イベントに対する陽性イベントの比率として表します。

対象ユーザー

本製品は、検査室での専門的な使用を目的としています。

臨床的妥当性

CD20-Pacific Blueは、フローサイトメトリーでCD20抗原を発現する細胞を同定および特性評価するために使用する抗体です。CD20この製品だけで診断の結論を下すことはできず、そのように意図されていません。

本製品は、他のマーカーと組み合わせて使用する場合、次の機能の1つまたは複数で使用できます。

- 造血系新生物が疑われる血液学的に異常な患者の鑑別診断を補助し、既知の造血系新生物を有する患者をモニタリングするため。
- 造血系新生物を有する患者の予後を支援するため。

以下の参考文献を参照してください。

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

検体

静脈血は、抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブを用いて採取しなければなりません。

検体は室温（18～25°C）で保管し、揺らさないようにする必要があります。検体は、テスト検体を採取する前に、穏やかな撹拌によって均質化する必要があります。

この検体は、静脈穿刺から24時間以内に分析する必要があります。

濃度

www.beckman.comでロット固有の分析証明書を参照してください。

警告および注意

1. 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
2. 凍結しないでください。
3. 使用前に室温（18～25°C）にしてください。
4. 露光をできるだけ避けてください。
5. 試薬の微生物汚染を避けてください。誤った結果の原因となる場合があります。
6. アジ化ナトリウム（NaN_3）を含む抗体溶液は慎重に扱う必要があります。体内に摂取してはならず、皮膚、粘膜および眼との接触はすべて避けてください。

また、酸性媒体では、アジ化ナトリウムから潜在的危険性のあるアジ化水素酸が生成されることがあります。アジ化ナトリウムを含む試薬を廃棄する必要がある場合、金属製のパイプにアジ化ナトリウムが蓄積しないように、また爆発の危険性を防ぐために、試薬を多量の水で希釈してから排水システムに廃棄することを推奨します。

7. すべての血液検体は感染性の可能性があるとみなして慎重に取り扱う必要があります（特に保護手袋、実験着、ゴーグルの着用）。
8. 絶対に口でピペットを吸わないでください。また、皮膚、粘膜、目に検体が接触しないようにしてください。
9. 使用済みの採血管およびディスポーザブル製品は、焼却用の専用容器に入れて廃棄してください。
10. 試薬や廃棄物は地方自治体の要件に従って廃棄してください。

GHSハザード分類

危険有害物質には分類されない

SDS 安全性データシートは、beckmancoulter.com/techdocsで入手できます。

保管および安定性

この試薬は、バイアル開封の前後に2～8℃で保管し、遮光する必要があります。

各安定性試験におけるクローズドバイアルの保存期間：1095日間

開封後のバイアル：試薬は180日間安定しています。

変質や劣化の兆候

試薬の物理的な外観の変化は劣化の徴候である場合があり、その試薬を使用してはなりません。

追加情報に関して、または損傷している製品をお受け取りになった場合、ベックマン・コールターのカスタマーサービス800-742-2345（米国またはカナダ）にお電話をくださるか、最寄りの代理店に連絡してください。

内容

保存剤のアジ化ナトリウムは、金属製排水管内で爆発性化合物を生成するおそれがあります。 NIOSH Bulletinを参照してください: アジド爆発危険性（76/8/16）
アジド化合物が蓄積する可能性を回避するため、未希釈の試薬を廃棄した後は排水管を水で洗い流します。アジ化ナトリウムは地方自治体の規定に従い適切に廃棄してください。

ご用意いただくもの:

- サンプリングに必要なサンプリングチューブと材料。
- 使い捨てチップ付き自動ピペット（100および500 µL用）。10
- プラスチックの溶血チューブ。
- 溶血処理後に洗浄操作した赤血球溶血試薬。例：VersaLyse（製品番号A09777）。
- 白血球固定試薬。例：IOTest 3固定液（製品番号A07800）。
- 緩衝化剤（PBS：0.01 Mリン酸ナトリウム、0.145 M塩化ナトリウム、pH 7.2）。
- 遠心機
- 自動アジテーター（ボルテックスタイプ）。
- フローサイトメーター

VERSALYSE試薬による手順

1. 各試験チューブに適切な容量である10 µLの特異的IOTest結合抗体を添加します。
2. 各チューブに100 µLのテスト検体を添加します。チューブを穏やかに攪拌します。
3. 遮光した状態で、室温（18～25°C）で15～20分間インキュベートします。
4. 次に、赤血球の溶解を行います。VersaLyse(製品番号A09777)のリーフレットを参照し、できれば「同時固定」と呼ばれる手順に従います。この手順では、その場で調製した「固定/溶解」混合液1 mLを加えます。直ちに1秒間撹拌し、室温、遮光下で10分間インキュベートします。
5. 室温で5分間遠心分離（150 x g）します。
6. 吸引により上清を除去します。
7. 3 mLのPBSを用いて細胞ペレットを懸濁します。
8. ステップ5を繰り返します。
9. 吸引により上清を除去し、以下により細胞ペレットを再懸濁します。

- 調製液の保存期間が24時間未満の場合、ホルムアルデヒド0.1％を含むPBS 0.5 mLまたは1 mL。（0.1%ホルムアルデヒドを含むPBSは、12.5 µLの10倍濃度のIOTest 3固定液（製品番号A07800）を1 mLのPBSに希釈して作製できます）。
- 調製液を2時間以内に分析する場合、ホルムアルデヒドを含まないPBS 0.5 mLまたは1 mL。

注記：いかなる場合でも、調製液は2～8°Cに保ち、遮光してください。

期待値

弊社検査室では、上記の試薬を用いて見かけ上健常なドナー25名の全血検体を処理しました。本試薬による陽性イベント数測定で得た結果を以下の表に示します。

陽性標的細胞	番号	平均（％）	SD	CV（％）
リンパ球	25	13.51	5.57	41.25

これらの値は、代表的な値であることのみを意図しています。各検査室は、正常なドナーの現地の集団から独自の期待値を確立してください。

性能

性能データは、以前に抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブに採取した24時間未満経過した血液検体を対象に、上述の手順を用いて取得しなければなりません。分析は、免疫染色後2時間以内に行います。

特異性

1993年に、米国のボストンで開催された5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens（第5回ヒト白血球分化抗原に関するHLDAワークショップ）において、B9E9（HRC20）クローンが、CD20にアサインされました（WSコード：CD20.12、セクションB）（11）。

精密性

陽性値の割合は、全血を使用して決定しました。各検体について、2つの装置で各4回を1日に2回、2ロットのCD20-Pacific Blueモノクローナル抗体試薬を使用して測定しました。Naviosフローサイトメーターで測定（%陽性）しました。CLSIメソッドEP5-A2に基づいて分析しました。Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.（定量的測定メソッドの精密性性能の評価。）

当社の判定基準は、各集団について測定された陽性イベントの数によって異なります。

- 陽性イベント< 1,500の場合、CV< 15%
- 陽性イベント> 1,500の場合、CV< 10%

リンパ球							
陽性イベント数（平均）= 945							
	オペレータ間	血球計算器間	ロット内	ロット間	測定間	測定内	総計
CV（%）	2.87	2.83	5.53	1.70	2.64	3.92	6.44
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

正確性

CD20-Pacific Blueの正確度は、一連の全血検体についてNaviosフローサイトメーターで測定した規準としての参照試薬と、結果を比較して評価しました。テスト試薬と参照試薬との間のバイアスは、テスト結果の差に基づいて決定しました。バイアスが許容誤差範囲内にある場合、またはp値が有意差を示さない場合（> 0.05）、2つの試薬のテスト結果は同等と見なされます。

得られた結果を、下表にまとめます。

ドナー数 = 25				
陽性標的細胞	平均Δ	Δ % 細胞基準	p値	結果
リンパ球	-0.65	<3	0.059	PASS

ブランク上限と検出限界

試験は、CLSI EP17-A2、Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（臨床検査室測定手順の検出能力の評価）に基づいて実施されました。検出限界（LoD）とは、一貫して検出可能な分析物の最小濃度です。取得した結果は、下表に表示されています。

Positive Target	ブランク上限（細胞/µL）	検出限界（細胞/µL）
リンパ球	2	3

制限事項

1. フローサイトメトリーは、血球計数器が完全に配列されていない場合、蛍光リークが正しく相殺されていない場合、および領域が慎重に配置されていない場合、誤った結果を示す可能性があります。
2. この試薬は「洗浄なし」溶解手法用に最適化されていないため、洗浄ステップでRBC溶解法を使用することをお勧めします。
3. 取扱説明書および対応する検査室の実施基準に従って作業する限り、正確かつ再現性のある結果が得られます。
4. この試薬の結合抗体は、特異的シグナル/非特異的シグナル比が最適となるようにキャリブレーションされています。そのため、各テストでは、試薬量/検体量比を順守することが重要です。
5. 白血球増加症の場合、白血球数がおよそ5 x 10^9個/Lとなるよう、血液をPBSで希釈してください（12）。
6. 重度の腎不全やヘモグロビン異常など、特定の疾患状態では、赤血球の溶解が遅くなったり、不完全になったり、あるいは溶解できないことさえあります。この場合、染色する前に密度勾配（Ficollなど）を使用して単核細胞を分離することを推奨します（13）。
7. 抗ヒトモノクローナル抗体療法で治療を受けた患者では、治療用抗体による部分的または完全な遮断により、特定の標的抗原の検出が減少または消失する場合があります。
8. CD20-Pacific Blueの結果は、患者の総合的な臨床像、例えば諸症状、病歴、他のテストデータ、その他の該当情報などを踏まえて解釈する必要があります。

附録にある例および参考文献を参照してください。

商標

ここに記載されているBeckman Coulter、ロゴマーク、ならびにベックマン・コールターの製品およびサービスマークは、ベックマン・コールターの米国およびその他の国における商標と登録商標です。

Pacific BlueはMolecular Probes, Incの商標です。

その他

欧州連合、および規制制度が欧州連合と同一の国の患者/ユーザー/第三者（体外診断医療機器規制2017/746/EU）については、本機器の使用中または使用の結果、重大な事故が発生した場合、製造元および/または認定代理店ならびに所管の行政機関に報告してください。

「安全性および性能の概要」はEUDAMEDデータベース：ec.europa.eu/tools/eudamedより入手できます。

改訂履歴

改訂番号 AD：	発売日：2019年10月

改訂	**発行日**
AW	2022年3月
ベックマン・コールターのグローバルラベリングポリシーおよびIVD-R（EU）2017/746の要件に準拠するための更新：	
セクションの追加	BSI 2797番号、対象ユーザー、臨床関連性、濃度、精度、正確度、ブランク上限および検出限界、その他、改訂履歴。
情報を追加	「制限事項」のセクションを参照してください
言い回しまたはタイプミスの更新	「手順」、「性能」、「制限」、「警告および注意」、「保管および安定性」のセクションを参照してください。
セクションの削除	臨床応用の例、試薬、検査室内再現性、直線性
セクションの更新	用途、GHSハザード分類、変質や劣化の兆候、手順、附録。

改訂	**発行日**
AX	4月 2023
セクションの更新	カザフ語を追加
セクションの更新	コントロールの調製

改訂版	AY
改訂日	5月 2024
更新された翻訳	**臨床的妥当性**：
セクションの更新	保管および安定性

改訂版	AZ
改訂日	7月 2024
セクションの更新	保管および安定性

記号凡例

記号一覧は、beckman.com/techdocsで入手できます（文書番号B60062）

	规格
特异性	CD20
克隆	B9E9 (HRC20)
杂交瘤	X63 x balb/c
免疫原	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
免疫球蛋白	IgG2a
种类	小鼠
纯化	亲和层析色谱法
荧光染料	Pacific Blue
摩尔比率	Pacific Blue/Ig： 5.30 - 6.50
λ 激励	405 nm
辐射峰值	455 nm
缓冲液	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 和 0.1% NaN_3

IOTest

结合抗体
CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0.5 mL, 10 µL / test

供*体外*诊断使用。

预期用途

此种荧光染料结合抗体可通过流式细胞术对人体生物样本中存在的 CD20 抗原表达细胞群进行定性和非自动化鉴别（参阅下文“样本”部分）。

原理

该测试以特异性单克隆抗体能够与白细胞表达的抗原决定簇相结合这一特性为基础。

将样本与 IOTest 试剂一起培育，以便进行白细胞的特异性染色。然后通过裂解去除红细胞，再使用流式细胞术分析不受裂解过程影响的白细胞。

流式细胞仪可测定细胞的光漫射和荧光。这样可以限定直方图上定义的电子窗口内的感兴趣群体，直方图可以关联光的正交漫射（侧向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。细胞仪上可用的结合两个不同参数的其他直方图可以用于支持设门阶段，具体取决于用户所选的应用。

为了区分阳性染色事件和未染色事件，我们对划定细胞的荧光进行了分析。结果表示为阳性事件相对于设门获得的所有事件的百分比。

预期用户

本产品的预期用户为实验室专业人员。

临床意义

CD20-Pacific Blue 是一种 CD20 抗体，这些抗体用于通过流式细胞术鉴定和表征表达 CD20 抗原的细胞。单独使用此产品不能产生任何诊断结论，这也并非其预期用途。

与其他标志物结合使用时，本产品可用于以下一种或多种用途：

- 对疑似有造血系统肿瘤的血液学异常患者进行辅助鉴别诊断，并对已知患有造血系统肿瘤的患者进行监测。
- 辅助造血系统肿瘤患者的预后诊断。

参阅以下参考文献：

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

样本

必须使用含有 EDTA 盐作为抗凝血剂的无菌试管采集静脉血。

样本应保存在室温 (18-25°C) 条件下，并注意避免摇动。在吸取测试样本之前，应通过轻轻搅动使样本均质化。

样本必须在静脉采血后的 24 小时内分析。

浓度

请参阅 www.beckman.com 上的特定批次分析证书。

警告和注意事项

1. 请勿使用已过失效日期的试剂。
2. 切勿冷冻。
3. 使用前使其达到室温 (18–25°C)。
4. 尽量减少曝光。
5. 避免试剂受到微生物污染，否则可能出现错误结果。
6. 应小心处理含有叠氮化钠 (NaN_3) 的抗体溶液。请勿内服，并避免接触皮肤、粘膜和眼睛。

   此外，在中度酸性条件下，叠氮化钠可形成具有潜在危害的叠氮酸。若需要对其进行处置，建议您在将试剂倒入排污系统前用大量清水将其稀释，以避免叠氮化钠在金属管中累积并预防爆炸。
7. 所有血样都必须被视为具有潜在传染性，并且必须小心处理（具体地讲：穿戴防护手套、防护服和护目镜）。
8. 不得通过嘴巴移液，并避免样本以任何方式接触皮肤、黏膜和眼睛。

9. 用于处理的血液试管和一次性材料应丢弃于专门用于焚化的容器中。
10. 应根据当地要求处置试剂和废物。

GHS 危险等级分类

未被归为危险品

SDS 化学品安全技术说明书发布在 beckmancoulter.com/techdocs 上

存储和稳定性

在开瓶前后，必须将此试剂保存在 2-8°C 环境下，并注意避免光照。

根据稳定性研究的开封前保质期：1095 天。

已开瓶试剂的稳定性：试剂可稳定保存 180 天。

变质的迹象

试剂物理外观的任何变化都可能表明试剂变质，此时不应使用试剂。

有关其他信息，或者如果收到受损产品，请致电贝克曼库尔特公司客服：800-742-2345（美国或加拿大），或联系您当地的贝克曼库尔特代表。

目录

叠氮化钠防腐剂可在金属下水管道中形成易爆化合物。 请参阅 NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76)（美国国家职业安全与卫生研究所公报：易爆的叠氮化物危险品 [76/8/16]）。
为避免可能产生的叠氮化合物堆积，请在丢弃未经稀释的试剂后用水冲洗排污管。对叠氮化钠的丢弃必须符合当地的相关规定。

试剂盒中未提供的必需材料：

- 采样所需的采样管和材料。
- 可吸取 10100 和 500 µL 试剂的带有一次性吸头的自动移液器。
- 塑料溶血管。
- 红细胞溶解试剂在溶解后清洗。例如：VersaLyse（REF A09777）。
- 白细胞固定剂。例如：IOTest 3 固定剂（REF A07800）。
- 缓冲液（PBS：0.01 M 磷酸钠；0.145 M 氯化钠；pH 7.2）。
- 离心处理。
- 自动搅动器（旋涡型）。
- 流式细胞仪。

VERSALYSE 试剂的使用程序

1. 将适当体积的 10 µL 特异性 IOTest 结合抗体添加到每个测试试管中。
2. 添加 100 µL 测试样本到每个试管中。轻轻摇动试管。
3. 在室温 (18–25°C) 下避光孵育 15-20 分钟。
4. 然后进行红细胞裂解。请参阅 VersaLyse（REF A09777）说明书，最好按照名为“同时固定”的程序实施：加入 1 mL 临时配制的“固定-裂解”混合液。立即摇动 1 秒，并在室温条件下培育 10 分钟，注意避光。
5. 在室温下以 150 x g 离心处理 5 分钟。
6. 通过吸样去除上层清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新悬浮细胞微粒。
8. 重复第 5 步。
9. 通过吸样去除上层清液并使用以下溶液重新悬浮细胞微粒：

- 0.5 mL 或 1 mL PBS 与 0.1% 甲醛，若备品的保存时间低于 24 小时。（可通过在 1 mL PBS 中稀释 10 倍浓度的 12.5 µL IOTest 3 固定剂 [REF A07800] 获取含 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 0.5 mL 或 1 mL PBS，无甲醛，若制剂将在 2 小时内分析。

注释：任何情况下，制备试剂均需在 2-8°C 下避光保存。

预计值

我们在实验室中采用上述试剂处理了 25 名表观健康供体的全血样本。使用该试剂进行阳性目标颗粒计数得到的结果如下表所示：

阳性目标	数量	平均值 (%)	标准差	CV (%)
淋巴细胞	25	13.51	5.57	41.25

这些值仅供参考。各实验室应通过当地正常供体群体确定自己的预期值。

性能

使用上文描述的程序，通过分析之前采集在无菌试管（含有 EDTA 盐作为抗凝血剂）中未达 24 小时的血液样本获得了性能数据。在免疫染色后的 2 小时内进行分析。

特异性

在 1993 年于美国波士顿举办的 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens（第 5 届 HLDA 人类白细胞分化抗原会议）上，B9E9 (HRC20) 克隆被分配到 CD20（WS 代码：CD20.12，B 部分）(11)。

精度

阳性百分比值用全血测定。每份样本使用 2 个批次的 CD20-Pacific Blue 单克隆抗体试剂，在 2 台仪器上运行 4 次，每天 2 次，持续 1 天。使用 Navios 流式细胞仪进行测量（阳性 %）。分析基于 CLSI method EP5-A2：Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：定量测量方法精度性能的评估）。

我们的接受限取决于针对每个群体所测得的阳性颗粒数：

- 如果阳性颗粒数 < 1,500，则 CV < 15%
- 如果阳性颗粒数 > 1,500，则 CV < 10%

淋巴细胞							
阳性颗粒数（平均值）= 945							
	操作人员间	细胞仪间	批次内	批次间	运行间	运行内	总数
CV (%)	2.87	2.83	5.53	1.70	2.64	3.92	6.44
结果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

准确性

评估 CD20-Pacific Blue 的准确性的方法为：将其与参考试剂分别应用于一组全血样本，然后用 Navios 流式细胞仪进行检测，之后比较结果。该测试与参考试剂之间的偏差根据测试结果的差异而确定。如果偏差在允许的错误范围内，或者 p 值没有显著差异 (> 0.05)，则认为这两种试剂的测试结果是等效的。

所得结果如下表所示：

献血人次 = 25				
阳性目标	平均值 Δ	Δ % 细胞标准	p 值	结果
淋巴细胞	-0.65	<3	0.059	PASS

空白检测限和检测限

研究人员根据 CLSI EP17-A2 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2 临床实验室测量程序检测能力的评估）进行了一项研究。检测限 (LOD) 指可被一致检出的最低分析物浓度。所得结果如下表所示：

Positive Target	空白检测限（个细胞/µL）	检测限（个细胞/µL）
淋巴细胞	2	3

限制

1. 若流式细胞术未完全校准、荧光泄漏未得到正确补偿或未在该区域谨慎定位，则流式细胞术可能会产生错误结果。
2. 最好使用包含洗涤步骤的 RBC 裂解技术，因为该试剂未针对“无洗涤”裂解技术进行优化。
3. 只要所使用的程序符合技术插页说明书并遵守实验室管理规范，就可以获得准确和可重现的结果。
4. 校准该试剂的结合抗体，以提供最佳的特异性信号/非特异性信号比率。因此，在每次测试中都务必遵从此试剂体积/样本体积比率。
5. 如果白细胞过多，请在 PBS 中稀释血液，使白细胞浓度降低到约 5 x 10^9 个/L (12)。
6. 在严重肾衰竭、血红蛋白病等特定疾病状态中，红细胞裂解会变得缓慢、不完全，甚至无法实现。在这种情况下，建议在染色前通过密度梯度（例如聚蔗糖）隔离单核细胞 (13)。
7. 接受抗人单克隆抗体治疗的患者可能会因治疗抗体的部分或完全阻断而难以或无法检测特定的靶抗原。
8. 在判读 CD20-Pacific Blue 结果时，需参照患者的整体临床表现，包括：症状、临床病史、其他检查数据和其他适用的信息。

请参阅附录中的示例和参考文献。

商标

Beckman Coulter、标志以及文中提及的贝克曼库尔特产品和服务标记均是美国贝克曼库尔特有限公司在美国和其他国家/地区的商标或注册商标。

Pacific Blue 是 Molecular Probes, Inc. 的商标。

其他信息

对于欧盟及具有相同监管制度的国家/地区的患者/用户/第三方（Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices [有关体外诊断医疗装置的法规 2017/746/EU]）：如果在使用本装置期间或由于使用本装置而发生严重事件，请向制造商和/或其授权代表以及当地国家主管部门报告。

Summary of Safety and Performance（安全和性能摘要）提供在 EUDAMED 数据库中：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修订历史

修订版本 AD：	发布日期：2019 年 10 月

修订	**发布日期**
AW	2022 年 3 月
更新文档以符合贝克曼库尔特公司全球标签政策和 IVD-R (EU)2017/746 的要求：	
新增章节	BSI 2797 编号、预期用户、临床意义、浓度、精度、准确性、空白检测限和检测限、其他信息、修订记录。
添加了信息	参阅“限制”章节

更新了措辞或版面	参阅程序、性能、限制、警告和注意事项、储存和稳定性章节。
删除了几个章节	临床应用示例、试剂、实验室内重复性、线性度
更新后章节	预期用途、GHS 危险等级分类、变质的迹象、程序、附录。

修订	**发布日期**
AX	4 月 2023
更新后章节	添加哈萨克语
更新后章节	储存及稳定性

修订版本	AY
修订日期	5 月 2024
更新的翻译	**临床意义**：
更新后章节	修订历史

修订版本	AZ
修订日期	7 月 2024
更新后章节	修订历史

符号注解

符号词汇表发布于 beckman.com/techdocs（文档编号 B60062）

	Specifikacijos
Specifiškumas	CD20
Klonas	B9E9 (HRC20)
Hibridoma	X63 x balb/c
Imunogenas	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Imunoglobulinas	IgG2a
Rūšis	Pelė
Išgryninimas	Gimininguмo chromatografija
Fluorochromas	Pacific Blue
Molinis santykis	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
λ žadinimas	405 nm
Spinduliuotės smailė	455 nm
Buferinis tirpalas	7,2 pH fosfato buferinis tirpalas plius 2 mg/ml GSA ir 0,1 % NaN_3

„IOTest“
Konjuguotas antikūnas CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 ml, 10 µl / test

Diagnostikai *in vitro*.

NAUDOJIMO PASKIRTIS

Naudojant šį su fluorochromu konjuguotą antikūną, srauto citometrijos būdu galima kokybiškai ir neautomatizuotu būdu identifikuoti ląstelių populiacijas, išreiškiančias CD20 antigeną, esantį žmogaus biologiniuose mėginiuose (žr. paskesnį skyrių „Mėginiai“).

PRINCIPAS

Šis tyrimas pagrįstas specifinių monokloninių antikūnų gebėjimu jungtis prie antigenų determinantų, kuriuos ekspresuoja leukocitai.

Specifinis leukocitų dažymo procesas atliekamas mėginį inkubuojant reagentu „IOTest“. Tada lizuojant pašalinami eritrocitai ir srauto citometrijos būdu analizuojami leukocitai, kurie per šį etapą nepaveikiami.

Srauto citometru matuojama ląstelių šviesos sklaida ir fluorescencija. Šiuo būdu galima tiriamąją populiaciją apriboti histogramoje apibrėžtu elektroniniu langu, kuris koreliuoja su šviesos sklaida stačiu kampu (šonine sklaida arba ŠS) ir šviesos sklaida smailu kampu (priekine sklaida arba FS). Kitos citometre įdiegtos histogramos, kuriose derinami du skirtingi parametrai, gali būti naudojamos kaip papildoma priemonė nustatant atrankos intervalus, žiūrint, kokį naudojimo būdą pasirinko naudotojas.

Analizuojant apribotų ląstelių fluorescenciją, teigiamai nudažyti įvykiai atskiriami nuo neigiamai nudažytų. Rezultatai išreiškiami kaip teigiamų įvykių procentinė dalis visų įvykių, gautų nustačius atrankos intervalą, atžvilgiu.

NUMATOMAS NAUDOTOJAS

Šis gaminys skirtas naudoti specialistams laboratorijose.

KLINIKINĖ SVARBA

CD20-Pacific Blue yra CD20 antikūnas, naudojamas CD20 antigeną ekspresuojančioms ląstelėms identifikuoti ir charakterizuoti srauto citometrijos būdu. Naudojant vien šį gaminį negalima padaryti jokios diagnostinės išvados ir jis nėra tam skirtas.

Kartu su kitais žymenimis naudojamas šis gaminys gali būti naudojamas vienu ar keliais iš toliau nurodytų tikslų.

- Hematologiškai nenormalių pacientų, kuriems įtariama kraujodaros sistemos neoplazma, diferencinei diagnozei palengvinti ir pacientams, kuriems jau nustatyta kraujodaros sistemos neoplazma, stebėti.
- Kraujodaros sistemos neoplazma sergančių pacientų prognozės numatymui palengvinti.

Žr. šias nuorodas:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MĖGINIAI

Veninio kraujo mėginius reikia imti į sterilius mėgintuvėlius su EDTA druska kaip antikoaguliantu.

Mėginius reikia laikyti kambario temperatūroje (18–25 °C) ir nekratyti. Prieš paimant tiriamąjį mėginį reikia atsargiai sujudinti mėginus, kad jie taptų vienalyčiai.

Mėginiai turi būti išanalizuoti per 24 valandas po venų punkcijos.

KONCENTRACIJA

Žr. konkrečios partijos analizės sertifikatą, pateikiamą interneto svetainėje www.beckman.com.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. Reagento nenaudoti pasibaigus galiojimo laikui.
2. Neužšaldyti.
3. Prieš naudojant reikia leisti sušilti iki kambario temperatūros (18–25 °C).
4. Laikykite kuo mažiau apšviestoje vietoje.
5. Saugokite, kad reagentai nebūtų užteršti mikrobais, nes antraip gali būti gaunami klaidingi rezultatai.
6. Su antikūnų tirpalais, kurių sudėtyje yra natrio azido (NaN_3), reikia elgtis atsargiai. Nevartokite į vidų ir saugokitės, kad nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.

Be to, rūgščioje terpėje natrio azidas gali išskirti potencialiai pavojingą hidrazo rūgštį. Jei jį reikia pašalinti, prieš pilant į nutekėjimo sistemą, reagentą rekomenduojama praskiesti dideliu vandens kiekiu, kad būtų išvengta natrio azido kaupimosi metaliniuose vamzdžiuose ir išvengta sprogimo pavojaus.

7. Visi kraujo mėginiai turi būti laikomi potencialiai užkrečiamais ir su jais turi būti elgiamasi atsargiai (itin svarbu dėvėti apsaugines pirštines, apsiaustus ir akinius).
8. Jokiu būdu nesiurbkite burna ir saugokitės, kad mėginių nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.
9. Panaudoti kraujo mėgintuvėliai ir vienkartinės medžiagos turėtų būti išmetami į sudeginamas ad hoc talpyklas.
10. Reagentai ir atliekos turi būti šalinami pagal vietinius reikalavimus.

GHS PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Neklasifikuojama kaip pavojinga

SDS Saugos duomenų lapą galima gauti interneto svetainėje beckmancoulter.com/techdocs

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Prieš atidarant ir atidarius buteliuką reagentas turi būti laikomas 2–8 °C temperatūroje ir saugomas nuo šviesos.

Uždaryto buteliuko tinkamumo naudoti laikas pagal stabilumo tyrimą: 1095 d.

Atidaryto buteliuko stabilumas: reagentas lieka stabilus 180 d.

KOKYBĖS PABLOGĖJIMO POŽYMIAI

Bet koks reagentų fizinės išvaizdos pokytis gali reikšti pablogėjusias gaminio savybes, todėl tokio reagento naudoti negalima.

Prireikus papildomos informacijos arba gavę sugadintą gaminį skambinkite į „Beckman Coulter“ klientų aptarnavimo skyrių telefonu 800-742-2345 (JAV arba Kanadoje) arba susisiekite su vietiniu „Beckman Coulter“ atstovu.

TURINYS

Natrio azido konservantas metalo vamzdynuose gali sudaryti sprogiuosius junginius. Žr. „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (Nacionalinio darbų saugos ir sveikatos instituto biuletenį: sprogstamojo azido pavojus) (76-8-16).
Norėdami išvengti galimo azido junginių susikaupimo, išpylę į kanalizacijos sistemą neatskiesto reagento, vandeniu praplaukite nutekamuosius vamzdžius. Natrio azidas turi būti šalinamas pagal taikomų vietos reglamentų reikalavimus.

REIKALINGOS, BET SU RINKINIU NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS

- Mėginiams imti reikalingi mėginių ėmimo mėgintuvėliai ir medžiagos.
- Automatinės pipetės su vienkartiniais antgaliais, skirtos 10, 100 ir 500 µl tūrio mėginiams.
- Plastikiniai hemolizės mėgintuvėliai.
- Raudonųjų kraujo kūnelių lizavimo reagentas su plovimo etapu baigus lizuoti. Pavyzdys: „VersaLyse“ (kat. nr. A09777).
- Leukocitų fiksavimo reagentas. Pavyzdys: fiksavimo tirpalas „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800).
- Buferinis tirpalas (fosfato buferinis tirpalas: 0,01 M natrio fosfato; 0,145 M natrio chlorido; pH 7,2).
- Nucentrifuguokite.
- Automatinis maišytuvas (sūkurinio tipo).
- Srauto citometras.

PROCEDŪRA NAUDOJANT REAGENTĄ „VERSALYSE“

1. Į kiekvieną tiriamąjį mėgintuvėlį įpilkite po 10 µl specifinio „IOTest“ konjuguoto antikūno.
2. Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite po 100 µl tiriamojo mėginio. Mėgintuvėlius atsargiai išmaišykite sūkuriniu būdu.
3. 15–20 minučių inkubuokite kambario temperatūroje (18–25 °C), saugodami nuo šviesos.
4. Tai padarę sulizuokite eritrocitus. Žr. „VersaLyse“ (kat. Nr. A09777) informacinį lapelį; rekomenduojama laikytis procedūros, vadinamos „su vienalaikiu fiksavimu“, kurios metu įpilama 1 ml prieš pat naudojant paruošto fiksavimo ir lizavimo mišinio. Tuojau pat vieną sekundę maišykite sūkuriniu būdu ir 10 minučių inkubuokite kambario temperatūroje, saugodami nuo šviesos.
5. 5 minutes centrifuguokite veikiant 150 x g jėgai kambario temperatūroje.
6. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą.
7. Iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami 3 ml fosfato buferinį tirpalą.
8. Pakartokite 5 veiksmą.
9. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą ir iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami toliau nurodytas medžiagas.

- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo ir 0,1 % formaldehido, jeigu preparatai bus laikomi mažiau nei 24 val. (0,1 % formaldehido fosfato buferinio tirpalo galima gauti 12,5 µl 10X koncentracijos fiksavimo tirpalo „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800) atskiedus 1 ml fosfato buferinio tirpalo.)
- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo be formaldehido, jeigu preparatai bus analizuojami per 2 val.

Pastaba. Visais atvejais preparatus laikykite 2–8 °C temperatūroje ir saugodami nuo šviesos.

TIKĖTINOS VERTĖS

Mūsų laboratorijose 25 tariamai sveikų donorų viso kraujo mėginiai buvo apdoroti pirmiau aprašytu reagentu. Toliau pateiktoje lentelėje nurodyti dominančių teigiamų įvykių skaičiaus rezultatai, gauti naudojant šį reagentą.

Teigiamas taikinys	Skaičius	Vidurkis (%)	SN	VK (%)
Limfocitai	25	13,51	5,57	41,25

Šios vertės tėra reprezentacinės. Kiekviena laboratorija turi iš vietinės normalių donorų populiacijos nustatyti savo numatomas vertes.

VEIKIMAS

Veikimo duomenys gauti, pirmiau aprašytą procedūrą atliekant su mažiau nei 24 val. senumo mėginiais, kurie buvo anksčiau paimti į sterilius mėgintuvėlius su antikoaguliantu EDTA druska. Analizė atliekama ne vėliau kaip 2 val. po imunodažymo.

SPECIFIŠKUMAS

B9E9 (HRC20) klonas grupei CD20 buvo priskirtas per „5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens“ (5-ąją konferenciją dėl žmogaus leukocitų diferencijavimo antigenų (ŽLDA), vykusią Bostone, JAV, 1993 m. (WS kodas: CD20.12, B skyrius) (11).

GLAUDUMAS

Procentinės teigiamosios vertės nustatytos naudojant visą kraują. Kiekvienas mėginys buvo analizuojamas 4 kartus: 1 dieną, po du kartus, naudojant 2 prietaisus ir 2 CD20-Pacific Blue monokloninių antikūnų reagentų partijas. Matavimai (% teigiamų) buvo atlikti srauto citometru „Navios“. Analizė atlikta pagal „CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods“ (CLSI metodą EP5-A2 „Kiekybinių matavimo metodų glaudumo veikimo vertinimas“).

Mūsų priėmimo kriterijai priklauso nuo kiekvienoje populiacijoje nustatyto teigiamų įvykių skaičiaus:

- jeigu teigiamų įvykių < 1 500, VK < 15 %
- Jeigu teigiamų įvykių > 1 500, VK < 10 %

Limfocitai							
Teigiamų įvykių skaičius (vidurkis) = 945							
	Skirtingų operatorių	Skirtingų citometrų	Tos pačios partijos	Skirtingų partijų	Skirtingų analizių	Tos pačios analizės	Iš viso
VK (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
REZULTATAI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TIKSLUMAS

CD20-Pacific Blue tikslumas vertintas palyginant rezultatus su etaloniniu reagentu kaip patvirtinamąja priemone, srauto citometru „Navios“ analizuojant viso kraujo mėginių rinkinį. Bandomojo ir etaloninio reagentų paklaida nustatyta pagal tyrimo rezultatų skirtumą. Jeigu paklaida neviršija leidžiamojo paklaidų diapazono arba p reikšmė nerodo reikšmingo skirtumo (> 0,05), abiejų reagentų tyrimo rezultatai laikomi lygiaverčiais.

Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Donorų skaičius = 25				
Teigiamas taikinys	Vidurkis Δ	Δ % ląstelių kriterijai	p reikšmė	REZULTATAI
Limfocitai	-0,65	<3	0,059	PASS

RUOŠINIO RIBA IR APTIKIMO RIBA

Pagal CLSI EP17-A2 dokumentą „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Klinikinių laboratorinių matavimų procedūrų aptikimo pajėgumų vertinimas) atliktas mokslinis tyrimas. Aptikimo riba (LOD) yra mažiausioji analitės koncentracija, kurią galima nuolat aptikti. Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Positive Target	Ruošinio riba (ląst./µl)	Aptikimo riba (ląst./µl)
Limfocitai	2	3

RIBOJIMAI

1. Atliekant srauto citometriją klaidingi rezultatai gali būti gauti tuo atveju, jei citometras nebuvo tiksliai sureguliuotas, fluorescencijos nuotėkiai nebuvo tinkamai kompensuoti ar regionai nebuvo kruopščiai išdėstyti.
2. Pageidautina taikant RBC lizavimo metodą atlikti plovimo etapą, nes šis reagentas nėra optimizuotas lizavimo „be plovimo“ metodikoms.
3. Tikslūs ir atkuriami rezultatai bus gaunami tol, kol naudojamos procedūros atitiks techniniame lapelyje pateiktą informaciją ir bus atliekamos laikantis geros laboratorijos praktikos.
4. Šio reagento konjuguotas antikūnas sukalibruotas taip, kad būtų gaunamas geriausias specifinio ir nespecifinio signalų santykis. Dėl šios priežasties atliekant kiekvieną tyrimą svarbu tiksliai laikytis nurodyto reagento ir mėginio tūrių santykio.
5. Hiperleukocitozės atveju kraują atskieskite fosfato buferiniu tirpalu, kad gautumėte maždaug 5 x 10^9 leukocitų/l koncentraciją (12).
6. Sergant kai kuriomis ligomis, pavyzdžiui, sunkiu inkstų nepakankamumu arba hemoglobinopatijomis, eritrocitai gali būti lėtai arba nevisiškai sulizuojami arba jų visai neįmanoma lizuoti. Tokiu atveju rekomenduojama prieš dažant atskirti vienbranduoles ląsteles tankio gradiento būdu (pavyzdžiui, Ficollo) (13).
7. Jeigu pacientams atliekama žmogaus monokloninių antikūnų terapija, specifiniai tiksliniai antigenai gali būti aptinkami prasčiau arba visai neaptinkami dėl dalinio arba visiško terapinio antikūno blokavimo.
8. CD20-Pacific Blue rezultatai turi būti interpretuojami remiantis bendra paciento klinikine būkle, atsižvelgiant į: simptomus, klinikinę anamnezę, papildomų tyrimų duomenis ir kitą atitinkamą informaciją.

Pavyzdžiai ir nuorodos pateikti priede.

PREKIŲ ŽENKLAI

„Beckman Coulter“, stilizuotas logotipas ir kiti šiame dokumente nurodyti „Beckman Coulter“ gaminių ir prekių ženklai yra „Beckman Coulter, Inc.“ prekių ženklai arba registruotieji prekių ženklai Jungtinėse Amerikos Valstijose ir kitose šalyse.

„Pacific Blue“ yra „Molecular Probes, Inc.“ prekės ženklas.

PAPILDOMA INFORMACIJA

Pacientams / naudotojams / trečiosioms šalims Europos Sąjungoje ir šalyse, kuriose galioja identiški reguliaciniai reikalavimai (Reglamentas (ES) 2017/746 dėl in vitro diagnostikos medicinos priemonių): jeigu naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko sunkus incidentas, apie jį praneškite gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui ir savo šalies nacionalinei institucijai.

„Summary of Safety and Performance“ (Saugos ir veikimo suvestinė) pateikiama EUDAMED interneto svetainėje ec.europa.eu/tools/eudamed.

PERŽIŪRŲ ISTORIJA

PERŽIŪRA AD:	Leidimo data: 2019 m. spalis

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AW	2022 m. kovas
Atnaujinta pagal „Beckman Coulter“ visuotinių ženklinimo taisyklių ir IVD-R (ES)2017/746 reikalavimus.	
Pridėti skyriai	BSI 2797 numeris, „Numatomas naudotojas“, „Klinikinė svarba“, „Koncentracija“, „Glaudumas“, „Tikslumas“, „Ruošinio riba ir aptikimo riba“, „Papildoma informacija“, „Peržiūrų istorija“.
Pridėta informacija	Žr. skyrių „Ribojimai“
Frazavimo arba tipografiniai atnaujinimai	Žr. skyrius „Procedūra“, „Veikimas“, „Ribojimai“, „Įspėjimai ir atsargumo priemonės“, „Laikymas ir stabilumas“.
Pašalinti skyriai	„Klinikinio naudojimo pavyzdys“, „Reagentai“, „Laboratorijos vidaus atkartojamumas“, „Tiesiškumas“
Atnaujinti skyriai	„Paskirtis“, „Visuotiniai suderintos sistemos (GHS) pavojingumo klasifikacija“, „Kokybės pablogėjimo požymiai“, „Procedūra“, priedas.

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AX	Balandis 2023
Atnaujinti skyriai	Pridėta kazachų kalba
Atnaujinti skyriai	Laikymas ir stabilumas

Peržiūrėta versija	AY
Peržiūros data	Gegužė 2024
Atnaujintas vertimas	**Klinikinė svarba:**
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Peržiūrėta versija	AZ
Peržiūros data	Liepa 2024
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Simbolių sutartiniai ženklai

Simbolių terminų žodynas pateikiamas interneto svetainėje beckman.com/techdocs (dokumento numeris B60062).

	Specifikációk
Specificitás	CD20
Klón	B9E9 (HRC20)
Hibridóma	X63 x balb/c
Immunogén	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Immunglobulin	IgG2a
Faj	Egér
Tisztítás	Affinitás kromatográfia
Fluorokróm	Pacific Blue
Moláris arány	Pacific Blue / Ig: 5,30 - 6,50
λ gerjesztés	405 nm
Kibocsátási csúcs	455 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plusz 2 mg/mL BSA és 0,1% NaN_3

IOTest

Konjugált antitest CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

***In vitro* diagnosztikai használatra.**

RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

Ez a fluorokrómmal konjugált antitest lehetővé teszi a humán biológiai mintákban a(z) CD20 antigént expresszáló sejtpopulációk áramlási citometriával végzett kvalitatív és nem automatizált azonosítását (lásd a „Minták” című alábbi fejezet).

MŰKÖDÉSI ELV

A vizsgálat azon alapul, hogy a specifikus monoklonális antitestek képesek-e kötődni a leukociták által expresszált antigén-determinánsokhoz.

A leukociták specifikus festése a mintának az IOTest reagenssel való inkubálásával történik. Az eritrocitákat ezután lízissel eltávolítják, és a leukocitákat, amelyekre nincs hatással ez a művelet, analizálni lehet áramlási citometriával.

Az áramlási citométer a sejtek fényszórását és fluoreszcenciáját méri. Ez lehetővé teszi a vizsgált populáció elhatárolását egy olyan elektronikus ablakon belül, amelyet a derékszögben szórt fény (oldalszóródás vagy SS) és a hegyes szögben szórt fény (előreszóródás vagy FS) intenzitását összehasonlító hisztogramon határoztak meg. Más, a citométer által mértek közül két paramétert kombináló hisztogramok használhatók kiegészítésként a kapuzási fázisban, a felhasználó által választott alkalmazástól függően.

Az elkülönített sejtek fluoreszcenciáját a rendszer elemzi a pozitívan festődött események megkülönböztetésére a nem festődöttektől. Az eredmények kifejezése a pozitív események százalékos arányaként történik a kapuzás által regisztrált összes eseményhez képest.

CÉLFELHASZNÁLÓ

Ez a termék laboratóriumi szakemberek általi használatra készült.

KLINIKAI JELENTŐSÉG

A CD20-Pacific Blue egy CD20 antitest, amely a(z) CD20 antigént expresszáló sejtek áramlási citometriás azonosítására és jellemzésére szolgál. Ez a termék önmagában nem képes arra, és nem is arra a célra lett kialakítva, hogy bármilyen diagnosztikai következtetést generáljon.

Más markerekkel kombinált használata esetén ez a termék az alábbiak közül egy vagy több célra használható:

- Segít azon rendellenes vérképű betegek differenciáldiagnózisában, akiknél hemopoetikus neoplasia gyanítható, valamint segít az ismerten hemopoetikus neoplasiaval rendelkező betegek monitorozásában.
- Segít a hemopoetikus neoplasiaban szenvedő betegek prognózisának felállításában.

Lásd a következő hivatkozásokat:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MINTÁK

A vénás vért steril, alvadásgátlóként EDTA sóját tartalmazó csövekbe kell gyűjteni.

A mintákat szobahőmérsékleten (18–25 °C között) kell tárolni, és nem szabad felrázni. A tesztminta vétele előtt a mintákat homogenizálni kell óvatos rázással.

A minták elemzését a vénaszúráshoz képest 24 órán belül el kell végezni.

KONCENTRÁCIÓ

Lásd: www.beckman.com, tételspecifikus analitikai bizonylat.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

1. Ne használja a reagenst a lejárati időn túl.
2. Fagyasztani tilos.
3. Használat előtt hagyja felmelegedni szobahőmérsékletre (18–25 °C).
4. Minimalizálja a fényexpozíciót.
5. Kerülje el a reagensek mikrobiális kontaminációját, ebben az esetben hamis eredményeket kaphat.
6. A nátrium-azidot (NaN_3) tartalmazó antitestoldatokat körültekintően kell kezelni. A terméket nem szabad lenyelni, és nem érintkezhet bőrrel, nyálkahártyával vagy a szemmel.

Sőt, savas közegben a nátrium-azid potenciálisan robbanékony nitrogén-hidrogénsavat képez. Ha ártalmatlanítani kell, javasolt a reagenst nagy mennyiségű vízzel hígítani a szennyvízcsatornába öntés előtt, hogy ne halmozódhasson fel nátrium-azid a fémcsövekben, és ne keletkezzen robbanásveszély.

7. Minden vérmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és óvatosan kell kezelni (azaz védőkesztyűt, köpenyt és szemüveget viselve).
8. Soha ne pipettázzon szájjal, és a minták soha ne érintkezzenek szemmel, bőrrel vagy nyálkahártyával!
9. A vércsöveket és a kezeléshez használt, egyszer használatos anyagokat olyan ad hoc tartóedényben kell kidobni, amely égetésre szolgál.
10. A reagenseket és a hulladékot a helyi követelmények szerint kell ártalmatlanítani.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Nincs veszélyes anyagként besorolva

SDS A biztonsági adatlap megtalálható a következő weboldalon: beckmancoulter.com/techdocs

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A reagenst a fiola kibontása előtt és után is 2 és 8 °C között, fénytől védve kell tárolni.

A lezárt fiola eltarthatósági ideje a stabilitási vizsgálat alapján: 1095 nap.

A felbontott fiola stabilitása: a reagens 180 napig stabil.

A MINŐSÉGROMLÁS JELEI

A reagensek fizikai megjelenésének bármilyen megváltozása megromlásra utalhat, és a reagenst nem szabad felhasználni.

További információkért, illetve sérült termék kézhezvétele esetén hívja a Beckman Coulter ügyfélszolgálatát a 800-742-2345-es számon (az Amerikai Egyesült Államokban és Kanadában), vagy lépjen kapcsolatba a Beckman Coulter területileg illetékes képviselőjével.

A CSOMAG TARTALMA

A nátrium-azid tartósítószer robbanékony vegyületeket képezhet a fém lefolyócsövekben. Lásd az alábbi NIOSH-közleményt: Explosive Azide Hazard (Robbanékony azidokkal kapcsolatos veszélyek) (76. 8. 16.).
Az azidvegyületek esetleges felhalmozódásának elkerülése érdekében a hígítatlan reagens szennyvízlefolyóba történő kiöntése után a szennyvízvezetéket vízzel át kell öblíteni. A nátrium-azid ártalmatlanítását a vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell végezni.

SZÜKSÉGES, DE A KÉSZLETTEL NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK:

- Mintacsövek és a mintavételhez használt anyagok.
- Automata pipetták eldobható hegyekkel 10, 100 és 500 µL-hez.
- Műanyag hemolíziscsövek.
- Vörösvértesteket lizáló reagens, a lízis után mosási fázissal. Például: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leukocitafixáló reagens. Például: IOTest 3 fixálóoldat (Ref. A07800).
- Puffer (PBS: 0,01 M nátrium-foszfát; 0,145 M nátrium-klorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automata keverő (vortex típusú).
- Áramlási citométer.

ELJÁRÁS VERSALYSE REAGENS ESETÉN

1. Adjon megfelelő mennyiségű, 10 µL speciális IOTest konjugált antitestet az egyes kémcsövekbe.
2. Adjon 100 µL tesztmintát mindegyik mintacsőhöz. Óvatosan vortexelje a mintacsöveket.
3. Inkubálja 15–20 percig szobahőmérsékleten (18–25 °C), fénytől védett helyen.
4. Ezután végezze el a vörösvértestek lízisét. Kövesse a VersaLyse (Ref. A09777) füzet utasításait és lehetőség szerint a „konkomittáns fixációval” nevű eljárást alkalmazza, amelynek során 1 mL, akkor és ott elkészített „Fix-and-Lyse” keveréket kell hozzáadni a mintához. Azonnal vortexelje egy másodpercig, majd inkubálja 10 percig szobahőmérsékleten, fénytől védve.
5. Centrifugálja 5 percig szobahőmérsékleten, 150 x g-vel.
6. Felszívás segítségével távolítsa el a felülúszót.
7. Reszuszpendálja a sejtpelletet 3 mL PBS-ben.
8. Ismételje meg az 5. lépést.
9. Felszívással távolítsa el a felülúszót, és reszuszpendálja a sejtpelletet az alábbi reagenssel:

- 0,1% formaldehidet tartalmazó 0,5 mL vagy 1 mL PBS, ha a készítményt kevesebb mint 24 óráig fogják tárolni. (0,1% formaldehidet tartalmazó PBS készítéséhez hígítson 12,5 µL IOTest 3 fixálóoldatot (Ref. A07800) a 10X koncentrációra 1 mL PBS-ben.)
- 0,5 mL vagy 1 mL PBS formaldehid nélkül, ha a preparátum elemzése 2 órán belül fog történni.

Megjegyzés: A készítményeket fénytől védve, 2 és 8 °C között kell tárolni.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

A laboratóriumainkban látszólag egészséges 25 donorok teljesvér-mintáit kezeltük a fent ismertetett reagenssel. Az ezzel a reagenssel kapott vizsgált pozitív események számolási eredményeit az alábbi táblázat tartalmazza:

Pozitív cél	Szám	Átlag (%)	SD	CV (%)
Limfociták	25	13,51	5,57	41,25

Ezek az értékek csak tájékoztatásul szolgálnak. Az egyes laboratóriumoknak meg kell határozniuk a saját várt értékeiket a helyi egészséges donorok populációjából.

TELJESÍTMÉNY

A teljesítményadatokat a fent leírt eljárás segítségével lehet megkapni az alvadásgátlóként EDTA-sót tartalmazó steril csövekbe levett vérmintákból a vérvételt követő kevesebb mint 24 órán belül. Az analízist az immunfestést követő 2 órán belül kell elvégezni.

SPECIFICITÁS

Az B9E9 (HRC20) klónt hozzárendelték a CD20-hoz az 5. HLDA Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens (humán leukocita-differenciálódási antigén kutatási műhely) alkalmával (1993, Boston, Amerikai Egyesült Államok) (WS kód: CD20.12, B szekció) (11).

PRECIZITÁS

A százalékos pozitív értékeket teljes vér felhasználásával határozták meg. Mindegyik mintát 4-szer futtatták, naponta kétszer 1 napig, 2 berendezésen, a CD20-Pacific Blue monoklonális antitest reagensek 2 gyártási tételének felhasználásával. A méréseket (pozitív %) Navios áramlási citométerrel végezték. Az analízist a CLSI által közzétett EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (A kvantitatív mérési módszerek precizitási teljesítményének értékelése) módszer alapján végezték.

Az elfogadhatósági kritériumaink az egyes populációknál mért pozitív események számától függ:

- Ha a pozitív esemény < 1500, CV < 15%
- Ha a pozitív esemény > 1500, CV < 10%

Limfociták							
Pozitív események száma (átlag) = 945							
	Felhasználók közötti	Citométerek közötti	Egy gyártási tételen belüli	Eltérő gyártási tételek közötti	Futtatások közötti	Egy futtatáson belüli	Összes
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
EREDMÉNYEK	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PONTOSSÁG

A CD20-Pacific Blue pontosságának értékeléséhez összevetették egy referencia reagens és a Navios áramlási citométeren futtatott teljesvér-minták eredményeit. A teszt- és a referenciareagens közötti torzítást a teszteredmények közötti különbségek alapján határozták meg. Ha a torzítás a megengedhető hibatartományon belül maradt, vagy ha a p-érték nem jelzett szignifikáns különbséget (> 0,05), akkor a két reagenssel kapott teszteredményeket egyenértékűnek tekintették.

Az eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Donorok száma = 25				
Pozitív cél	Átlag Δ	Δ % sejt kritériumok	p-érték	EREDMÉNYEK
Limfociták	-0,65	<3	0,059	PASS

VAK HATÁRÉRTÉK ÉS KIMUTATHATÓSÁGI HATÁRÉRTÉK

Vizsgálatot végeztek a CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (A klinikai laboratóriumi mérési eljárások kimutatási képességének értékelése) útmutatónak megfelelően. Kimutathatósági határérték (LOD) – a vizsgált anyag következetesen kimutatható legalacsonyabb koncentrációja. A kapott eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Positive Target	Vak határérték (sejt/µL)	Kimutathatósági határérték (sejt/µL)
Limfociták	2	3

KORLÁTOZÁSOK

1. Az áramlási citometria hamis eredményeket adhat, ha a citométert nem igazítják tökéletesen, ha nem kompenzálják megfelelően a fluoreszcenciaszivárgást és ha a régiókat nem pozicionálják elég gondosan.
2. Érdemes egy mosási lépést is tartalmazó vörösvértest lizáló módszert alkalmazni, mivel ezt a reagenst nem optimalizálták „mosás nélküli” lizáló módszerekhez.
3. Pontos és megismételhető eredmények születnek, amennyiben az eljárásokat a műszaki tájékoztató szerint és a helyes laboratóriumi gyakorlattal összhangban végzik el.
4. A reagens konjugált antitestjét úgy kalibrálták, hogy a legjobb specifikus jel/nem specifikus jel arányt produkálja. Ezért fontos, hogy minden tesztnél betartsa a reagenstérfogat/mintatérfogat arányt.
5. Emelkedett leukocitaszám esetén hígítsa a vért annyi PBS hozzáadásával, hogy a fehérvérsejtek koncentrációja körülbelül 5 x 10^9 leukocita/L legyen (12).
6. Bizonyos betegségek, például súlyos veseelégtelenség vagy hemoglobinopátiák esetében előfordulhat, hogy a vörösvértestek lízise lassú, részleges, vagy akár lehetetlen. Ilyenkor javasolt a festés előtt a mononukleáris sejtek elkülönítése egy sűrűséggradiens alapján működő eljárással (ilyen például a Ficoll) (13).
7. A humán antigén elleni monoklonális antitest terápiában részesülő betegek esetében a specifikus célantigén kimutatásának mértéke csökkenhet vagy sikertelen lehet az alkalmazott terápiás antitest által okozott részleges vagy teljes gátlás miatt.
8. Az CD20-Pacific Blue eredményeket a beteg teljes klinikai képének fényében kell értelmezni, figyelembe véve a tüneteket, a kórtörténetet, más tesztek eredményeit és egyéb releváns adatokat.

A példákért és az irodalomjegyzékért lásd a Függeléket.

VÉDJEGYEK

A Beckman Coulter, a stilizált logó, valamint az itt említett Beckman Coulter termék- és szolgáltatásjegyek a Beckman Coulter, Inc. védjegyei vagy bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és más országokban.

A Pacific Blue a Molecular Probes, Inc. védjegye.

TOVÁBBI INFORMÁCIÓK

Az Európai Unióban, illetve az EU-val azonos szabályozási rendszerrel (lásd: az EU 2017/746 rendelete az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökről) rendelkező országokban élő beteg/felhasználó/harmadik fél esetében: ha a jelen eszköz használata során vagy használata eredményeként súlyos váratlan esemény történik, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy hivatalos területi képviselőjének, valamint az illetékes nemzeti hatóságnak.

A Summary of Safety and Performance (A biztonság és a teljesítmény összefoglalása) című dokumentum elérhető az EUDAMED adatbázisban: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ÁTDOLGOZÁSOK

AD ÁTDOLGOZÁS:	Kiadás dátuma: 2019. október

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AW	2022. március
A Beckman Coulter globális címkézési szabályzatának megfelelő, valamint az IVD-R (EU) 2017/746 követelmények szerinti frissítések:	
Hozzáadott szakaszok	BSI 2797 szám, Célfelhasználó, Klinikai jelentőség, Koncentráció, Precizitás, Pontosság, Vak határérték és kimutathatósági határérték, További információk, Átdolgozások.
Új információk	Lásd a Korlátozások című részeket
Megfogalmazási vagy tipográfiai frissítések	Lásd az Eljárás, Teljesítmény, Korlátozások, Figyelmeztetések és óvintézkedések, Tárolás és stabilitás című részeket.
Eltávolított szakaszok	Példa klinikai alkalmazásra, Reagensek, Laboratóriumon belüli reprodukálhatóság, Linearitás
Frissített szakaszok	Rendeltetésszerű használat, GHS szerinti veszélyességi besorolás, A minőségromlás jelei, Eljárás, Függelék.

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AX	Április 2023
Frissített szakaszok	Kazak nyelv hozzáadása
Frissített szakaszok	Tárolás és stabilitás

Átdolgozott verzió	AY
Átdolgozás dátuma	Május 2024
Frissített fordítások	**Klinikai jelentőség:**
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Átdolgozott verzió	AZ
Átdolgozás dátuma	július 2024
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Szimbólumok listája

A szimbólumok jegyzéke elérhető a következő weboldalon: beckman.com/techdocs (dokumentumszám: B60062)

	Specyfikacje
Swoistość	CD20
Klon	B9E9 (HRC20)
Hybrydoma	X63 x balb/c
Immunogen	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Immunoglobulina	IgG2a
Gatunek	Mysz
Oczyszczanie	Chromatografia powinowactwa
Fluorochrom	Pacific Blue
Stosunek molowy	Pacific Blue / Ig: 5,30 - 6,50
Wzbudzenie λ	405 nm
Pik emisji	455 nm
Bufor	PBS o pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Przeciwciało skoniugowane CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Do użytku diagnostycznego *in vitro*.

PRZEZNACZENIE

To przeciwciało skoniugowane z fluorochromem umożliwia jakościową i niezautomatyzowaną identyfikację populacji komórek wykazujących ekspresję antygenu CD20 obecnego w ludzkich próbkach biologicznych metodą cytometrii przepływowej (zobacz część „Próbki" poniżej).

ZASADA DZIAŁANIA

Ten test jest oparty na zdolności swoistych przeciwciał monoklonalnych do wiązania się z determinantami antygenowymi ekspresjonowanymi przez lekukocyty.

Barwienie swoiste leukocytów jest wykonywane poprzez inkubację próbki z odczynnikiem IOTest. Krwinki czerwone są następnie usuwane poprzez lizę, a leukocyty, na które ta liza nie wpływa, są analizowane metodą cytometrii przepływowej.

Cytometr przepływowy mierzy rozpraszanie światła i fluorescencję komórek. Umożliwia to odgraniczenie populacji zainteresowania w elektronicznym oknie zdefiniowanym na histogramie, który koreluje ortogonalne rozpraszanie światła (rozpraszanie boczne — Side Scatter, w skrócie SS) i rozpraszanie światła pod wąskim kątem (rozpraszanie do przodu, Forward Scatter, w skrócie FS). Na etapie bramkowania, w zależności od zastosowania wybranego przez użytkownika, można używać innych histogramów łączących dwa z różnych parametrów dostępnych w cytometrze.

Fluorescencja odgraniczonych komórek jest analizowana w celu odróżnienia zdarzeń barwionych dodatnio od zdarzeń nieulegających barwieniu. Wyniki są wyrażane jako odsetek zdarzeń dodatnich względem wszystkich zdarzeń zarejestrowanych poprzez bramkowanie.

UŻYTKOWNIK DOCELOWY

Produkt jest przeznaczony do profesjonalnego użytku w laboratoriach.

ZNACZENIE KLINICZNE

CD20-Pacific Blue to przeciwciało CD20 służące do identyfikowania i charakteryzowania komórek wykazujących ekspresję antygenu CD20 za pomocą cytometrii przepływowej. Ten produkt nie może samodzielnie generować i nie jest przeznaczony do generowania jakichkolwiek wniosków diagnostycznych.

W połączeniu z innymi markerami produkt ten może służyć do jednego lub kilku z następujących zastosowań:

- Do wspomagania diagnostyki różnicowej pacjentów z nieprawidłowym obrazem hematologicznym i podejrzeniem nowotworu układu krwiotwórczego oraz do monitorowania pacjentów ze stwierdzonym nowotworem układu krwiotwórczego.
- Jako pomoc w ustaleniu rokowania u pacjentów z nowotworem układu krwiotwórczego.

Zobacz poniższe piśmiennictwo:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PRÓBKI

Krew żylną należy pobierać do sterylnych probówek zawierających antykoagulant w postaci soli EDTA.

Próbki należy przechowywać w temperaturze pokojowej (18–25°C), bez wytrząsania. Przed pobraniem próbki do testu należy uzyskać jednorodną mieszaninę poprzez delikatne mieszanie.

Próbki muszą zostać zbadane w ciągu 24 godzin od pobrania krwi żylnej przez nakłucie.

STĘŻENIE

Zobacz świadectwo analizy właściwe dla serii pod adresem www.beckman.com.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Nie używać odczynników po upływie daty ważności.
2. Nie zamrażać.
3. Przed użyciem odczekać, aż osiągnie temperaturę pokojową (18–25°C).
4. Maksymalnie ograniczyć narażenie na działanie światła.
5. Nie dopuścić do skażenia mikrobiologicznego odczynników, gdyż może to spowodować uzyskanie fałszywych wyników.
6. Z roztworami przeciwciał zawierającymi azydek sodu (NaN_3) należy postępować ostrożnie. Nie spożywać i nie dopuszczać do kontaktu ze skórą, błoną śluzową oraz oczami.

Ponadto w środowisku kwaśnym azydek sodu może tworzyć potencjalnie niebezpieczny kwas azotowodorowy. W przypadku konieczności usunięcia zalecane jest rozcieńczenie odczynnika w dużej objętości wody przed wlaniem go do kanalizacji, aby uniknąć gromadzenia się azydku sodu w metalowych rurach i uniknąć ryzyka wybuchu.

7. Wszystkie próbki krwi należy uważać za potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi ostrożnie (w szczególności nosić ochronne rękawice, fartuchy i okulary).
8. Nigdy nie wolno pipetować ustami. Nie dopuszczać do kontaktu próbek ze skórą, błonami śluzowymi i oczami.
9. Probówki przeznaczone na krew i materiały jednorazowego użytku używane podczas procedury należy usuwać do pojemników ad hoc przeznaczonych do spalenia.
10. Odczynniki i odpady należy usuwać zgodnie z wymogami lokalnymi.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Produkt nie został sklasyfikowany jako niebezpieczny

SDS Karta charakterystyki jest dostępna pod adresem beckmancoulter.com/techdocs

MAGAZYNOWANIE I STABILNOŚĆ

Ten odczynnik musi być przechowywany w temperaturze 2–8°C z zapewnieniem ochrony przed światłem, zarówno przed otwarciem fiolki jak i po jej otwarciu.

W oparciu o wyniki badania stabilności dopuszczalny okres przechowywania w zamkniętej fiolce ustalono na: 1095 dni.

Stabilność otwartej fiolki: odczynnik zachowuje stabilność przez 180 dni.

OZNAKA POGORSZENIA WŁAŚCIWOŚCI

Wszelkie zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników mogą wskazywać na pogorszenie właściwości — odczynników takich nie należy używać.

W celu otrzymania dodatkowych informacji lub w przypadku otrzymania uszkodzonego produktu należy skontaktować się z działem obsługi klienta firmy Beckman Coulter pod numerem telefonu 800-742-2345 (USA lub Kanada) lub z miejscowym przedstawicielem firmy Beckman Coulter.

ZAWARTOŚĆ

Środek konserwujący, azydek sodu, może tworzyć związki wybuchowe w metalowych rurach kanalizacyjnych. Patrz NIOSH Bulletin (Biuletyn instytutu NIOSH): Explosive Azide Hazard (Niebezpieczeństwo wybuchu azydku) (16.8.76).
Po usunięciu nierozcieńczonego odczynnika należy przepłukać rury ściekowe wodą, aby uniknąć gromadzenia się azydków. Azydek sodu musi być usuwany zgodnie z odpowiednimi przepisami lokalnymi.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE Z ZESTAWEM:

- Probówki do pobierania próbek i materiały wymagane do pobierania próbek.
- Pipety automatyczne z jednorazowymi końcówkami na 10, 100 i 500 µL.
- Probówki z tworzywa sztucznego przeznaczone do hemolizy.
- Odczynnik do lizy erytrocytów, z etapem przemywania po etapie lizy. Przykład: VersaLyse (nr ref. A09777).
- Odczynnik do utrwalania limfocytów. Przykład: Roztwór utrwalający IOTest 3 (nr ref. A07800).
- Bufor (PBS: 0,01 M fosforan sodu; 0,145 M chlorek sodu; pH 7,2).
- Wirówka.
- Mieszadło automatyczne (typu worteks).
- Cytometr przepływowy.

PROCEDURA Z ODCZYNNIKIEM VERSALYSE

1. Dodać odpowiednią objętość 10 µL swoistego przeciwciała skoniugowanego IOTest do każdej probówki testowej.
2. Do każdej probówki dodać 100 µL próbki testowej. Łagodnie worteksować probówki.
3. Inkubować przez 15–20 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C), chroniąc przed światłem.
4. Następnie przeprowadzić lizę krwinek czerwonych. Zapoznać się z ulotką VersaLyse (nr ref. A09777). Preferowane jest postępowanie zgodnie z procedurą „z towarzyszącym utrwalaniem”, która polega na dodaniu 1 mL przygotowanej wcześniej mieszaniny do utrwalania i lizy (Fix-and-Lyse). Bezzwłocznie worteksować przez jedną sekundę i inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej, chroniąc przed światłem.
5. Wirować przez 5 minut przy 150 x g w temperaturze pokojowej.
6. Usunąć supernatant poprzez zasysanie.
7. Zawiesić osad komórkowy w 3 mL PBS.
8. Powtórzyć etap 5.
9. Usunąć supernatant poprzez zasysanie i ponownie zawiesić osad komórkowy w:

- 0,5 mL lub 1 mL PBS oraz 0,1% formaldehydu, jeśli preparaty mają być przechowywane przez mniej niż 24 godz. (0,1% roztwór formaldehydu w PBS można uzyskać, rozcieńczając 12,5 µL roztworu utrwalającego IOTest 3 (nr ref. A07800) stężonego 10X w 1 mL PBS).
- 0,5 mL lub 1 mL PBS bez formaldehydu, jeśli preparaty zostaną poddane analizie w ciągu 2 godz.

Uwaga: Niezależnie od sytuacji preparaty należy przechowywać w temperaturze 2–8°C, chroniąc je przed światłem.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

W naszych laboratoriach próbki krwi pełnej od 25 dawców niewykazujących objawów chorobowych poddano obróbce z użyciem opisanego powyżej odczynnika. Uzyskane wyniki w zakresie liczby dodatnich zdarzeń zainteresowania w przypadku tego odczynnika podano w tabeli poniżej:

Dodatnie docelowe komórki	Liczba	Średnia (%)	SD	WZ (%)
Limfocyty	25	13,51	5,57	41,25

Wartości te są przeznaczone wyłącznie do celów poglądowych. Każde laboratorium powinno ustalić własne wartości oczekiwane z użyciem próbek reprezentatywnych dla lokalnej populacji zdrowych dawców.

WYDAJNOŚĆ

Dane dotyczące wydajności uzyskano z wykorzystaniem procedury opisanej powyżej na próbkach krwi mających mniej niż 24 godziny, uprzednio pobranych do sterylnych probówek z solą EDTA jako antykoagulantem. Badanie przeprowadzono w ciągu 2 godzin po barwieniu immunologicznym.

SWOISTOŚĆ

Klon B9E9 (HRC20) przypisano do CD20 podczas konferencji 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5. międzynarodowe warsztaty dotyczące antygenów różnicujących ludzkie leukocyty), w Bostonie, USA, w 1993 roku (kod WS: CD20.12, sekcja B) (11).

PRECYZJA

Odsetek wartości dodatnich określono przy użyciu krwi pełnej. Każdą próbkę oznaczano 4 razy, dwa razy na dobę przez 1 dzień na 2 analizatorach przy użyciu 2 serii odczynnika przeciwciała monoklonalnego CD20-Pacific Blue. Pomiary (% dodatnich) przeprowadzono na cytometrze przepływowym Navios. Badanie przeprowadzono na podstawie metody opisanej w wytycznych CLSI w dokumencie EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Ocena wydajności precyzji metody pomiarów ilościowych).

Nasze kryteria akceptacji są uzależnione od liczby zdarzeń dodatnich zmierzonych w każdej populacji:

- Jeśli zdarzenie dodatnie < 1500, WZ < 15%
- Jeśli zdarzenie dodatnie > 1500, WZ < 10%

Limfocyty							
Liczba zdarzeń dodatnich (średnia) = 945							
	Między operatorami	Między cytometrami	W ramach serii	Między seriami	Między oznaczeniami	W ramach analizy	Łącznie
WZ (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
WYNIKI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOKŁADNOŚĆ

Dokładność odczynnika CD20-Pacific Blue oceniano poprzez porównanie wyników uzyskanych za pomocą tego odczynnika z wynikami uzyskanymi za pomocą odczynnika referencyjnego, wykorzystywanego jako odniesienie, na zestawie próbek krwi pełnej oznaczanych na cytometrze przepływowym Navios. Odchylenie między odczynnikiem testowym i referencyjnym określono na podstawie różnicy między wynikami testu. Jeśli odchylenie mieści się w dopuszczalnym zakresie błędu lub wartość p wskazuje na brak istotnej różnicy (> 0,05), wyniki testu dla dwóch odczynników są uznawane za równoważne.

W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Liczba dawców = 25				
Dodatnie docelowe komórki	Średnia Δ	Kryteria Δ % komórki	Wartość p	WYNIKI
Limfocyty	-0,65	<3	0,059	PASS

GRANICA PRÓBY ŚLEPEJ I GRANICA WYKRYWALNOŚCI

Przeprowadzono badanie zgodnie z dokumentem CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zdolności wykrywania dla procedur pomiarowych w laboratoriach medycznych). Granica wykrywalności (LOD) to najniższe stężenie analitu, które może być powtarzalnie wykrywane. W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Positive Target	Granica próby ślepej (l. komórek/µL)	Granica wykrywalności (l. komórek/µL)
Limfocyty	2	3

ORGANICZENIA

1. Wyniki cytometrii przepływowej mogą być zafałszowane, jeśli osiowanie cytometru nie było dokładne, przepuszczona fluorescencja nie została prawidłowo skompensowana, a regiony nie zostały starannie upozycjonowane.
2. Preferowane jest stosowanie techniki lizy RBC z etapem przemywania, ponieważ odczynnik ten nie został zoptymalizowany dla technik lizy „bez przemywania”.
3. Uzyskane wyniki będą dokładne i odtwarzalne pod warunkiem, że stosowane będą procedury zgodne z informacjami zawartymi w ulotce z danymi technicznymi oraz z dobrymi praktykami laboratoryjnymi.
4. Skoniugowane przeciwciało zawarte w tym odczynniku zostało skalibrowane tak, aby zapewniać najlepszy stosunek sygnału swoistego do nieswoistego. Dlatego ważne jest przestrzeganie stosunku objętości odczynnika do objętości próbki w każdym teście.
5. W przypadku hiperleukocytozy należy rozcieńczyć krew w PBS, aby uzyskać wartość w przybliżeniu 5 x 10^9 leukocytów/L (12).
6. W niektórych stanach chorobowych, takich jak ciężka niewydolność nerek lub hemoglobinopatie, liza krwinek czerwonych może być powolna, niepełna lub nawet niemożliwa. W takich przypadkach przed barwieniem zalecane jest wyizolowanie komórek jednojądrzastych na gradiencie gęstości (na przykład Ficoll) (13).
7. U pacjentów poddawanych terapii anty-ludzkimi przeciwciałami monoklonalnymi, wykrywanie swoistych antygenów docelowych może być osłabione lub niemożliwe z powodu częściowego lub całkowitego zablokowania przez przeciwciało terapeutyczne.
8. Wyniki oznaczenia CD20-Pacific Blue należy interpretować w świetle ogólnego obrazu klinicznego pacjenta, w tym objawów, historii klinicznej, danych z dodatkowych testów oraz innych właściwych informacji.

Przykłady i piśmiennictwo można znaleźć w załączniku.

ZNAKI TOWAROWE

Beckman Coulter, stylizowane logo oraz wymienione w tym dokumencie znaki produktów i usług firmy Beckman Coulter są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Beckman Coulter, Inc. w Stanach Zjednoczonych i innych krajach.

Pacific Blue jest znakiem towarowym firmy Molecular Probes, Inc.

DODATKOWE INFORMACJE

Dotyczy pacjentów/użytkowników/stron trzecich w Unii Europejskiej i w krajach o identycznym systemie regulacyjnym (rozporządzenie 2017/746/UE w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro) — jeśli podczas lub w wyniku korzystania z tego wyrobu wystąpi poważny incydent, należy zgłosić go producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz odpowiedniemu organowi krajowemu.

Dokument The Summary of Safety and Performance (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania) jest dostępne w bazie danych EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIA ZMIAN

WERSJA AD:	Data wydania: październik 2019 r.

WERSJA	**Data wydania**
AW	Marzec 2022 r.
Aktualizacje w celu zapewnienia zgodności z globalnymi zasadami oznakowania firmy Beckman Coulter i według wymogów rozporządzenia IVD-R (UE)2017/746:	
Dodano części	Numer BSI 2797, Użytkownik docelowy, Znaczenie kliniczne, Stężenie, Precyzja, Dokładność, Granica próby ślepej i granica wykrywalności, Informacje dodatkowe, Historia zmian.
Dodano informacje	Zobacz części Ograniczenia
Aktualizacje wyrażeń lub typograficzne	Zobacz części Procedura, Wydajność, Ograniczenia, Ostrzeżenia i środki ostrożności, Magazynowanie i stabilność.
Usunięte części	Przykłady zastosowań klinicznych, Odczynniki, Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna, Liniowość
Zaktualizowane części	Przeznaczenie, Klasyfikacja zagrożeń wg GHS, Dowód pogorszenia jakości, Procedura, Załącznik.

WERSJA	**Data wydania**
AX	Kwiecień 2023
Zaktualizowane części	Dodano język kazachski
Zaktualizowane części	Przechowywanie i stabilność

Wersja zmieniona	AY
Data zmiany	Maj 2024
Zaktualizowano tłumaczenia	**Znaczenie kliniczne:**
Zaktualizowane części	Historia zmian

Wersja zmieniona	AZ
Data zmiany	Lipiec 2024
Zaktualizowane części	Historia zmian

Legenda symboli

Słowniczek symboli jest dostępny pod adresem beckman.com/techdocs (numer dokumentu B60062)

	Specifikace
Specificita	CD20
Klon	B9E9 (HRC20)
Hybridom	X63 x balb/c
Imunogen	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Imunoglobulin	IgG2a
Druhy	Myš
Purifikace	Afinitní chromatografie
Fluorochrom	Pacific Blue
Molární poměr	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
Excitace λ	405 nm
Emisní vrchol	455 nm
Pufr	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugovaná protilátka CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 ml, 10 µl / test

Pro diagnostické účely *in vitro*.

URČENÉ POUŽITÍ

Tato protilátka konjugovaná s fluorochromem umožňuje kvalitativní a neautomatizovanou identifikaci buněčných populací exprimujících antigen CD20 v lidských biologických vzorcích (viz část „Vzorky“ níže) pomocí průtokové cytometrie.

PRINCIP

Tento test je založen na schopnosti monoklonálních protilátek specificky se vázat na antigenní determinanty exprimované na leukocytech.

Specifické značení leukocytů se provádí inkubováním vzorku s reagencií IOTest. Červené krvinky jsou poté odstraněny provedením lýzy a bílé krvinky, jež tímto procesem nejsou ovlivněny, jsou analyzovány na průtokovém cytometru.

Průtokový cytometr měří difúzi světla a fluorescenci buněk. Umožňuje oddělit zkoumanou populaci v rámci elektronického okna definovaného na histogramu, který je v korelaci s ortogonální difúzí světla (kolmý rozptyl) a s difúzí světla v úzkém úhlu (přímý rozptyl). Jako podporu ve fázi gatování lze, v závislosti na aplikaci zvolené uživatelem, použít další histogramy s kombinací dvou různých parametrů, které jsou v cytometru k dispozici.

Fluorescence oddělených buněk je analyzována s cílem odlišit pozitivně obarvené události od neobarvených. Výsledky jsou vyjádřeny jako procentní podíl pozitivních událostí ze všech událostí zjištěných gatováním.

ZAMÝŠLENÝ UŽIVATEL

Tento produkt je určen pro profesionální laboratorní použití.

KLINICKÁ VÝZNAMNOST

CD20-Pacific Blue je protilátka CD20 používaná k identifikaci a charakterizaci buněk exprimujících antigen CD20 pomocí průtokové cytometrie. Tento produkt sám o sobě nevytváří a nemá vytvářet žádný diagnostický závěr.

Při použití v kombinaci s dalšími markery lze tento produkt použít k jedné nebo více z následujících funkcí:

- Jako pomůcka pro diferenciální diagnostiku pacientů s hematologickými abnormalitami, u kterých je podezření na hematopoetickou neoplazii, a k monitorování pacientů se známou hematopoetickou neoplazií.
- Jako pomůcka pro stanovení prognózy u pacientů s hematopoetickou neoplazií.

Viz následující odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

VZORKY

Vzorky žilní krve musejí být odebrány do sterilních zkumavek obsahujících sůl EDTA jako antikoagulační činidlo.

Vzorky by měly být uchovávány při laboratorní teplotě (18–25 °C) a neměly by se protřepávat. Vzorek by měl být před odebráním vzorku k testování homogenizován mírným promícháním.

Vzorky je nutné analyzovat do 24 hodin od venepunkce.

KONCENTRACE

Viz certifikát o analýze specifický pro šarži na www.beckman.com.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagencii nepoužívejte po datu exspirace.
2. Nezmrazujte.
3. Před použitím nechte vytemperovat na laboratorní teplotu (18–25 °C).
4. Minimalizujte expozici světlu.
5. Zabraňte mikrobiologické kontaminaci reagencií, jinak mohou být výsledky chybné.
6. S roztoky protilátek obsahujícími azid sodný (NaN_3) je třeba manipulovat opatrně. Neužívejte vnitřně a zabraňte veškerému kontaktu s pokožkou, sliznicemi a očima.

V kyselém prostředí může azid sodný navíc vytvářet potenciálně nebezpečnou kyselinu azidovodíkovou. Při likvidaci se doporučuje před vylitím do odpadu reagencii zředit velkým objemem vody, aby nedocházelo k hromadění nebezpečného azidu sodného v kovovém potrubí a předešlo se tak riziku exploze.

7. Všechny vzorky krve je nutno považovat za potenciálně infekční a je nutné manipulovat s nimi opatrně (zvláště: používat ochranné rukavice, pláště a brýle).
8. Nikdy nepipetujte ústy a zabraňte tomu, aby se vzorky dostaly do kontaktu s kůží, sliznicí ani očima.
9. Zkumavky s krví a jednorázový materiál určený pro manipulaci je třeba likvidovat v kontejnerech ad hoc určených ke spálení.
10. Reagencie a odpad by měly být odstraňovány v souladu s místními požadavky.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Není klasifikované jako nebezpečné

SDS Bezpečnostní list je k dispozici na internetové adrese beckmancoulter.com/techdocs.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Před otevřením lahvičky a po jejím otevření musí být tato reagencie uchovávána při teplotě mezi 2 a 8 °C a chráněna před světlem.

Doba použitelnosti uzavřené lahvičky podle studie stability: 1095 dnů/dní.

Stabilita již jednou otevřené lahvičky: reagencie je stabilní po dobu 180 dní.

ZNÁMKY ZHORŠENÍ KVALITY

Jakákoli změna fyzického vzhledu reagencií může znamenat jejich znehodnocení a taková reagencie by se neměla používat.

Pokud potřebujete další informace nebo jste obdrželi poškozený produkt, zavolejte na telefonní číslo zákaznické služby společnosti Beckman Coulter 800-742-2345 (USA nebo Kanada) nebo se obraťte na místního zástupce společnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervační látka azid sodný může v kovovém odpadním potrubí vytvářet výbušné sloučeniny. Viz buletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečí výbušných azidů) (16.8.76).
Po vypuštění neředěné reagencie propláchněte odpadní potrubí vodou, aby se v něm nehromadily azidové sloučeniny. Likvidace azidu sodného musí být prováděna podle příslušných místních předpisů.

MATERIÁLY POTŘEBNÉ, ALE NEDODANÉ SE SOUPRAVOU:

- Zkumavky na odběr vzorků a materiál potřebný k odběru vzorků.
- Automatické pipety s jednorázovými špičkami pro 10, 100 a 500 µl.
- Plastové zkumavky na hemolýzu.
- Reagencie pro lýzu červených krvinek s fází promývání po lýze. Například: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagencie pro fixaci leukocytů. Například: Fixační roztok IOTest 3 (ref. A07800).
- Pufr (PBS: 0,01 M fosforečnan sodný; 0,145 M chlorid sodný; pH 7,2).
- Odstředivka.
- Automatické míchadlo (typu vortex).
- Průtokový cytometr.

POSTUP S REAGENCIÍ VERSALYSE

1. Přidejte příslušný objem 10 µl specifické konjugované protilátky IOTest do každé testovací zkumavky.
2. Do každé zkumavky přidejte 100 µl testovaného vzorku. Zkumavky jemně promíchejte na vortexové míchačce.
3. Provádějte inkubaci po dobu 15 až 20 minut při laboratorní teplotě (18–25 °C), chraňte před světlem.
4. Poté lyzujte červené krvinky. Postupujte dle brožury VersaLyse (ref. A09777) a řiďte se, pokud možno, postupem nazvaným „s průvodní fixací“, který spočívá v přidání 1 ml fixační a lyzační směsi připravené bezprostředně před použitím. Ihned vortexujte po dobu jedné sekundy a inkubujte po dobu 10 minut při laboratorní teplotě, přičemž chraňte před světlem.
5. Odstřeďujte 5 minut při 150 x g při laboratorní teplotě.
6. Supernatant odsajte.
7. Resuspendujte buněčnou peletu pomocí 3 ml PBS.
8. Opakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte buněčnou peletu pomocí:

- 0,5 ml nebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, pokud mají být preparáty uchovány po dobu kratší než 24 hodin. (PBS s 0,1 % formaldehydu lze získat zředěním 12,5 µl fixačního roztoku IOTest 3 (ref. A07800) o koncentraci 10x v 1 ml PBS.)
- 0,5 ml nebo 1 ml PBS bez formaldehydu, pokud mají být preparáty analyzovány do 2 hodin.

Poznámka: Ve všech případech uchovávejte preparáty při teplotě mezi 2 a 8 °C a chraňte je před světlem.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratořích bylo 25 vzorků plné krve zjevně zdravých dárců zpracováno za použití výše popsané reagencie. Získané výsledné počty cílových pozitivních událostí s touto reagencií jsou uvedeny v následující tabulce:

Pozitivní nosič	Počet	Průměr (%)	SD (směrodatná odchylka)	VK (%)
Lymfocyty	25	13,51	5,57	41,25

Tyto hodnoty by měly být pouze reprezentativní. Každá laboratoř si musí stanovit vlastní očekávané hodnoty na základě místní populace normálních dárců.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Data o výkonu se získávají výše popsaným postupem na vzorcích krve starých méně než 24 hodin, které byly odebrány do sterilních zkumavek se solí EDTA jakožto antikoagulačním činidlem. Analýza se provádí do 2 hodin od imunobarvení.

SPECIFICITA

Specificita rozpoznání antigenu CD20 klonem B9E9 (HRC20) byla uznána v rámci 5. HLDA konference o lidských leukocytárních diferenciačních antigenech (5th HLDA Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens), která se konala v roce 1993 v Bostonu v USA (WS kód: CD20.12, sekce B) (11).

PRECIZNOST

Procentuální pozitivní hodnoty byly stanoveny použitím plné krve. Každý vzorek byl analyzován 4krát, dvakrát denně v průběhu 1 dne na 2 přístrojích pomocí 2 šarží reagencií s monoklonální protilátkou CD20-Pacific Blue. Měření (% pozitivních) byla provedena na průtokovém cytometru Navios. Analýza byla provedena na základě metody CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vyhodnocení výkonu preciznosti kvantitativních měřicích metod).

Naše kritéria přijatelnosti závisí na počtu pozitivních událostí změřených pro každou populaci:

- Pokud pozitivní událost < 1 500, VK < 15 %
- Pokud pozitivní událost > 1 500, VK < 10 %

Lymfocyty							
Počet pozitivních událostí (průměr) = 945							
	Mezi obslužnými pracovníky	Mezi cytometry	V rámci šarže	Mezi šaržemi	Mezi cykly	V rámci cyklu	Celkem
VK (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PŘESNOST

Přesnost CD20-Pacific Blue byla vyhodnocena porovnáním výsledků s referenční reagencií sloužící jako srovnávací látka na sadě vzorků plné krve analyzované na průtokovém cytometru Navios. Na základě rozdílu mezi výsledky testů byla stanovena odchylka mezi testem a referenční reagencií. Pokud je odchylka v rámci rozsahu přípustné chyby nebo hodnota p naznačuje, že nedošlo k žádnému významnému rozdílu (> 0,05), výsledky testů daných dvou reagencií se považují za shodné.

Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Počet dárců = 25				
Pozitivní nosič	Průměr Δ	Kritéria Δ % buněk	Hodnota p	VÝSLEDKY
Lymfocyty	-0,65	<3	0,059	PASS

MEZ PRÁZDNÉHO VZORKU A MEZ MĚŘITELNOSTI

Byla provedena studie v souladu se směrnicí CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnocení schopnosti detekce pro klinické laboratorní postupy měření). Mez měřitelnosti (LOD) je nejnižší koncentrace analytu, kterou lze spolehlivě detekovat. Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Positive Target	Mez prázdného vzorku (buňky/µl)	Mez měřitelnosti (buňky/µl)
Lymfocyty	2	3

OMEZENÍ

1. Průtoková cytometrie může přinést falešné výsledky, pokud cytometr nebyl dokonale seřízen, pokud nebyly správně kompenzovány úniky fluorescence a pokud oblasti nebyly pečlivě umístěny.
2. Je vhodné používat techniku lýzy RBC s promývacím krokem, protože tato reagencie není optimalizována pro techniku lýzy bez promývání.
3. Přesných a reprodukovatelných výsledků bude dosaženo, pokud jsou použité postupy v souladu s technickým příbalovým letákem a se správnou laboratorní praxí.
4. Konjugovaná protilátka této reagencie je kalibrována tak, aby poskytovala nejlepší možný poměr specifického signálu k nespecifickému signálu. Proto je důležité při každém testu dodržovat poměr objemu reagencie a objemu vzorku.
5. V případě hyperleukocytózy nařeďte krev v přípravku PBS tak, aby byla dosažena hodnota přibližně 5 x 10^9 leukocytů/l (12).
6. U určitých chorob, například závažného selhání ledvin či hemoglobinopatií, se může stát, že lýza červených krvinek bude probíhat pomalu, nedokončí se, nebo dokonce nebude možná. V tomto případě se před značením doporučuje izolovat mononukleární buňky s použitím hustotního gradientu (např. Ficoll) (13).
7. U pacientů léčených pomocí monoklonálních protilátek proti lidským antigenům může být detekce specificky cílených antigenů snížena nebo může chybět kvůli částečné nebo celkové blokaci terapeutickými protilátkami.
8. Výsledky analýzy CD20-Pacific Blue je nutné interpretovat s přihlédnutím k celkovému klinickému obrazu pacienta, včetně symptomů, klinické anamnézy, údajů z dalších testů a dalších vhodných informací.

Příklady a reference jsou uvedeny v příloze.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, stylizované logo a známky produktů a služeb společnosti Beckman Coulter uvedené v tomto dokumentu jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Beckman Coulter, Inc. ve Spojených státech amerických a dalších zemích.

Pacific Blue je ochranná známka společnosti Molecular Probes, Inc.

DALŠÍ INFORMACE

Pro pacienty, uživatele nebo třetí osoby v Evropské unii a v zemích se stejným regulačním režimem (nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro); pokud při používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání dojde k závažné nehodě, prosím ohlaste tuto nehodu výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a kompetentnímu vnitrostátnímu orgánu.

Summary of Safety and Performance (Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti) je k dispozici v databázi EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIE REVIZÍ

REVIZE AD:	Datum vydání: Říjen 2019

REVIZE	**Datum vydání**
AW	Březen 2022
Aktualizace kvůli shodě s globálními zásadami označování společnosti Beckman Coulter a dle požadavků IVD-R (EU) 2017/746:	
Přidání částí	Číslo BSI 2797, Určený uživatel, Klinická významnost, Koncentrace, Preciznost, Přesnost, Mez prázdného vzorku a mez měřitelnosti, Další informace, Historie změn.
Přidány informace	Viz část Omezení
Aktualizace formulací a typografické aktualizace	Viz části Postup, Výkon, Omezení, Varování a bezpečnostní opatření, Skladování a stabilita.
Odstranění částí	Příklad klinických použití, Reagencie, Reprodukovatelnost v rámci laboratoře, Linearita
Aktualizované části	Určené použití, Klasifikace nebezpečí podle GHS, Známky znehodnocení, Postup, Příloha.

REVIZE	**Datum vydání**
AX	duben 2023
Aktualizované části	Přidání kazašského jazyka
Aktualizované části	Skladování a stabilita

Revidovaná verze	AY
Datum revize	Květen 2024
Aktualizované překlady	**Klinická významnost:**
Aktualizované části	Historie revizí

Revidovaná verze	AZ
Datum revize	cervenec 2024
Aktualizované části	Historie revizí

Klíč k symbolům

Slovníček symbolů je k dispozici na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	Špecifikácie
Špecificita	CD20
Klon	B9E9 (HRC20)
Hybridóm	X63 x balb/c
Imunogén	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Imunoglobulín	IgG2a
Druhy	Myš
Purifikácia	Afinita Chromatografia
Fluorochróm	Pacific Blue
Molárny pomer	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
Excitácia λ	405 nm
Vrchol emisií	455 nm
Tlmivý roztok	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugovaná protilátka CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 ml, 10 µl / test

Na *in vitro* diagnostické použitie.

URČENÉ POUŽITIE

Táto protilátka konjugovaná s fluorochrómom umožňuje pomocou prietokovej cytometrie vykonávať kvalitatívnu, neautomatizovanú identifikáciu populácie buniek exprimujúcich antigén CD20 v ľudských biologických vzorkách (pozri časť „vzorky“ nižšie).

PRINCÍP

Tento test je založený na schopnosti špecifických monoklonálnych protilátok viazať sa na antigénne determinanty exprimované na leukocytoch.

Špecifické farbenie leukocytov sa vykoná inkubáciou vzorky s činidlom IOTest. Červené krvinky sa následne odstránia lýzou a leukocyty, na ktoré tento postup nemá vplyv, sa analyzujú prietokovou cytometriou.

Prietokový cytometer meria rozptyl svetla a fluorescenciu buniek. Umožňuje vymedzenie požadovanej populácie v rámci elektronického okna zadefinovaného v histograme znázorňujúcom koreláciu ortogonálneho rozptylu svetla (bočný rozptyl, SS) a rozptylu svetla v úzkom uhle (predný rozptyl, FS). Ostatné histogramy obsahujúce kombináciu dvoch rozličných parametrov dostupných na cytometri možno použiť na podporu vo fáze gatingu v závislosti od aplikácie zvolenej používateľom.

Fluorescencia vymedzených buniek sa analyzuje s cieľom odlíšiť pozitívne sfarbené udalosti od nesfarbených. Výsledky sú vyjadrené ako percento pozitívnych udalostí vzhľadom na všetky udalosti zaznamenané gatingom.

URČENÝ POUŽÍVATEĽ

Tento produkt je určený na profesionálne laboratórne použitie.

KLINICKÝ VÝZNAM

CD20-Pacific Blue je protilátka proti CD20 používaná na identifikáciu a charakterizáciu buniek exprimujúcich antigén CD20 pomocou prietokovej cytometrie. Tento výrobok sám osebe nemôže a ani nemá slúžiť na vyvodzovanie akýchkoľvek diagnostických záverov.

Pri použití v kombinácii s inými markermi možno tento produkt použiť na jeden alebo viac z týchto účelov:

- Ako pomôcka pri diferenciálnej diagnostike hematologicky abnormálnych pacientov s podozrením na hematopoetickú neoplazmu a na monitorovanie pacientov so známou hematopoetickou neoplazmou.
- ako pomôcka pri stanovovaní prognózy u pacientov s hematopoetickou neoplazmou,

Pozrite si nasledujúce odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

VZORKY

Vzorky žilovej krvi musia byť odobraté do sterilných skúmaviek, ktoré obsahujú soľ EDTA ako antikoagulačné činidlo.

Vzorky by sa mali uchovávať pri izbovej teplote (18 – 25 °C) a nemalo by sa nimi triasť. Vzorky by sa mali pred odobratím testovacej vzorky homogenizovať jemným pretrepaním.

Vzorky sa musia analyzovať do 24 hodín od odberu.

KONCENTRÁCIA

Pozrite si certifikát analýzy pre konkrétnu šaržu na adrese www.beckman.com.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

1. Činidlo nepoužívajte po dátume exspirácie.
2. Nezamrazujte.
3. Pred použitím nechajte zahriať na izbovú teplotu (18 – 25 °C).
4. Minimalizujte vystavenie svetlu.
5. Zabráňte mikrobiálnej kontaminácii činidiel, inak môže dôjsť k falošným výsledkom.

6. S roztokmi protilátok obsahujúcimi azid sodný (NaN_3) by sa malo zaobchádzať opatrne. Nepožívajte ich a vyhýbajte sa akémukoľvek kontaktu s kožou, sliznicami a očami.

   V médiu s obsahom kyseliny môže navyše azid sodný vytvárať potenciálne nebezpečnú kyselinu azidovodíkovú. Ak je činidlo potrebné zlikvidovať, odporúča sa ho pred vyliatím do kanalizácie zriediť vo veľkom objeme vody, aby sa predišlo riziku explózie v dôsledku hromadenia azidu sodného v kovovom potrubí.
7. Všetky vzorky krvi sa musia považovať za potenciálne infekčné, a preto sa s nimi musí narábať opatrne (predovšetkým: používajte ochranné rukavice, plášte a okuliare).
8. Nikdy nepipetujte ústami a zabráňte akémukoľvek kontaktu vzoriek s pokožkou, sliznicami a očami.
9. Skúmavky na krv a jednorazový materiál používané pri manipulácii sa musia zlikvidovať do schválených nádob určených na spálenie.
10. Činidlá a odpad by sa mali eliminovať v súlade s miestnymi požiadavkami.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Nie je klasifikované ako nebezpečné

SDS Bezpečnostný list je dostupný na adrese beckmancoulter.com/techdocs

SKLADOVANIE A STABILITA

Toto činidlo sa musí skladovať pri teplote od 2 do 8 °C a chrániť pred svetlom pred aj po otvorení fľaštičky.

Doba použiteľnosti uzavretej fľaštičky podľa štúdie stability: 1095 dní.

Stabilita otvorenej fľaštičky: činidlo je stabilné 180 dní.

ZNÁMKY ZNEHODNOTENIA

Akákoľvek zmena fyzického vzhľadu činidla môže svedčiť o zhoršení kvality a takéto činidlo by sa nemalo používať.

Ak potrebujete ďalšie informácie alebo ak je výrobok poškodený, kontaktujte stredisko zákazníckych služieb spoločnosti Beckman Coulter na telefónnom čísle 800-742-2345 (ak sa nachádzate v USA alebo Kanade) alebo kontaktujte miestneho zástupcu spoločnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervačné činidlo azid sodný môže v kovovej kanalizačnej sieti vytvárať výbušné zlúčeniny. Pozrite si informačný bulletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečenstvo výbušného azidu) (16. 8. 76).
Aby nedošlo k možnému nahromadeniu azidových zlúčenín, po likvidácii neriedeného činidla vypláchnite potrubie vodou. Likvidácia azidu sodného musí prebiehať v súlade s príslušnými miestnymi predpismi.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ NIE JE SÚČASŤOU SÚPRAVY:

- Vzorkovacie skúmavky a materiál potrebný na vzorkovanie.
- Automatické pipety s jednorazovými špičkami na dávkovanie objemov 10, 100 a 500 µl.
- Plastové hemolytické skúmavky.
- Činidlo na lýzu červených krviniek s umývacou fázou po lýze. Napríklad: VersaLyse (Ref. A09777).
- Činidlo na fixáciu leukocytov. Napríklad: fixačný roztok IOTest 3 (Ref. A07800).
- TImiaci roztok (PBS: fosforečnan sodný 0,01 M; chlorid sodný 0,145 M; pH 7,2).
- Centrifúga.
- Automatické miešadlo (typ Vortex).
- Prietokový cytometer.

POSTUP S ČINIDLOM VERSALYSE

1. Do každej testovacej skúmavky pridajte príslušný objem 10 µl špecifickej konjugovanej IOTest protilátky.
2. Do každej skúmavky pridajte 100 µl testovanej vzorky. Skúmavky jemne vortexujte.
3. Inkubujte 15 až 20 minút pri izbovej teplote (18 – 25 °C) bez prístupu svetla.
4. Potom vykonajte lýzu červených krviniek. Postupujte podľa písomnej informácie VersaLyse (Ref. A09777) a ideálne použite postup označený ako „so sprievodnou fixáciou“, ktorý zahŕňa pridanie 1 ml bezprostredne pripravenej zmesi „na fixáciu a lýzu“. Ihneď premiešajte jednu sekundu a inkubujte 10 minút pri izbovej teplote a chráňte pred svetlom.
5. Odstreďujte 5 minút pri 150 x g pri izbovej teplote.
6. Nasatím odoberte supernatant.
7. Resuspendujte bunkový pelet použitím 3 ml PBS.
8. Zopakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte bunkový pelet použitím:

- 0,5 ml alebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, ak sa preparáty budú skladovať kratšie ako 24 hodín. (Roztok PBS s 0,1 % formaldehydu možno pripraviť zriedením 12,5 µl fixačného roztoku IOTest 3 (Ref. A07800) v 10X koncentrácii v 1 ml roztoku PBS).
- 0,5 ml alebo 1 ml PBS bez formaldehydu, ak sa preparáty budú analyzovať do 2 hodín.

Poznámka: Preparáty vždy uchovávajte pri teplote 2 až 8 °C a mimo dosahu svetla.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratóriách sa vzorky plnej krvi od 25 zjavne zdravých darcov spracovali pomocou vyššie popísaného činidla. Získané výsledky pre príslušné počty skúmaných pozitívnych udalostí s týmto činidlom sú uvedené v tabuľke nižšie:

Pozitívny cieľ	Počet	Priemer (%)	SD	CV (%)
Lymfocyty	25	13,51	5,57	41,25

Tieto hodnoty slúžia len ako reprezentatívne údaje. Každé laboratórium by si malo určiť vlastné očakávané hodnoty na základe miestnej populácie normálnych darcov.

VÝKONNOSŤ

Údaje o výkonnosti boli získané pomocou vyššie opísaného postupu z menej ako 24 hodín starých vzoriek krvi odobraných do sterilných skúmaviek so soľou EDTA ako antikoagulačným činidlom. Analýza prebehla do 2 hodín od imunologického farbenia.

ŠPECIFICITA

Špecificita rozpoznania CD20 klonom monoklonálnej protilátky B9E9 (HRC20) bola uznaná v rámci konferencie 5th HLDA Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens (5. konferencia HLDA o ľudských leukocytárnych diferenciačných antigénoch), ktorá sa konala v roku 1993 v Bostone, USA (WS kód: CD20.12, sekcia B) (11).

PRESNOSŤ

Percentuálne pozitívne hodnoty boli stanovené s použitím plnej krvi. Každá vzorka bola analyzovaná 4-krát, dva razy denne počas 1 dňa na 2 prístrojoch pri použití 2 šarží činidiel s monoklonálnymi protilátkami proti CD20-Pacific Blue. Merania (% pozitívnych) sa vykonávali na prietokovom cytometri Navios. Analýza sa vykonávala podľa metódy CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Hodnotenie zhodnosti pri metódach kvantitatívneho merania).

Naše kritériá prijateľnosti závisia od počtu pozitívnych udalostí nameraného v jednotlivých populáciách:

- Ak je pozitívnych udalostí < 1500, CV < 15 %
- Ak je pozitívnych udalostí > 1500, CV < 10 %

Lymfocyty							
Počet pozitívnych udalostí (priemer) = 945							
	Medzi operátormi	Medzi cytometrami	V rámci jednej šarže	Medzi šaržami	Medzi analýzami	V rámci jednej analýzy	Celkovo
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRESNOSŤ

Presnosť CD20-Pacific Blue bola vyhodnotená porovnaním výsledkov s porovnávacím referenčným činidlom na súbore vzoriek plnej krvi analyzovaných v prietokovom cytometri Navios. Odchýlka medzi testovaným a referenčným činidlom bola stanovená na základe rozdielu medzi výsledkami testov. Ak je odchýlka v medziach prípustného chybového rozsahu, alebo ak p-hodnota svedčí o nevýznamnom rozdiele (> 0,05), výsledky testovania daných dvoch činidiel sa považujú za rovnocenné.

Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Počet darcov = 25				
Pozitívny cieľ	Priemer Δ	Kritériá Δ % buniek	p-hodnota	VÝSLEDKY
Lymfocyty	-0,65	<3	0,059	PASS

MEDZA PRÁZDNEJ VZORKY A MEDZA MERATEĽNOSTI

Bola vykonaná štúdia v súlade s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnotenie detekčnej schopnosti pre postupy klinických laboratórnych meraní). Medza merateľnosti (LoD) je najnižšia koncentrácia analytu, ktorú možno konzistentne detegovať. Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Positive Target	Medza prázdnej vzorky (buniek/µl)	Medza merateľnosti (buniek/µl)
Lymfocyty	2	3

OBMEDZENIA

1. Prietoková cytometria môže vytvárať falošné výsledky, ak cytometer nie je správne zarovnaný, ak úniky fluorescencie nie sú správne kompenzované, alebo ak nie sú oblasti správne umiestnené.
2. Vhodnejšie je používať metódu lýzy RBC s krokom premývania, keďže toto činidlo nie je optimalizované na metódy lýzy „bez premývania“.
3. Presné a reprodukovateľné výsledky sa získajú len vtedy, ak sa použijú postupy v súlade s technickými údajmi v príbalovom letáku a v súlade s osvedčenou laboratórnou praxou.
4. Konjugovaná protilátka tohto činidla sa kalibruje tak, aby ponúkala najlepší pomer špecifického signálu/nešpecifického signálu. Preto je dôležité pri každom teste dodržať pomer objem činidla/objem vzorky.
5. V prípade hyperleukocytózy zrieďte krv v PBS na koncentráciu približne 5 x 10^9 leukocytov/l (12).
6. Pri niektorých chorobných stavoch, akými sú napríklad závažné zlyhanie obličiek alebo hemoglobinopatie, môže byť lýza červených krviniek pomalá, neúplná alebo dokonca nemožná. V takom prípade sa odporúča pred farbením izolovať mononukleárne bunky pomocou hustotného gradientu (napríklad Ficoll) (13).
7. U pacientov liečených monoklonálnymi protilátkami proti ľudským protilátkam môže byť detekcia špecifických cieleným antigénom znížená alebo môže úplne chýbať v dôsledku čiastočného alebo úplného blokovania terapeutickej protilátky.

8. Pri interpretácii výsledkov CD20-Pacific Blue treba brať do úvahy celkový klinický obraz pacienta vrátane symptómov, klinickej anamnézy, výsledkov ďalších testov a iných súvisiacich informácií.

Príklady a referencie nájdete v Dodatku.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, štylizované logo a známky produktov a služieb spoločnosti Beckman Coulter spomenuté v tomto dokumente sú ochranné známky alebo registrované ochranné známky spoločnosti Beckman Coulter, Inc. v USA a ďalších krajinách.

Pacific Blue je ochranná známka spoločnosti Molecular Probes, Inc.

DOPLŇUJÚCE INFORMÁCIE

Pre pacienta/používateľa/tretiu stranu v Európskej únii a v krajinách s identickým regulačným režimom (Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/746 o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro): ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne vážna nehoda, nahláste ju výrobcovi a/alebo jeho autorizovanému zástupcovi a vášmu národnému orgánu.

Summary of Safety and Performance (Súhrn informácií o bezpečnosti a výkonnosti) je k dispozícii v databáze EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRIA REVÍZIÍ

REVÍZIA AD:	Dátum vydania: Október 2019

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AW	Marec 2022
Aktualizácie kvôli súladu s dokumentom Beckman Coulter Global Labelling Policy (Globálne pravidlá označovania spoločnosti Beckman Coulter) a podľa požiadaviek nariadenia IVDR (EÚ) 2017/746:	
Pridané časti	Číslo BSI 2797, Určený používateľ, Klinický význam, Koncentrácia, Zhodnosť, Presnosť, Medza prázdnej vzorky a medza merateľnosti, Doplňujúce informácie, História revízií.
Pridané informácie	Pozri časti Obmedzenia
Aktualizácie formulácií alebo typografické aktualizácie	Pozri časti Postup, Výkonnosť, Obmedzenia, Výstraha a opatrenia, Skladovanie a stabilita.
Odstránené časti	Príklad klinických aplikácií, Činidlá, Intralaboratórna reprodukovateľnosť, Linearita
Aktualizované časti	Určené použitie, Klasifikácia nebezpečenstiev podľa GHS, Známky zhoršenia kvality, Postup, Dodatok.

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AX	Apríl 2023
Aktualizované časti	Pridať kazaštinu
Aktualizované časti	Skladovanie a stabilita

Revidovaná verzia	AY
Dátum revízie	Máj 2024
Aktualizované preklady	**Klinický význam:**
Aktualizované časti	História revízií

Revidovaná verzia	AZ
Dátum revízie	Júl 2024
Aktualizované časti	História revízií

Popis symbolov

Slovník symbolov je dostupný na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	규격
특이도	CD20
클론	B9E9 (HRC20)
하이브리도마	X63 x balb/c
면역원	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
면역글로불린	IgG2a
종	생쥐
정제	친화성 크로마토그래피
형광색소	Pacific Blue
분자비	Pacific Blue/Ig: 5.30 - 6.50
λ 자극	405 nm
방출 피크	455 nm
완충액	PBS pH 7.2 + 2mg/mL BSA 및 0.1 % NaN_3

IOTest

복합 항체
CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0.5 mL, 10 µL / test

체외 **진단용으로 사용합니다.**

사용목적

본 형광색소 결합 항체를 사용 시 유세포 분석법으로 인간의 생물학적 검체에 있는 CD20 항원을 나타내는 세포군의 정성적 동정 및 비자동 동정을 수행할 수 있습니다(아래 "검체" 섹션 참조).

원리

이 검사는 백혈구로 발현되는 항원 결정기에 특이적 단일클론 항체가 결합할 수 있는 능력에 기초합니다.

백혈구의 특이적 염색은 검체를 IOTest 시약과 함께 배양하여 수행합니다. 그런 다음 적혈구를 용해하여 제거하고 이 과정에서 영향을 받지 않은 백혈구를 유세포 분석법을 통해 분석하십시오.

유세포 분석기는 세포의 빛 확산과 형광 영역을 측정합니다. 유세포 분석기를 사용하면 빛의 직교 확산(측면 산란, SS)과 좁은 각의 광확산(전방 산란, FS)의 상호 관계를 지정하는 막대그래프상에 정의된 전자 창 내에서 관심 개체의 한계를 결정할 수 있습니다. 유세포 분석기에서 사용할 수 있는 두 가지 파라메타를 결합하는 기타 막대그래프를 사용자가 선택한 애플리케이션에 따라 게이팅 단계에서 지원 자료로 사용 가능합니다.

범위가 결정된 세포의 형광 영역을 분석하여 명확하게 염색된 이벤트와 염색되지 않은 이벤트를 구분합니다. 분석 결과는 게이팅으로 획득한 전체 이벤트와 비교한 양성 이벤트의 비율로 표현합니다.

의도된 사용자

본 제품은 실험실 전문가용입니다.

임상 관련성

CD20-Pacific Blue은(는) 유세포 분석법으로 CD20 항원을 나타내는 세포를 식별하고 특성화하는 데 사용하는 CD20 항체입니다. 본 제품만 사용하여 진단과 관련된 결론을 내릴 수 없으며, 해당 용도로 사용해서도 안 됩니다.

다른 표지자와 함께 사용하는 경우 이 제품은 다음 중 하나 이상의 기능에 사용할 수 있습니다.

- 조혈세포성 종양이 의심되고 혈액학적 이상을 동반하는 환자의 감별 진단을 위한 보조 수단으로 활용하거나 알려진 조혈세포성 종양을 가진 환자를 모니터링하는 데 사용합니다.
- 혈액암 환자 예후의 보조 수단으로 활용.

다음 참조를 살펴보십시오.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

검체

정맥혈은 EDTA 염을 항응고제로 포함한 무균 튜브를 사용하여 채취해야 합니다.

검체는 실온(18~25°C)에 보관해야 하며 흔들어서는 안 됩니다. 검사 검체를 채취하기 전에 부드럽게 교반하여 검체를 균질화해야 합니다.

검체는 정맥천자 후 24시간 이내에 분석해야 합니다.

농도

www.beckman.com에서 로트별 분석증명서를 확인할 수 있습니다.

경고 및 주의 사항

1. 유효 기간이 지난 시약은 사용하지 마십시오.
2. 냉동하지 마십시오.
3. 사용 전 실온(18~25°C)에 두십시오.
4. 빛 노출을 최소화하십시오.
5. 시약이 미생물에 오염되지 않도록 하십시오. 그러지 않으면 잘못된 결과를 얻을 수 있습니다.
6. 아지드화나트륨(NaN_3)을 함유한 항체 용액은 주의해서 다루어야 합니다. 흡입을 피하고 피부, 점막 및 눈에 절대 닿지 않도록 하십시오.

또한 산성 매질에 함유된 아지드화나트륨은 잠재적 위험 물질인 히드라조산을 만들어낼 수 있습니다. 시약을 폐기할 때는 금속 파이프 내 아지드화나트륨 축적과 폭발 위험을 방지하기 위해 다량의 물에 희석한 후 배수 시설로 흘려보내야 합니다.

7. 모든 혈액 검체는 잠재적으로 전염성이 있다고 간주하고 주의해서 다루어야 합니다(특히 보호용 장갑, 가운 및 보안경 착용).
8. 피펫을 절대 입으로 사용하지 않도록 하고 검체가 피부, 점막 및 눈에 닿지 않도록 하십시오.
9. 취급에 사용한 혈액 튜브 및 일회용 물질은 소각용 특수 용기에서 폐기해야 합니다.
10. 시약 및 폐기물은 현지 요구 사항에 따라 제거해야 합니다.

GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음

SDS 안전보건자료는 beckmancoulter.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다.

보관 및 안정성

이 시약은 바이알 개봉 전후에 2~8°C로 유지하면서 빛으로부터 보호해야 합니다.

안정성 시험에 따른 밀봉 바이알 유효 기간: 1095일.

개봉한 바이알의 안정성: 시약은 180일 동안 안정적입니다.

성능 저하 증거

시약 외관에 물리적 변화가 있는 경우 성능 저하를 나타내는 것일 수 있으므로 시약을 사용해서는 안 됩니다.

자세한 정보가 필요하거나 손상된 제품을 받은 경우에는 Beckman Coulter 고객 서비스에 800-742-2345(미국 또는 캐나다)로 또는 현지 Beckman Coulter 담당자에게 문의하십시오.

목차

소디움 아자이드 보존제는 금속 배수관에서 폭발성 화합물을 형성할 수 있습니다. NIOSH 게시판을 참조하십시오. Explosive Azide Hazard(폭발성 아지드 유해물질)(76/8/16)
아지드 화합물의 축적 가능성을 방지하려면 희석되지 않은 시약을 폐기한 다음 폐기 파이프를 물로 세척하십시오. 소디움 아자이드의 폐기는 해당 지역 규정을 따라야 합니다.

필요하지만 키트와 함께 제공되지 않는 품목:

- 검체 튜브와 검체 채취에 필요한 물질.
- 10, 100 및 500µL용 일회용 팁이 있는 자동 피펫.
- 플라스틱 용혈 튜브.
- 용해 후 세척 단계의 적혈구 용해 시약. 예: VersaLyse(참조 A09777).
- 백혈구 고정 시약. 예: IOTest 3 고정액(참조 A07800).
- 완충액(PBS: 0.01M 인산나트륨, 0.145M 염화나트륨, pH 7.2).
- 원심분리기.
- 자동 교반기(교반 유형).
- 유세포 분석기.

VERSALYSE 시약을 이용한 절차

1. 적절한 용량인 10µL의 특이 IOTest 결합 항체를 각 테스트 튜브에 첨가합니다.
2. 100µL의 검사 검체를 각 튜브에 첨가합니다. 튜브를 부드럽게 교반합니다.
3. 실온(18~25°C)에서 빛을 피해 15~20분 동안 배양하십시오.
4. 그런 다음 적혈구 용해를 수행합니다. VersaLyse(참조 A09777) 책자 내용을 참조하여 즉석에서 준비한 1mL의 "고정 및 세포 용해" 혼합물을 첨가하는 "수반 고정" 절차를 따릅니다. 즉시 1초 동안 교반한 후 직사광선을 피해 상온에서 10분 동안 배양합니다.
5. 상온에서 150 x g로 5분 동안 원심분리합니다.
6. 흡입 시 상청액을 제거하십시오.
7. 3mL의 PBS를 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.
8. 5단계를 반복합니다.
9. 그런 다음 흡입 방식으로 상등액을 제거하고 다음을 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.

- 조제 물질을 24시간 미만으로 보관하려는 경우 0.1 %의 포름알데히드가 함유된 0.5mL 또는 1mL의 PBS. (0.1 % 포름알데히드 PBS는 12.5µL의 IOTest 3 고정액(참조 A07800)을 1mL의 PBS에 10X 농도로 희석하여 얻을 수 있습니다).
- 조제 물질을 2시간 이내에 분석하려는 경우 포름알데히드가 없는 0.5mL 또는 1mL의 PBS.

참고: 조제물은 항상 빛을 피해 2~8°C로 유지하십시오.

예상 수치

실험실에서 25명의 건강한 공여자의 전혈 검체를 위에 설명된 시약을 사용하여 처리했습니다. 이 시약에서 관심 대상의 양성 이벤트 수 계산을 위해 얻은 결과는 아래 표와 같습니다.

양성 표적	번호	평균(%)	표준편차	CV(%)
림프구	25	13.51	5.57	41.25

위 값은 전형적인 값으로만 참고해야 합니다. 각 실험실은 소재 지역의 정상 공여자 집단을 통해 고유한 예상값을 설정해야 합니다.

성능

성능 데이터는 위에 설명한 절차를 이용하여 이전에 EDTA 염을 항응고제로 하여 무균 튜브에서 수집한 지 24시간 미만인 혈액 검체로 획득합니다. 분석은 면역염색 후 2시간 이내에 수행됩니다.

특이도

B9E9(HRC20) 클론은 1993년 미국 보스톤에서 열린 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens(인간 백혈구 감별 항원에 관한 제 5 차 HLDA 워크숍)에서 CD20에 할당되었습니다(WS 코드: CD20.12, 섹션 B)(11).

정밀도

양성 비율 값은 전혈을 사용하여 측정되었습니다. 각 검체는 2개의 CD20-Pacific Blue 단일 클론 항체 시약 로트를 사용하여 2개의 장비에서 하루 동안 일일 2회씩 4번 실행되었습니다. 측정값(양성 비율)은 Navios 유세포 분석기로 도출했습니다. 분석은 CLSI 방법 EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods(EP5-A2: 정량적 측정 방법의 정밀도 성능 평가)를 기반으로 수행했습니다.

허용 기준은 각 집단에서 측정한 양성 이벤트 수에 따라 다릅니다.

- 양성 이벤트 수가 < 1,500인 경우 CV < 15 %
- 양성 이벤트 수가 > 1,500인 경우 CV < 10 %

림프구							
양성 이벤트 수(평균) = 945							
	작업자 간	유세포 분석기 간	로트 내	로트 간	실행 간	실행 내	총계
CV(%)	2.87	2.83	5.53	1.70	2.64	3.92	6.44
결과	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

정확도

CD20-Pacific Blue의 정확도는 그 결과를 Navios 유세포 분석기로 처리된 전혈 검체에 공인 참조 시약을 가한 값과 비교하여 평가했습니다. 검사 시약과 참조 시약 간 바이어스는 검사 결과 간 차이를 기반으로 지정되었습니다. 바이어스가 허용 가능한 오차 범위 내에 있거나 p-값이 유의한 차이를 나타내지 않는 경우(> 0.05) 두 시약의 검사 결과는 동일한 것으로 간주됩니다.

얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

공여자 수 = 25				
양성 표적	평균 Δ	Δ % 세포 기준	p-값	결과
림프구	-0.65	<3	0.059	PASS

공시료 최저 검출한계 및 검출한계

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures(CLSI EP17-A2, 임상 실험실 측정 절차에 대한 검출 능력 평가)에 따라 연구를 실시했습니다. 검출한계(LoD)는 일관되게 검출 가능한 분석물질의 최저 농도입니다. 얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

Positive Target	공시료 최저 검출한계(세포/µL)	검출한계(세포/µL)
림프구	2	3

한계

1. 유세포 분석기가 완벽하게 정렬되지 않은 경우, 형광 누출이 올바르게 보정되지 않은 경우 또는 영역 위치를 신중하게 지정하지 않은 경우 유세포 분석법에서 잘못된 결과가 나올 수 있습니다.
2. 이 시약은 "비세척" 용해 기법에 최적화되지 않았으므로 세척 단계를 포함한 적혈구 용해법을 사용하는 것이 바람직합니다.
3. 사용한 절차가 동봉된 기술 책자의 내용을 따르고 실험실 모범 사례와 호환되는 경우 정확하고 재현 가능한 결과를 얻을 수 있습니다.
4. 이 시약의 결합 항체는 최상의 특이/비특이 신호비를 제공하도록 보정됩니다. 그러므로 모든 검사에서 시약의 용적/검체 용적 비율을 준수하는 것이 중요합니다.
5. 과백혈구 증가증의 경우 혈액을 PBS에 희석하여 대략 백혈구 5 x 10^9개/L 값을 얻어야 합니다(12).
6. 심한 신부전 또는 혈색소병증 같은 특정 질병 상태에서 적혈구의 용해는 느리거나 불완전하거나 심지어는 불가능할 수도 있습니다. 이러한 경우 염색 전에 밀도 구배(예: Ficoll)를 사용하여 단핵구 세포를 분리하는 것이 좋습니다(13).
7. 항 인간 단일 클론 항체 요법으로 치료받은 환자에서, 특이 표적 항원의 검출이 치료 항체에 의한 일부 또는 전체 차단으로 인해 감소하거나 이루어지지 않을 수 있습니다.
8. CD20-Pacific Blue 결과는 증상, 병력, 추가 검사 데이터, 기타 적절한 정보 등 환자의 모든 임상 증상을 고려하여 해석해야 합니다.

예시와 참고 자료는 부록을 참조하십시오.

상표

본 문서에 포함된 Beckman Coulter, 스타일 로고, Beckman Coulter 제품 및 서비스 마크는 미국 및 기타 국가에서 Beckman Coulter, Inc.의 상표이거나 등록 상표입니다.

Pacific Blue는 Molecular Probes, Inc.의 상표입니다.

추가 정보

유럽 연합 및 이와 동일한 규정 체제(EU 규정 2017/746, 체외 진단용 의료 기기 관련)를 사용하는 국가에 거주하는 환자/사용자/타사의 경우, 이 장치의 사용 중이나 사용으로 인해 심각한 상황이 발생했다면 제조업체 및/또는 공인 담당자와 해당 국가의 담당 기관에 신고하십시오.

Summary of Safety and Performance(안전성 및 성능에 관한 개요)는 ec.europa.eu/tools/eudamed 주소의 EUDAMED 데이터베이스에서 확인할 수 있습니다.

개정 이력

개정판 AD:	출시일: 2019년 10월

개정	**발행 날짜**
AW	2022년 3월
Beckman Coulter 글로벌 라벨 지정 정책 및 IVD-R (EU) 2017/746 요건에 따라 업데이트했습니다.	
추가된 섹션	BSI 2797 번호, 대상 사용자, 임상적 관련성, 농도, 정밀도, 정확도, 공시료 최저 검출한계 및 검출한계, 추가 정보, 개정 이력.
추가된 정보	한계 섹션 참조
언어적 표현이나 글자 배치를 업데이트했습니다.	절차, 성능, 한계, 경고 및 주의 사항, 보관 및 안정성 섹션을 참조하십시오.
삭제된 섹션	임상 용도의 예, 시약, 실험실 내 재현성, 직선성
업데이트된 섹션	사용목적, GHS 유해물질 등급, 성능 저하 증거, 절차, 부록.

개정	**발행 날짜**
AX	4월 2023
업데이트된 섹션	카자흐어 추가
업데이트된 섹션	보관 및 안정성

개정된 버전	AY
개정 날짜	5월 2024
업데이트된 번역	**임상적 관련성:**
업데이트된 섹션	개정 이력

개정된 버전	AZ
개정 날짜	7월 2024
업데이트된 섹션	개정 이력

기호 목록

기호 용어집은 beckman.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다(문서 번호 B60062)

	Spesifikasyonlar
Özgüllük	CD20
Klon	B9E9 (HRC20)
Hibridoma	X63 x balb/c
İmmünojen	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Immunoglobulin	IgG2a
Türler	Fare
Arıtma	Afinite kromatografisi
Florokrom	Pacific Blue
Molar oran	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
λ eksitasyonu	405 nm
Emisyon piki	455 nm
Tampon	PBS pH 7,2 artı 2 mg/mL BSA ve %0,1 NaN_3

IOTest
Konjuge Antikor
CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

***İn vitro* diagnostik kullanım içindir.**

KULLANIM AMACI

Bu florokrom konjuge antikor, akış sitometrisi kullanılarak insan biyolojik örneklerinde var olan CD20 antijenini eksprese eden hücre popülasyonlarının otomatik olmayan ve kalitatif tanımlamasına olanak tanır (aşağıdaki "Örnekler" bölümüne bakın).

İLKE

Bu test, spesifik monoklonal antikorların lökositler tarafından eksprese edilen antijenik belirleyicilere bağlanabilmesine dayanmaktadır.

Lökositlerin spesifik boyaması, örnek, IOTest reaktifi ile inkübe edilerek gerçekleştirilir. Sonra kırmızı hücreler parçalanarak giderilir ve bu işlemden etkilenmeyen lökositler, akış sitometrisi ile analiz edilir.

Akış sitometrisi ışık difüzyonunu ve hücre floresanını ölçer. Bu durum, ilgili popülasyonun, ışığın ortogonal difüzyonu (Yana Yayılma veya SS) ve dar açılı ışığın difüzyonu (İleri Yayılma veya FS) ile ilişkilendirilen histogram üzerinde tanımlanmış elektronik pencerede sınırlanmasını sağlar. Sitometredeki farklı parametrelerden ikisini birleştiren diğer histogramlar, kullanıcının seçtiği uygulamaya bağlı olarak kapılama aşamasında destek olarak kullanılabilir.

Sınırlı hücrelerin floresanı analiz edilerek pozitif boyalı olaylar boyasızlardan ayrılır. Sonuçlar pozitif olayların geçiş ile edinilmiş tüm olaylara yüzdesi olarak ifade edilir.

HEDEF KULLANICI

Bu ürün, laboratuvarda profesyonel kullanım için tasarlanmıştır.

KLİNİK GEÇERLİLİK

CD20-Pacific Blue, akış sitometrisiyle CD20 antijenini eksprese eden hücreleri tanımlamak ve karakterize etmek amacıyla kullanılan bir CD20 antikorudur. Bu ürün tek başına, herhangi bir tanı sonucu oluşturamaz ve tanı sonucu oluşturmak üzere tasarlanmamıştır.

Bu ürün, diğer belirteçlerle birlikte kullanıldığında aşağıdaki işlevlerden biri veya daha fazlası için kullanılabilir:

- Hematopoetik neoplazmı olduğundan şüphelenilen hematolojik olarak anormal hastalarda ayırıcı tanıya yardımcı olmak ve bilinen hematopoetik neoplazmı olan hastaları izlemek için.
- Hematopoetik neoplazmı olan hastalarda prognoza yardımcı olmak için.

Şu referanslara bakın:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ÖRNEKLER

Antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüpler kullanılarak venöz kan alınmalıdır.

Örnekler oda sıcaklığında (18-25°C) tutulmalı ve çalkalanmamalıdır. Örnekler test örneği alınmadan önce hafifçe çalkalanarak homojenize edilmelidir.

Örnekler venipunktür sonrası 24 saat içinde analiz edilmelidir.

KONSANTRASYON

Lota özel Analiz Sertifikası için www.beckman.com adresine bakın.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. Reaktifi son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
2. Dondurmayın.
3. Kullanmadan önce oda sıcaklığına (18-25°C) getirin.
4. Işığa maruz kalmasını en aza indirin.
5. Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonundan kaçının yoksa yanlış sonuçlar oluşabilir.
6. Sodyum azid (NaN_3) içeren antikor solüsyonları dikkatle işlenmelidir. Yutmayın ve cilt, mukoza ve gözlerle temasından kaçının.

   Ayrıca, asit ortamında, sodyum azid potansiyel olarak tehlikeli hidrazoik asit oluşturabilir. Atılması gerekiyorsa, metal borularda sodyum azid birikmesini ve patlama riskini önlemek için, reaktifin drenaj sistemine dökülmeden önce çok miktarda suyla seyreltilmesi önerilmektedir.

7. Tüm kan örnekleri potansiyel olarak bulaşıcı olarak kabul edilmeli ve dikkatle ele alınmalıdır (özellikle koruyucu eldiven, önlük ve gözlük takılmalıdır).
8. Asla ağızla pipetleme yapmayın ve örneklerin cilt, mukoza veya gözle herhangi bir şekilde temas etmesini önleyin.
9. Taşıma için kullanılan kan tüpleri ve tek kullanımlık malzeme, yakma amacıyla özel kaplara atılmalıdır.
10. Reaktifler ve atıklar yerel gereksinimlere göre elimine edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır

SDS Güvenlik Bilgi Formuna beckmancoulter.com/techdocs adresinden ulaşılabilir

SAKLAMA VE STABİLİTE

Bu reaktifin, şişe açılmadan önce ve açıldıktan sonra 2 ile 8°C arasında tutulması ve ışıktan korunması gereklidir.

Stabilite çalışması için şişe raf ömrü: 1095 gün.

Açılan şişenin stabilitesi: reaktif 180 gün stabildir.

BOZULMA GÖSTERGESİ

Reaktiflerin fiziksel görünümündeki herhangi bir değişiklik bozulmayı gösterebilir ve reaktif kullanılmamalıdır.

Ek bilgi almak isterseniz veya aldığınız ürün hasarlı çıktıysa, 800-742-2345 numaralı telefondan (ABD veya Kanada) Beckman Coulter Müşteri Hizmetlerini arayın veya yerel Beckman Coulter Temsilcinizle temas kurun.

İÇİNDEKİLER

Sodyum azid koruyucu maddesi metal kanalizasyon hatlarında patlayıcı bileşimler oluşturabilir. NIOSH Bültenine bakın: Explosive Azide Hazard (Patlayıcı Azide Tehlikesi) (16.8.76).
Azid bileşenlerinin olası birikimini engellemek amacıyla, seyreltilmemiş reaktifi çöpe attıktan sonra atık borularını bol suyla yıkayın. Sodyum azid, uygun yerel düzenlemelere göre çöpe atılmalıdır.

GEREKLİ OLAN ANCAK KİT İLE BİRLİKTE VERİLMEYEN MALZEMELER:

- Numune alma tüpleri ve numune alma için gerekli malzemeler.
- 10, 100 ve 500 µL için tek kullanımlık uçlu otomatik pipetler.
- Plastik hemoliz tüpleri.
- Lizis sonrası yıkama aşamasıyla birlikte eritrosit lizis reaktifi. Örneğin: VersaLyse (Ref. A09777).
- Lökosit fiksasyon reaktifi. Örneğin: IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonu (Ref. A07800).
- Tampon (PBS: 0,01 M sodyum fosfat; 0,145 M sodyum klorür; pH 7,2).
- Santrifüjleyin.
- Otomatik karıştırıcı (Vorteks tipi).
- Akış sitometresi.

VERSALYSE REAKTİFİ İLE PROSEDÜR

1. Her test tüpüne uygun hacimde 10 µL spesifik IOTest konjuge antikoru ekleyin.
2. Her bir tüpe 100 µL test örneği ekleyin. Tüpleri yavaşça vorteksleyin.
3. Oda sıcaklığında (18-25°C) ışıktan koruyarak 15-20 dakika boyunca inkübe edin.
4. Ardından kırmızı hücrelerin lizisini gerçekleştirin. VersaLyse (Ref. A09777) broşürüne bakın ve tercihen "birlikte kullanılan fiksasyon ile" adlı, doğaçlama hazırlanan 1 mL "Fiksasyon ve Lizis" karışımını eklemeyi içeren prosedürü izleyin. Hemen bir saniye boyunca vorteksleyin ve ışıktan koruyarak, 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
5. Oda sıcaklığında 5 dakika 150 x g hızda santrifüjleyin.
6. Aspirasyon ile üst fazı alın.
7. 3 mL PBS kullanarak hücre peletini yeniden süspanse edin.
8. Adım 5'i tekrarlayın.
9. Yüzer maddeyi aspirasyonla alın ve hücre topağını şunu kullanarak yeniden süspanse edin:

- Preparatlar 24 saatten az tutulacaksa, 0,5 mL veya 1 mL PBS'nin yanı sıra %0,1 formaldehit. (%0,1 formaldehit PBS, 1 mL PBS içinde 10X konsantre IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonundan (Ref. A07800) 12,5 µL seyreltilerek elde edilebilir).
- 0,5 mL veya 1 mL PBS formaldehidsiz, preparatlar 2 saat içinde analiz edilmelidir.

Not: Tüm durumlarda, preperatlar 2 ile 8°C arasında tutulmalı ve ışıktan korunmalıdır.

BEKLENEN DEĞERLER

Laboratuvarlarımızda, yukarıda açıklanan reaktif kullanılarak sağlıklı görünen 25 donörün tam kan örnekleri işlenmiştir. Bu reaktif ile ilgi konusu pozitif olayların sayısı için elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir:

Pozitif Hedef	Sayı	Ortalama (%)	SS	VK (%)
Lenfositler	25	13,51	5,57	41,25

Bu değerlerin sadece temsili olması amaçlanmaktadır. Her laboratuvar normal donörlerden oluşan yerel popülasyonunda kendi beklenen değerlerini oluşturmalıdır.

PERFORMANS

Performans verileri, antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüplerde daha önce toplanan, 24 saatten eski olmayan kan örnekleri üzerinde yukarıdaki prosedür kullanılarak elde edilmiştir. İmmün boyamayı takiben 2 saat içinde analiz gerçekleştirilir.

ÖZGÜLLÜK

B9E9 (HRC20) klonu Boston, ABD'de 1993'de gerçekleştirilen 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5. HLDA İnsan Lökositi Farklılaşması Antijenleri Semineri) sırasında CD20'ye atanmıştır (WS Kodu: CD20.12, Bölüm B) (11).

KESİNLİK

Yüzde pozitif değerler, Tam Kan kullanılarak belirlenmiştir. Her örnek, 2 lot CD20-Pacific Blue Monoklonal Antikor Reaktifleri kullanılarak 2 cihazda 1 gün için günde iki kez olmak üzere 4 kez çalışılmıştır. Ölçümler (% pozitif) Navios akış sitometresi üzerinde yapılmıştır. Analiz, CLSI yöntemi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kantitatif Ölçüm Yöntemlerinin Kesinlik Performansına İlişkin Değerlendirme) temelinde yürütülmüştür.

Kabul kriterlerimiz, her popülasyon için ölçülen pozitif olay sayısına bağlıdır:

- Pozitif olay <1.500, VK <%15 ise
- Pozitif olay >1.500, VK <%10 ise

Lenfositler							
Pozitif olay sayısı (Ortalama)=945							
	Kullanıcılar arası	Sitometreler arası	Lot içi	Lotlar arası	Çalışmalar arası	Çalışma içi	Total
VK (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
SONUÇLAR	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOĞRULUK

CD20-Pacific Blue doğruluğu, bir Navios akış sitometresinde çalışılan tam kan örnekleri grubunda esas alınan referans reaktifle sonuçlar karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Test ve referans reaktif arasındaki sapma, test sonuçları arasındaki fark temelinde belirlenmiştir. Sapma, izin verilen hata aralığı dahilindeyse veya p değeri anlamlı fark göstermediğinde (>0,05), iki reaktif için test sonuçlarının eşdeğer olduğu kabul edilir.

Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Donör sayısı=25				
Pozitif Hedef	Ortalama Δ	Δ % Hücre kriteri	p değeri	SONUÇLAR
Lenfositler	-0,65	<3	0,059	PASS

KÖR LİMİTİ VE TESPİT LİMİTİ

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klinik Laboratuvar Ölçüm Prosedürleri için Tespit Kabiliyetinin Değerlendirilmesi) ile uyumlu bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Tespit Limiti (LOD), tutarlı olarak tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonudur. Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Positive Target	Kör Limiti (hücre/µL)	Tespit Limiti (hücre/µL)
Lenfositler	2	3

SINIRLAMALAR

1. Akış sitometrisi, sitometre mükemmel şekilde hizalanmadıysa, floresan sızıntıları doğru şekilde telafi edilmediyse ve bölgeler dikkatli bir şekilde konumlandırılmadıysa yanlış sonuçlar üretebilir.
2. Bu reaktif “yıkamasız” parçalama teknikleri için optimize edilmediğinden, yıkama adımı içeren bir RBC parçalama tekniği kullanılması tercih edilir.
3. Kullanılan prosedürler teknik bilgi broşürüne uygun olduğu ve iyi laboratuvar uygulamalarına uygun olduğu sürece doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilecektir.
4. Bu reaktifin konjugat antikoru, en iyi spesifik sinyal/spesifik olmayan sinyal oranını sunacak şekilde kalibre edilir. Bu nedenle her testte reaktif hacmi/örnek hacmi oranına bağlı kalmak önemlidir.
5. Hiperlökositoz durumunda yaklaşık 5 x 10^9 lökosit/L (12) değerini elde etmek için kanı PBS içinde seyreltin.
6. Şiddetli böbrek yetmezliği veya hemoglobinopatiler gibi bazı hastalık durumlarında, eritrosit lizisi yavaş, eksik ve hatta imkansız olabilir. Bu durumda mononükleotidli hücrelerin boyama öncesinde yoğunluk gradyanı (örneğin Ficoll) kullanılarak izole edilmesi önerilmektedir (13).
7. Anti-insan monoklonal antikor terapisi ile tedavi edilen hastalarda, terapötik antikorun kısmi veya tam engellemesi nedeniyle spesifik hedeflenen antijenlerin tespiti azalabilir veya yapılamayabilir.
8. CD20-Pacific Blue sonuçları, semptomlar, klinik öykü, ilave testlerden elde edilen veriler ve diğer uygun bilgiler dahil olmak üzere hastanın genel klinik tablosu dikkate alınarak yorumlanmalıdır.

Örnekler ve referanslar için Ek'e bakın.

TİCARİ MARKALAR

Bu belgede belirtilen Beckman Coulter, stilize logo ve Beckman Coulter ürün ve hizmet markaları, Beckman Coulter, Inc. firmasının ABD’de ve diğer ülkelerdeki ticari veya tescilli ticari markalarıdır.

Pacific Blue, Molecular Probes, Inc.'in ticari markasıdır.

EK BİLGİLER

Avrupa Birliği’nde ve aynı düzenleme rejiminin olduğu ülkelerdeki (In Vitro Diagnostik Tıbbi Cihazlar hakkında 2017/746/EU sayılı Yönetmelik) hasta/kullanıcı/üçüncü taraflar için; bu cihazın kullanımı sırasında veya cihazın kullanımının bir sonucu olarak ciddi bir olay meydana gelirse lütfen olayı üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makamınıza bildirin.

Summary of Safety and Performance (Güvenlik ve Performans Özeti) EUDAMED veritabanında mevcuttur: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVİZYON GEÇMİŞİ

REVİZYON AD:	Yayınlanma tarihi: Ekim 2019

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AW	Mart 2022
Beckman Coulter Global Etiketleme Politikasıyla uyumluluk sağlamak için ve IVD-R (AB)2017/746 gerekliliklerine göre güncellemeler yapıldı:	
Bölümler eklendi	BSI 2797 Numarası, Hedef Kullanıcı, Klinik Anlam, Konsantrasyon, Kesinlik, Doğruluk, Kör limiti ve tespit limiti, Ek Bilgiler, Revizyon Geçmişi.
Bilgi eklendi	Sınırlamalar bölümlerine bakın
İfade veya yazım güncellemeleri	Prosedür, Performans, Sınırlamalar, Uyarılar ve Önlemler, Saklama ve Stabilite bölümlerine bakın.
Bölümler kaldırıldı	Klinik uygulama örneği, Reaktifler, Laboratuvar içi yeniden üretilebilirlik, Linearite
Güncellenmiş bölümler	Kullanım Amacı, GHS Tehlike Sınıflandırması, Bozulma Göstergesi, Prosedür, Ek.

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AX	Nisan 2023
Güncellenmiş bölümler	Kazakça ekle
Güncellenmiş bölümler	Saklama ve stabilite

Düzeltilmiş Sürüm	AY
Revizyon Tarihi	Mayıs 2024
Güncellenmiş Çeviriler	**Klinik önemi:**
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Düzeltilmiş Sürüm	AZ
Revizyon Tarihi	Temmuz 2024
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Sembol Anahtarı

Semboller Sözlüğü beckman.com/techdocs adresinde bulunabilir (belge numarası B60062)

	Спецификации
Специфичность	CD20
Клон	B9E9 (HRC20)
Гибридома	X63 x balb/c
Иммуноген	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Иммуноглобулин	IgG2a
Вид	Мышь
Очистка	Аффинная хроматография
Флуорохром	Pacific Blue
Молярное отношение	Pacific Blue / Ig: 5,30 - 6,50
Возбуждение λ	405 nm
Пик эмиссии	455 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 мг/мл БСА и 0,1% NaN_3

Конъюгированное антитело IOTest CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 мл, 10 мкл / test

Для диагностики *in vitro*.

НАЗНАЧЕНИЕ

Это конъюгированное с флуорохромом антитело позволяет с использованием проточной цитометрии выполнить качественное и не автоматизированное определение клеточных популяций, экспрессирующих антиген CD20, который присутствует в биологических пробах человека (см. раздел «Пробы» ниже).

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Данный тест основан на способности специфических моноклональных антител связывать антигенные детерминанты, экспрессированные лейкоцитами.

Специфическое окрашивание лейкоцитов выполняется путем инкубирования пробы с реагентом IOTest. Затем методом лизиса удаляются эритроциты, и выполняется анализ лейкоцитов, не затронутых этим процессом, методом проточной цитометрии.

Проточный цитометр измеряет светорассеяние и флуоресценцию клеток. Это дает возможность разграничения интересующей популяции в электронном окне, определенном на гистограмме, что коррелирует с ортогональным светорассеянием (боковое рассеяние, или SS) и рассеянием света под острым углом (прямое рассеяние, или FS). Другие гистограммы, сочетающие два из других параметров, доступных на цитометре, могут использоваться как вспомогательные на стадии селекции, в зависимости от приложения, выбранного пользователем.

Флуоресценцию разграниченных клеток анализируют с целью различения положительно-окрашенных и неокрашенных событий. Результаты выражаются в виде процентного отношения положительных событий ко всем событиям, полученным в ходе селекции.

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ

Изделие предназначено для использования в лаборатории персоналом с профессиональной подготовкой.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

CD20-Pacific Blue представляет собой антитело к CD20, используемое для идентификации и определения характеристик клеток, экспрессирующих антиген CD20, методом проточной цитометрии. Этот продукт отдельно от других исследований не может приводить к принятию каких-либо диагностических решений и не предназначен для этого.

При использовании в сочетании с другими маркерами этот продукт может использоваться в следующих целях.

- Для использования при дифференциальной диагностике пациентов с отклонениями гематологических результатов (при подозрении на наличие гематопоэтических новообразований), а также для мониторинга пациентов с известным гематопоэтическим новообразованием.
- Для определения прогноза у пациентов с гематопоэтическими новообразованиями.

См. следующие ссылки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ПРОБЫ

При взятии образца венозной крови необходимо использовать стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта.

Пробы следует хранить при комнатной температуре (18–25°C), не встряхивая. Пробы следует гомогенизировать, осторожно перемешав, до отбора тестовой пробы.

Пробы требуется проанализировать в течение 24 ч после венипункции.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

См. специфический для партии сертификат анализа на веб-сайте www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Не используйте реагенты после истечения срока годности.
2. Не замораживать.
3. Перед использованием довести до комнатной температуры (18–25°C).
4. Минимизируют воздействие света.
5. Во избежание получения ошибочных результатов не допускайте микробной контаминации реагентов.

6. Следует с осторожностью обращаться с растворами антител, содержащими натрия азид (NaN_3). Не принимайте внутрь и избегайте любого контакта с кожей, слизистыми оболочками и глазами.

   Кроме того, в кислой среде натрия азид может образовывать потенциально опасную азотистоводородную кислоту. Если требуется утилизация, рекомендуется разводить реагент в большом объеме воды, прежде чем выливать его в канализацию, чтобы избежать накопления натрия азида в металлических трубах и исключить возможность взрыва.

7. Все пробы крови должны считаться потенциально инфицированными, при обращении с ними необходимо соблюдать осторожность (в частности, использовать защитные перчатки, одежду и очки).
8. Никогда не пипетируйте ртом и избегайте любого контакта проб с кожей, слизистыми и глазами.
9. При утилизации пробирок и одноразовых материалов следует использовать специальные предназначенные для сжигания контейнеры.
10. При утилизации реагентов и отходов необходимо следовать требованиям местного законодательства.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Не классифицируется как опасное вещество

SDS Паспорт безопасности доступен на сайте beckmancoulter.com/techdocs

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Этот реагент требуется хранить при температуре от 2 до 8°C, защищая от света, до и после вскрытия флакона.

Срок хранения закрытого флакона согласно исследованию стабильности: 1095 день.

Стабильность в открытом флаконе: реагент сохраняет стабильность в течение 180 дн.

ПРИЗНАКИ ПОРЧИ

Любые изменения внешнего вида реагентов могут говорить о порче, использовать такой реагент не следует.

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь со своим местным представителем Beckman Coulter.

СОДЕРЖАНИЕ

Консервант с содержанием азида натрия может образовывать взрывоопасные соединения в металлической водопроводной арматуре. См. бюллетень Национального института по охране труда и промышленной гигиене (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Взрывоопасные азиды) (16.8.76). Чтобы избежать накопления азидных соединений, промывайте сливные трубы водой после сброса неразбавленного реагента. Утилизацию азида натрия следует проводить в соответствии с соответствующими местными нормами.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, КОТОРЫЕ НЕ ВХОДЯТ В НАБОР:

- Необходимые для взятия проб пробирки и материалы.
- Автоматические пипетки с одноразовыми наконечниками для 10, 100 и 500 мкл.
- Пластиковые пробирки для гемолиза.
- Реагент для лизиса эритроцитов с этапом промывки после лизиса. Например: VersaLyse (ссылочный номер A09777).
- Реагент для фиксации лейкоцитов. Например: IOTest 3 Fixative Solution (фиксирующий раствор) (ссылочный номер A07800).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрия фосфата; 0,145 M натрия хлорида; pH 7,2).
- Центрифугируйте.
- Автоматическая мешалка (вортексная)
- Проточный цитометр.

ПРОЦЕДУРА С РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

1. Добавляют соответствующий объем 10 (мкл) специфического конъюгированного антитела IOTest в каждую тестовую пробирку.
2. Добавьте 100 мкл тестовой пробы в каждую пробирку. Аккуратно перемешайте пробирки на вортексе.
3. Инкубируют при комнатной температуре (18–25°C) в течение 15-20 мин, в защищенном от света месте.
4. Затем выполняют лизис эритроцитов. См. вкладыш VersaLyse (ссылочный номер A09777) и, предпочтительно, следуйте процедуре с названием «с сопутствующей фиксацией», которая заключается в добавлении 1 мл смеси «Фиксирующей и лизирующей», приготовленной для немедленного применения. Немедленно перемешивают на вортексе в течение одной секунды и инкубируют в течение 10 минут при комнатной температуре, защищая от света.
5. Центрифугируют в течение 5 минут при 150 g при комнатной температуре.
6. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации.
7. Ресуспендируют осадок клеток, используя 3 мл PBS.
8. Повторите шаг 5.
9. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации и ресуспендируют осадок клеток, используя:

- 0,5 мл или 1 мл PBS плюс 0,1% формальдегида, если препараты следует хранить менее 24 ч. (PBS с 0,1% формальдегида можно получить путем разведения 12,5 мкл фиксирующего раствора IOTest 3 (ссылочный номер A07800) в 10-кратной концентрации в 1 мл PBS).
- 0,5 мл или 1 мл PBS без формальдегида, если препараты следует проанализировать в течение 2 ч.

Примечание. В обязательном порядке защищайте подготавливаемые материалы от солнечного света, храните их при температуре от 2 до 8°C.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В наших лабораториях пробы цельной крови от клинически здоровых доноров (количество доноров: 25) были обработаны с использованием описанного выше реагента. Результаты, полученные для количества положительных интересующих явлений с этим реагентом, приводятся в таблице ниже:

Положительная мишень	Число	Среднее (%)	SD	CV (%)
Лимфоциты	25	13,51	5,57	41,25

Эти значения используются только в качестве примера. В каждой лаборатории должны быть установлены собственные диапазоны ожидаемых значений с учетом проб нормальных доноров из числа местного населения.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Рабочие характеристики получены с использованием описанной выше процедуры на пробах, собранных не ранее чем за 24 часа до анализа в стерильные пробирки с солью ЭДТА как антикоагулянтом. Анализ проводится в течение 2 часов после иммуноокрашивания.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Во время семинара 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5-й семинар по дифференцировочному антигену лейкоцитов человека — HLDA), прошедшего в Бостоне, США, в 1993 году (код WS: CD20.12, раздел B) для CD20 был назначен клон B9E9 (HRC20) (11).

ПРЕЦИЗИОННОСТЬ

Процент положительных результатов был установлен с использованием цельной крови. Каждую пробу измеряли 4 раза, два раза в день в течение 1 дня на 2 приборах, с использованием 2 партий реагентов моноклональных антител CD20-Pacific Blue. Измерения (% положительных) выполняли на проточном цитометре Navios. Анализ проводился на основе метода CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оценка прецизионности количественных методик измерения).

Наши критерии принятия зависят от количества положительных событий, измеренных для каждой популяции:

- Если положительных событий <1 500, CV <15%
- Если положительных событий >1 500, CV <10%

Лимфоциты							
Количество положительных событий (среднее) = 945							
	Между операторами	Между цитометрами	Внутри партии	Между партиями	Между анализами	Внутри анализа	Итого
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
РЕЗУЛЬТАТЫ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТЬ

Точность CD20-Pacific Blue оценивалась путем сравнения результатов с результатами по референсному реагенту как предикатом. Анализ выполняли на проточном цитометре Navios с использованием набора проб цельной крови. Систематическая ошибка оценки между тестовым и референсным реагентами была определена на основании различий между результатами теста. Если систематическая ошибка оценки находится в пределах допустимого диапазона ошибки или если p-значение указывает на отсутствие значительного различия (>0,05), тогда результаты теста для двух реагентов рассматриваются как эквивалентные.

Полученные результаты обобщены в таблице далее.

Количество доноров = 25				
Положительная мишень	Среднее значение Δ	Критерии Δ % клеток	p-значение	РЕЗУЛЬТАТЫ
Лимфоциты	-0,65	<3	0,059	PASS

ПРЕДЕЛ БЛАНКА И ПРЕДЕЛ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Исследование было проведено в соответствии с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Оценка способности обнаружения для методик измерения клинической лаборатории). Предел чувствительности (LOD) — наименьшая концентрация аналита, которая может последовательно обнаруживаться. Полученные результаты обобщены в таблице ниже.

Positive Target	Предел бланка (клеток/мкл)	Предел чувствительности (клеток/мкл)
Лимфоциты	2	3

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. При проведении проточной цитометрии возможно получение ложных результатов, если цитометр не был идеально позиционирован, не была проведена правильная компенсация утечек флуоресцентного агента или точное позиционирование областей.
2. Предпочтительно использовать технику лизиса RBC с шагом промывки, так как этот реагент не был оптимизирован для техник лизиса «без промывки».
3. Для получения точных и повторяемых результатов необходимо выполнять процедуры в соответствии с инструкцией-вкладышем и требованиями надлежащей лабораторной практики.
4. Выполняется калибровка конъюгированного антитела этого реагента с целью получения наилучшего для данной конкретной задачи соотношения специфичного и неспецифичного сигнала. Поэтому при каждом тесте важно придерживаться правильного соотношения объема реагента и пробы.
5. При гиперлейкоцитозе, разбавляют кровь PBS до приблизительно 5 x 10^9 лейкоцитов/л (12).

6. При определенных заболеваниях, таких как острая почечная недостаточность или гемоглобинопатии, лизис эритроцитов может протекать медленно, быть неполным или даже невозможным. В таком случае рекомендуется изолировать одноядерные клетки, используя градиент плотности (например, фиколл), перед окрашиванием (13).
7. У пациентов, получавших лечение античеловеческими моноклональными антителами, обнаружение специфических целевых антител может быть снижено или может отсутствовать вследствие частичной или полной блокировки терапевтическими антителами.
8. Результаты CD20-Pacific Blue должны интерпретироваться с учетом общих клинических проявлений пациента, включая симптомы, историю болезни, данные дополнительных тестирований и прочую информацию.

Примеры и ссылки см. в Приложении.

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

Beckman Coulter, стилизованный логотип и упоминаемые здесь знаки продукции и услуг Beckman Coulter являются товарными знаками или зарегистрированными товарными знаками корпорации Beckman Coulter, Inc. в Соединенных Штатах и других странах.

Pacific Blue является товарным знаком Molecular Probes, Inc.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для пациента / пользователя / третьей стороны в Европейском Союзе и в странах с идентичным регуляторным режимом (Регламент 2017/746/EC в отношении медицинских изделий для in vitro диагностики); если, во время использования этого изделия или в результате его использования произошел серьезный инцидент, сообщите о нем производителю и/или его уполномоченному представителю и своему национальному органу регулирования.

Summary of Safety and Performance (Сводные данные по безопасности и функциональным характеристикам) доступны в Европейской базе данных изделий медицинского назначения (EUDAMED): ec.europa.eu/tools/eudamed.

СВЕДЕНИЯ О ВЕРСИЯХ

ВЕРСИЯ AD:	Дата выпуска: Октябрь 2019 г.

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AW	Март 2022 г.
Обновления с целью приведения в соответствие политике международной маркировки Beckman Coulter и для выполнения требований IVD-R (EC)2017/746:	
Добавлены разделы	Номер BSI 2797, «Предполагаемый пользователь», «Клиническая значимость», «Концентрация», «Прецизионность», «Точность», «Предел бланка и предел чувствительности», «Дополнительная информация», «Сведения о версиях».
Добавлена информация	См. раздел «Ограничения»
Обновлены формулировки или исправлены опечатки	См. разделы «Процедура», «Эксплуатационные характеристики», «Ограничения», «Предупреждения и меры предосторожности», «Хранение и стабильность».
Удалены разделы	«Примеры клинических областей применения», «Реагенты», «Внутрилабораторная сходимость», «Линейность»
Обновленные разделы	«Назначение», «Классификация опасностей по системе СГС», «Признаки порчи», «Процедура», «Приложение».

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AX	Апрель 2023
Обновленные разделы	Добавить казахский язык
Обновленные разделы	Хранение и стабильность

Пересмотренная версия	AY
Дата пересмотра	Май 2024
Обновленные переводы	**Клиническая значимость:**
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Пересмотренная версия	AZ
Дата пересмотра	Июль 2024
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Определения символов

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (номер документа B60062)

	Spetsifikatsioonid
Spetsiifilisus	CD20
Kloon	B9E9 (HRC20)
Hübridoom	X63 x balb/c
Immunogeen	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Immunoglobuliin	IgG2a
Liigid	Hiir
Puhastamine	Afiinsuskromotograafia
Fluorokroom	Pacific Blue
Molaarsuhe	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
λ ergastumine	405 nm
Emission Peak	455 nm
Puhver	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/ml BSA ja 0,1% NaN_3

IOTest
konjugeeritud antikeha
CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 ml, 10 µl / test

***In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks.**

KASUTUSOTSTARVE

See fluorokroomiga konjugeeritud antikeha võimaldab voolutsütomeetriaga kvalitatiivselt ja mitteautomatiseeritult tuvastada rakupopulatsioone, mis esitavad inimese bioloogilistes proovides antigeeni CD20 (vt allpool osa „Proovid“).

PÕHIMÕTE

Analüüs põhineb spetsiifiliste monoklonaalsete antikehade võimel seonduda leukotsüütide sünteesitavate antigeensete determinantidega.

Leukotsüütide eriomaseks värvimiseks tuleb proovi koos tootesarja IOTest reagendiga inkubeerida. Seejärel eemaldatakse erütrotsüüdid lüüsimisega ja pärast seda analüüsitakse voolutsütomeetriaga leukotsüüte, mida see protsess ei mõjuta.

Läbivoolutsütomeeter mõõdab valguse hajumist ja rakkude fluorestsentsi. See muudab võimalikuks huvialuse populatsiooni piiristamise histogrammil määratud elektroonilisel alal. Histogramm korreleerib valguse ortogonaalset hajumist (külghajumine ehk KH) ja kitsasnurga valguse hajumist (edasihajumine ehk EH). Teisi histogramme, kus ühendatakse tsütomeetrias saadaolevat kahte parameetrit, võib kasutada lüüsimisetapis olenevalt kasutaja valitud rakendusest.

Piiritletud rakkude fluorestsentsi analüüsitakse, et eristada positiivselt värvitud sündmusi värvimata sündmustest. Tulemusi kajastatakse positiivsete sündmuste protsentuaalse osakaaluna kõigi väravdamisega hõivatud sündmuste suhtes.

SIHTKASUTAJA

See toode on ette nähtud laboratoorseks kasutamiseks.

KLIINILINE TÄHTSUS

CD20-Pacific Blue on CD20 antikeha, mida kasutatakse CD20 antigeeni sünteesivate rakkude voolutsütomeetriaga tuvastamiseks ja kirjeldamiseks. See toode üksi ei saa ega ole mõeldud ühegi diagnostilise otsuse tegemiseks.

Koos teiste markeritega kasutades saab seda toodet kasutada ühes või mitmes järgmistest funktsioonidest:

- Lihtsustamaks diferentsiaaldiagnoosi panemist hematoloogiliste ebanormaalsustega patsientidele, kellel kahtlustatakse vereloome neoplasmi esinemist, ja teadaoleva vereloome neoplasmiga patsientide monitoorimiseks.
- Vereloome neoplasmiga patsientidele prognoosi andmise hõlbustamiseks.

Vt järgmisi viiteid.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROOVID

Veeniverd tuleb võtta steriilsete katsutitega, mis sisaldavad antikoagulandina etüleendiamiintetraatsetaadi (EDTA) soola.

Proove tuleb hoida toatemperatuuril (18–25 °C) ja neid ei tohi raputada. Proove tuleb ühtlustada seda enne näidisproovi võtmist ettevaatlikult loksutades.

Proove tuleb analüüsida 24 tunni jooksul alates veenipunktsioonist.

KONTSENTRATSIOON

Vt partiispetsiifilist analüüsi sertifikaati veebilehelt www.beckman.com.

HOIATUS JA ETTEVAATUSABINÕUD

1. Ärge kasutage reagenti pärast aegumiskuupäeva.
2. Ärge külmutage.
3. Enne kasutamist laske tasakaalustuda toatemperatuuriga (18–25 °C).
4. Minimeerige kokkupuudet valgusega.
5. Vältige reagentide mikroobidega saastumist, vastasel juhul võite saada valed tulemused.
6. Antikehade lahuseid, mis sisaldavad naatriumasiidi (NaN_3), tuleb käsitseda ettevaatlikult. See pole mõeldud seespidiseks kasutamiseks. Vältige kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.

Lisaks võib naatriumasiid moodustada happelises keskkonnas potentsiaalselt ohtliku hüdrasoonhappe. Kui see tuleb kõrvaldada, on soovitatav lahjendada reagenti suure hulga veega, enne kui see äravoolusüsteemi valada, et vältida plahvatusohtu ja naatriumasiidi kogunemist metalltorudesse.

7. Kõiki vereproove tuleb pidada potentsiaalselt nakkusohtlikuks ja käsitseda ettevaatusega (kasutage kaitsekindaid, kitlit ning kaitseprille).
8. Ärge kunagi pipettige suuga ja vältige proovide kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.
9. Verekatsutid ja käitlemiseks kasutatav ühekordselt kasutatav materjal tuleb hävitada põletamiseks ettenähtud spetsiaalsetes konteinerites.
10. Reagendid ja jäätmed tuleb kõrvaldada vastavalt kohalikele nõuetele.

GHS-I OHUKLASSIFIKATSIOON

Ei ole klassifitseeritud ohtlikuks

SDS Ohutuskaart on saadaval saidil beckmancoulter.com/techdocs

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Seda reagenti tuleb enne ja pärast viaali avamist hoida temperatuuril 2–8 °C ning valguse eest kaitstult.

Suletud viaali säilivusaeg stabiilsusuuringu põhjal: 1095 päeva.

Avatud viaali stabiilsus: reagent on stabiilne 180 päeva.

RIKNEMISE TUNNUSED

Igasugune muutus reagentide füüsilises välimuses võib viidata reagendi riknemisele ja seda ei tohi kasutada.

Lisateabe hankimiseks või kahjustatud toote saamisel helistage Beckman Coulteri klienditeenindusse numbril 800-742-2345 (USA või Kanada) või võtke ühendust kohaliku Beckman Coulteri esindajaga.

SISU

Naatriumasiidist konservant võib moodustada metallist kanalisatsioonitorudes plahvatusohtlikke ühendeid. Vt asutuse NIOSH teadaannet. Explosive Azide Hazard (Plahvatusohtliku asiidi oht) (16.8.76).
Vältimaks võimalikku asiidiühendite akumuleerimist, loputage äravoolutorusid pärast lahjendamata reagendi kõrvaldamist. Naatriumasiidi kõrvaldamine peab olema kooskõlas asjakohaste kohalike eeskirjadega.

VAJALIKUD, KUID KOMPLEKTI MITTEKUULUVAD MATERJALID

- Proovide kogumiseks vajalikud proovivõtukatsutid ja vahendid.
- Automaatpipetid ühekordselt kasutatavate otsakutega, mis võimaldavad teisaldada 10, 100 ja 500 µl.
- Plastist hemolüüsi katsutid.
- Erütrotsüütide lüüsireagent koos pesemisetapiga pärast lüüsi. Analüüsinäide VersaLyse (viitenr A09777).
- Leukotsüütide fikseerimisreagent. Näide Tootesarja IOTest 3 fikseerimisreagent (viitenr A07800).
- Puhver (PBS: 0,01 M naatriumfosfaat; 0,145 M naatriumkloriid; pH 7,2).
- Tsentrifuugige.
- Automaatsegisti (vibratsioonsegamise tüüpi).
- Voolutsütomeeter.

PROTSEDUUR REAGENDIGA VERSALYSE

1. Lisage igasse analüüsikatsutisse vastav kogus 10 µl kindlat tootesarja IOTest konjugeeritud antikeha.
2. Lisage igasse katsutisse 100 µl analüüsiproovi. Vibratsioonsegage ettevaatlikult katsuteid.
3. Inkubeerige valguse eest kaitstult 15–20 minutit toatemperatuuril (18–25 °C).
4. Seejärel lüüsige erütrotsüüdid. Lugege VersaLyse'i (viitenr A09777) teabelehte ja järgige eelistatavalt protseduuri nimega „samaaegse fikseerimisega", mis põhineb ekstemporaalselt ettevalmistatud 1 ml segu „Fix-and-Lyse" lisamisel. Vibratsioonsegage kohe üks sekund ja inkubeerige 10 minutit toatemperatuuril valguse eest kaitstult.
5. Tsentrifuugige 5 minutit toatemperatuuril kasutades sätet 150 x g.
6. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus.
7. Taassuspendeerige rakusade PBS-is, mille kogus on 3 ml.
8. Korrake etappi 5.
9. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus ja taassuspendeerige rakugraanuleid vahendiga:

- 0,5 ml või 1 ml PBS-i ja 0,1% formaldehüüdi, kui preparaate tuleb hoida vähem kui 24 tundi. (0,1% formaldehüüdi sisaldava PBS-i saamiseks võite lahjendada 12,5 µl tootesarja IOTest 3 10x kontsentratsioonil fikseerimislahust (viitenr A07800) PBS-is, mille kogus on) 1 ml.
- 0,5 ml või 1 ml formaldehüüdita PBS-iga, kui valmissegusid analüüsitakse 2 tunni jooksul.

Märkus Preparaate tuleb alati hoida temperatuuril 2–8 °C ja valguse eest kaitstult.

OODATUD VÄÄRTUSED

Ettevõttesisestes laborites töödeldi ülalkirjeldatud reagendiga täisvere proove, mis koguti 25 tõenäoliselt tervelt doonoritelt. Alljärgnev tabel annab ülevaate selle reagendiga saadud positiivsete huvipakkuvate sündmuste loendustulemustest:

Positiivne siht	Arv	Keskmine (%)	SH	CV (%)
Lümfotsüüdid	25	13,51	5,57	41,25

Need väärtused on mõeldud üksnes näitlikena. Iga laboratoorium peaks kindlaks määrama oma oodatavad vahemikud kohaliku tavapäraste doonorite populatsiooni alusel.

TOIMIMINE

Toimimisandmed saadakse kasutades ülalkirjeldatud protseduuri vähem kui 24 tundi vanadel antikoagulandi EDTA naatriumsoolaga steriilsetesse katsutitesse kogutud vereproovidel. Analüüs tehakse 2 tunni jooksul pärast immuunovärvimist.

SPETSIIFILISUS

B9E9 (HRC20) kloon määrati CD20-le seminaril 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5. HLDA seminar inimese leukotsüütide diferentseerimise antigeenide kohta), mis toimus 1993. aastal Bostonis USA-s (WS-kood: CD20.12, jaotis B) (11).

TÄPSUS

Positiivsete väärtuste protsent määrati täisverest. Igat proovi testiti 4 korda, kaks korda päevas, 1 päeva jooksul 2 instrumendil, kasutades 2 CD20-Pacific Blue monoklonaalsete antikehade reagentide partiid. Mõõtmised (% positiivne) tehti Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsiti CLSI meetodi EP5-A2 põhjal. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivsete mõõtmismeetodite täpsuse näitajate hindamine).

Meie sobivuskriteeriumid sõltuvad iga populatsiooni kohta mõõdetud positiivsete sündmuste arvust:

- Positiivse sündmuse korral < 1500, CV < 15%
- Positiivse sündmuse korral > 1500, CV < 10%

Lümfotsüüdid							
Positiivsete sündmuste arv (keskmine) = 945							
	Kasutajatevaheline	Tsütomeetritevaheline	Partiisisene	Partiidevaheline	Testidevaheline	Testisisene	Kokku
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
TULEMUSED	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

MÕÕTETÄPSUS

CD20-Pacific Blue mõõtetäpsust hinnati võrreldes tulemusi võrdlusreagendiga kui predikaadiga täisvereproovide komplektis, mida oli testitud Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsi- ja võrdlusreagendi erinevused määrati analüüsitulemuste erinevuse põhjal. Kui erisus jääb lubatud veavahemikku või kui p-väärtus ei näita statistiliselt olulist erinevust (> 0,05), loetakse kahe reagendi analüüsitulemused võrdväärseteks.

Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis.

Doonorite arv = 25				
Positiivne siht	Keskmine Δ	Δ% raku kriteeriumid	p-väärtus	TULEMUSED
Lümfotsüüdid	-0,65	<3	0,059	PASS

NULLPIIR JA TUVASTUSPIIR

Uuriti vastavalt CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Kliinilise labori mõõtmisprotseduuride avastamisvõime hindamise) nõuetele. Tuvastuspiir (LOD) on väikseim analüüdi kontsentratsioon, mida saab järjekindlalt määrata. Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis:

Positive Target	Nullpiir (rakku/µl)	Tuvastuspiir (rakku/µl)
Lümfotsüüdid	2	3

PIIRANGUD

1. Voolutsütomeetria võib anda valed tulemused, kui tsütomeeter ei ole ideaalselt joondatud, kui fluorestsentsi lekkeid ei ole õigesti kompenseeritud ja kui piirkonnad ei ole hoolikalt paigutatud.
2. Eelistatav on kasutada pesemisetapiga RBC lüüsi tehnikat, kuna seda reagenti pole optimeeritud „pesemiseta“ lüüsi tehnikate jaoks.
3. Täpsed ja korratavad tulemused saadakse, kui kasutatavad protseduurid on kooskõlas tehnilise teabelehe ja heade laboritavadega.
4. Selle reagendi pööratud antikeha kalibreeritakse nii, et tagatud oleks parim spetsiifilise/mittespetsiifilise signaali suhe. Seetõttu on igas analüüsis oluline järgida reagendi- ja proovimahu suhet.
5. Hüperleukotsütoosi korral lahjendage verd PBS-is nii, et saadav väärtus oleks ligikaudu 5 x 10^9 leukotsüüti/l kohta (12).
6. Teatud haigusseisundite (näiteks raske neerupuudulikkuse või hemoglobinopaatia) korral võib erütrotsüütide lüüsimine olla aeglane, mittetäielik või isegi võimatu. Sellisel juhul on enne värvimist soovitatav mononukleaarsete rakkude isoleerimine tihedusgradiendi (näiteks Ficoll-gradiendi) abil (13).
7. Inimesevastaste monoklonaalsete antikehadega ravitud patsientidel võib spetsiifiliste antigeenide tuvastamise võime väheneda või puududa, sest need on terapeutiliste antikehade poolt osaliselt või täielikult blokeeritud.
8. CD20-Pacific Blue tulemuste tõlgendamisel tuleb arvestada patsiendi terviklikku kliinilist pilti, sh sümptomeid, kliinilist anamneesi, lisaanalüüside andmeid ja muud asjakohast teavet.

Vt näiteid ja viiteid lisast.

KAUBAMÄRGID

Beckman Coulter, stiliseeritud logo ning selles juhendis nimetatud ettevõtte Beckman Coulter toote- ja teenusemärgid on ettevõtte Beckman Coulter, Inc. kaubamärgid või registreeritud kaubamärgid Ameerika Ühendriikides ja teistes riikides.

Pacific Blue on ettevõtte Molecular Probes, Inc. kaubamärk.

LISATEAVE

Patsiendile / kasutajale / muule osapoolele Euroopa Liidus ja identse regulatsioonirežiimiga riikides (määrus (EL) nr 2017/746 in vitro diagnostikameditsiiniseadmete kohta), kui selle seadme kasutamise ajal või selle kasutamise tagajärjel on toimunud tõsine vahejuhtum, teatage sellest tootjale ja/või tema volitatud esindajale ning teie riiklikult pädevale asutusele.

Summary of Safety and Performance (Ohutuse ja kliinilise toimivuse kokkuvõte) on EUDAMED-andmebaasis: ec.europa.eu/tools/eudamed.

VERSIOONI AJALUGU

REVISION AD:	Avaldamise kuupäev: oktoober 2019

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AW	Märts 2022
Värskendused, mis vastavad Beckman Coulteri ülemaailmse märgistamise poliitikale ja IVD-R (EL) 2017/746 nõuetele:	
Lisatud osad	BSI 2797 number, sihtkasutaja, kliiniline tähtsus, kontsentratsioon, täpsus, mõõtetäpsus, nullpiir ja tuvastuspiir, lisateave, versiooni ajalugu.
Lisatud informatsioon	Vaata osa „Piirangud“
Fraseerimine või tüpograafiline värskendamine	Vaata osasid Protseduur, Toimimine, Piirangud, Hoiatus ja ettevaatusabinõud, Säilitamine ja stabiilsus.
Eemaldatud osad	Kasutusotstarvete, reagentide, laborisisese korratavuse, lineaarsuse näited
Uuendatud jaotised	Kasutusotstarve, GHS-i ohuklassifikatsioon, Riknemise tunnused, Protseduur, Lisa.

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AX	aprill 2023
Uuendatud jaotised	Lisada kasahhi keel
Uuendatud jaotised	Säilitamine ja stabiilsus

Muudetud versioon	AY
Muutmise kuupäev	mai 2024
Värskendatud tõlked	**Kliiniline tähtsus:**
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Muudetud versioon	AZ
Muutmise kuupäev	juuli 2024
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Sümboli tähis

Sümbolite mõisted on kättesaadavad veebilehel beckman.com/techdocs (dokument nr B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD20
Klon	B9E9 (HRC20)
Hibridom	X63 x balb/c
Imunogen	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Imunoglobulin	IgG2a
Vrsta	Miš
Pročišćavanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	Pacific Blue
Molarni omjer	Pacific Blue / Ig: 5,30 - 6,50
λ ekscitacija	405 nm
Vršna emisija	455 nm
Pufer	PBS pH 7,2 uz 2 mg/mL BSA i 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano antitijelo CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Za *in vitro* dijagnostičku uporabu.

NAMJENA

To fluorokromom konjugirano antitijelo omogućuje kvalitativno i neautomatizirano prepoznavanje populacija stanica koje eksprimiraju antigen CD20 prisutan u humanim biološkim uzorcima uz pomoć protočne citometrije (pogledajte odjeljak „Uzorci" u nastavku).

NAČELO

Ovaj je test utemeljen na mogućnosti vezivanja specifičnih monoklonskih antitijela na antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično se bojenje leukocita izvodi inkubacijom uzorka s reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utječe, analiziraju se protočnom citometrijom.

Citometar toka mjeri difuziju svjetlosti i fluorescenciju stanica. Omogućuje razgraničavanje promatrane populacije unutar elektroničkog prozora definiranog na histogramu, koji stvara korelaciju između ortogonalne difuzije svjetlosti (bočnog raspršenja (BR)) i difuzije uskokutne svjetlosti (prednjeg raspršenja (PR)). Drugi histogrami koji kombiniraju dva od više različitih parametara dostupnih na citometru mogu se upotrebljavati kao pomoć u fazi ograđivanja ovisno o primjeni koju je odabrao korisnik.

Analizira se fluorescencija ograničenih stanica da bi se pozitivno obojeni događaji odvojili od neobojenih. Rezultati se izražavaju kao postotak pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobivene ograđivanjem.

PREDVIĐENI KORISNIK

Proizvod je namijenjen za profesionalnu laboratorijsku uporabu.

KLINIČKA RELEVANTNOST

CD20-Pacific Blue antitijelo je na CD20 koje se koristi za prepoznavanje i karakteriziranje stanica koje eksprimiraju antigen CD20 protočnom citometrijom. Ovaj proizvod samostalno ne može generirati nikakav dijagnostički zaključak niti je tome namijenjen.

Kada se upotrebljava u kombinaciji s drugim markerima, ovaj se proizvod može upotrebljavati u jednoj ili više sljedećih funkcija:

- Kao pomoć prilikom postavljanja diferencijalne dijagnoze u hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu te za praćenje pacijenata s poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć prilikom donošenja prognoze za pacijente s hematopoetskom neoplazmom.

Pogledajte sljedeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

UZORCI

Venska krv mora se uzeti sterilnim epruvetama koje kao antikoagulans sadrže EDTA sol.

Uzorke držite na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C) i nemojte ih tresti. Prije uzimanja testnog uzorka potrebno je homogenizirati uzorke pažljivim mućkanjem.

Uzorci venske krvi moraju se analizirati u roku od 24 sata od njihova uzimanja.

KONCENTRACIJA

Na web-mjestu www.beckman.com pogledajte Certifikat o analizi specifičan za lot koji upotrebljavate.

UPOZORENJE I MJERE OPREZA

1. Reagens nemojte upotrebljavati nakon isteka roka trajanja.
2. Nemojte zamrzavati.
3. Prije upotrebe pustite da dosegne sobnu temperaturu (18 – 25 °C).
4. Smanjite izlaganje svjetlu.
5. Izbjegavajte mikrobnu kontaminaciju reagensa ili može doći do netočnih rezultata.
6. Otopinama antitijela koje sadrže natrijev azid (NaN_3) potrebno je rukovati oprezno. Ne gutajte i izbjegavajte dodir s kožom, sluznicom i očima.

Štoviše, natrijev azid u kiselom mediju može formirati potencijalno opasnu hidrazoičnu kiselinu. Ako je reagens potrebno odložiti u otpad, preporučuje se da ga razrijedite u velikoj količini vode prije nego što ga izlijete u odvodni sustav da biste izbjegli nakupljanje natrijeva azida u metalnim cijevima i spriječili opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno zaraznima te je njima potrebno rukovati oprezno (odnosno nositi zaštitne rukavice, odjeću i naočale).
8. Nikada ne pipetirajte ustima te izbjegavajte doticaj uzoraka s kožom, sluznicom i očima.
9. Epruvete s krvlju i otpadni materijal za rukovanje treba odložiti u jednokratne spremnike namijenjene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad potrebno je ukloniti u skladu s lokalnim zahtjevima.

KLASIFIKACIJA OPASNOSTI PREMA GHS-U

Nije klasificiran kao opasan

SDS Sigurnosni list dostupan je na adresi beckmancoulter.com/techdocs

POHRANA I STABILNOST

Reagens se mora čuvati na temperaturi između 2 i 8 °C te zaštićen od svjetlosti, kako prije, tako i poslije otvaranja bočice.

Vijek trajanja zatvorene bočice prema ispitivanju stabilnosti: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dana.

DOKAZ PROPADANJA

Svaka promjena fizičkog izgleda reagensa može upućivati na propadanje te se reagens ne smije upotrebljavati.

Ako su vam potrebne dodatne informacije ili ste primili oštećen proizvod, nazovite korisnički servis tvrtke Beckman Coulter na 800-742-2345 (u SAD-u ili Kanadi) ili se obratite lokalnom predstavniku tvrtke Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans s natrijevim azidom može stvoriti eksplozivne spojeve u metalnim cjevovodima. Pogledajte bilten NIOSH: Explosive Azide Hazard (Opasnost od eksplozije azida) (16. 8. 76.).
Da biste spriječili moguće taloženje komponenata azida, prilikom odlaganja nerazrijeđenog reagensa u otpad odvodne cijevi isperite vodom. Odlaganje natrijeva azida u otpad mora biti u skladu s odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU DIO KOMPLETA:

- Epruvete za uzorke i materijal potreban za uzimanje uzoraka.
- Automatske pipete s jednokratnim nastavcima za 10, 100 i 500 µL.
- Plastične hemolitičke epruvete.
- Reagens za liziranje eritrocita s fazom pranja nakon liziranja. Na primjer: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primjer: Otopina za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijeva fosfata, 0,145 M natrijeva klorida, pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska miješalica (tip vorteks).
- Citometar toka.

POSTUPAK S REAGENSOM VERSALYSE

1. Dodajte odgovarajući volumen 10 µL određenog konjugiranog antitijela IOTest u svaku testnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µL testnog uzorka u svaku epruvetu. Epruvete polako promiješajte u vorteks-miješalici.
3. Inkubirajte od 15 do 20 min na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C), zaštićeno od svjetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje eritrocita. Pogledajte brošuru VersaLyse (ref. A09777) i po mogućnosti slijedite postupak „uz istovremeno fiksiranje" koji se sastoji od dodavanja 1 mL svježe pripremljene mješavine za fiksiranje i liziranje. Odmah promiješajte u vorteks-miješalici jednu sekundu i inkubirajte 10 min pri sobnoj temperaturi, zaštićeno od svjetlosti.
5. Centrifugirajte 5 min pri 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću 3 mL PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Uklonite supernatant aspiracijom i stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću:

- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a plus 0,1 % formaldehida ako se pripravke planira čuvati manje od 24 sati. (PBS s 0,1 % formaldehida možete pripremiti razrjeđivanjem 12,5 µL otopine za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800) pri njezinoj 10X koncentraciji u 1 mL PBS-a).
- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a bez formaldehida, ako pripravak treba analizirati u roku od 2 sati.

Napomena: U svakom slučaju pripravke čuvajte zaštićene od svjetlosti na temperaturi između 2 i 8 °C.

OČEKIVANE VRIJEDNOSTI

U našim su laboratorijima obrađeni uzorci pune krvi naizgled zdravih donora (njih 25) pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati prikupljeni pomoću tog reagensa u svrhu brojanja pozitivnih relevantnih događaja navedeni su u tablici u nastavku:

Pozitivna ciljna vrijednost	Broj	Srednja vrijednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti	25	13,51	5,57	41,25

Te su vrijednosti samo okvirne. Svaki laboratorij mora utvrditi vlastite očekivane vrijednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o performansama dobivaju se prethodno opisanim postupkom na manje od 24 sata starim uzorcima krvi prethodno prikupljenima u sterilne epruvete uz EDTA sol kao antikoagulans. Analiza se provodi u roku od 2 sata nakon imunobojenja.

SPECIFIČNOST

Klon B9E9 (HRC20) dodijeljen je biljegu CD20 tijekom radionice 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Peta radionica HLDA-a o antigenima za razlikovanje ljudskih leukocita), održane u Bostonu 1993. (WS kod: CD20.12, odjeljak B) (11).

PRECIZNOST

Postotne pozitivne vrijednosti utvrđene su pomoću pune krvi. Svaki je uzorak obrađen 4 puta, dvaput dnevno tijekom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagensa s monoklonskim antitijelima CD20-Pacific Blue. Mjerenja (% pozitivnih vrijednosti) provedena su s pomoću citometra toka Navios. Analiza je provedena na temelju CLSI metode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procjena radnih značajki preciznosti metoda kvantitativnog mjerenja).

Naši kriteriji prihvatljivosti ovise o broju pozitivnih događaja izmjerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivni događaj < 1500, CV < 15 %
- Ako je pozitivni događaj > 1500, CV < 10 %

Limfociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrijednost) = 945							
	Među operatorima	Među citometrima	Unutar lota	Među lotovima	Među obradama	Unutar obrade	Ukupno
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost mjerenja CD20-Pacific Blue procijenjena je usporedbom rezultata s referentnim reagensom kao predikatom na skupu uzoraka pune krvi obrađenima na protočnom citometru Navios. Odstupanje između testa i referentnog reagensa utvrđeno je na temelju razlike između rezultata testa. Ako je odstupanje unutar dopuštenog raspona pogreške ili ako p-vrijednost upućuje na to da nema značajne razlike (> 0,05), rezultati testa za dva reagensa smatraju se istovjetnima.

Dobiveni rezultati sažeti su u tablici u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivna ciljna vrijednost	Srednja vrijednost Δ	Kriterij stanica Δ %	p-vrijednost	REZULTATI
Limfociti	-0,65	<3	0,059	PASS

GRANICA SLIJEPE PROBE I GRANICA DETEKCIJE

Ispitivanje je izvedeno u skladu s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Procjena sposobnosti otkrivanja za postupke mjerenja u kliničkim laboratorijima). Granica detekcije (LOD) – najniža koncentracija analita koja se može dosljedno otkriti. Dobiveni rezultati sažeti su u sljedećoj tablici:

Positive Target	Granica slijepe probe (stanica/µL)	Granica detekcije (stanica/µL)
Limfociti	2	3

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti pogrešne rezultate ako citometar nije savršeno poravnat, ako fluorescentna curenja nisu pravilno kompenzirana i ako regije nisu pažljivo pozicionirane.
2. Poželjno je upotrebljavati tehniku liziranja pomoću RBC-a uz korak pranja jer ovaj reagens nije optimiziran za tehnike liziranja „bez pranja”.
3. Točni i ponovljivi rezultati dobivat će se sve dok se postupci izvode u skladu s tehničkom brošurom i u skladu s dobrim laboratorijskim praksama.
4. Konjugirano antitijelo tog reagensa kalibrirano je tako da pruža najbolji omjer specifičnog i nespecifičnog signala. Zato je važno pridržavati se omjera volumena reagensa i volumena uzorka prilikom svakog testiranja.
5. U slučaju hiperleukocitoze razrijedite uzorak u PBS-u da biste dobili vrijednost od približno 5 x 10^9 leukocita/L (12).
6. Pri određenim bolestima, kao što je ozbiljno zatajenje bubrega ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak i nemoguće. U tom se slučaju prije bojenja preporučuje izoliranje jednojezgrenih stanica s pomoću gradijenta gustoće (na primjer, Ficoll) (13).
7. U pacijenata koji primaju terapiju monoklonskim antihumanim antitijelima detekcija određenih ciljanih antigena može biti smanjena ili nepostojeća zbog djelomičnog ili potpunog blokiranja terapijskih antitijela.
8. Rezultate CD20-Pacific Blue treba tumačiti u kontekstu ukupne kliničke slike pacijenta, uključujući simptome, anamnezu, podatke iz dodatnih testova i druge odgovarajuće informacije.

Za primjere i reference pogledajte Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizirani logotip te oznake proizvoda i usluga tvrtke Beckman Coulter žigovi su ili registrirani žigovi tvrtke Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim državama.

Pacific Blue je žig tvrtke Molecular Probes, Inc.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta / korisnika / treću stranu u Europskoj uniji i u državama s identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskim proizvodima za in vitro dijagnostiku): ako tijekom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe dođe do ozbiljnog štetnog događaja, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovu ovlaštenom zastupniku te nadležnom nacionalnom tijelu.

Summary of Safety and Performance (Sažetak podataka o sigurnosti i performansama) potražite u bazi podataka EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

POVIJEST REVIZIJA

REVIZIJA AD:	Datum objave: listopad 2019.

REVIZIJA	**Datum objave**
AW	ožujak 2022.
Ažuriranja radi usklađivanja s pravilnikom o globalnom označavanju tvrtke Beckman Coulter i u skladu sa zahtjevima uredbe (EU)2017/746 o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima (IVD-R):	
Dodani odjeljci	Broj BSI 2797, Ciljni korisnik, Klinička relevantnost, Koncentracija, Preciznost, Točnost, Granica slijepe probe i granica detekcije, Dodatne informacije, Povijest revizija.
Dodane informacije	Pogledajte odjeljke Ograničenja
Preformuliranje ili tipografska ažuriranja	Pogledajte odjeljke Postupak, Performanse, Ograničenja, Upozorenje i mjere opreza, Pohrana i stabilnost.
Uklonjeni odjeljci	Primjer kliničkih primjena, Reagensi, Unutarlaboratorijska obnovljivost, Linearnost
Ažurirani odjeljci	Namjena, Klasifikacija opasnosti prema GHS-u, Dokaz pogoršanja stanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum objave**
AX	Travanj 2023
Ažurirani odjeljci	Dodati kazaški
Ažurirani odjeljci	Čuvanje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Svibanj 2024
Ažurirani prijevodi	**Klinička relevantnost:**
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Srpanj 2024
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Pojmovnik simbola

Pojmovnik simbola dostupan je na web-mjestu beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Спецификации
Специфичност	CD20
Клонинг	B9E9 (HRC20)
Хибридома	X63 x balb/c
Имуноген	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Имуноглобулин	IgG2a
Вид	Мишка
Пречистване	Афинитетна хроматография
Флуорохром	Pacific Blue
Моларно съотношение	Pacific Blue / Ig: 5,30 - 6,50
λ възбуждане	405 nm
Емисионен пик	455 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 mg/mL BSA и 0,1 % NaN_3

IOTest
Конюгирано антитяло
CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

За *in vitro* диагностика.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Това флуорохром-конюгирано антитяло позволява качествена и неавтоматизирана идентификация с помощта на поточна цитометрия на клетъчни популации, експресиращи CD20 антиген, присъстващ в човешки биологични проби (вижте раздел „Проби“ по-долу).

ПРИНЦИП

Този тест се базира на способността на специфични моноклонални антитела да се свързват с антигенни детерминанти, експресирани от левкоцитите.

Специфично оцветяване на левкоцитите се извършва чрез инкубиране на пробата с реактива IOTest. След това червените кръвни телца се отстраняват чрез лизиране, а левкоцитите, които не се повлияват от този процес, се анализират чрез поточна цитометрия.

Поточният цитометър измерва разсейването на светлината и флуоресценцията на клетките. Това прави възможно разграничаването на популацията, която се изследва, в електронния прозорец, дефиниран на една хистограма, която корелира с ортогоналната дифузия на светлината (странично разсейване) и дифузията на тесноъгълна светлина (предно разсейване). Други хистограми, комбиниращи два от различните параметри на разположение на цитометъра, могат да бъдат използвани като основа в етапа на определяне на област за анализ в зависимост от приложението, избрано от потребителя.

Флуоресценцията на разграничените клетки се анализира, за да се разграничат позитивно оцветените събития от неоцветените такива. Резултатите се изразяват като процент на положителни събития във връзка с всички събития, получени от определянето на областта за анализ.

ПРЕДВИДЕН ПОТРЕБИТЕЛ

Този продукт е предназначен само за лабораторна професионална употреба.

КЛИНИЧНА ЗНАЧИМОСТ

CD20-Pacific Blue е антитяло CD20, използвано за идентифициране и характеризиране чрез поточна цитометрия на клетки, експресиращи CD20 антиген. Този продукт не може и не е предназначен самостоятелно да генерира каквото и да е диагностично заключение.

Когато се използва в комбинация с други маркери, този продукт може да се използва в една или повече от следните функции:

- Като помощно средство при поставяне на диференциална диагноза на хематологично абнормни пациенти, суспектни за хематопоетично новообразуване, и за проследяване на пациенти с известно хематопоетично новообразуване.
- Като помощно средство при създаване на прогноза за пациенти с хематопоетична неоплазма.

Вижте следните справки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ПРОБИ

Венозна кръв трябва да се взема в стерилни епруветки, съдържащи сол EDTA като антикоагулант.

Пробите трябва да бъдат съхранявани при стайна температура (18–25°C) и не трябва да се разклащат. Пробите трябва да бъдат хомогенизирани чрез внимателно смесване, преди да се вземе пробата за теста.

Пробите трябва да бъдат анализирани в рамките на 24 часа от венопункturата.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Вижте Сертификата за анализ за конкретната партида на www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Не използвайте реактива след изтичане на срока на годност.
2. Не замразявайте.
3. Оставете на стайна температура (18–25°C) преди употреба.
4. Минимизирайте излагането на светлина.
5. Избягвайте микробно замърсяване на реактивите, в противен случай е възможно да се получат погрешни резултати.

6. С разтворите на антитела, съдържащи натриев азид (NaN_3), трябва да се работи внимателно. Не приемайте вътрешно и избягвайте всякакъв контакт с кожата, лигавицата и очите.

   В допълнение, в киселинна среда натриевият азид може да образува потенциално опасната хидразоена киселина. Ако тя трябва да се изхвърли, препоръчва се реактивът да се разреди в голям обем вода, преди да се излее в дренажната система, за да се избегне натрупването на натриев азид в металните тръби и да се предотврати риск от експлозия.

7. Всички кръвни проби трябва да се считат за потенциално заразни и с тях трябва да се борави внимателно (по-специално: носене на защитни ръкавици, облекло и очила).
8. Никога не пипетирайте с уста и избягвайте всякакви контакти между пробите и Вашата кожа, лигавица и очи.
9. Епруветките за кръв и материалите за еднократна употреба, използвани за боравене, трябва да се изхвърлят във временни контейнери, предназначени за изгаряне.
10. Реактивите и отпадъците трябва да бъдат елиминирани в съответствие с местните изисквания.

КЛАСИФИЦИЯ НА ОПАСНОСТИТЕ ПО GHS

Не е класифициран като опасен

SDS Информационният лист за безопасност е наличен на адрес beckmancoulter.com/techdocs

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Този реактив трябва да се съхранява при температури между 2 и 8°C и да бъде защитен от светлина преди и след отваряне на флакона.

Изследване на срок на годност при затворена епруветка и стабилност: 1095 дни.

Стабилност на отворен флакон: реактивът е стабилен за 180 дни.

ДАННИ ЗА ВЛОШАВАНЕ

Всяка промяна във физическия изглед на реактивите може да е признак за влошаване и реактивът не трябва да бъде използван.

За допълнителна информация или при получаване на повреден продукт се свържете с отдела за обслужване на клиенти на Beckman Coulter на тел. 800-742-2345 (САЩ или Канада) или се свържете с местния представител на Beckman Coulter.

СЪДЪРЖАНИЕ

Консервантът натриев азид може да образува експлозивни съединения в метални отводнителни тръбопроводи. Вижте Бюлетина на NIOSH: Explosive Azide Hazard (Бюлетин на Националния институт по безопасност и хигиена на труда: Опасност от експлозия на азид) (16/8/76).
За да избегнете възможно натрупване на азидни съединения, промивайте канализационните тръби с вода след изхвърляне на неразтворен реактив. Изхвърлянето на натриев азид трябва да бъде в съответствие с местните разпоредби.

НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СА ДОСТАВЕНИ С КОМПЛЕКТА:

- Епруветки за проби и материали, необходими за вземане на проби.
- Автоматични пипети с накрайници за еднократна употреба за 10, 100 и 500 µL.
- Пластмасови хемолизни епруветки.
- Реактив за лизис на червени кръвни телца с етап на отмиване след лизис. Например: VersaLyse (Реф. A09777).
- Реактив за левкоцитна фиксация. Например: IOTest 3 фиксиращ разтвор (Реф. A07800).
- Буфер (PBS: 0,01 M натриев фосфат; 0,145 M натриев хлорид; pH 7,2).
- Центрофугирайте.
- Автоматичен агитатор (тип вортекс).
- Поточен цитометър.

ПРОЦЕДУРА С РЕАКТИВ VERSALYSE

1. Добавете подходящия обем 10 µL от конкретното IOTest конюгирано антитяло към всяка тестова епруветка.
2. Добавете 100 µL от тестовата проба във всяка епруветка. Внимателно разбъркайте във вортекс епруветките.
3. Инкубирайте за 15 до 20 минути при стайна температура (18–25°C), като предпазвате от светлина.
4. След това се изпълнява лизиране на червените кръвни телца. Вижте брошурата на VersaLyse (Реф. A09777) и изпълнете за предпочитане процедурата, наречена „със съпътстващо фиксиране“, която се състои от добавяне на 1 mL от сместа „Фиксиране и лизиране“, приготвена за незабавно приложение. Незабавно завъртете епруветките с вортекс за една секунда и инкубирайте за 10 минути при стайна температура на защитено от светлина място.
5. Центрофугирайте 5 минути при 150 x g при стайна температура.
6. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация.
7. Разтворете отново клетъчната утайка, като използвате 3 mL PBS.
8. Повторете стъпка 5.
9. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация и ресуспендирайте клетъчната утайка с:

- 0,5 mL или 1 mL PBS плюс 0,1 % формалдехид, ако препаратите трябва да бъдат съхранявани по-малко от 24 часа. (Може да се получи 0,1 % формалдехид PBS чрез разреждане на 12,5 µL разтвор за фиксиране IOTest 3 (Реф. A07800) при 10X концентрация в 1 mL PBS).
- 0,5 mL или 1 mL PBS без формалдехид, ако препаратите ще бъдат анализирани в рамките на 2 часа.

Забележка: Във всички случаи съхранявайте препаратите при температури между 2 и 8°C и защитени от светлина.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

В нашите лаборатории бяха третирани пробите цялостна кръв на 25 видимо здрави донори с описания по-горе реактив. Получените с този реактив резултати за броя на положителните събития, които са от значение, са дадени в таблицата по-долу:

Положителна цел	Брой	Средна (%)	SD	CV (%)
Лимфоцити	25	13,51	5,57	41,25

Тези стойности са само представителни. Всяка лаборатория трябва да установи свои очаквани стойности от местната популация нормални донори.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данните за ефективността се получават с помощта на описаната по-горе процедура за кръвни проби до 24 часа, предварително събрани в стерилни епруветки със сол EDTA като антикоагулант. Анализ се извършва в рамките на 2 часа след имуноцветяване.

СПЕЦИФИЧНОСТ

Моноклоналното антитяло B9E9 (HRC20) е отнесено към CD20 по време на 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Петия HLDA Семинар за човешки левкоцитни диференциационни антигени), проведен в Бостън, САЩ, през 1993 (WS код: CD20.12, Раздел B) (11).

ТОЧНОСТ

Процентните положителни стойности са определени посредством цялостна кръв. Всяка проба е обработена 4 пъти, два пъти на ден за 1 ден на 2 инструмента, като са използвани 2 партиди реактиви с CD20-Pacific Blue моноклонално антитяло. Измерванията (% положителни) са направени на поточен цитометър Navios. Анализът е проведен на основата на CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods. (Метод EP5-A2 на CLSI: Оценка на точността на методите за количествено измерване.)

Нашите критерии за приемливост зависят от броя положителни събития, измерени за всяка популация:

- Ако положителните събития са < 1500, CV < 15 %
- Ако положителните събития са > 1500, CV < 10 %

Лимфоцити							
Брой положителни събития (средно) = 945							
	Между оператори	Между цитометри	Вътрепартидна	Между партиди	Между цикли	В рамките на цикъл	Общо
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
РЕЗУЛТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТ

Точността на CD20-Pacific Blue е изследвана чрез сравняване на резултатите с референтен реактив като потвърждение върху група от проби от цялостна кръв, обработени на поточен цитометър Navios. Отклонението между тестовия и референтния реактив се определя въз основа на разликата между резултатите от теста. Ако отклонението е в рамките на допустимия обхват на грешка или p-стойността не показва значима разлика (> 0,05), резултатите от теста за двата реактива се считат за еквивалентни.

Получените резултати са обобщени в таблицата, дадена по-долу:

Брой донори = 25				
Положителна цел	Средна Δ	Критерии Δ % клетки	p-стойност	РЕЗУЛТАТИ
Лимфоцити	-0,65	<3	0,059	PASS

ГРАНИЦА НА СЛЯПА ПРОБА И ГРАНИЦА НА ОТКРИВАНЕ

Проведено е проучване в съответствие с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оценка на възможността за детекция за измервателни процедури в клинични лаборатории). Границата на откриване (LOD) е най-ниската концентрация на аналита, която може да бъде стабилно открита. Получените резултати са обобщени в следващата таблица:

Positive Target	Граница на сляпата проба (клетки/µL)	Граница на откриване (клетки/µL)
Лимфоцити	2	3

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Поточната цитометрия може да даде неточни резултати, ако цитометърът не е бил идеално приравнен, ако течове на флуоресценция не са били правилно компенсирани или ако регионите не са били внимателно позиционирани.
2. Предпочита се използването на техника за лизиране на червени кръвни клетки със стъпка за промиване, тъй като този реактив не е оптимизиран за техники за лизиране „без промиване“.
3. Ще бъдат получени точни и възпроизводими резултати, при условие, че използваните процедури са в съответствие с техническата листовка и са съвместими с добрите лабораторни практики.
4. Конюгираното антитяло на този реактив е калибрирано, за да се осигури най-доброто съотношение между специфичен сигнал/неспецифичен сигнал. Затова е важно да се придържате към съотношението обем на реактива/обем на пробата във всеки тест.
5. В случай на хиперлевкоцитоза кръвта се разрежда в PBS, така че да се получи стойност приблизително 5 x 10^9 левкоцити/L (12).
6. При определени болестни състояния, например тежка бъбречна недостатъчност или хемоглобинопатии, лизирането на червените кръвни телца може да бъде бавно, непълно или дори невъзможно. В този случай се препоръчва да се изолират мононуклеарни клетки, като се използва градиент на плътността (Ficoll например) преди оцветяване (13).
7. При пациенти, лекувани с терапии с античовешко моноклонално антитяло, отриването на специфични целеви антигени може да бъде занижено или да липсват поради частично или цялостно блокиране от терапевтичното антитяло.

8. Резултатите от CD20-Pacific Blue трябва да се интерпретират спрямо общата клинична презентация на пациента, включваща: симптоми, клинична анамнеза, данни от допълнителни тестове и друга съответстваща информация.

Вижте Приложението за примери и справки.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ

Beckman Coulter, стилизираното лого и марките на продуктите и услугите на Beckman Coulter, присъстващи в този документ, са търговски марки или регистрирани търговски марки на Beckman Coulter, Inc. в САЩ и в други държави.

Pacific Blue е търговска марка на Molecular Probes, Inc.

ДОПЪЛНИТЕЛНА ИНФОРМАЦИЯ

За пациенти/потребители/трети лица в Европейския съюз и в страни с идентичен регулаторен режим (Регламент 2017/746/ЕС относно ин витро диагностичните медицински изделия); ако по време на използването на това изделие или в резултат на използването му е настъпил сериозен инцидент, моля, съобщете за това на производителя и/или неговия упълномощен представител и на Вашия национален орган.

Summary of Safety and Performance (Обобщение на безопасността и работата) е налично в базата данни EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ХРОНОЛОГИЯ НА РЕДАКЦИИТЕ

РЕДАКЦИЯ AD:	Дата на издаване: октомври 2019 г.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AW	март 2022 г.
Актуализации с цел съответствие с Глобалната политика за етикетиране на Beckman Coulter и съгласно изискванията на Регламент (ЕС) 2017/746 за медицинските изделия за ин витро диагностика (IVD-R):	
Добавени раздели	Номер 2797 на BSI, Предвиден потребител, Клинична значимост, Концентрация, Прецизност, Точност, Граница на сляпата проба и граница на откриване, Допълнителна информация, Хронология на редакциите.
Добавена информация	Вижте разделите „Ограничения“
Актуализации във формулировките или типографията	Вижте раздели „Процедура“, „Работни характеристики“, „Ограничения“, „Предупреждения и предпазни мерки“, „Съхранение и стабилност“.
Премахнати раздели	Пример за клинични приложения, Реактиви, Вътрешнолабораторна възпроизводимост, Линейност
Актуализирани раздели	Предвидена употреба, Класификация на опасностите по GHS, Признаци за влошаване, Процедура, Приложение.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AX	Април 2023
Актуализирани раздели	Добавен е казахски
Актуализирани раздели	Съхранение и стабилност

Редактирана версия	AY
Редактирана дата	Май 2024
Актуализирани преводи	**Клинична значимост:**
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Редактирана версия	AZ
Редактирана дата	Юли 2024
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Легенда на символите

Речник на символите е наличен на beckman.com/techdocs (номер на документа B60062)

	規格
專一性	CD20
轉殖	B9E9 (HRC20)
融合瘤	X63 x balb/c
免疫原	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
免疫球蛋白	IgG2a
物種	小鼠
純化	親和層析法
螢光染料	Pacific Blue
莫耳比率	Pacific Blue/Ig： 5.30 - 6.50
λ 激發	405 nm
發射峰	455 nm
緩衝劑	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 及 0.1% NaN_3

IOTest
結合抗體
CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 次檢測；0.5 mL, 10 µL/檢測

***體外*診斷用。**

預期用途

使用此螢光染料結合的抗體，能夠以流式細胞分析儀器對人體生物檢體中出現的表現 CD20 抗原之細胞群進行非自動化定性鑑別（請參閱下列「檢體」部分）。

原理

本測試的基礎在於特異性單株抗體結合由白血球表現之抗原決定簇的能力。

以 IOTest 試劑與檢體反應，對白血球進行特異性染色。然後以溶解作用去除紅血球，而白血球不受此程序影響，並可透過流式細胞分析儀器進行分析。

流式細胞分析儀器可測量細胞的光漫射和螢光。這樣可以界定直方圖上定義的電子窗口內的目標群體，直方圖可以關聯光的正交漫射（側向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。細胞分析儀器上可用之結合兩個不同參數的其他直方圖，可用於支持圈選階段，這取決於使用者所選的應用。

為了區分陽性染色事件和未染色事件，對劃定細胞的螢光進行了分析。結果表示為陽性事件相對於圈選所得全部事件的百分比。

預期使用者

本產品應當用於實驗室內的專業用途。

臨床相關性

CD20-Pacific Blue 是一種 CD20 抗體，以流式細胞分析儀器使用此抗體庫可辨認表達 CD20 抗原的細胞並鑑別其特徵。單獨使用此程序並不足以診斷出任何結果。

本產品搭配其他標誌物使用時，可用於以下一或多個功能：

- 可輔助疑似罹患造血組織腫瘤之血液異常患者的鑑別診斷，並可監測已知罹患造血組織腫瘤的患者。
- 有助於罹患造血組織腫瘤之患者的預後情況。

請參閱下列參考資料：

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

檢體

靜脈血必須使用無菌試管抽取，此無菌試管中含有 EDTA 鹽作為抗凝劑。

檢體應存放在室溫 (18~25°C)，且不得搖晃。取用測試檢體前，應將檢體輕輕攪動，使之均勻化。

檢體必須在靜脈穿刺後 24 小時內進行分析。

濃度

請參閱 www.beckman.com 參閱各批次專屬的分析證書。

警告和預防措施

1. 請勿使用過期試劑。
2. 切勿冷凍。
3. 使用前，請將其恢復至室溫 (18~25°C)。
4. 儘量避免陽光直射。
5. 請避免試劑受到微生物污染，否則可能會出現錯誤結果。
6. 含有疊氮化鈉 (NaN_3) 的抗體溶液應謹慎處理。請勿內服，並避免接觸皮膚、黏膜和眼睛。

   此外，在酸性介質中，疊氮化鈉可形成具有潛在危害的疊氮酸。若需要對其進行處置，建議在試劑倒入排水系統前以大量清水稀釋，避免疊氮化鈉在金屬管道中累積並預防爆炸。
7. 所有血液檢體必須視為具有潛在傳染性，且必須小心處理（務必穿戴防護手套、防護衣和護目鏡）。

8. 切勿用嘴吸液，並避免檢體接觸皮膚、黏膜和眼睛。
9. 用於處理的血液試管和一次性材料應放入焚化專用的特殊容器中處置。
10. 應根據當地要求清除試劑和廢棄物。

GHS 危害分類

未歸類為危險物質

SDS 安全性資料表載於 beckmancoulter.com/techdocs

存儲和穩定性

在打開試劑瓶前後，試劑必須避光保存於 2~8°C。

穩定性研究的封閉式藥瓶有效期限：1095 天。

開瓶後穩定性：試劑穩定性可維持 180 天。

變質的證據

試劑外觀的任何變化表示可能發生變質，因此不應使用該試劑。

如需瞭解其他資訊，或如果收到已損壞的產品，請撥打 800-742-2345（美國或加拿大）聯絡貝克曼庫爾特客戶服務部，或聯絡您當地的貝克曼庫爾特代表。

內容物

疊氮化鈉防腐劑可能會在金屬排水管道中形成爆炸性化合物。 請參閱 NIOSH Bulletin： Explosive Azide Hazard（爆炸性疊氮化物危害）(76/8/16)。為防止疊氮化合物可能累積，丟棄未稀釋的試劑後請用水沖洗污水管。必須依照相關當地法規丟棄疊氮化鈉。

試劑盒未提供但卻需要的材料：

- 採樣時需要採樣試管和材料。
- 帶有可吸取 10、100 和 500 µL 一次性吸頭的自動移液器。
- 塑膠溶血試管。
- 用於溶解後洗滌階段的紅血球溶解試劑。舉例：VersaLyse (參考 A09777)。
- 白血球固定試劑。舉例：IOTest 3 固定液 (參考 A07800)。
- 緩衝劑 (PBS：0.01 M 磷酸鈉；0.145 M 氯化鈉；pH 7.2）。
- 離心機。
- 自動攪拌器（漩渦型）。
- 流式細胞分析儀器。

使用 VERSALYSE 試劑的程序

1. 向每個試管中添加 10 µL 適當體積的特異性 IOTest 結合抗體。
2. 向每個試管中添加 100 µL 測試檢體。輕輕漩渦振盪試管。
3. 在室溫 (18~25°C) 下避光反應 15~20 分鐘。
4. 然後將紅血球溶解。請參閱 VersaLyse (參考 A09777) 的手冊，最好按照名為「共伴固定」的程序操作，其包含添加臨時製備的 1 mL「固定加溶解」混合物。立即震盪 1 秒後，在室溫下避光反應 10 分鐘。
5. 在室溫下以 150 x g 離心 5 分鐘。
6. 吸除上清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新懸浮細胞團塊。
8. 重複第 5 步。
9. 吸除上清液並按照以下方式重新懸浮細胞團塊：

- 若製劑存放時間不超過 24 小時，則以 0.5 mL 或 1 mL PBS 加 0.1% 甲醛。（可在 1 mL PBS 中稀釋 10X 濃度的 12.5 µL IOTest 3 固定液 (參考 A07800)，得到含有 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 若製劑將在 2 小時內分析，使用 0.5 mL 或 1 mL PBS（無甲醛）。

註：在所有情況下，將製劑在 2~8°C 避光保存。

預期值

在我們的實驗室中，採用上述試劑處理 25 名明顯健康的捐贈者的全血檢體。使用該試劑進行陽性目標事件計數得到的結果如下表所示：

陽性目標	數量	平均值 (%)	SD	CV (%)
淋巴球	25	13.51	5.57	41.25

這些數值是具代表性的參考值。每個實驗室都應運用當地正常捐贈者族群的檢測結果，自行確立適用的預期值。

性能

對於之前採集在無菌試管（含有 EDTA 鹽作為抗凝劑）中短於 24 小時的血液檢體，使用上面描述的程序獲取了性能資料。在免疫染色後的 2 小時內進行分析。

專一性

在 1993 年於美國波士頓舉行的 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens（第 5 屆 HLDA 人類白細胞分化抗原會議）上，將 B9E9 (HRC20) 殖株指定到 CD20 中（會議代碼：CD20.12，B 部分）(11)。

準確度

使用全血測定了百分比陽性值。每項檢體皆使用 2 個批次的 CD20-Pacific Blue 單株抗體試劑，以 2 台儀器 1 天運行 2 次，共運行了 4 次。使用 Navios 流式細胞分析儀器檢測結果（陽性 %）。根據 CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：評估定量檢測方法的準確度性能）進行分析。

我們的接受標準視各族群所檢測的陽性事件數量而定：

- 若陽性事件數量 < 1,500，則 CV < 15%
- 若陽性事件數量 > 1,500，則 CV < 10%

淋巴球							
陽性事件數量（平均值）= 945							
	各操作者間	各台細胞分析儀器間	批內	批間	各次執行間	各次執行內	總計
CV (%)	2.87	2.83	5.53	1.70	2.64	3.92	6.44
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

準確性

評估 CD20-Pacific Blue 準確性的方式，是比較它與參考試劑用於添加了陽性細胞的一組全血檢體，在 Navios 流式細胞分析儀器上進行化驗時，其結果有何差異。根據測試結果間的差異，測定了測試與參考試劑之間的偏差。如果此偏倚在允許的誤差範圍內或 P 值並未顯示顯著差異 (> 0.05)，則兩種試劑的測試結果視為相當。

所得結果總結於下表：

捐贈者數量 = 25				
陽性目標	平均值差	細胞標準 Δ %	P 值	結果
淋巴球	-0.65	<3	0.059	PASS

空白檢體的偵測極限與偵測極限

按照 CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2，臨床實驗室測定程序的偵測能力評估）開展了一項試驗。偵測極限 (LOD) 是指可始終被偵測出的最低分析物濃度。所得結果總結於下表：

Positive Target	空白檢體的偵測極限（細胞數/µL）	偵測極限（細胞數/µL）
淋巴球	2	3

限制條件

1. 流式細胞分析儀器在下列情況下可能產生錯誤結果：細胞分析儀器未正確校正、螢光洩漏未正確補償、相關區域並未仔細定位。
2. 最好採用帶洗滌步驟的 RBC 溶解方法，因該試劑不能在「無洗滌」溶解方法中取得最佳效果。
3. 按照技術手冊採用相關流程並遵循優良實驗室操作規範，便可得到準確且可重複的結果。
4. 此試劑的結合抗體已經過校正，以提供最佳的特異性訊號/非特異性訊號比率。因此，在每次測試中遵守試劑體積/檢體體積比率很重要。
5. 如果白血球過多，請在 PBS 中稀釋血液，使白血球濃度約為 5 x 10^9 顆/L (12)。
6. 在嚴重腎衰竭、血色素病變等特定疾病狀態中，紅血球溶解可能會變得緩慢、不完全，甚至無法溶解。在這種情況下，建議在染色前使用密度梯度（例如聚蔗糖）分離單核球 (13)。
7. 使用抗人單株抗體療法治療患者時，由於治療抗體的部分或完全阻斷，偵測到的特定目標抗原可能會減少或完全偵測不到。
8. CD20-Pacific Blue 結果的判讀應結合患者的整體臨床表徵，包括：症狀、臨床病史、其他測試的資料以及其他相關資訊。

請參閱附錄以閱讀舉例和參考文獻。

商標

Beckman Coulter、徽標以及本文述及的貝克曼庫爾特公司產品和服務標記是美國貝克曼庫爾特有限公司在美國和其他國家的商標或註冊商標。

Pacific Blue 是 Molecular Probes, Inc. 的商標。

其他資訊

對於患者/使用者/第三方（在歐盟和有相同監管制度（體外診斷醫療裝置法規，2017/746/EU）的國家）；如果在使用中或由於使用而導致嚴重事件，請將情況回報製造商和/或授權代表，以及貴國主管機關。

Summary of Safety and Performance（安全與性能）的摘要請參見 EUDAMED 資料庫：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修訂歷程記錄

修訂版 AD：	發佈日期：2019 年 10 月

修訂	**發行日期**
AW	2022 年 3 月
更新以遵守貝克曼庫爾特公司全球標籤政策以及 IVD-R (EU)2017/746 規定：	

已新增部分	BSI 2797 編號、預期使用者、臨床相關性、濃度、精密度、準確性、空白檢體的偵測極限和偵測極限、其他資訊、修訂記錄。
已新增資訊	請參閱「限制」部分
修辭或印刷更新	請參閱「程序」、「性能」、「限制」、「警告和預防措施」、「存儲和穩定性」等部分。
已移除的部分	臨床應用範例、試劑、實驗室內再現性、線性
已更新部分	預期用途、GHS 危害分類、變質的證據、程序、附錄。

修訂	**發行日期**
AX	4 月 2023
已更新部分	新增哈薩克語
已更新部分	存儲和穩定性

修訂版本	AY
修訂日期	5 月 2024
已更新的譯文	**臨床關聯性**：
已更新部分	修訂歷史

修訂版本	AZ
修訂日期	7 月 2024
已更新部分	修訂歷史

符號釋義

符號術語表請參見網站：beckman.com/techdocs（文件編號 B60062）

	Specificații
Specificitate	CD20
Clonă	B9E9 (HRC20)
Hibridom	X63 x balb/c
Imunogen	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Imunoglobulină	IgG2a
Specie	Șoarece
Purificare	Cromatografia afinităților
Fluorocrom	Pacific Blue
Raport molar	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
Excitare λ	405 nm
Vârful de emisie	455 nm
Soluție tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA și 0,1% NaN_3

IOTest
Anticorp conjugat
CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 de teste; 0,5 ml, 10 µl/test

Pentru utilizare în diagnosticarea *in vitro*.

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

Acest anticorp conjugat cu fluorocrom permite identificarea calitativă și non-automată a populațiilor celulare care exprimă antigenul CD20 prezent în probele biologice umane prin citometrie în flux (consultați secțiunea „probe” de mai jos).

PRINCIPIU

Acest test se bazează pe abilitatea anticorpilor monoclonali specifici de a se lega de determinanții antigenici exprimați de leucocite.

Colorarea specifică a leucocitelor este efectuată prin incubarea probei cu reactivul IOTest. Eritrocitele sunt ulterior îndepărtate prin liză, iar leucocitele, care nu sunt afectate de acest proces, sunt analizate prin citometrie în flux.

Citometrul în flux măsoară difuzia luminii și fluorescența celulelor. Acesta face posibilă delimitarea populațiilor de interes în fereastra electronică definită pe o histogramă, care corelează difuzia ortogonală a luminii (Dispersia perpendiculară sau SS – Side Scatter) și difuzia luminii sub un unghi ascuțit (Dispersia pe direcția înainte sau FS – Forward Scatter). Alte histograme care combină doi dintre parametrii diferiți disponibili pe citometru pot fi utilizate ca suporturi în faza de stabilire a porților (gating) în funcție de aplicația aleasă de către utilizator.

Fluorescența celulelor delimitate se analizează pentru distingerea evenimentelor colorate pozitiv de cele necolorate. Rezultatele sunt exprimate ca procentaj de evenimente pozitive în raport cu toate evenimentele obținute de gating.

UTILIZATOR PRECONIZAT

Acest produs este destinat utilizării profesionale în laborator.

RELEVANȚĂ CLINICĂ

CD20-Pacific Blue este un anticorp CD20 utilizat pentru a identifica și caracteriza celulele care exprimă antigenul CD20 prin citometrie în flux. Acest produs în sine nu poate și nu este conceput pentru a genera concluzii cu rol de diagnostic.

Atunci când este utilizat în combinație cu alți markeri, acest produs poate fi utilizat pentru una sau mai multe dintre următoarele funcții:

- Pentru a ajuta la obținerea unui diagnostic diferențial pentru pacienții cu anormalități hematologice suspecți de neoplasm hematopoietic și la monitorizarea pacienților cu neoplasm hematopoietic diagnosticat.
- Pentru a ajuta la obținerea unui prognostic pentru pacienții cu neoplasm hematopoietic.

Consultați următoarele referințe:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROBE

Sângele venos trebuie recoltat utilizând eprubete sterile care conțin o sare de EDTA drept anticoagulant.

Se recomandă păstrarea probelor la temperatura camerei (18–25°C). Acestea nu se vor scutura. Se recomandă omogenizarea probelor prin agitare ușoară înainte de recoltarea probei de test.

Proba trebuie analizată în decurs de 24 de ore de la puncția venoasă.

CONCENTRAȚIE

Consultați certificatul de analiză specific lotului la adresa www.beckman.com.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Nu utilizați reactivul după data expirării.
2. Nu congelați.
3. Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei (18–25°C).
4. Reduceți la minimum expunerea la lumină.
5. Evitați contaminarea microbiană a reactivilor. În caz contrar, se pot obține rezultate false.
6. Soluțiile de anticorpi care conțin azidă de sodiu (NaN_3) trebuie manipulate cu atenție. A nu se ingera și a se evita contactul cu pielea, mucoasele și ochii.

În plus, într-un mediu acid, azida de sodiu poate forma acid hidrazoic, un compus potențial periculos. Dacă este necesară eliminarea reactivului, se recomandă ca acesta să fie diluat într-un volum mare de apă înainte de a fi vărsat în sistemul de canalizare pentru a evita acumularea de azidă de sodiu în conductele metalice și pentru a preveni riscul de explozie.

7. Toate probele de sânge trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie manipulate cu grijă (în special: purtarea de mănuși de protecție, halate și ochelari de protecție).
8. Nu pipetați niciodată cu gura și evitați contactul probelor cu pielea, mucoasele și ochii.
9. Eprubetele pentru sânge și materialele de unică folosință utilizate pentru manipulare trebuie eliminate în recipiente ad-hoc destinate incinerării.
10. Reactivii și deșeurile trebuie eliminați în conformitate cu cerințele locale.

CLASIFICAREA RISCURILOR ÎN SISTEMUL GHS

Nu este clasificat ca periculos

SDS Fișa tehnică de securitate este disponibilă la beckmancoulter.com/techdocs

DEPOZITAREA ȘI STABILITATEA

Înainte și după desigilarea fiolei, acest reactiv trebuie păstrat la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C într-un loc ferit de lumină.

Perioada de valabilitate în fiolă închisă în conformitate cu studiul de stabilitate: 1095 zile.

Stabilitatea fiolei desigilate: reactivul este stabil timp de 180 (de) zile.

DOVADĂ DE DETERIORARE

Orice modificare a aspectului fizic al reactivilor poate indica degradarea. În acest caz, nu se recomandă utilizarea reactivului.

Pentru informații suplimentare sau dacă s-a primit un produs deteriorat, sunați la Serviciul Clienți Beckman Coulter la 800-742-2345 (SUA sau Canada) sau contactați-vă reprezentantul Beckman Coulter local.

CONȚINUT

Azida de sodiu folosită drept conservant poate forma compuși cu risc de explozie în conductele de drenaj metalice. Consultați buletinul informativ al NIOSH: Explosive Azide Hazard (Azidă cu risc de explozie) (08/16/76).
Pentru a evita posibila acumulare de compuși de azidă, spălați cu apă conductele pentru evacuarea deșeurilor după eliminarea reactivului nediluat. Eliminarea azidei de sodiu trebuie realizată în conformitate cu reglementările locale aplicabile.

MATERIALE NECESARE, DAR NEFURNIZATE CU SETUL:

- Eprubete pentru probe și materiale necesare pentru prelevarea probelor.
- Pipete automate cu vârfuri de unică folosință pentru 10, 100 și 500 µl.
- Eprubete din plastic pentru hemoliză.
- Reactiv de liză a eritrocitelor cu faza de spălare după liză. De exemplu: VersaLyse (ref. A09777).
- Reactiv de fixare a leucocitelor. De exemplu: Soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800).
- Soluție tampon (PBS: 0,01 mol de fosfat de sodiu; 0,145 mol de clorură de sodiu; pH 7,2).
- Centrifugați.
- Agitator automat (tip Vortex).
- Citometru de flux.

PROCEDURA CU REACTIVUL VERSALYSE

1. În fiecare eprubetă de test, adăugați volumul adecvat de 10 µl de anticorpi conjugați IOTest specifici.
2. Adăugați 100 µl de probă de test în fiecare eprubetă. Amestecați cu grijă eprubetele în agitatorul vortex.
3. Incubați timp de 15–20 de minute la temperatura camerei (18–25°C) într-un loc ferit de lumină.
4. Apoi efectuați liza eritrocitelor. Consultați prospectul VersaLyse (ref. A09777) și urmați, de preferat, procedura denumită „cu fixare concomitentă”, care constă în adăugarea a 1 ml de amestec „Fixare și liză” preparat extemporaneu. Amestecați imediat în agitatorul vortex timp de o secundă și incubați timp de 10 minute la temperatura camerei, într-un loc ferit de lumină.
5. Centrifugați timp de 5 minute la 150 x g la temperatura camerei.
6. Îndepărtați supernatantul prin aspirare.
7. Resuspendați peleta de celule utilizând 3 ml de PBS.
8. Repetați pasul 5.
9. Îndepărtați supernatantul prin aspirare și resuspendați peleta de celule utilizând:

- 0,5 ml sau 1 ml de PBS plus 0,1% formaldehidă dacă preparatele trebuie păstrate mai puțin de 24 (de) ore. (O soluție PBS cu 0,1% formaldehidă poate fi obținută prin diluarea unei cantități de 12,5 µl de soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800) la concentrația sa de 10X în 1 ml de PBS).
- 0,5 ml sau 1 ml de PBS fără formaldehidă, dacă preparatele trebuie analizate în decurs de 2 (de) ore.

Observație: În toate cazurile, păstrați preparatele la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C, în locuri ferite de lumină.

VALORI PRECONIZATE

În laboratoarele noastre, probele de sânge integral de la 25 donatori aparent sănătoși au fost tratate utilizându-se reactivul descris mai sus. Rezultatele obținute pentru numărul de evenimente pozitive de interes cu acest reactiv sunt date în tabelul de mai jos:

Ținta pozitivă	Număr	Medie (%)	SD (deviație standard)	CV (%)
Limfocite	25	13,51	5,57	41,25

Aceste valori au doar caracter exemplificativ. Fiecare laborator trebuie să stabilească propriile valori așteptate de la populația locală de donatori normali.

PERFORMANȚĂ

Datele de performanță se obțin folosindu-se procedeul descris mai sus pe probe de sânge cu o vechime mai mică de 24 de ore recoltate anterior în eprubete sterile cu sare EDTA ca anticoagulant. Analiza se efectuează în decurs de 2 ore de la imunocolorare.

SPECIFICITATE

Clona B9E9 (HRC20) a fost asociată CD20 la 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Al 5-lea simpozion HLDA pentru antigenii umani de diferențiere a leucocitelor), organizat la Boston, SUA, în 1993 (Cod WS: CD20.12, Secțiunea B) (11).

PRECIZIE

Valorile procentuale pozitive au fost stabilite folosind sânge integral. Fiecare probă a fost analizată de 4 ori, de două ori pe zi timp de 1 zi, pe 2 instrumente, folosind 2 loturi de reactivi cu anticorp monoclonal CD20-Pacific Blue. Măsurătorile (% pozitive) au fost efectuate pe un citometru în flux Navios. Analiza a fost efectuată în conformitate cu metoda CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluarea performanței de precizie a metodelor de măsurare cantitativă).

Criteriile noastre de acceptare depind de numărul de evenimente pozitive măsurate pentru fiecare populație:

- Dacă evenimentul pozitiv < 1500, CV < 15%
- Dacă evenimentul pozitiv > 1500, CV < 10%

Limfocite							
Număr de evenimente pozitive (medie) = 945							
	Inter-operator	Inter-citometru	Intra-lot	Inter-lot	Inter-ciclu	Intra-testare	Total
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
REZULTATE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACURATEȚE

Acuratețea CD20-Pacific Blue a fost evaluată prin compararea rezultatelor cu un reactiv de referință ca predicat pe un set de probe de sânge integral analizate cu un citometru în flux Navios. Eroarea sistematică dintre test și reactivul de referință a fost determinată în funcție de diferența dintre rezultatele testului. Dacă eroarea sistematică se încadrează în intervalul de eroare permis sau dacă valoarea p nu indică o diferență semnificativă (> 0,05), rezultatele testului pentru cei doi reactivi sunt considerate ca fiind echivalente.

Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul de mai jos:

Număr de donatori = 25				
Ținta pozitivă	Medie Δ	Criterii celulă Δ%	Valoarea p	REZULTATE
Limfocite	-0,65	<3	0,059	PASS

LIMITA DE BLANC ȘI LIMITA DE DETECȚIE

A fost realizat un studiu în conformitate cu documentul CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluarea capacității de detecție în cazul procedurilor de măsurare din laborator). Limita de detecție (LOD) este cea mai redusă concentrație de analit care poate fi detectată în mod constant. Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul următor:

Positive Target	Limită de blanc (celulă/µl)	Limită de detecție (celulă/µl)
Limfocite	2	3

LIMITĂRI

1. Citometria în flux poate furniza rezultate false dacă citometrul nu a fost aliniat perfect, dacă scurgerile de fluorescență nu au fost compensate corect și dacă regiunile nu au fost poziționate corect.
2. Este de preferat să se utilizeze o tehnică de liză a eritrocitelor (RBC) cu o etapă de spălare, deoarece acest reactiv nu a fost optimizat pentru tehnici de liză „fără spălare”.
3. Se vor obține rezultate corecte și reproductibile dacă procedurile utilizate respectă prospectul tehnic și bunele practici de laborator.
4. Anticorpul conjugat din acest reactiv este calibrat astfel încât să ofere cel mai bun raport semnal specific/semnal nespecific. Prin urmare, este important ca la fiecare test să se respecte raportul volum de reactiv/volum de probă.
5. În cazul unei hiperleucocitoze, diluați sângele în PBS astfel încât să obțineți o valoare de aproximativ 5 x 10^9 leucocite/l (12).
6. În anumite stări patologice, cum ar fi insuficiența renală severă sau hemoglobinopatiile, liza eritrocitelor poate fi lentă, incompletă sau chiar imposibilă. În acest caz, se recomandă izolarea celulelor mononucleare cu ajutorul unui gradient de densitate (de exemplu, Ficoll), înainte de colorare (13).
7. În cazul pacienților tratați cu terapii cu anticorp monoclonal anti-uman, detecția antigenilor specifici țintiți poate fi diminuată sau absentă din cauza blocării parțiale sau complete asigurată de anticorpul terapeutic.
8. Rezultatele CD20-Pacific Blue trebuie interpretate în lumina prezentării clinice integrale a pacientului, inclusiv: simptome, istoric clinic, date din teste suplimentare și alte informații corespunzătoare.

Consultați Anexa pentru exemple și referințe.

MĂRCI COMERCIALE

Beckman Coulter, logoul stilizat și mărcile de produse și servicii Beckman Coulter menționate aici sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Beckman Coulter, Inc. în Statele Unite și în alte țări.

Pacific Blue este o marcă comercială a Molecular Probes, Inc.

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

În cazul unui pacient/utilizator/terț aflat în Uniunea Europeană sau în țări cu un regim de reglementare identic (Regulamentul 2017/746/UE privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro); dacă, în timpul utilizării acestui dispozitiv sau în urma utilizării acestuia, are loc un incident grav, raportați acest incident către producător și/sau reprezentantul său autorizat și către autoritatea națională din țara dvs.

Rezumatul secțiunilor Siguranță și Performanță este disponibil din baza de date EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORICUL REVIZUIRILOR

REVIZIA AD:	Data publicării: Octombrie 2019

REVIZIE	**Data publicării**
AW	Martie 2022
Se actualizează pentru a respecta politica globală de etichetare Beckman Coulter și cerințele regulamentului IVD-R (UE) 2017/746:	
Secțiuni adăugate	Număr BSI 2797, Utilizator propus, Relevanță clinică, Concentrație, Precizie, Acuratețe, Limita de blanc și limita de detecție, Informații suplimentare, Istoric revizuiri.
Informații adăugate	Consultați secțiunile Limitări
Actualizări referitoare la frazare și tipografice	Consultați secțiunile Procedură, Performanță, Limitări, Avertizări și măsuri de precauție, Depozitare și stabilitate.
Secțiuni eliminate	Exemplu de utilizări clinice, Reactivi, Reproductibilitate intralaborator, Liniaritate
Secțiuni actualizate	Utilizare propusă, Clasificarea riscurilor în sistemul GHS, Dovadă de deteriorare, Procedură, Anexă.

REVIZIE	**Data publicării**
AX	Aprilie 2023
Secțiuni actualizate	A fost adăugată limba kazahă
Secțiuni actualizate	Depozitare și stabilitate

Versiunea revizuită	AY
Data revizuirii	Mai 2024
Au fost actualizate traducerile	**Relevanță clinică:**
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Versiunea revizuită	AZ
Data revizuirii	Iulie 2024
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Cheie simboluri

Glosarul de simboluri este disponibil la beckman.com/techdocs (număr document B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD20
Klon	B9E9 (HRC20)
Hibridom	X63 x balb/c
Imunogen	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Imunoglobulin	IgG2a
Vrsta	Miš
Prečiščevanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	Pacific Blue
Molarno razmerje	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
λ ekscitacija	405 nm
Vršna vrednost emisij	455 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA in 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano protitelo CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 testov; 0,5 ml, 10 µl/test

Za diagnostično uporabo *in vitro*.

NAMEN UPORABE

To protitelo, konjugirano s fluorokromi, omogoča kvalitativno in neavtomatizirano identifikacijo celičnih populacij, ki izražajo antigen CD20, prisoten v človeških bioloških vzorcih, z uporabo pretočne citometrije (oglejte si poglavje »Vzorci« spodaj).

NAČELO

Ta test temelji na sposobnosti specifičnih monoklonskih protiteles, da se vežejo na antigenske determinante, ki jih izražajo levkociti.

Specifično barvanje levkocitov izvedemo z inkubacijo vzorca z reagentom IOTest. Rdeče krvničke nato odstranimo z lizo, levkocite, na katere ta proces ne vpliva, pa analiziramo s pretočno citometrijo.

Pretočni citometer meri difuzijo svetlobe in fluorescenco celic. Omogoča razmejitev opazovane populacije v elektronskem oknu, opredeljenem v histogramu, ki je povezan z ortogonalno difuzijo svetlobe (stransko sipanje ali SS) in difuzijo svetlobe pri majhnemu kotu (sipanje naprej ali FS). Glede na uporabo, ki jo izbere uporabnik, lahko druge histograme, ki uporabljajo kombinacijo dveh različnih parametrov, ki so na voljo na citometru, uporabimo kot nosilce v fazi uokvirjanja.

Fluorescenco razmejenih celic analiziramo z namenom razlikovanja med pozitivno obarvanimi dogodki in tistimi, ki niso obarvani. Rezultati so izraženi kot odstotek pozitivnih dogodkov glede na vse dogodke, pridobljene z uokviranjem.

PREDVIDENI UPORABNIK

Izdelek je namenjen profesionalni laboratorijski uporabi.

KLINIČNI POMEN

CD20-Pacific Blue je protitelo CD20, ki se uporablja za identifikacijo in karakterizacijo celic, ki izražajo antigen CD20 s pomočjo pretočne citometrije. Ta izdelek sam ne more ustvariti in ni namenjen za ustvarjanje kakršnih koli diagnostičnih zaključkov.

Če se izdelek uporablja v kombinaciji z drugimi označevalci, se lahko uporablja pri eni ali več naslednjih funkcij:

- Uporablja se kot pripomoček pri diferencialnem diagnosticiranju hematološko neobičajnih bolnikov, pri katerih obstaja sum, da imajo hematopoetsko neoplazmo, in za spremljanje bolnikov z znano hematopoetsko neoplazmo.
- Za pomoč pri napovedi stanja bolnikov s hematopoetsko neoplazmo.

Oglejte si naslednje reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

VZORCI

Pri jemanju venske krvi je treba uporabiti sterilne epruvete, ki vsebujejo sol EDTA kot antikoagulant.

Vzorce je treba hraniti pri sobni temperaturi (18–25 °C) in jih ni dovoljeno pretresati. Vzorce je treba homogenizirati z rahlim stresanjem pred odvzemom testnega vzorca.

Vzorce je treba analizirati v 24 urah po venepunkciji.

KONCENTRACIJA

Oglejte si ustrezen certifikat o analizi za izbrano serijo na spletni strani www.beckman.com.

OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI

1. Ne uporabljajte reagenta po izteku roka uporabnosti.
2. Ne zamrzujte.
3. Pred uporabo počakajte, da se ogrejejo na sobno temperaturo (18–25 °C).
4. Čim manj izpostavljajte svetlobi.
5. Preprečite mikrobno kontaminacijo reagentov, sicer lahko pride do napačnih rezultatov.
6. Z raztopinami protiteles, ki vsebujejo natrijev azid (NaN_3), je treba ravnati previdno. Ne zaužijte in se izogibajte vsakršnemu stiku s kožo, sluznico in očmi.

Poleg tega lahko natrijev azid v kislem mediju tvori potencialno nevaren vodikov azid. Če ga je treba odstraniti, je reagent priporočljivo razredčiti z veliko količino vode pred izlivanjem v kanalizacijo, da bi se izognili kopičenju natrijevega azida v kovinskih ceveh in preprečili nevarnost eksplozije.

7. Vse vzorce krvi je treba obravnavati kot potencialno kužne in je treba z njimi ravnati previdno (predvsem je treba nositi zaščitne rokavice, halje in očala).
8. Nikoli ne pipetirajte z usti in se izogibajte vsakršnemu stiku vzorcev s kožo, sluznico in očmi.
9. Epruvete za kri in material za enkratno uporabo je treba odstraniti v zabojnike na licu mesta, namenjene sežigu.
10. Reagente in odpadke je treba odstraniti skladno z lokalnimi predpisi.

KLASIFIKACIJA NEVARNOSTI PO GHS

Ni razvrščeno kot nevarno

SDS Varnostni list je na voljo na povezavi beckmancoulter.com/techdocs

SHRANJEVANJE IN OBSTOJNOST

Ta reagent je treba shranjevati pri temperaturi od 2 do 8 °C in zaščiteno pred svetlobo pred odprtjem vial in po njem.

Rok uporabnosti zaprte viale po študiji stabilnosti: 1095 dni.

Stabilnost odprte stekleničke: reagent je stabilen 180 dni.

DOKAZ O POSLABŠANJU STANJA

Vsaka sprememba fizičnega videza reagentov lahko kaže na poslabšanje stanja in reagenta ni dovoljeno uporabljati.

Za dodatne informacije ali ob prejemu poškodovanega izdelka pokličite službo za pomoč strankam družbe Beckman Coulter na številko 800-742-2345 (ZDA ali Kanada) ali se obrnite na lokalnega predstavnika podjetja Beckman Coulter.

VSEBINA

Konzervans iz natrijevega azida lahko tvori eksplozivne spojine v kovinskih odvodnih ceveh. Oglejte si NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16. 8. 76) (Nevarnost eksplozivnih azidov).
Da bi se izognili morebitnemu kopičenju azidnih spojin, po odstranjevanju nerazredčenega reagenta sperite odtočne cevi z vodo. Odstranjevanje natrijevega azida mora biti skladno z ustreznimi lokalnimi predpisi.

POTREBEN MATERIAL, KI NI PRILOŽEN V KOMPLETU:

- Epruvete za vzorčenje in material, potreben za vzorčenje.
- Samodejne pipete s konicami za enkratno uporabo za 10, 100 in 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizo.
- Reagent za lizo rdečih krvničk z izpiranjem po lizi. Na primer: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagent za fiksacijo levkocitov. Na primer: fiksirna raztopina IOTest 3 (Ref. A07800).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijev fosfat; 0,145 M natrijev klorid; pH 7,2).
- Centrifugirajte.
- Samodejni stresalnik (za stresanje).
- Pretočni citometer.

POSTOPEK Z REAGENTOM VERSALYSE

1. V vsako testno epruveto za testiranje dodajte ustrezno količino 10 µl specifičnega konjugiranega protitelesa IOTest.
2. V vsako epruveto dodajte 100 µl testnega vzorca. Epruvete nežno stresajte.
3. Inkubirajte ga 15 do 20 minut pri sobni temperaturi (18–25 °C), zaščitenega pred svetlobo.
4. Nato izvedite lizo rdečih celic. Oglejte si brošuro VersaLyse (Ref. A09777) in po možnosti upoštevajte postopek, imenovan »s hkratno fiksacijo«, po katerem je treba dodati 1 ml mešanice »Fix-and-Lyse«, pripravljene sprotno. Takoj stresajte eno sekundo in inkubirajte 10 minut pri sobni temperaturi, zaščiteno pred svetlobo.
5. Centrifugirajte 5 minut pri 150 x g na sobni temperaturi.
6. Supernatant odstranite z aspiracijo.
7. Celično usedlino znova suspendirajte z uporabo 3 ml PBS.
8. Ponovite 5. korak.
9. Supernatant odstranite z aspiracijo in znova suspendirajte celično usedlino z uporabo:

- 0,5 ml ali 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehida, če je pripravke treba hraniti manj kot 24 ur. (0,1-% formaldehid PBS lahko dobimo z redčenjem 12,5 µl fiksirne raztopine IOTest 3 (Ref. A07800) pri njeni 10X koncentraciji v 1 ml PBS).
- 0,5 ml ali 1 ml PBS brez formaldehida, če je pripravke treba analizirati v 2 urah.

Opomba: v vseh primerih pripravke hranite na temperaturi od 2 do 8 °C in zaščitite pred svetlobo.

PRIČAKOVANE VREDNOSTI

V naših laboratorijih smo z zgoraj opisanim reagentom obdelali vzorce polne krvi 25 na videz zdravih darovalcev. Rezultati, pridobljeni s štetjem pozitivnih dogodkov, ki nas zanimajo v zvezi s tem reagentom, so navedeni v spodnjih preglednicah:

Pozitivna tarča	Številka	Povprečje (%)	SD (SO)	CV (%)
Limfociti	25	13,51	5,57	41,25

Te vrednosti so zgolj reprezentativne. Vsak laboratorij mora določiti lastne pričakovane vrednosti za lokalno populacijo običajnih darovalcev.

USPEŠNOST

Podatke o zmogljivosti pridobimo z zgoraj opisanim postopkom na vzorcih krvi, starih manj kot 24 ur, ki so bili predhodno zbrani v sterilnih epruvetah s soljo EDTA kot antikoagulantom. Analizo se izvede v 2 urah po imunohistokemičnem barvanju.

SPECIFIČNOST

Klon B9E9 (HRC20) je bil dodeljen CD20 med 5. HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (delavnica HLDA o antigenih za diferenciacijo človeških levkocitov), ki je potekala v Bostonu v Združenih državah Amerike leta 1993 (koda WS: CD20.12, razdelek B) (11).

NATANČNOST

Odstotke pozitivnih vrednosti smo določili z uporabo polne krvi. Vsak vzorec je bil obravnavan 4-krat, dvakrat dnevno 1 dan na 2 napravah z uporabo 2 serij reagentov z monoklonskimi protitelesi CD20-Pacific Blue. Meritve (% pozitivnih) so bile opravljene na pretočnem citometru Navios. Analiza je bila izvedena na podlagi metode CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vrednotenje natančnosti kvantitativnih merilnih metod).

Naša merila sprejemljivosti so odvisna od števila pozitivnih dogodkov, izmerjenih za vsako populacijo:

- Če je pozitiven dogodek < 1.500, je CV < 15 %
- Če je pozitiven dogodek > 1.500, je CV < 10 %

Limfociti							
Število pozitivnih dogodkov (povprečje) = 945							
	Med upravljavci	Med citometri	Znotraj serije	Med serijami	Med postopki	Znotraj postopka	Skupaj
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost CD20-Pacific Blue smo ocenili s primerjavo rezultatov z referenčnim reagentom kot reagentom s potrjeno skladnostjo na nizu vzorcev polne krvi, obdelane na pretočnem citometru Navios. Odstopanje med testnim in referenčnim reagentom je bilo določeno na podlagi razlike med rezultati testa. Če je odstopanje znotraj dovoljenega območja napake ali vrednost p ne kaže pomembne razlike (> 0,05), se rezultati testov za oba reagenta štejejo za enakovredne.

Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Število darovalcev = 25				
Pozitivna tarča	Povprečje Δ	Δ % celičnega kriterija	vrednost p	REZULTATI
Limfociti	-0,65	<3	0,059	PASS

MEJA SLEPEGA VZORCA IN MEJA ZAZNAVANJA

Študija je bila izvedena skladno z metodo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zmogljivosti zaznavanja za merilne postopke v kliničnih laboratorijih). Meja zaznavanja (LOD) je najnižja koncentracija analita, ki jo je mogoče dosledno zaznati. Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Positive Target	Meja slepega vzorca (celic/µl)	Meja zaznavanja (celic/µl)
Limfociti	2	3

OMEJITVE

1. S pretočno citometrijo lahko pride do napačnih rezultatov, če citometer ni bil točno nameščen, če puščanje fluorescence ni bilo ustrezno izravnano in če območja niso bila natančno pozicionirana.
2. Priporočljivo je uporabiti tehniko liziranja RBC s korakom pranja, saj ta reagent ni optimiziran za tehnike liziranja »brez pranja«.
3. Točne in ponovljive rezultate se bo doseglo, če se bo uporabilo postopke, ki so skladni s priloženim tehničnim listom in z načeli dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugirano protitelo tega reagenta je umerjeno, tako da zagotavlja najboljše razmerje med specifičnim/nespecifičnim signalnim razmerjem. Zato je pomembno, da pri vsakem testu upoštevamo razmerje med količino reagenta/količino vzorca.
5. V primeru hiperlevkocitoze razredčite kri v PBS, da se tako dobi vrednost približno 5 x 10^9 levkocitov/l (12).
6. Pri nekaterih bolezenskih stanjih, kot je huda ledvična odpoved ali hemoglobinopatije, je lahko liza rdečih krvničk počasna, nepopolna ali celo nemogoča. V tem primeru je priporočljivo izolirati mononuklearne celice z uporabo gradienta gostote (na primer Ficoll) pred barvanjem (13).
7. Pri bolnikih, ki se zdravijo s terapijo z antihumanimi monoklonskimi protitelesi, je lahko odkrivanje specifičnih ciljnih antigenov zmanjšano ali pa ga sploh ni zaradi delnega ali popolnega blokiranja s strani terapevtskega protitelesa.
8. Rezultate CD20-Pacific Blue je treba razlagati v luči celotne klinične slike bolnika, vključno s: simptomi, anamnezo, podatki dodatnih testov in drugimi ustreznimi podatki.

Primere in reference si oglejte v prilogi.

BLAGOVNE ZNAMKE

Beckman Coulter, stiliziran logotip ter znamke izdelkov in storitev podjetja Beckman Coulter, omenjene v tem dokumentu, so blagovne znamke ali registrirane blagovne znamke podjetja Beckman Coulter, Inc. v Združenih državah Amerike in drugih državah.

Pacific Blue je blagovna znamka družbe Molecular Probes, Inc.

DRUGI PODATKI

Za bolnike/uporabnike/tretje osebe v Evropski uniji in v državah z enakim regulativnim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskih pripomočkih za in vitro diagnostiko): če med uporabo tega pripomočka ali kot rezultat njegove uporabe pride do resnega incidenta, o tem poročajte proizvajalcu in/ali njegovemu pooblaščenemu predstavniku in svojemu nacionalnemu organu.

Summary of Safety and Performance (Povzetek o varnosti in zmogljivosti) je na voljo v bazi podatkov EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ZGODOVINA REVIZIJ

REVIDIRANA IZDAJA AD:	Datum izdaje: Oktober 2019

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AW	Marec 2022
Posodobitve za skladnost z globalno politiko označevanja Beckman Coulter in v skladu z zahtevami IVD-R (EU) 2017/746:	
Dodana poglavja	Številka BSI 2797, predvideni uporabnik, klinični pomen, koncentracija, točnost, natančnost, meja slepega vzorca in meja zaznavanja, dodatne informacije, zgodovina revizij.
Dodatne informacije	Oglejte si poglavja Omejitve
Izrazne ali tipografske posodobitve	Oglejte si poglavja Postopek, Zmogljivost, Omejitve, Opozorila in previdnostni ukrepi, Shranjevanje in stabilnost.
Odstranjena poglavja	Primer klinične uporabe, reagenti, ponovljivost znotraj laboratorija, linearnost
Posodobljena poglavja	Predvidena uporaba, Klasifikacija nevarnosti po GHS, Dokaz o poslabšanju stanja, Postopek, Priloga.

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AX	April 2023
Posodobljena poglavja	Dodaj kazaščino
Posodobljena poglavja	Shranjevanje in stabilnost

Revidirana različica	AY
Revidiran datum	Maj 2024
Posodobljeni prevodi	**Klinični pomen:**
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Revidirana različica	AZ
Revidiran datum	Julij 2024
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Seznam simbolov

Glosar simbolov je na voljo na beckman.com/techdocs (številka dokumenta B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD20
Klon	B9E9 (HRC20)
Hibridom	X63 x balb/c
Imunogen	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Imunoglobulin	IgG2a
Vrste	Miš
Prečišćavanje	Afinitetna hromatografija
Fluorohrom	Pacific Blue
Molarni odnos	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
λ ekscitacija	405 nm
Vršna vrednost emisije	455 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA i 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugovano antitelo CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 ml, 10 µl / test

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.

NAMENA

Ovo fluorohromno-konjugovano antitelo omogućava kvalitativnu i neautomatizovanu identifikaciju ćelijskih populacija koje eksprimiraju CD20 antigen prisutnih u humanim biološkim uzorcima pomoću protočne citometrije (pogledati odeljak „Uzorci“ u nastavku).

PRINCIP

Ovaj test se zasniva na sposobnosti određenih monoklonskih antitela da se vežu za antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično bojenje leukocita se obavlja inkubiranjem uzorka sa reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utiče, analiziraju se protočnom citometrijom.

Protočni citometar meri difuziju svetlosti i fluorescenciju ćelija. On omogućava razgraničenje populacije od interesa u okviru elektronskog prozora definisanog na histogramu, što je u korelaciji sa ortogonalnom difuzijom svetlosti (bočno rasejanje ili SS) i difuzijom uskougaone svetlosti (prednje rasejanje ili FS). Drugi histogrami koji kombinuju dva različita parametra koja postoje na citometru mogu se koristiti kao podrška u fazi regulacije, u zavisnosti od primene koju je korisnik odabrao.

Fluorescencija ograničenih ćelija se analizira kako bi se razlikovali pozitivno obojeni događaji od neobojenih događaja. Rezultati su prikazani kao procenat pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobijene regulacijom.

PREDVIĐENI KORISNIK

Ovaj proizvod je namenjen za upotrebu od strane laboratorijskih stručnjaka.

KLINIČKI ZNAČAJ

CD20-Pacific Blue predstavlja CD20 antitelo korišćeno za identifikovanje i karakterizaciju ćelija koje eksprimiraju CD20 antigen pomoću protočne citometrije. Ovaj proizvod sam po sebi ne može da se koristi i nije namenjen za donošenje bilo kog dijagnostičkog zaključka.

Kada se koristi u kombinaciji sa drugim markerima, ovaj proizvod može da se koristi kod jedne ili više od sledećih funkcija:

- Kao pomoć u diferencijalnoj dijagnozi kod hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu i za nadgledanje pacijenata sa poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć u prognozi za pacijente koji imaju hematopoetsku neoplazmu.

Pogledajte sledeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

UZORCI

Uzorci iz venske krvi moraju se uzimati sterilnim epruvetama koje sadrže EDTA so kao antikoagulans.

Uzorke treba čuvati na sobnoj temperaturi (18–25°C) i ne tresti. Uzorke treba pre uzimanja uzorka za testiranje homogenizovati blagim mešanjem.

Uzorci se moraju analizirati u roku od 24 sati od venepunkcije.

KONCENTRACIJA

Pogledajte dokument „Certificate of Analysis“ (Sertifikat analize) za određeni lot na veb-sajtu www.beckman.com.

UPOZORENJE I MERE OPREZA

1. Ne koristite reagense nakon isteka roka trajanja.
2. Ne zamrzavajte.
3. Pre upotrebe sačekajte da se približi sobnoj temperaturi (18–25°C).
4. Izbegavati izloženost svetlosti.
5. Sprečite mikrobsku kontaminaciju reagenasa ili se mogu javiti netačni rezultati.
6. Rastvorima antitela koji sadrže natrijum azid (NaN_3) treba pažljivo rukovati. Ne uzimajte interno i izbegavajte svaki dodir sa kožom, sluzokožom i očima.

Pored toga, u kiseloj sredini, natrijum azid može formirati potencijalno opasnu hidrazoinsku kiselinu. Ako je potrebno da se odloži u otpad, preporučuje se da se reagens razblaži u velikoj zapremini vode pre sipanja u sistem kanalizacije kako bi se izbeglo taloženje natrijum azida u metalnim cevima i sprečila opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno infektivnim i njima se mora pažljivo rukovati (posebno: nošenje zaštitnih rukavica, odeće i zaštitnih naočara).
8. Nikada ne pipetirajte ustima i izbegavajte svaki kontakt uzoraka sa kožom, sluzokožom i očima.
9. Epruvete za uzorak krvi i potrošni materijal koji je korišćen za rukovanje treba odložiti u ad hoc kontejnere predviđene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad treba ukloniti prema lokalnim zahtevima.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno

SDS Dokument „Bezbednosni list“ dostupan je na internet stranici beckmancoulter.com/techdocs

SKLADIŠTENJE I STABILNOST

Ovaj reagens se mora čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C i zaštićen od svetlosti, pre i posle otvaranja bočice.

Ispitivanje roka trajanja zatvorene bočice u odnosu na stabilnost: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dan(a).

DOKAZI POGORŠANJA

Bilo koja promena u fizičkom izgledu reagensa može ukazivati na pogoršanje i reagens ne treba koristiti.

Za dodatne informacije ili ako dobijete oštećen proizvod, pozovite korisnički servis kompanije Beckman Coulter na broj 800-742-2345 (SAD ili Kanada) ili pozovite svog lokalnog predstavnika kompanije Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans sa natrijum azidom može formirati eksplozivna jedinjenja u metalnim odvodnim vodovima. Pogledajte „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (16.8.76.) (Bilten Nacionalnog instituta za bezbednost i zdravlje na radu: Opasnost od eksplozivnih azida).
Da biste sprečili moguće taloženje jedinjenja azida, isperite cevi za otpad vodom nakon odlaganja u otpad nerazblaženog reagensa. Odlaganje u otpad natrijum azida mora biti u skladu sa odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI SE NE ISPORUČUJU UZ KOMPLET:

- Epruvete za uzorkovanje i materijal potreban za uzorkovanje.
- Automatske pipete sa nastavcima za jednokratnu upotrebu za 10 100 µl i 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizu.
- Reagens za liziranje eritrocita sa fazom ispiranja nakon liziranja. Na primer: VersaLyse (referentni broj A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primer: IOTest 3 fiksativni rastvor (referentni broj A07800).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijum-fosfat; 0,145 M natrijum-hlorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska mešalica (vrtložnog tipa).
- Protočni citometar.

POSTUPAK SA VERSALYSE REAGENSOM

1. Dodajte odgovarajuću zapreminu 10 µl specifičnog IOTest konjugovanog antitela u svaku epruvetu za uzorak.
2. Dodajte 100 µl uzorka za testiranje u svaku epruvetu za uzorak. Pažljivo izmešajte epruvete u vrtložnoj mešalici.
3. Inkubirajte 15 do 20 minuta na sobnoj temperaturi (18–25°C), zaštićeno od svetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje crvenih ćelija. Pogledajte VersaLyse (referentni broj A09777) letak i poželjno pratite postupak pod nazivom „sa istovremenom fiksacijom“, koji se sastoji od dodavanja 1 ml nezavisno pripremljene smeše za fiksiranje i liziranje („Fix-and-Lyse“). Odmah izmešajte u vrtložnoj mešalici jednu sekundu i inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi, zaštićeno od svetlosti.
5. Centrifugirajte 5 minuta na 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Ponovo suspendujte talog ćelija u 3 ml PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Aspiracijom uklonite supernatant i ponovo suspendujte talog ćelija u:

- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a plus 0,1% formaldehida ako će se preparati čuvati kraće od ovog broja sati: 24. (PBS sa 0,1% formaldehida može se dobiti razblaživanjem 12,5 µl IOTest 3 rastvora za fiksiranje (referentni broj A07800) u 10X koncentraciji u 1 ml PBS-a).
- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a bez formaldehida ako će se preparati analizirati u roku od ovog broja sati – 2.

Napomena: U svim slučajevima preparate čuvajte na temperaturi između 2°C i 8°C i zaštićene od svetlosti.

OČEKIVANE VREDNOSTI

U našim laboratorijama, uzorci pune krvi 25 očigledno zdravih donora tretirani su pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati dobijeni za broj pozitivnih događaja od interesa sa ovim reagensom navedeni su u tabeli u nastavku:

Pozitivan cilj	Broj	Srednja vrednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti	25	13,51	5,57	41,25

Ove vrednosti treba da služe samo kao reprezentativne vrednosti. Svaka laboratorija treba da uspostavi sopstvene očekivane vrednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o delovanju dobijeni su pomoću prethodno opisanog postupka na manje od 24 sata starim uzorcima krvi koji su prethodno prikupljeni sterilnim epruvetama za uzorke sa EDTA solju kao antikoagulansom. Analiza se vrši u roku od 2 sata od imunobojenja.

SPECIFIČNOST

B9E9 (HRC20) klon dodeljen je CD20 tokom konferencije „5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens" (Peta HLDA konferencija o ljudskim antigenima leukocitne diferencijacije), koja je održana u Bostonu, u SAD-u, 1993 godine (Kod WS: CD20.12, Odeljak B) (11).

PRECIZNOST

Procenat pozitivnih vrednosti utvrđen je pomoću pune krvi. Svaki uzorak je analiziran 4 puta, dva puta dnevno tokom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagenasa monoklonskog antitela CD20-Pacific Blue. Merenja (% pozitivnog) su izvršena na Navios protočnom citometru. Analiza je obavljena na osnovu CLSI metoda EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procena preciznosti učinka kvantitativnih metoda merenja).

Naši kriterijumi prihvatljivosti zavise od broja pozitivnih događaja izmerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivan događaj <1.500, CV <15%
- Ako je pozitivan događaj >1.500, CV <10%

Limfociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrednost) = 945							
	Između više operatera	Između više citometara	Unutar jednog lota	Između više lotova	Između više analiziranja	Unutar jednog analiziranja	Ukupno
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TAČNOST

Tačnost testa CD20-Pacific Blue procenjena je poređenjem rezultata sa referentnim reagensom kao osnovom na kompletu uzoraka pune krvi analiziranim na Navios protočnom citometru. Odstupanje između testa i referentnog reagensa određeno je na osnovu razlike između rezultata testova. Ako je odstupanje u okviru dozvoljenog opsega greške ili p-vrednost ne ukazuje na značajnu razliku (>0,05), rezultati testova za ova dva reagensa se smatraju ekvivalentnim.

Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivan cilj	Srednja vrednost Δ	Δ % ćelijskih kriterijuma	p-vrednost	REZULTATI
Limfociti	-0,65	<3	0,059	PASS

LIMIT SLEPE PROBE I LIMIT DETEKCIJE

Izvršeno je ispitivanje u skladu s protokolom CLSI EP17-A2, „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures" (Procena sposobnosti detekcije za postupke merenja u kliničkoj laboratoriji). Limit detekcije (LoD) je najniža koncentracija analita koja se može dosledno detektovati. Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli:

Positive Target	Limit slepe probe (ćelija/µl)	Limit detekcije (ćelija/µl)
Limfociti	2	3

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti netačne rezultate ako citometar nije pravilno postavljen, ako fluorescentna curenja nisu ispravno kompenzirana ili ako regioni nisu pažljivo postavljeni.
2. Poželjno je koristiti tehniku liziranja RBC sa korakom ispiranja jer ovaj reagens nije optimizovan za tehnike liziranja „bez pranja".
3. Tačni i ponovljivi rezultati će se dobijati sve dok su korišćeni postupci u skladu sa listom sa tehničkim podacima i postupci kompatibilni sa smernicama dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugovano antitelo ovog reagensa je kalibrisano tako da ponudi najbolji odnos specifičnog i nespecifičnog signala. Prema tome, važno je u svakom testu koristiti utvrđeni odnos zapremine reagensa i zapremine uzorka.
5. U slučaju hiperleukocitoze, razredite krv u PBS-u kako biste dobili vrednost od približno 5 x 10^9 leukocita/l (12).
6. U određenim stanjima bolesti, kao što su teška bubrežna insuficijencija ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak nemoguće. U tom slučaju se pre bojenja preporučuje izoliranje mononuklearnih ćelija upotrebom gradijenta gustine (na primer, fikol) (13).
7. Kod pacijenata lečenih terapijama antihumanim monoklonskim antitelima, detekcija specifičnih ciljanih antigena može biti umanjena ili odsutna usled delimične ili potpune blokade od strane terapijskog antitela.
8. Rezultate CD20-Pacific Blue testa treba tumačiti u svetlu celokupne kliničke slike pacijenta, uključujući: simptome, kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i druge prikladne informacije.

Za primere i referentne materijale pogledati Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizovani logotip i Beckman Coulter robni i servisni žigovi koji se navode u ovom dokumentu jesu žigovi ili registrovani žigovi kompanije Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim zemljama.

Pacific Blue je registrovani žig kompanije Molecular Probes, Inc.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta/korisnika/treću stranu u Evropskoj uniji i zemljama sa identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o in vitro dijagnostičkim medicinskim sredstvima); ako je tokom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe došlo do ozbiljnog incidenta, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlašćenom predstavniku i svom nacionalnom organu.

Dokument Summary of Safety and Performance (Sažetak informacija o bezbednosti i učinku) dostupan je u EUDAMED bazi podataka: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORIJA REVIZIJA

REVIZIJA AD:	Datum izdavanja: Oktobar, 2019.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AW	Mart 2022.
Ažurirano radi usklađenosti sa smernicama za globalno obeležavanje kompanije Beckman Coulter u skladu sa zahtevima IVD-R (EU)2017/746:	
Dodati odeljci	BSI 2797 broj, Predviđeni korisnik, Klinički značaj, Koncentracija, Preciznost, Tačnost, Limit slepe probe i limit detekcije, Dodatne informacije, Istorija revizija.
Dodate informacije	Pogledati odeljke Ograničenja
Ažuriranje formulacija ili tipografije	Pogledati odeljke Postupak, Učinak, Ograničenja, Upozorenja i mere opreza, Čuvanje i stabilnost.
Uklonjeni odeljci	Primeri kliničkih primena, Reagensi, Intralaboratorijska reproducibilnost, Linearnost
Dopunjeni odeljci	Namena, GHS klasifikacija opasnosti, Dokaz propadanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AX	April 2023
Dopunjeni odeljci	Dodajte kazaški
Dopunjeni odeljci	Skladištenje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Maj 2024
Ažurirani prevodi	**Klinički značaj:**
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Jul 2024
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Ključ za simbole

Rečnik simbola je dostupan na adresi beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Specifikācijas
Specifika	CD20
Klons	B9E9 (HRC20)
Hibridoma	X63 x balb/c
Imunogēns	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Imūnglobulīns	IgG2a
Suga	Pele
Attīrīšana	Radniecības noteikšanas hromatogrāfija
Fluorohroms	Pacific Blue
Molārā attiecība	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
λ ierosme	405 nm
Izstarojuma lielākā vērtība	455 nm
Buferšķīdums	PBS pH 7,2 ar 2 mg/ml BSA un 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugētā antiviela
CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 testi; 0,5 ml, 10 µl/testā

***In vitro* diagnostikas lietošanai.**

PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

Ar fluorohromu konjugētā antiviela nodrošina tādu šūnu populāciju kvalitatīvo un neautomatizēto noteikšanu, kam ir CD20 antigēna ekspresija un kas ir cilvēka bioloģiskajos paraugos, izmantojot plūsmas citometriju (skatīt tālāk sadaļu „Paraugi").

PRINCIPS

Šī testa pamatā ir specifisku monoklonālu antivielu spēja saistīties ar leikocītu izdalītām antigēnu determinantēm.

Leikocītu specifiskā iekrāsošana tiek veikta, inkubējot paraugu ar IOTest reaģentu. Pēc tam eritrocīti tiek atdalīti lizēšanas procesā, un leikocīti, ko šis process neietekmē, tiek analizēti, izmantojot plūsmas citometriju.

Plūsmas citometrs mēra gaismas difūziju un šūnu fluorescenci. Tādēļ ir iespējama interesējošās populācijas ierobežošana elektroniskajā logā, kas definēts histogrammā, kas korelē ar gaismas ortogonālo difūziju (sānu izkliede jeb SS) un šaurleņķa gaismas difūziju (priekšējā izkliede jeb FS). Kā papildu metodes sinhronizācijas procesā iespējams izmantot citas histogrammas, kurās iespējams kombinēt divus dažādus citometrā pieejamos parametrus atkarībā no lietotāja izvēlētā izmantojuma.

Tiek analizēta atdalīto šūnu fluorescence, lai atšķirtu pozitīvi iekrāsotos notikumus no neiekrāsotajiem. Rezultāti tiek izteikti kā procentuālais lielums no pozitīviem notikumiem attiecībā pret visiem notikumiem, kas iegūti selekcijā.

PAREDZĒTAIS LIETOTĀJS

Šis produkts ir paredzēts profesionālai lietošanai laboratorijā.

KLĪNISKAIS NOZĪMĪGUMS

CD20-Pacific Blue ir CD20 antiviela, ko izmanto, lai ar plūsmas citometriju noteiktu un raksturotu šūnas, kas ekspresē CD20 antigēnu. Ar vienu pašu šo izstrādājumu nevar iegūt nekādu diagnostisku secinājumu, un tas nav tam paredzēts.

Izmantojot kopā ar citiem marķieriem, šo izstrādājumu var lietot vienai vai vairākām tālāk norādītajām funkcijām.

- Lai palīdzētu veikt diferenciāldiagnostiku pacientiem ar hematoloģiskām patoloģijām, kuriem, iespējams, ir asinsrades neoplazma, un lai kontrolētu pacientus ar zināmu asinsrades neoplazmu.
- Lai palīdzētu noteikt prognozi pacientiem ar asinsrades neoplazmu.

Skatiet tālāk sniegtās atsauces.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PARAUGI

Venozās asinis jāņem, izmantojot sterilas mēģenes, kurās kā antikoagulants ir izmantots EDTA sāls.

Paraugi ir jāuzglabā istabas temperatūrā (18–25 °C), un tos nedrīkst sakratīt. Pirms testa parauga ņemšanas ir jāveic paraugu homogenizācija, viegli saskalojot paraugus.

Paraugu analīze ir jāveic 24 stundu laikā pēc vēnas punkcijas.

KONCENTRĀCIJA

Konkrētai partijai atbilstošo analīzes sertifikātu skatiet vietnē www.beckman.com.

BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

1. Neizmantojiet reaģentu pēc derīguma termiņa beigām.
2. Nedrīkst sasaldēt.
3. Pirms izmantošanas ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai (18–25 °C).
4. Minimizējiet ekspozīciju gaismas iedarbībai.
5. Izvairieties no reaģentu bakteriālas kontaminācijas, jo iespējami viltus rezultāti.
6. Strādājot ar antivielu šķīdumiem, kuru sastāvā ir nātrija azīds (NaN_3), jāievēro piesardzība. Neizmantojiet iekšķīgi un nepieļaujiet saskari ar ādu, gļotādu un acīm.

   Turklāt skābā vidē nātrija azīds var radīt potenciāli bīstamo hidrazoīdskābi. Ja to nepieciešams izmest, reaģentu ieteicams šķīdināt lielā daudzumā ūdens un izliet to kanalizācijas sistēmā, lai novērstu nātrija azīda uzkrāšanos metāla caurulēs un novērstu sprādziena risku.

7. Visi asins paraugi ir jāuzskata par potenciāli infekcioziem, un ar tiem jārīkojas, ievērojot piesardzību (respektīvi, jāvalkā aizsargcimdi, aizsargtērpi un brilles).
8. Nekādā gadījumā neizmantojiet muti, lai darbotos ar pipeti. Paraugi nekādā gadījumā nedrīkst saskarties ar ādu, gļotādu un acīm.
9. Darbā izmantotās asiņu mēģenes un vienreizlietojamie materiāli ir jāizmet ad hoc konteineros, kas paredzēti sadedzināšanai.
10. Ir jāveic reaģentu un atkritumu utilizācija atbilstoši vietējām prasībām.

ĶĪMISKO VIELU KLASIFICĒŠANAS UN MARĶĒŠANAS VISPĀRĒJI SASKAŅOTĀS SISTĒMAS BĪSTAMĪBAS KLASIFIKĀCIJA

Nav klasificēts kā bīstams

SDS Drošības datu lapa ir pieejama vietnē beckmancoulter.com/techdocs

GLABĀŠANA UN STABILITĀTE

Reaģents ir jāuzglabā 2–8 °C temperatūrā un jāsargā no gaismas pirms un pēc flakona atvēršanas.

Aizvērta flakona glabāšanas laiks saskaņā ar stabilitātes pētījumu: 1095 dienas.

Atvērta flakona stabilitāte: reaģents ir stabils 180 dienas.

SADALĪŠANĀS PAZĪMES

Jebkuras reaģentu pazīmju izmaiņas var norādīt, ka reaģents sadalās un to nedrīkst izmantot.

Lai iegūtu papildu informāciju vai arī ja saņemtais izstrādājums ir bojāts, zvaniet Beckman Coulter klientu servisam pa tālruni 800-742-2345 (ASV vai Kanāda) vai sazinieties ar vietējo Beckman Coulter pārstāvi.

SATURS

Nātrija azīda konservants var izveidot sprādzienbīstamus savienojumus metāla notekcaurulēs. Skatīt NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (NIOSH biļetens: Azīdu sprādzienbīstamība) (16.8.76.).
Lai nepieļautu iespējamo azīda savienojumu uzkrāšanos, pēc neatšķaidītā reaģenta izmešanas izskalojiet kanalizācijas caurules ar ūdeni. Nātrija azīda izmešana ir jāveic saskaņā ar atbilstošajiem vietējiem noteikumiem.

NEPIECIEŠAMIE MATERIĀLI, KAS NEIETILPST KOMPLEKTĀ

- Paraugu ņemšanai nepieciešamās mēģenes un materiāli.
- Automātiskās pipetes ar vienreizlietojamiem uzgaļiem, kas paredzētas 10, 100 un 500 µl.
- Plastmasas hemolīzes mēģenes.
- Eritrocītu lizēšanas reaģents ar mazgāšanas fāzi pēc lizēšanas. Piemērs: VersaLyse (ats. A09777).
- Leikocītu fiksācijas reaģents. Piemērs: IOTest 3 fiksatīvais šķīdums (ats. A07800).
- Buferšķīdums (PBS: 0,01 M nātrija fosfāta; 0,145 M nātrija hlorīda; pH 7,2).
- Centrifugējiet.
- Automātisks maisītājs (samaisīšanas tipa).
- Plūsmas citometrs.

PROCEDŪRA AR REAĢENTU VERSALYSE

1. Pievienojiet katrai testa mēģenei atbilstošu daudzumu jeb 10 µl specifiskās IOTest konjugētās antivielas.
2. Pievienojiet 100 µl testa parauga katrai mēģenei. Saudzīgi samaisiet mēģenes.
3. Inkubējiet 15–20 minūtes istabas temperatūrā (18–25 °C), sargājot no gaismas.
4. Pēc tam veiciet eritrocītu lizēšanu. Skatiet VersaLyse (ats. A09777) lietošanas instrukciju, un ir vēlams izmantot procedūru ar nosaukumu „ar vienlaicīgu fiksāciju", kas tiek veikta, pievienojot 1 ml ekstemporāli izgatavota „Fix-and-Lyse" maisījuma. Nekavējoties samaisiet uz vienu sekundi un inkubējiet mēģeni 10 minūtes istabas temperatūrā, sargājot to no gaismas iedarbības.
5. Centrifugējiet 5 minūtes istabas temperatūrā, izmantojot 150 x g.
6. Aspirējot noņemiet virsējo slāni.
7. Atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu ar 3 ml PBS.
8. Atkārtojiet 5. darbību.
9. Aspirējot noņemiet virsējo slāni un atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu, izmantojot:

- 0,5 ml vai 1 ml PBS ar 0,1 % formaldehīda, ja preparātus ir paredzēts uzglabāt mazāk nekā 24 stundas. (0,1 % formaldehīda PBS var iegūt, atšķaidot 12,5 µl IOTest 3 fiksācijas šķīduma (ats. A07800) 10X koncentrācijā ar 1 ml PBS).
- 0,5 ml vai 1 ml PBS bez formaldehīda, ja ir paredzēts analizēt sagataves 2 stundu laikā.

Piezīme. Sagatavotos maisījums vienmēr uzglabājiet 2–8 °C temperatūrā un sargājiet no gaismas.

PAREDZAMĀS VĒRTĪBAS

Mūsu laboratorijās tika apstrādāti 25 acīmredzami veselu donoru pilnasins paraugi, izmantojot iepriekš aprakstīto reaģentu. Ar šo reaģentu iegūtie interesējošo pozitīvo notikumu rezultāti skaitliskā veidā ir sniegti tālāk tabulā.

Pozitīvais mērķis	Numurs	Aritmētiskais vidējais (%)	SN	Variācijas koeficients (%)
Limfocīti	25	13,51	5,57	41,25

Šīm vērtībām ir tikai raksturojošs nolūks. Katrai laboratorijai jānosaka savas paredzamās vērtības, kas iegūtas no veseliem vietējās populācijas donoriem.

VEIKTSPĒJA

Veiktspējas dati tiek iegūti, izmantojot iepriekš aprakstīto procedūru mazāk nekā 24 stundu veciem asins paraugiem, kas iepriekš paņemti sterilās mēģenēs ar EDTA sāli kā antikoagulantu. Analīze tiek veikta 2 stundu laikā pēc imūnkrāsošanas metodes izmantošanas.

SPECIFIKA

B9E9 (HRC20) klons tika piešķirts CD20 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5. HLDA seminārā par cilvēku leikocītu diferenciācijas antigēniem), kas notika Bostonā, ASV, 1993. gadā (WS kods: CD20.12, Section B) (11).

PRECIZITĀTE

Procentuāli pozitīvās vērtības tika noteiktas, izmantojot pilnasinis. Katru paraugu analizēja 4 reizes: divreiz dienā 1 dienu 2 instrumentos, izmantojot 2 partijas CD20-Pacific Blue monoklonālu antivielu reaģentu. Mērījumus (% pozitīvs) veica Navios plūsmas citometrā. Analīzi veica, pamatojoties uz CLSI metodi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatīvo mērīšanas metožu precizitātes veiktspējas novērtēšana).

Mūsu pieņemšanas kritēriji ir atkarīgi no katrai populācijai noteikto pozitīvo notikumu skaita.

- Ja pozitīvs notikums < 1500, variācijas koeficients < 15 %
- Ja pozitīvs notikums > 1500, variācijas koeficients < 10 %

Limfocīti							
Pozitīvo notikumu skaits (aritmētiskais vidējais) = 945							
	Starp operatoriem	Starp citometriem	Partijā	Starp partijām	Starp analīzēm	Analīzē	Kopā
Variācijas koeficients (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
REZULTĀTI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRECIZITĀTE

CD20-Pacific Blue precizitāti novērtēja, pilnasins paraugu kopas, kas analizēti Navios plūsmas citometrā, rezultātus salīdzinot ar atsauces reaģentu kā predikātu. Novirzi starp testa un atsauces reaģentu noteica, pamatojoties uz testu rezultātu atšķirību. Ja novirze atbilst pieļaujamajam kļūdas diapazonam vai p vērtība neliecina par nozīmīgu atšķirību (> 0,05), tad abu reaģentu testu rezultāti uzskatāmi par līdzvērtīgiem.

Iegūtie rezultāti ir apkopoti nākamajā tabulā.

Donoru skaits = 25				
Pozitīvais mērķis	Aritmētiskais vidējais Δ	Δ % šūnu kritēriji	p vērtība	REZULTĀTI
Limfocīti	-0,65	<3	0,059	PASS

TUKŠO PARAUGU ROBEŽVĒRTĪBA UN NOTEIKŠANAS ROBEŽVERTĪBA

Pētījums tika veikts saskaņā ar CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klīniskās laboratorijas mērījumu procedūru noteikšanas spēju izvērtējums). Noteikšanas robežvērtība (NR) ir zemākā analīta koncentrācija, ko iespējams konsekventi noteikt. Iegūtie rezultāti ir apkopoti tālāk tabulā.

Positive Target	Tukšo paraugu robežvērtība (šūnas/µl)	Noteikšanas robežvērtība (šūnas/µl)
Limfocīti	2	3

IEROBEŽOJUMI

1. Ja citometrs nav novietots precīzi līdzeni, ja nav pareizi kompensētas fluorescences noplūdes un ja reģioni nav uzmanīgi novietoti, plūsmas citometrija var radīt viltus rezultātus.
2. Ir ieteicams izmantot RBC lizēšanas paņēmienu ar mazgāšanas darbību, jo šis reaģents nav optimizēts izmantošanai lizēšanas paņēmienā „bez mazgāšanas".
3. Iegūtie rezultāti ir precīzi un reproducējami, ja visas izmantotās procedūras tiek izpildītas atbilstoši tehniskajai lietošanas instrukcijai un ir saskaņā ar labu laboratorijas praksi.
4. Šī reaģenta konjugētā antiviela ir kalibrēta tā, lai nodrošinātu labāko specifiska signāla/nespecifiska signāla attiecību. Tāpēc ir ļoti svarīgi ievērot reaģenta tilpuma/parauga tilpuma attiecību katrā testā.
5. Hiperleikocitozes gadījumā atšķaidiet asinis ar PBS, lai iegūtā vērtība būtu apmēram 5 x 10^9 leikocīti/l (12).
6. Dažos slimību stāvokļos, piemēram, izteiktas nieru mazspējas vai hemoglobinopātijas gadījumā, eritrocītu lizēšana var būt lēna, nepilnīga vai pat neiespējama. Šajā gadījumā pirms iekrāsošanas ir ieteicams izolēt mononukleārās šūnas, izmantojot blīvuma gradientu (piemēram, Ficoll) (13).
7. Pacientiem, ko ārstē ar anti-cilvēka monoklonālas antivielas līdzekļiem, specifisku mērķa antigēnu noteikšana var būt pasliktināta vai tās var nebūt, jo to daļēji vai pilnībā bloķē terapeitiskā antiviela.
8. CD20-Pacific Blue rezultāti jāinterpretē, ņemot vērā pacienta kopējo klīnisko prezentāciju, tajā skaitā simptomus, slimības vēsturi, papildu testu rādītājus un citu atbilstošu informāciju.

Pielikumā skatiet piemērus un atsauces.

PREČU ZĪMES

Beckman Coulter, stilizētais logotips un Beckman Coulter preču un pakalpojumu zīmes, kas minētas šeit, ir Beckman Coulter, Inc. preču zīmes vai reģistrētas preču zīmes Amerikas Savienotajās Valstīs un citās valstīs.

Pacific Blue ir Molecular Probes, Inc. preču zīme.

PAPILDINFORMĀCIJA

Attiecībā uz pacientiem/lietotājiem/trešajām personām Eiropas Savienībā vai valstīs ar identisku regulatīvo režīmu (Regula (ES) 2017/746 par in vitro diagnostikas medicīniskām ierīcēm); ja ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā rodas nopietns negadījums, informējiet par to ražotāju un/vai tā pilnvaroto pārstāvi, kā arī valsts iestādi.

Summary of Safety and Performance (Drošuma un veiktspējas kopsavilkums) ir pieejams EUDAMED datubāzē: ec.europa.eu/tools/eudamed.

PĀRSKATĪŠANAS VĒSTURE

AD VERSIJA:	Laidiena datums: 2019. gada oktobris

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AW	2022. gada marts
Atjauninājumi atbilst Beckman Coulter vispārējai marķēšanas politikai un IVD-R (ES)2017/746 prasībām:	
Pievienotas iedaļas	BSI 2797 numurs, Paredzētais lietotājs, Klīniskais nozīmīgums, Koncentrācija, Precizitāte, Precizitāte, Tukšo paraugu robežvērtība un noteikšanas robežvērtība, Papildinformācija, Pārskatīšanas vēsture.
Pievienota informācija	Skatīt iedaļas Ierobežojumi.
Formulējuma vai tipogrāfiski atjauninājumi	Skatīt iedaļas Procedūra, Veiktspēja, Ierobežojumi, Brīdinājumi un piesardzības pasākumi, Glabāšana un Stabilitāte.
Izņemtās iedaļas	Klīniskā lietojuma piemērs, reaģenti, reproducējamība laboratorijā, linearitāte.
Atjauninātās sadaļas	Paredzētā lietošana, Ķīmisko vielu klasificēšanas un marķēšanas vispārēji saskaņotās sistēmas bīstamības klasifikācija, Sadalīšanās pazīmes, Procedūra, Pielikums.

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AX	Aprīlis 2023
Atjauninātās sadaļas	Pievienot kazahu valodu
Atjauninātās sadaļas	Glabāšana un stabilitāte

Pārskatītā versija	AY
Pārskatītā izdevuma datums	Maijs 2024
Atjauninātie tulkojumi	**Klīniskais nozīmīgums:**
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Pārskatītā versija	AZ
Pārskatītā izdevuma datums	Jūlijs 2024
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Simbolu skaidrojumi

Simbolu glosārijs ir pieejams vietnē beckman.com/techdocs (dokumenta numurs B60062)

	Специфікації
Специфічність	CD20
Клон	B9E9 (HRC20)
Гібридома	X63 x balb/c
Імуноген	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Імуноглобулін	IgG2a
Вид	Миша
Очищення	Афінна хроматографія
Флуорохром	Pacific Blue
Молярне співвідношення	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
λ-збудження	405 нм
Пік випромінювання	455 нм
Буфер	Розчин ФСБ pH 7,2 плюс бичачий сироватковий альбумін (БСА) 2 мг/мл та 0,1% NaN_3

Кон'юговане антитіло IOTest CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 тестів; 0,5 мл, 10 мкл/тест

Для діагностики *in vitro*.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Ці антитіла, кон'юговані з флуорохромом, забезпечують якісну та неавтоматизовану ідентифікацію популяцій клітин, що експресують антиген CD20, присутніх у біологічних пробах людини, за допомогою проточної цитометрії (див. розділ «Проби» нижче).

ПРИНЦИП

Цей тест базується на здатності специфічних моноклональних антитіл зв'язуватися з антигенними детермінантами, які експресуються лейкоцитами.

Специфічне забарвлення лейкоцитів здійснюється через інкубацію проби з реагентом IOTest. Еритроцити далі видаляють за допомогою лізису, а лейкоцити, на які не впливає цей процес, досліджують методом проточної цитометрії.

Проточний цитометр вимірює розсіювання світла та флуоресценцію клітин. Це робить можливим розмежування досліджуваної популяції всередині електронного вікна, що визначається на гістограмі, яка співвідносить ортогональне розсіювання світла (бічне розсіювання або Side Scatter — SS) і вузькокутове розсіювання світла (пряме розсіювання або Forward Scatter — FS). Інші гістограми, що поєднують два різні параметри, доступні на цитометрі, можна використовувати для допомоги на етапі гейтингу залежно від програми, вибраної користувачем.

Флуоресценція обмеженої популяції клітин аналізується, щоб розрізнити події з позитивно забарвленими клітинами й незабарвленими. Результати виражаються як відсоток позитивних подій відносно всіх подій, зареєстрованих за допомогою гейтингу.

ПЕРЕДБАЧУВАНИЙ КОРИСТУВАЧ

Цей продукт призначений для професійного використання в лабораторії.

КЛІНІЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ

CD20-Pacific Blue — це антитіло CD20, яке використовується для ідентифікації та характеристики клітин, що експресують антиген CD20, методом проточної цитометрії. Цей виріб за ізольованого використання не може застосовуватись для генерації жодних діагностичних висновків, він не призначений для цього.

Під час використання разом з іншими маркерами цей продукт можна використовувати в одному або декількох з нижченаведених застосувань.

- Як допоміжний засіб під час проведення диференціальної діагностики в пацієнтів з відхиленнями в результатах гематологічних досліджень із підозрою на наявність гематопоетичного новоутворення, а також для моніторингу пацієнтів з відомим гематопоетичним новоутворенням.
- У якості допоміжного засобу при прогнозуванні подальшого перебігу хвороби у пацієнтів з гематопоетичним новоутворенням.

Див. такі посилання:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ПРОБИ

Венозну кров потрібно брати в стерильні пробірки, що містять ангикоагулянт — сіль ЕДТА.

Проби слід зберігати за кімнатної температури (18–25°C), і їх не слід струшувати. Перш ніж узяти пробу для тестування, проби потрібно гомогенізувати за допомогою обережного перемішування.

Проби потрібно проаналізувати не пізніше ніж через 24 години після венепункції.

КОНЦЕНТРАЦІЯ

Див. сертифікат аналізу для серії на вебсайті www.beckman.com.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.
2. Не заморожуйте.
3. Доведіть до кімнатної температури (18–25°C) перед використанням.
4. Зведіть до мінімуму вплив світла.
5. Уникайте мікробної контамінації реагентів, інакше можуть бути отримані помилкові результати.
6. Розчини антитіл, які містять азид натрію (NaN_3), треба обробляти обережно. Не приймайте внутрішньо й уникайте будь-якого контакту зі шкірою, слизовими оболонками та очима.

Крім того, у кислому середовищі азид натрію може утворити потенційно небезпечну азотистоводневу кислоту. Якщо його потрібно утилізувати, рекомендується розвести реагент у великій кількості води перед зливанням у водостічну систему, щоб уникнути накопичення азиду натрію на поверхні металевих труб і запобігти небезпеці вибуху.

7. Усі проби крові слід розглядати як потенційно інфекційні та поводитися з ними обережно (зокрема, використовуючи захисні рукавички, халати й окуляри).
8. У жодному разі не піпетуйте ротом та уникайте потрапляння проб на шкіру, слизові оболонки та в очі.
9. Пробірки для крові та одноразові матеріали, які використовуються для оброблення, слід викидати в спеціальні контейнери, вміст яких призначений для спалювання.
10. Реагенти та відходи потрібно утилізувати відповідно до місцевих вимог.

КЛАСИФІКАЦІЯ НЕБЕЗПЕКИ ЗА СИСТЕМОЮ GHS

Не класифікуються як небезпечні

SDS Паспорт безпеки доступний на сторінці beckmancoulter.com/techdocs

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Цей реагент потрібно зберігати за температури від 2 до 8°C у захищеному від світла місці, як до, так і після відкриття флакона.

Термін придатності вмісту закритого флакону відповідно до дослідження стабільності: 1095 день.

Стабільність після відкриття флакона: реагент стабільний 180 діб.

ОЗНАКИ ПСУВАННЯ

Будь-яка зміна зовнішнього вигляду реагентів може вказувати на псування, і реагент не слід використовувати.

Щоб отримати додаткову інформацію або повідомити про отримання пошкодженого продукту, зателефонуйте до Служби обслуговування клієнтів Beckman Coulter за номером 800-742-2345 (США або Канада) чи зверніться до місцевого представника компанії Beckman Coulter.

ЗМІСТ

Консервант азид натрію може утворювати вибухонебезпечні сполуки в металевих зливних трубопроводах. Див. Бюлетень Національного інституту з охорони праці та промислової гігієни (NIOSH) Explosive Azide Hazard (Вибухонебезпечні азиди) (16.8.76).
Щоб уникнути можливого утворення сполук азиду, промийте зливні труби водою відразу після утилізації нерозведеного реагенту. Реагенти, що містять азид натрію, треба утилізувати з дотриманням відповідних місцевих норм.

ПОТРІБНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ У КОМПЛЕКТ

- Пробірки для проб і матеріали, потрібні для забору проб.
- Автоматичні піпетки з одноразовими наконечниками на 10, 100 і 500 мкл.
- Пластикові пробірки для гемолізу.
- Реагент для лізису еритроцитів з етапом промивання після лізису. Наприклад: VersaLyse (Ref. A09777).
- Реагент для фіксації лейкоцитів. Наприклад: розчин для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800).
- Буфер (ФСБ: 0,01 моль фосфату натрію; 0,145 моль хлориду натрію; pH 7,2).
- Центрифугування.
- Автоматичний змішувач (типу вортекс).
- Проточний цитометр.

ПРОЦЕДУРА З РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

1. Додайте відповідний об'єм у кількості 10 мкл специфічних кон'югованих антитіл IOTest у кожну тестову пробірку.
2. Додайте 100 мкл проби для тестування в кожну пробірку. Обережно змішайте вміст пробірок вихровим способом.
3. Витримайте протягом 15–20 хвилин за кімнатної температури (18–25°C) у захищеному від світла місці.
4. Потім виконують лізис еритроцитів. Перегляньте вкладний листок VersaLyse (Ref. A09777) і за можливості дотримуйтеся процедури з одночасною фіксацією, яка полягає в додаванні 1 мл суміші Fix-and-Lyse, приготованої безпосередньо перед використанням. Відразу змішайте вихровим способом упродовж однієї секунди й витримайте протягом 10 хвилин за кімнатної температури в захищеному від світла місці.
5. Центрифугуйте за кімнатної температури протягом 5 хвилин зі швидкістю 150 g.
6. Видаліть надосадову рідину аспіратором.
7. Ресуспендуйте осад клітин у 3 мл ФСБ.
8. Повторіть крок 5.
9. Видаліть надосадову рідину аспіратором і ресуспендуйте осад клітин, використовуючи наведене далі.

- 0,5 мл або 1 мл ФСБ плюс 0,1% формальдегіду, якщо препарати передбачається зберігати менше ніж 24 годин. (Розчин ФСБ, що містить 0,1% формальдегіду, можна отримати за допомогою розведення 12,5 мкл розчину для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800) за його 10-кратної концентрації в 1 мл ФСБ).
- 0,5 мл або 1 мл ФСБ без формальдегіду, якщо препарати будуть аналізувати впродовж наступних 2 годин.

Примітка. У всіх випадках препарати слід зберігати в захищеному від світла місці за температури 2–8°C.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

У наших лабораторіях проби цільної крові 25 практично здорових донорів обробляли з використанням реагенту, описаного вище. Отримані результати підрахунку позитивних подій, які досліджуються, з використанням цього реагенту наведено в таблиці нижче:

Цільова позитивна популяція	Число	Середнє значення (%)	СВ	КВ (%)
Лімфоцити	25	13,51	5,57	41,25

Ці значення призначені лише для репрезентативних цілей. Кожна лабораторія має встановити власний діапазон очікуваних значень серед місцевої популяції здорових донорів.

ЕФЕКТИВНІСТЬ

Робочі показники ефективності отримуються з використанням процедури, описаної вище, на пробах крові, які були відібрані в стерильні пробірки із сіллю ЕДТА як антикоагулянтом, а також зберігалися менше ніж 24 години. Аналіз проводиться впродовж 2 годин після імунного фарбування.

СПЕЦИФІЧНІСТЬ

Клон (HRC20) B9E9 був віднесений до CD20 під час п'ятого HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Семінару HLDA з питань антигенів для диференціації лейкоцитів людини), що проходив у Бостоні, США, в 1993 році (WS Code: CD20.12, Section B) (11).

ПРЕЦИЗІЙНІСТЬ

Процент позитивних значень визначали за допомогою цільної крові. Кожну пробу обробляли 4 рази, двічі на добу впродовж 1 доби на 2 приладах, використовуючи 2 серії реагентів моноклональних антитіл CD20-Pacific Blue. Вимірювання (% позитивних значень) виконували на проточному цитометрі Navios. Аналіз проводили на основі методу CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оцінювання прецизійності кількісних методів вимірювання).

Наші критерії прийнятності залежать від кількості позитивних подій, виміряних для кожної популяції.

- Якщо кількість позитивних подій < 1500, КВ < 15%
- Якщо кількість позитивних подій > 1500, КВ < 10%

Лімфоцити							
Кількість позитивних подій (середнє значення) = 945							
	Між операторами	Між цитометрами	У межах однієї серії	Між серіями	Між серіями вимірювань	У межах однієї серії вимірювань	Усього
КВ (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
РЕЗУЛЬТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНІСТЬ

Точність CD20-Pacific Blue оцінювали через порівняння результатів з еталонним реагентом як контролем якості для набору проб цільної крові на проточному цитометрі Navios. Систематичну помилку між тестовим та еталонним реагентами визначали на основі різниці між результатами тесту. Якщо систематична помилка знаходиться в межах діапазону допустимої похибки або p-значення вказує на відсутність значущої різниці (> 0,05), тоді результати тесту для двох реагентів вважаються еквівалентними.

Отримані результати підсумовано в таблиці, наведеній нижче.

Кількість донорів = 25				
Цільова позитивна популяція	Середня Δ	Критерії Δ % клітин	p-значення	РЕЗУЛЬТАТИ
Лімфоцити	-0,65	<3	0,059	PASS

МЕЖА ХОЛОСТОЇ ПРОБИ Й МЕЖА ВИЯВЛЕННЯ

Дослідження проводилося відповідно до рекомендацій CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оцінювання можливості виявлення для методик клінічних лабораторних вимірювань). Межа виявлення (LOD) — це найнижча концентрація аналіту, яку стабільно можна виявити. Отримані результати підсумовано в наведеній нижче таблиці.

Positive Target	Межа холостої проби (клітин/мкл)	Межа виявлення (клітин/мкл)
Лімфоцити	2	3

ОБМЕЖЕННЯ

1. Результати проточної цитометрії можуть бути помилковими, якщо вказане нижче не було виконано належним чином: вирівняно цитометр, скомпенсовано витік флуоресценції, здійснено позиціонування ділянок.
2. Бажано використовувати метод лізису еритроцитів з етапом промивання, оскільки цей реагент не оптимізовано для методів лізису «без промивання».
3. Буде отримано точні й відтворювані результати, якщо процедури застосовуються відповідно до технічної інструкції, що додається, і стандартів належної лабораторної практики.
4. Кон'юговані антитіла цього реагенту відкалібровано таким чином, щоб забезпечити краще співвідношення специфічного сигналу та неспецифічного сигналу. Тому важливо дотримуватися співвідношення об'єму реагенту та об'єму проби в кожному тесті.
5. У разі гіперлейкоцитозу кров слід розводити у ФСБ так, щоб отримати концентрацію приблизно 5×10^9 лейкоцитів/л (12).
6. У разі деяких захворювань або станів, як-от тяжка ниркова недостатність або гемоглобінопатії, лізис еритроцитів може бути повільним, неповним або навіть неможливим. У цьому разі рекомендується виділяти мононуклеарні клітини за градієнтом щільності (наприклад, з використанням фіколу) перед фарбуванням (13).

7. У пацієнтів, які отримують лікування антилюдськими моноклональними антитілами, виявлення специфічних цільових антигенів може бути зниженим або відсутнім через часткове або повне блокування терапевтичним антитілом.
8. Результати CD20-Pacific Blue слід інтерпретувати у світлі загальної клінічної картини пацієнта, включно із симптомами, клінічним анамнезом, даними додаткових тестів та іншою відповідною інформацією.

Див. приклади й посилання в додатку.

ТОРГОВЕЛЬНІ МАРКИ

Beckman Coulter, стилізований логотип, товарні знаки й сервісні марки Beckman Coulter, вказані тут, є торговельними марками або зареєстрованими торговельними марками компанії Beckman Coulter, Inc. у Сполучених Штатах Америки й інших країнах.

Pacific Blue є торговельною маркою компанії Molecular Probes, Inc.

ДОДАТКОВА ІНФОРМАЦІЯ

Для пацієнта / користувача / третьої сторони в Європейському Союзі та в країнах з ідентичною системою нормативного регулювання (Регламент 2017/746/ЄС про медичні вироби для діагностики in vitro); якщо під час використання цього пристрою або в результаті його використання стався серйозний інцидент, повідомте про це виробнику й (або) його уповноваженому представнику та місцевому національному органу.

The Summary of Safety and Performance (Огляд безпеки та основних характеристик) доступний у базі даних EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ІСТОРІЯ ЗМІН

РЕДАКЦІЯ AD	Дата випуску: Жовтень 2019 р.

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AW	Березень 2022 р.
Оновлення мають відповідати Глобальній політиці щодо маркування компанії Beckman Coulter і вимогам IVD-R (ЄС)2017/746:	
Додані розділи	«Номер BSI 2797», «Цільовий користувач», «Клінічна значущість», «Концентрація», «Прецизійність», «Точність», «Межа холостої проби й межа виявлення», «Додаткова інформація», «Історія змін».
Додана інформація	Див. розділ «Обмеження»
Оновлення формулювання або типографічні оновлення	Див. розділи «Процедура», «Робочі показники», «Обмеження», «Попередження та застереження», «Зберігання та стабільність».
Видалені розділи	«Приклад клінічного застосування», «Реагенти», «Міжлабораторна відтворюваність», «Лінійність»
Оновлені розділи	«Призначення», «Класифікація небезпек GHS», «Ознаки погіршення характеристик», «Процедура», «Додаток».

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AX	Квітень 2023
Оновлені розділи	Додано казахську мову
Оновлені розділи	Зберігання й стабільність

Переглянута версія	AY
Дата перегляду	Травень 2024
Оновлені переклади	**Клінічна значущість:**
Оновлені розділи	Історія змін

Переглянута версія	AZ
Дата перегляду	Липень 2024
Оновлені розділи	Історія змін

Список символів

Глосарій символів доступний на сайті beckman.com/techdocs (документ № B60062)

	Especificações
Especificidade	CD20
Clone	B9E9 (HRC20)
Hibridoma	X63 x balb/c
Imunógeno	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Imunoglobulina	IgG2a
Espécie	Camundongo
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	Pacific Blue
Razão molar	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
λ de excitação	405 nm
Pico de emissão	455 nm
Tampão	PBS com pH de 7,2 mais 2 mg/mL de BSA e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 testes; 0.5 mL, 10 µL/teste

Para uso em diagnóstico *in vitro.*

USO PREVISTO

Esse anticorpo conjugado com fluorocromo permite a identificação qualitativa e não automatizada das populações de células que expressam o antígeno CD20 presente em amostras biológicas humanas utilizando a citometria de fluxo (consulte a seção “Amostras” a seguir).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade que os anticorpos monoclonais específicos têm de se ligarem aos determinantes antigênicos expressos por leucócitos.

A coloração específica de leucócitos é realizada incubando-se a amostra com o reagente IOTest. As hemácias são então removidas por lise e os leucócitos, que não são afetados por esse processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citômetro de fluxo mede a difusão da luz e a fluorescência das células. Ele possibilita a delimitação da população de interesse na janela eletrônica definida por um histograma, que correlaciona a difusão ortogonal da luz (dispersão lateral ou SS) e a difusão da luz em ângulo estreito (dispersão frontal ou FS). Outros histogramas que combinam dois dos diferentes parâmetros disponíveis no citômetro podem ser utilizados como auxílio no estágio de delimitação, dependendo da aplicação escolhida pelo usuário.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são expressos como uma porcentagem dos eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos pela delimitação.

USUÁRIO PREVISTO

Este produto destina-se ao uso laboratorial profissional.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD20-Pacific Blue é um anticorpo para CD20 usado para identificar e caracterizar, por citometria de fluxo, as células que expressam o antígeno CD20. Este produto por si só não pode e não se destina a originar qualquer conclusão diagnóstica.

Quando usado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser usado com uma ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com anormalidades hematológicas com suspeita de terem neoplasia hematopoiética e para monitorar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.
- Para auxiliar no prognóstico de pacientes que possuem neoplasia hematopoiética.

Consulte as referências a seguir:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

AMOSTRAS

Sangue venoso deve ser coletado usando tubos estéreis contendo um sal de EDTA como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas em temperatura ambiente (18-25°C) e não devem ser agitadas. A amostra deve ser homogeneizada por agitação suave antes que a amostra para teste seja retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a coleta.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não use o reagente após o prazo de validade.
2. Não congele.
3. Deixe atingir a temperatura ambiente antes de usar (18-25°C).
4. Minimize a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, pois isso pode gerar falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos contendo azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não utilize internamente e evite o contato com a pele, mucosas e olhos.

Além disso, em um meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazoico potencialmente perigoso. Se precisar descartar essa substância, recomenda-se que o reagente seja diluído em um grande volume de água antes de despejá-lo no sistema de drenagem para evitar o acúmulo de azida sódica nos canos de metal e o risco de explosão.

7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas como potencialmente infecciosas e devem ser manipuladas com cuidado (em particular: uso de luvas, jalecos e óculos de proteção).
8. Nunca coloque a pipeta na boca e evite qualquer contato das amostras com a pele, mucosas e olhos.
9. Os tubos de sangue e o material descartável utilizado para manuseio deve ser descartado em recipientes ad hoc destinados à incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO DO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Folha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido entre 2 e 8°C e protegido da luz, antes e depois do frasco ter sido aberto.

Validade do frasco fechado de acordo com o estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente é estável por 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DETERIORAÇÃO

Qualquer alteração no aspecto físico dos reagentes poderá indicar deterioração e o reagente não deverá ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, entre em contato com o serviço de atendimento ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou entre em contato com o representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em canos de escoamento metálicos. Consulte o Boletim do NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health [Instituto de segurança e saúde ocupacional dos EUA]): Explosive Azide Hazard (Perigos de explosão de azida) (16/8/76).
Para evitar o possível acúmulo de compostos de azida, enxágue os canos de escoamento com água após o descarte do reagente não diluído. O descarte da azida sódica deve ser efetuado de acordo com as normas locais apropriadas.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostra e material necessário para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 10, 100 e 500 µL.
- Tubos plásticos de hemólise.
- Reagente de lise de hemácias com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: Reagente VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: Solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Tampão (PBS: fosfato de sódio a 0,01 M; cloreto de sódio a 0,145 M; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citômetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM O REAGENTE VERSALYSE

1. Adicione o volume apropriado de 10 µL de anticorpo conjugado específico IOTest a cada tubo de teste.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos em temperatura ambiente (18-25°C), protegido da luz.
4. Em seguida, faça a lise das hemácias. Consulte o folheto da VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento chamado “with concomitant fixation (com fixação concomitante)”, que consiste em adicionar 1 mL da mistura de fixação e lise preparada extemporaneamente. Agite em vórtex imediatamente durante um segundo e incube durante 10 minutos em temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue por 5 minutos a 150 x g em temperatura ambiente.
6. Retire o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita a etapa 5.
9. Retire o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular usando:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído, se as preparações forem mantidas por um prazo inferior a 24 horas. (É possível obter uma solução PBS com 0,1% de formaldeído diluindo-se 12,5 µL de Solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na concentração de 10X em 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído, se as preparações forem analisadas dentro de 2 horas.

Nota: Em qualquer dos casos, mantenha as preparações entre 2 e 8°C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Em nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 doadores aparentemente saudáveis foram tratadas usando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos positivos de interesse com esse reagente são fornecidos na tabela a seguir:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP (Desvio padrão)	CV (%)
Linfócitos	25	13,51	5,57	41,25

Esses valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores esperados da população local de doadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos usando o procedimento descrito anteriormente em amostras de sangue com menos de 24 horas, coletadas previamente em tubos estéreis com sal de EDTA como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

O clone B9E9 (HRC20) foi atribuído ao CD20 durante o 5º HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Workshop sobre HLDA — antígenos de diferenciação de leucócitos humanos), realizado em Boston, EUA, em 1993 (Código WS: CD20.12, Seção B) (11).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados usando-se sangue total. Cada amostra foi processada 4 vezes, duas vezes por dia durante 1 dia em 2 instrumentos, usando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD20-Pacific Blue. As medições (% de positivos) foram realizadas no citômetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação de desempenho de precisão de métodos de medição quantitativos).

Nossos critérios de aceitação dependem do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Se eventos positivos <1.500, CV <15%
- Se eventos positivos >1.500, CV <10%

Linfócitos							
Número de eventos positivos (média) = 945							
	Entre operadores	Entre citômetros	Dentro do lote	Entre lotes	Entre processamentos	Dentro do processamento	Total
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD20-Pacific Blue foi avaliada comparando-se os resultados com um reagente de referência como o predicado em um conjunto de amostras de sangue total processadas em um citômetro de fluxo Navios. A tendência entre o reagente de teste e o de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados dos testes. Se a tendência estiver dentro da faixa de erro aceitável ou o valor p não indicar diferenças significativas (>0,05), então os resultados dos testes para os dois reagentes são considerados como equivalentes.

Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Número de doadores = 25				
Alvo positivo	Δ média	Critérios de Δ % de células	valor p	RESULTADOS
Linfócitos	-0,65	<3	0,059	PASS

LIMITE DE BRANCO E LIMITE DE DETECÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com a diretriz EP17-A2 do CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de detecção para procedimentos de medição de laboratório clínico). O Limite de detecção (LOD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detectada consistentemente. Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite de branco (células/µL)	Limite de detecção (células/µL)
Linfócitos	2	3

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo pode produzir resultados falsos se o citômetro não for alinhado perfeitamente, se os vazamentos de fluorescência não forem corretamente compensados e se as regiões não forem cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível usar uma técnica de lise de RBC com uma etapa de lavagem, já que esse reagente não foi otimizado para técnicas de lise “sem lavagem”.
3. Serão obtidos resultados exatos e reproduzíveis desde que os procedimentos utilizados estejam em conformidade com o folheto técnico e sejam compatíveis com as boas práticas de laboratório.
4. O anticorpo conjugado desse reagente é calibrado para oferecer a melhor razão entre sinal específico e sinal não específico. Por isso, é importante manter a razão entre volume do reagente e volume da amostra em cada teste.
5. No caso de hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (12).
6. Em certos estados da doença, como insuficiência renal grave e hemoglobinopatias, a lise das hemácias pode ser lenta, incompleta ou até mesmo impossível. Nesse caso, recomenda-se isolar as células mononucleadas usando um gradiente de densidade (Ficoll, por exemplo) antes da coloração (13).
7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a detecção dos antígenos-alvo específicos pode ser diminuída ou não ocorrer devido ao bloqueio parcial ou total pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de CD20-Pacific Blue devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, histórico clínico, dados de testes adicionais e outras informações apropriadas.

Consulte o anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logotipo estilizado e as marcas dos produtos e serviços da Beckman Coulter mencionados neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registradas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e em outros países.

Pacific Blue é uma marca registrada da Molecular Probes, Inc.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/usuário/terceiro na União Europeia e em países com regime regulatório idêntico (Regulamentação 2017/746/UE sobre In vitro Diagnostic Medical Devices [Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro]), se, durante o uso deste dispositivo ou como resultado de seu uso, ocorrer um incidente grave, relate-o ao fabricante e/ou ao seu representante autorizado e à sua autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível no banco de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO AD:	Data de publicação: outubro de 2019

REVISÃO	**Data de publicação**
AW	Março de 2022
Atualizações para o cumprimento da Global labelling Policy (Política de rotulagem global) da Beckman Coulter e de acordo com os requisitos da IVD-R (UE)2017/746:	
Seções adicionadas	Número BSI 2797, Usuário previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite de branco e limite de detecção, Informações adicionais, Histórico de revisão.
Informações adicionadas	Consulte as seções: Limitações
Atualizações tipográficas ou de fraseado	Consulte as seções Procedimento, Desempenho, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Seções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Seções atualizadas	Uso previsto, Classificação de perigo do GHS, Evidência de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de publicação**
AX	Abril 2023
Seções atualizadas	Adicionar cazaque
Seções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revisada	AY
Data da revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Versão revisada	AZ
Data da revisão	Julho 2024
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (documento número B60062)

	Specificaties
Specificiteit	CD20
Kloon	B9E9 (HRC20)
Hybridoom	X63 x balb/c
Immunogeen	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Immunoglobuline	IgG2a
Soort	Muis
Purificatie	Affiniteitschromatografie
Fluorochroom	Pacific Blue
Molaire verhouding	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
λ excitatie	405 nm
Emissiepiek	455 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA en 0,1% NaN_3

IOTest
Geconjugeerd antilichaam CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 tests; 0,5 mL, 10 µL / test

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

BEOOGD GEBRUIK

Met dit fluorochroom-geconjugeerde antilichaam kunnen celpopulaties die het CD20-antigeen tot expressie brengen, kwalitatief en niet-geautomatiseerd worden geïdentificeerd in menselijke biologische monsters met behulp van flowcytometrie (zie het gedeelte 'Monsters' hieronder).

PRINCIPE

Deze test is gebaseerd op het vermogen van specifieke monoklonale antilichamen om zich te binden aan de antigene determinanten die tot expressie worden gebracht door leukocyten.

Specifieke kleuring van de leukocyten wordt uitgevoerd door het monster te incuberen met het IOTest -reagens. De rode cellen worden vervolgens via lysering verwijderd en de leukocyten (die ongevoelig zijn voor dit proces) worden geanalyseerd voor middel van flowcytometrie.

De flowcytometer meet de lichtdiffusie en de fluorescentie van cellen. Het maakt de afbakening van de betrokken populatie mogelijk binnen het elektronische venster gedefinieerd op een histogram, wat de orthogonale verspreiding van licht (zijwaartse verstrooiing of ZV) in verband brengt met de verspreiding van smalhoekig licht (voorwaartse verstrooiing of VV). Andere histogrammen die twee van de verschillende beschikbare parameters op de cytometer combineren, kunnen worden gebruikt als ondersteuning bij de gating-fase, afhankelijk van de door de gebruiker gekozen toepassing.

De fluorescentie van de afgeperkte cellen wordt geanalyseerd om de positief-gekleurde gebeurtenissen te onderscheiden van de niet-gekleurde. De resultaten worden uitgedrukt als een percentage van positieve gebeurtenissen ten opzichte van alle gebeurtenissen verzameld door de gating.

BEOOGDE GEBRUIKER

Dit product is bedoeld voor professioneel gebruik in het laboratorium.

KLINISCHE RELEVANTIE

Het CD20-Pacific Blue is een CD20-antilichaam dat wordt gebruikt om door middel van flowcytometrie cellen te identificeren en te karakteriseren die het CD20-antigeen tot expressie brengen. Dit product alleen kan niet worden gebruikt voor en is niet bedoeld voor de totstandbrenging van diagnostische conclusies.

Bij gebruik in combinatie met andere markers kan dit product worden gebruikt voor een of meer van de volgende functies:

- Ter ondersteuning van de differentiaaldiagnostiek bij patiënten met een hematologische afwijking met verdenking op het hebben van een hematopoiëtisch neoplasma en ter controle van patiënten met een bekend hematopoiëtisch neoplasma.
- Ter ondersteuning van de prognose van patiënten met hematopoiëtisch neoplasma.

Zie de volgende referenties:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MONSTERS

Veneus bloed moet worden afgenomen met steriele buisjes die EDTA-zout bevatten als anticoagulans.

De monsters moeten op kamertemperatuur (18-25 °C) worden gehouden en mogen niet worden geschud. De monsters moeten gehomogeniseerd worden door licht te schudden voordat het testmonster wordt afgenomen.

De monsters moeten worden geanalyseerd binnen 24 uur van venapunctie.

CONCENTRATIE

Zie batch-specifiek analysecertificaat op www.beckman.com.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Gebruik het reagens niet na de uiterste houdbaarheidsdatum.
2. Niet invriezen.
3. Laat het op kamertemperatuur (18-25 °C) komen voor gebruik.
4. Beperk de blootstelling aan licht.
5. Vermijd microbiële verontreiniging van de reagentia, anders kunnen verkeerde resultaten optreden.

6. Antilichaamoplossingen die natriumazide (NaN_3) bevatten moeten voorzichtig gehanteerd worden. Niet innemen en elk contact met huid, slijmvliezen en ogen vermijden.

   In een zuur medium kan natriumazide bovendien de potentieel gevaarlijke waterstofazide vormen. Indien verwijdering nodig is, wordt het aanbevolen om het reagens te verdunnen in een groot volume water voordat het in het afvoersysteem wordt gegoten, om de accumulatie van natriumazide in metalen buizen en explosiegevaar te vermijden.
7. Alle bloedmonsters moeten worden beschouwd als mogelijk besmettelijk en moeten voorzichtig worden gehanteerd (met name: veiligheidshandschoenen, -jas en -bril dragen).
8. Pipetteer nooit met de mond en vermijd elk contact van de monster met huid, slijmvliezen en ogen.
9. Bloedbuisjes en wegwerpmateriaal die gebruikt zijn, moeten verwijderd worden in afvalcontainers bestemd voor verbranding.
10. Reagentia en afval moeten verwijderd worden volgens de plaatselijke voorschriften.

GHS GEVARENCLASSIFICATIE

Niet geclassificeerd als gevaarlijk

SDS Het veiligheidsinformatieblad is beschikbaar op beckmancoulter.com/techdocs

OPSLAG EN STABILITEIT

Dit reagens moet tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht worden bewaard, voor- en nadat het buisje wordt geopend.

Houdbaarheidsdatum van ongeopend buisje volgens stabiliteitsstudie: 1095 dagen.

Stabiliteit van geopend buisje: het reagens is stabiel gedurende 180 dagen.

BEWIJS VAN BEDERF

Elke wijziging in de fysieke verschijning van de reagentia kan wijzen op aantasting; het reagens mag dan niet langer gebruikt worden.

Bel voor meer informatie, of als het product beschadigd is, met de klantenservice van Beckman Coulter op 800-742-2345 (VS of Canada) of neem contact op met uw plaatselijke vertegenwoordiger van Beckman Coulter.

INHOUD

Een conserveringsmiddel van natriumazide kan explosieve verbindingen vormen in metalen afvoerleidingen. Zie NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (Explosiegevaar van azide, 16-08-1976).
Om de ophoping van azideverbindingen te vermijden, spoelt u de afvoerbuizen met water na verwijdering van onverdund reagens. Natriumazide moet worden verwijderd volgens de toepasselijke plaatselijke voorschriften.

BENODIGD MATERIAAL DAT NIET IS MEEGELEVERD IN DE KIT:

- Monsterbuisjes en materiaal vereist voor monsterneming.
- Automatische pipetten met wegwerppunten voor 10, 100 en 500 µL.
- Plastic hemolysebuisjes.
- Ontbindingsreagens voor rode cellen met spoelfase na de lysis. Bijvoorbeeld: VersaLyse (ref. A09777).
- Fixatiereagens voor leukocyten. Bijvoorbeeld: IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfaat; 0,145 M natriumchloride; pH 7,2).
- Centrifugeer.
- Automatische schudder (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MET VERSALYSE-REAGENS

1. Voeg het juiste volume 10 µL van specifiek IOTest geconjugeerd antilichaam toe aan elk testbuisje.
2. Voeg 100 µL van het testmonster toe aan elk buisje. Wervel de buisjes voorzichtig.
3. Incubeer 15 tot 20 minuten op kamertemperatuur (18-25 °C), beschermd tegen licht.
4. Lyseer vervolgens de rode cellen. Raadpleeg de VersaLyse-bijsluiter (ref. A09777) en volg bij voorkeur de procedure genaamd 'met gelijktijdige fixatie', die bestaat uit het toevoegen van 1 mL 'fixeer-en-lyseer'-oplossing die ex tempore wordt bereid. Wervel onmiddellijk gedurende één seconde en incubeer 10 minuten op kamertemperatuur, beschermd tegen licht.
5. Centrifugeer gedurende 5 minuten bij 150 x g op kamertemperatuur.
6. Verwijder het supernatant door opzuiging.
7. Suspendeer de celpellet opnieuw met 3 mL van PBS.
8. Herhaal stap 5.
9. Verwijder het supernatant door opzuiging en suspendeer de celpellet opnieuw met:

- 0,5 mL of 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyde, indien de bereidingen minder dan 24 uur worden bewaard. (Een PBS met 0,1% formaldehyde kan worden verkregen door 12,5 µL IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800) bij de 10X-concentratie te verdunnen in 1 mL PBS).
- 0,5 mL of 1 mL PBS zonder formaldehyde, indien de bereidingen moeten worden geanalyseerd binnen 2 uur.

Opmerking: houd de bereidingen in alle gevallen tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht.

VERWACHTE WAARDEN

In onze laboratoria werden de volbloedmonsters van 25 ogenschijnlijk gezonde donoren behandeld met het hierboven beschreven reagens. De verkregen resultaten voor de telling van de relevante positieve gebeurtenissen voor dit reagens worden in de onderstaande tabel weergegeven:

Positieve target	Nummer	Gemiddeld (%)	SD	VC (%)
Lymfocyten	25	13,51	5,57	41,25

Deze waarden zijn uitsluitend bedoeld als referentie. Elk laboratorium moet zijn eigen verwachte waarden bepalen op basis van de lokale populatie van normale donoren.

PRESTATIES

Prestatiegegevens worden verkregen met de hierboven beschreven procedure op minder dan 24 uur oude bloedmonsters die eerder zijn verzameld in steriele buisjes met EDTA-zout als anticoagulans. De analyse wordt uitgevoerd binnen 2 uur na immunokleuring.

SPECIFICITEIT

De B9E9 (HRC20)-kloon werd toegeschreven aan CD20 tijdens de 5e HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5e HLDA workshop over differentiatie-antigenen van humane leukocyten), gehouden in Boston in de VS in 1993 (WS-code: CD20.12, Sectie: B) (11).

PRECISIE

De procentuele positieve waarden werden bepaald met behulp van volbloed. Elk monster werd 4 maal getest, tweemaal per dag gedurende 1 dag op 2 instrumenten, waarbij gebruik werd gemaakt van 2 batches CD20-Pacific Blue monoklonale antilichaamreagentia. Metingen (% positief) werden uitgevoerd op de Navios-flowcytometer. Analyse werd uitgevoerd op basis van de CLSI-methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluatie van de precisie van kwantitatieve meetmethoden).

Onze acceptatiecriteria zijn afhankelijk van het aantal positieve gebeurtenissen dat voor elke populatie wordt gemeten:

- In het geval van een positieve gebeurtenis <1500, VC <15%
- In het geval van een positieve gebeurtenis >1500, VC <10%

Lymfocyten							
Aantal positieve gebeurtenissen (gemiddelde) = 945							
	Tussen gebruikers	Tussen cytometers	Van dezelfde batch	Tussen batches	Tussen runs	Tijdens run	Totaal
VC (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
RESULTATEN	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NAUWKEURIGHEID

De nauwkeurigheid van CD20-Pacific Blue werd beoordeeld door de resultaten te vergelijken met een referentiereagens als het vergelijkbare hulpmiddel op een reeks volbloedmonsters die op een Navios-flowcytometer werden uitgevoerd. De afwijking tussen test- en referentiereagens werd bepaald op basis van het verschil tussen de testresultaten. Als de afwijking binnen het toegestane foutbereik ligt of de p-waarde geen significant verschil (>0,05) aangeeft, worden de testresultaten voor de twee reagentia als gelijkwaardig beschouwd.

De resultaten worden samengevat in de onderstaande tabel:

Aantal donoren = 25				
Positieve target	Gemiddelde Δ	Δ % Celcriteria	p-waarde	RESULTATEN
Lymfocyten	-0,65	<3	0,059	PASS

BLANCOLIMIET EN DETECTIELIMIET

Een studie is uitgevoerd in overeenstemming met CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluatie van detectiecapaciteit voor meetprocedures in klinische laboratoria). Het detectielimiet (LOD) is de laagste concentratie analiet die consistent kan worden gedetecteerd. De verkregen resultaten worden samengevat in de volgende tabel:

Positive Target	Blancolimiet (cel/µL)	Detectielimiet (cel/µL)
Lymfocyten	2	3

BEPERKINGEN

1. Flowcytometrie kan leiden tot verkeerde resultaten indien de cytometer niet perfect is uitgelijnd, indien fluorescentielekken niet juist zijn gecompenseerd en indien de gebieden niet zorgvuldig zijn gepositioneerd.
2. Gebruik bij voorkeur een RBC-lyseertechniek met een wasstap, aangezien dit reagens niet is geoptimaliseerd voor lyseertechnieken zonder wassen.
3. Nauwkeurige en reproduceerbare resultaten worden verkregen zolang de gebruikte procedures in overeenstemming zijn met de technische brochure en compatibel met goede laboratoriumpraktijken.
4. Het geconjugeerde antilichaam van dit reagens wordt gekalibreerd om de beste verhouding van specifiek signaal/niet-specifiek signaal te bieden. Daarom is het belangrijk dat de verhouding van reagensvolume/monstervolume in acht wordt genomen bij elke test.
5. In het geval van een hyperleukocytose verdunt u het bloed in PBS om een waarde van ongeveer 5 x 10^9 leukocyten/L te verkrijgen (12).
6. In sommige stadia van een aandoening, zoals ernstig nierfalen of hemoglobinopathieën, kan de ontbinding van rode cellen traag verlopen, onvolledig of zelfs onmogelijk zijn. In dit geval wordt het aanbevolen om cellen met één kern te isoleren met een dichtheidsgradiënt (bijvoorbeeld Ficoll) voorafgaand aan de kleuring (13).
7. Bij patiënten die worden behandeld met anti-humane monoklonale antilichaamtherapieën kan de detectie van de specifieke doelantigenen verminderd of afwezig zijn als gevolg van een gedeeltelijke of volledige blokkering door het therapeutische antilichaam.

8. De CD20-Pacific Blue-resultaten moeten worden geïnterpreteerd in het licht van het totale klinische beeld van de patiënt, met onder meer: symptomen, klinische anamnese, gegevens van aanvullende tests en andere relevante informatie.

Zie de bijlage voor voorbeelden en referenties.

Handelsmerken

Beckman Coulter, het gestileerde logo en de merken van Beckman Coulter-producten en -services in dit document zijn handelsmerken of gedeponeerde handelsmerken van Beckman Coulter, Inc. in de Verenigde Staten en andere landen.

Pacific Blue is een handelsmerk van Molecular Probes, Inc.

AANVULLENDE INFORMATIE

Voor patiënten/gebruikers/derden in de EU en in landen met soortgelijke regelgeving (Verordening 2017/746/EU inzake in-vitro diagnostische medische apparaten); als er zich tijdens of als gevolg van het gebruik van dit apparaat een ernstig incident voordoet, dient u dit te melden bij de fabrikant en/of diens bevoegde vertegenwoordiger en bij uw nationale autoriteiten.

Het overzicht van de veiligheid en prestaties is beschikbaar in de database EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed

REVISIEGESCHIEDENIS

REVISIE AD:	Uitgiftedatum: Oktober 2019

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AW	Maart 2022
Bijgewerkt om te voldoen aan het wereldwijde etiketteringsbeleid van Beckman Coulter en volgens de vereisten van IVD-R (EU)2017/746:	
Toegevoegde paragrafen	BSI 2797-nummer, Beoogde gebruiker, Klinische relevantie, Concentratie, Precisie, Nauwkeurigheid, Blancolimiet en detectiegrens, Aanvullende informatie, Revisiegeschiedenis.
Toegevoegde informatie	Zie paragraaf Beperkingen
Bijgewerkte formulering of typografie	Zie paragrafen Procedure, Prestaties, Beperkingen, Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen, Opslag en Stabiliteit.
Verwijderde paragrafen	Voorbeeld van klinische toepassingen, Reagentia, Reproduceerbaarheid intra-laboratoria, Lineariteit
Bijgewerkte paragrafen	Beoogd gebruik, GHS-gevarenclassificatie, Bewijs van bederf, Procedure, Bijlage.

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AX	April 2023
Bijgewerkte paragrafen	Toevoegen Kazachs
Bijgewerkte paragrafen	Opslag en stabiliteit

Bijgewerkte versie	AY
Herzieningsdatum	Mei 2024
Bijgewerkte vertalingen	**Klinische relevantie:**
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Bijgewerkte versie	AZ
Herzieningsdatum	Juli 2024
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Verklaring van symbolen

Overzicht met verklaring van symbolen is beschikbaar op beckman.com/techdocs (documentnummer B60062)

	Thông số kỹ thuật
Độ đặc hiệu	CD20
Dòng vô tính	B9E9 (HRC20)
Tế bào lai	X63 x balb/c
Chất sinh miễn dịch	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Globulin miễn dịch	IgG2a
Các loài	Chuột
Tinh chế	Sắc ký ái lực
Chất nhuộm huỳnh quang	Pacific Blue
Tỷ lệ mol	Pacific Blue/Ig: 5,30 - 6,50
Kích thích λ	405 nM
Đỉnh phát xạ	455 nM
Dung dịch đệm	PBS pH 7,2 cộng với 2 mg/mL BSA và 0,1% NaN_3

Kháng thể cộng hợp IOTest CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 xét nghiệm; 0,5 mL,
10 µL/xét nghiệm

Dùng cho chẩn đoán *in vitro*.

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Kháng thể cộng hợp chất nhuộm huỳnh quang này cho phép xác định theo phương thức định tính và không tự động các quần thể tế bào biểu hiện kháng nguyên CD20 có trong mẫu sinh học của người bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy (xem phần "Mẫu" bên dưới).

NGUYÊN TẮC

Xét nghiệm này dựa trên khả năng liên kết của kháng thể đơn dòng đặc hiệu với yếu tố quyết định kháng nguyên biểu hiện bởi bạch cầu.

Nhuộm đặc hiệu bạch cầu bằng cách ủ mẫu với thuốc thử IOTest. Sau đó, loại bỏ tế bào hồng cầu bằng cách ly giải và tế bào bạch cầu không bị ảnh hưởng bởi quá trình này sẽ được phân tích bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy.

Máy đếm tế bào dòng chảy đo mức khuếch tán ánh sáng và phát huỳnh quang của các tế bào. Điều này giúp phân định được quần thể quan tâm trong cửa sổ điện tử được xác định trên biểu đồ, tương quan với sự khuếch tán trực giao ánh sáng (Tán xạ góc bên hay SS) và khuếch tán ánh sáng góc hẹp (Tán xạ góc thẳng hay FS). Có thể dùng các biểu đồ khác (kết hợp hai trong các thông số có sẵn trên máy đếm tế bào) để hỗ trợ trong giai đoạn khoanh vùng tùy thuộc vào ứng dụng mà người dùng chọn.

Huỳnh quang của các tế bào đã phân định được phân tích để phân biệt các sự kiện nhuộm dương tính với các sự kiện không nhuộm. Kết quả được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm số sự kiện dương tính so với tất cả sự kiện thu được từ việc khoanh vùng.

ĐỐI TƯỢNG SỬ DỤNG

Sản phẩm này chỉ dùng cho mục đích chuyên môn trong phòng xét nghiệm.

TÍNH THÍCH HỢP VỀ LÂM SÀNG

CD20-Pacific Blue là một kháng thể CD20 dùng để nhận dạng và xác định đặc điểm của các tế bào biểu thị kháng nguyên CD20 bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy. Chỉ riêng sản phẩm này không thể và không nhằm tạo ra bất kỳ kết luận chẩn đoán nào.

Khi kết hợp với các chỉ dấu khác, có thể dùng sản phẩm này trong một hoặc nhiều chức năng sau:

- Để hỗ trợ chẩn đoán phân biệt những bệnh nhân bị bất thường về huyết học nghi ngờ mắc ung thư máu và để theo dõi những bệnh nhân đã được xác định là mắc ung thư máu.
- Để hỗ trợ tiên lượng những bệnh nhân bị ung thư máu.

Xem tài liệu tham khảo sau đây:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MẪU

Phải lấy mẫu máu tĩnh mạch vào ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA.

Phải bảo quản mẫu ở nhiệt độ phòng (18–25°C) và không lắc mẫu. Phải khuấy nhẹ mẫu trước khi lấy mẫu xét nghiệm để mẫu có trạng thái đồng nhất.

Phải phân tích các mẫu trong vòng 24 giờ sau khi lấy từ tĩnh mạch.

NỒNG ĐỘ

Xem Giấy chứng nhận phân tích theo lô cụ thể tại www.beckman.com.

CẢNH BÁO VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG NGỪA

1. Không dùng thuốc thử đã hết hạn sử dụng.
2. Không làm đông lạnh.
3. Để dung dịch trở về nhiệt độ phòng (18–25°C) trước khi sử dụng.
4. Giảm thiểu tiếp xúc với ánh sáng.
5. Tránh làm thuốc thử bị nhiễm khuẩn, nếu không, có thể dẫn đến kết quả sai.
6. Phải xử lý cẩn thận dung dịch kháng thể chứa natri azit (NaN_3). Không được uống và tránh mọi tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.

Ngoài ra, trong môi trường axit, natri azit có thể tạo thành axit hydrazoic nguy hiểm. Nếu cần phải thải bỏ, bạn nên pha loãng thuốc thử trong nhiều nước trước khi thải vào hệ thống thoát nước để tránh tích tụ natri azide trong ống kim loại và để tránh nguy cơ nổ.

7. Phải coi tất cả mẫu máu là có nguy cơ lây nhiễm và xử lý cẩn thận (cụ thể: đeo găng tay, mặc áo choàng và đeo kính bảo vệ).
8. Tuyệt đối không dùng pipet bằng miệng và tránh để mẫu tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.
9. Phải bỏ ống máu và vật liệu dùng một lần đã dùng để xử lý trong thùng chứa đặc biệt cho mục đích thiêu hủy.
10. Phải thải bỏ thuốc thử và chất thải theo yêu cầu của địa phương.

PHÂN LOẠI MỐI NGUY HIỂM THEO GHS

Không được phân loại là chất nguy hiểm

SDS Phiếu dữ liệu an toàn có sẵn tại beckmancoulter.com/techdocs

BẢO QUẢN VÀ ĐỘ ỔN ĐỊNH

Phải bảo quản thuốc thử này ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng, trước và sau khi mở ống.

Hạn sử dụng của ống khi chưa mở nắp theo nghiên cứu về độ ổn định: 1095 ngày.

Độ ổn định của ống đã mở: thuốc thử ổn định trong 180 ngày.

BẰNG CHỨNG BIẾN CHẤT

Mọi sự biến đổi về vẻ ngoài của thuốc thử có thể là dấu hiệu suy giảm chất lượng và bạn không nên dùng thuốc thử đó.

Để biết thêm thông tin hoặc nếu bạn nhận được sản phẩm bị hỏng, hãy gọi điện cho Dịch vụ khách hàng của Beckman Coulter theo số 8007422345 (Hoa Kỳ hoặc Canada) hoặc liên hệ với Đại diện của Beckman Coulter tại địa phương bạn.

HÀM LƯỢNG

Chất bảo quản natri azit có thể hình thành hợp chất nổ trong ống dẫn bằng kim loại. Xem Thông Báo của Viện quốc gia về an toàn và sức khỏe nghề nghiệp (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Nguy cơ nổ azit) (16/8/76).
Để tránh khả năng tích tụ hợp chất azit, hãy xả sạch các ống thải bằng nước sau khi xử lý vứt bỏ thuốc thử chưa pha loãng. Phải xử lý vứt bỏ natri azit theo đúng quy định sở tại.

VẬT LIỆU CẦN DÙNG (KHÔNG KÈM THEO BỘ THUỐC THỬ):

- Ống lấy mẫu và vật liệu cần dùng để lấy mẫu.
- Pipet tự động có đầu hút dùng một lần để lấy mẫu có thể tích 10, 100 và 500 µL.
- Ống chứa mẫu tan huyết bằng nhựa.
- Thuốc thử ly giải hồng cầu với bước rửa sau khi ly giải. Ví dụ: VersaLyse (Số tham chiếu A09777).
- Thuốc thử cố định Leucocyte. Ví dụ: Dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800).
- Dung dịch đệm (PBS: 0,01 Mol natri photphat; 0,145 Mol natri clorua; pH 7,2).
- Máy ly tâm.
- Máy trộn tự động (loại khuấy).
- Máy đếm tế bào dòng chảy.

QUY TRÌNH VỚI THUỐC THỬ VERSALYSE

1. Thêm 10 µL kháng thể cộng hợp IOTest đặc hiệu phù hợp vào từng ống xét nghiệm.
2. Thêm 100 µL mẫu xét nghiệm vào từng ống. Lắc nhẹ các ống.
3. Ủ trong 15 đến 20 phút ở nhiệt độ phòng (18–25°C), tránh ánh sáng.
4. Sau đó, ly giải hồng cầu. Tham khảo tờ hướng dẫn về VersaLyse (Số tham chiếu A09777) và tốt nhất là làm theo quy trình tên là “có cố định đồng thời”, bao gồm thêm 1 mL hỗn hợp “Cố định và ly giải” được chuẩn bị tùy ứng. Lắc ngay trong một giây và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.
5. Quay ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 150 x g tại nhiệt độ phòng.
6. Hút bỏ dịch nổi.
7. Tái huyền phù viên tế bào bằng 3 mL PBS.
8. Lặp lại bước 5.
9. Hút bỏ dịch nổi và tái huyền phù viên tế bào bằng:

- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS cộng với 0,1% formaldehyde nếu sử dụng chế phẩm trong vòng chưa đến 24 giờ. (Có thể thu được PBS chứa 0,1% formaldehyde bằng cách pha loãng 12,5 µL dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800) ở nồng độ 10X trong 1 mL PBS).
- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS không có formaldehyde, nếu phân tích các chế phẩm trong vòng 2 giờ.

Ghi chú: Trong mọi trường hợp, phải bảo quản chế phẩm ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng.

GIÁ TRỊ DỰ KIẾN

Trong phòng xét nghiệm của chúng tôi, mẫu máu toàn phần của 25 người hiến khỏe mạnh được điều trị bằng thuốc thử mô tả ở trên. Bảng dưới đây trình bày kết quả đếm số lượng sự kiện dương tính quan tâm với thuốc thử này:

Mục tiêu dương tính	Số	Giá trị trung bình (%)	SD	CV (%)
Tế bào lympho	25	13,51	5,57	41,25

Các giá trị sau chỉ có tính chất đại diện. Mỗi phòng xét nghiệm phải thiết lập giá trị dự kiến riêng từ quần thể người hiến bình thường của mình.

HIỆU SUẤT

Dữ liệu hiệu suất thu được bằng cách sử dụng quy trình mô tả ở trên với các mẫu máu được thu thập dưới 24 giờ trong các ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA. Phân tích trong vòng 2 giờ sau khi nhuộm hóa mô miễn dịch.

ĐỘ ĐẶC HIỆU

Dòng vô tính B9E9 (HRC20) được chỉ định cho CD20 tại HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Hội thảo HLDA về Kháng nguyên biệt hóa bạch cầu ở người) lần thứ 5, được tổ chức tại Boston, Hoa Kỳ, năm 1993 (Mã WS: CD20.12, Phần B) (11).

ĐỘ CHỤM

Tỷ lệ phần trăm của các giá trị dương tính được xác định bằng cách sử dụng máu toàn phần. Mỗi mẫu được chạy 4 lần, hai lần một ngày trong 1 ngày trên 2 thiết bị sử dụng 2 lô thuốc thử kháng thể đơn dòng CD20-Pacific Blue. Các phép đo (% dương tính) được thực hiện trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Phân tích được tiến hành theo phương pháp EP5-A2 của CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Đánh giá hiệu suất độ chụm của phương pháp đo định lượng).

Tiêu chí chấp nhận của chúng tôi phụ thuộc vào số lượng sự kiện dương tính đo được cho mỗi quần thể:

- Nếu sự kiện dương tính <1.500, CV <15%
- Nếu sự kiện dương tính >1.500, CV <10%

Tế bào lympho							
Số sự kiện dương tính (Giá trị trung bình) = 945							
	Giữa những người thao tác	Giữa các máy đếm tế bào	Trong lô	Giữa các lô	Giữa các lần chạy	Trong lần chạy	Toàn phần
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
KẾT QUẢ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ĐỘ CHÍNH XÁC

Độ chính xác của CD20-Pacific Blue được đánh giá bằng cách so sánh kết quả với thuốc thử tham chiếu để khẳng định trên một tập hợp các mẫu máu toàn phần chạy trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Độ lệch giữa xét nghiệm và thuốc thử tham chiếu được xác định dựa trên sự chênh lệch giữa các kết quả xét nghiệm. Nếu độ lệch nằm trong phạm vi sai số cho phép hoặc giá trị p cho thấy không có sự khác biệt đáng kể (> 0,05), thì kết quả xét nghiệm cho hai thuốc thử được coi là tương đương.

Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Số người hiến = 25				
Mục tiêu dương tính	Giá trị trung bình Δ	Tiêu chí tế bào Δ %	giá trị p	KẾT QUẢ
Tế bào lympho	-0,65	<3	0,059	PASS

GIỚI HẠN TRỐNG VÀ GIỚI HẠN PHÁT HIỆN

Một nghiên cứu đã được thực hiện theo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Đánh giá khả năng phát hiện cho các quy trình đo lường trong phòng xét nghiệm lâm sàng). Giới hạn phát hiện (LOD) là nồng độ thấp nhất của chất phân tích có thể phát hiện một cách nhất quán. Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Positive Target	Giới hạn trống (tế bào/µL)	Giới hạn phát hiện (tế bào/µL)
Tế bào lympho	2	3

GIỚI HẠN

1. Phương pháp đếm tế bào dòng chảy có thể cho kết quả sai nếu điều chỉnh máy đếm tế bào không phù hợp, nếu mức bù huỳnh quang rò rỉ không phù hợp và nếu định vị các vùng không cẩn thận.
2. Tốt nhất là sử dụng kỹ thuật ly giải RBC có bước rửa vì thuốc thử này chưa được tối ưu hóa cho các kỹ thuật ly giải "không rửa".
3. Sẽ thu được kết quả chính xác và có thể tái lặp nếu sử dụng quy trình theo tờ hướng dẫn kỹ thuật và phù hợp với biện pháp xét nghiệm hợp lý.
4. Kháng thể cộng hợp của thuốc thử này được hiệu chuẩn để đưa ra tỷ lệ tín hiệu đặc hiệu/tín hiệu không đặc hiệu tốt nhất. Do đó, điều quan trọng là phải tuân thủ tỷ lệ thể tích thuốc thử/thể tích mẫu trong mỗi xét nghiệm.
5. Trong trường hợp tăng bạch cầu, hãy pha loãng máu trong PBS để thu được giá trị xấp xỉ 5 x 10^9 bạch cầu/L (12).
6. Trong một số tình trạng bệnh, chẳng hạn như suy thận nặng hoặc bệnh rối loạn máu, hồng cầu có thể ly giải chậm, ly giải không hoàn toàn, hoặc thậm chí là không thể ly giải. Trong trường hợp này, bạn nên phân lập tế bào đơn nhân bằng phương pháp ly tâm phân lớp theo tỷ trọng (ví dụ: Ficoll) trước khi nhuộm (13).
7. Ở những bệnh nhân được điều trị bằng các liệu pháp kháng thể đơn dòng kháng người, khả năng phát hiện các kháng nguyên mục tiêu đặc hiệu có thể giảm đi hoặc không xảy ra do bị kháng thể điều trị chặn một phần hoặc toàn bộ.
8. Phải diễn giải kết quả CD20-Pacific Blue dựa trên toàn bộ các dấu hiệu lâm sàng của bệnh nhân, bao gồm: triệu chứng, tiền sử lâm sàng, dữ liệu từ các xét nghiệm khác và thông tin thích hợp khác.

Xem Phụ lục để biết ví dụ và tài liệu tham khảo.

NHÃN HIỆU

Beckman Coulter, logo cách điệu và các nhãn hiệu sản phẩm cũng như dịch vụ của Beckman Coulter nêu trong tài liệu này là nhãn hiệu hoặc nhãn hiệu đã đăng ký của Beckman Coulter, Inc. ở Hoa Kỳ và các quốc gia khác.

Pacific Blue là nhãn hiệu của Molecular Probes, Inc.

THÔNG TIN BỔ SUNG

Đối với bệnh nhân/người dùng/bên thứ ba tại Liên minh Châu Âu và ở các quốc gia có chế độ quản lý giống nhau (Quy định 2017/746/EU về Thiết bị y tế chẩn đoán In vitro); nếu xảy ra sự cố nghiêm trọng trong quá trình sử dụng thiết bị này hoặc do sử dụng thiết bị này, vui lòng báo cáo cho nhà sản xuất và/hoặc đại diện ủy quyền của nhà sản xuất cũng như cơ quan có thẩm quyền tại quốc gia của bạn.

Summary of Safety and Performance (Tóm tắt về an toàn và hiệu suất) có trong cơ sở dữ liệu EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

LỊCH SỬ SỬA ĐỔI

PHIÊN BẢN AD:	Ngày phát hành: Tháng 10 năm 2019

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AW	Tháng 03 năm 2022
Cập nhật để tuân thủ Chính sách ghi nhãn toàn cầu của Beckman Coulter và theo các yêu cầu IVD-R (EU) 2017/746:	
Bổ sung các phần	Số BSI 2797, Đối tượng sử dụng, Tính thích hợp về lâm sàng, Nồng độ, Độ chụm, Độ chính xác, Giới hạn trống và giới hạn phát hiện, Thông tin bổ sung, Lịch sử sửa đổi.
Bổ sung thông tin	Xem các phần Giới hạn
Cập nhật cách diễn đạt hoặc câu chữ	Xem các phần Quy trình, Hiệu suất, Giới hạn, Cảnh báo và Biện pháp phòng ngừa, Bảo quản và Độ ổn định.
Các phần bị xóa	Ví dụ về các ứng dụng lâm sàng, Thuốc thử, Khả năng tái lập trong phòng xét nghiệm, Độ tuyến tính
Các phần cập nhật	Mục đích sử dụng, Phân loại mối nguy hiểm theo GHS, Bằng chứng biến chất, Quy trình, Phụ lục.

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AX	Tháng 4 2023
Các phần cập nhật	Thêm tiếng Kazakh
Các phần cập nhật	Bảo quản và độ ổn định

Phiên bản sửa đổi	AY
Ngày sửa đổi	Tháng 5 2024
Đã cập nhật bản dịch	**Tính thích hợp về lâm sàng:**
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Phiên bản sửa đổi	AZ
Ngày sửa đổi	Tháng 7 2024
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Bảng chú giải các ký hiệu

Danh mục thuật ngữ ký hiệu có sẵn tại beckman.com/techdocs (số tài liệu B60062)

	Сипаттамалары
Ерекшелік	CD20
Клон	B9E9 (HRC20)
Гибридома	X63 x balb/c
Иммуноген	DAUDI Cell line (human B-lymphoblastoid)
Иммунды глобулин	IgG2a
Түрлері	Тышқан
Тазарту	Үйірлік хроматография
Флуорохром	Pacific Blue
Молярлық қатынасы	Pacific Blue / Ig: 5,30 - 6,50
λ қозу	405 нм
Эмиссияның жоғарғы шегі	455 нм
Буфер	PBS pH 7,2 + 2 мг / мл BSA және 0,1% NaN_3

Конъюгацияланған
IOTest антиденесі
CD20-Pacific Blue

REF B49208 50 сынақ; 0,5 мл, 10 мкл / сынақ

***In vitro* диагностикасында пайдалануға арналған.**

ПАЙДАЛАНУ МАҚСАТЫ

Бұл флуорохроммен конъюгацияланған антидене адамның биологиялық үлгілерінде CD20 антигеннің болуын көрсететін жасуша популяциясын ағын цитометриясы көмегімен сапалы және автоматтандырылмаған анықтауға мүмкіндік береді (төмендегі «Үлгілер» бөлімін қараңыз).

ҚАҒИДА

Бұл сынақ нақты моноклоналды антиденелердің лейкоциттер айқындайтын антигендік детерминанттармен байланысу қабілетіне негізделген.

Лейкоциттердің арнайы бояуы үлгіні IOTest реагентімен инкубациялау арқылы жүзеге асады. Сол кезде эритроциттер лизис арқылы шығарылады, ал осы процесс әсер етпейтін лейкоциттерге ағын цитометриясы арқылы талдау жасалады.

Ағын цитометрі жарық диффузиясы мен жасушалардың флуоресценттенуін өлшейді. Бұл гистограммада анықталған электронды терезеде қызығушылық популяциясын ажыратуға мүмкіндік береді, ол жарықтың ортогональды диффузиясын (бүйірлік шашырау немесе SS) және тар бұрышты жарықтың диффузиясын (тікелей шашырау немесе FS) байланыстырады. Цитометрде қолжетімді екі түрлі параметрді біріктіретін басқа гистограммаларды пайдаланушы таңдаған қолданбаға байланысты гейтинг кезеңінде тірек ретінде пайдалануға болады.

Оң боялған оқиғаларды боялмаған оқиғалардан ажырату үшін шектеулі жасушалардың флуоресценттенуіне талдау жүргізілді. Оның нәтижесі оң оқиғалардың гейтинг арқылы алынған барлық оқиғаларға қатынасының пайыздық көрсеткіші ретінде көрсетіледі.

МАҚСАТТЫ ПАЙДАЛАНУШЫ

Бұл өнім зертханалық жағдайда кәсіби пайдалануға арналған.

КЛИНИКАЛЫҚ МАҢЫЗЫ

CD20-Pacific Blue – ағын цитометриясы арқылы CD20 антигенін экспрессиялайтын жасушаларды сәйкестендіру және сипаттау үшін пайдаланылатын CD20 антиденесі. Бұл өнімді жалғыз өзін пайдаланып қандай да бір диагностикалық қорытынды жасау мүмкін емес және жасауға арналмаған.

Басқа маркерлермен бірлесіп пайдаланылғанда, бұл өнімді келесі функциялардың біреуінде немесе бірнешеуінде пайдалануға болады:

- Гемопоэтикалық неоплазмаға күдікті гематологиялық аномальды пациенттерді дифференциалды диагностикалауға көмектесу және белгілі гемопоэтикалық неоплазмасы бар пациенттерді бақылау үшін.
- Гемопоэтикалық жаңа ісігі бар пациенттерге болжау жасауға көмектесу.

Келесі анықтамаларды қараңыз:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ҮЛГІЛЕР

Көктамыр қанын антикоагулянт ретінде EDTA тұзы бар стерильді түтіктердің көмегімен алу керек.

Үлгілерді бөлме температурасында (18–25°C) сақтау керек және оларды шайқауға болмайды. Үлгілерді сынақ үлгісін алмастан бұрын жеңіл араластыру жолымен гомогендеу керек.

Үлгілерді көк тамырды тескен соң 24 сағат ішінде талдау қажет.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Нақты топтама бойынша талдау сертификатын мына сайттан қараңыз www.beckman.com.

ЕСКЕРТУ ЖӘНЕ САҚТЫҚ ШАРАЛАРЫ

1. Жарамдылық мерзімі өткеннен кейін реагентті қолдануға болмайды.
2. Қатыруға болмайды.
3. Оны пайдаланбас бұрын, температурасының бөлме температурасына (18–25°C) жетуін күтіңіз.
4. Жарық әсерін азайтыңыз.
5. Реагенттердің микробтармен ластануына жол бермеңіз немесе жалған нәтижелер орын алуы мүмкін.

6. Құрамында натрий азиды бар антидене ерітінділермен (NaN_3) жұмыс істегенде абай болу керек. Ішке қабылдамаңыз. Теріге, шырышты қабыққа және көзге тиігізбеңіз.

   Оған қоса, қышқылды ортада натрий азиды ықтимал қауіпті азотты сутек қышқылын түзуі мүмкін. Оны жою қажет болған жағдайда реагентті алдымен судың көп мөлшерінде сұйылтып, артынан кәріз жүйесіне төгуге кеңес беріледі. Осылайша, натрий азидының металл құбырларда жиналуын болдырмай, жарылыс қаупінің алдын алуға болады.

7. Қанның барлық үлгілері ықтимал жұқпалы деп есептелуі және сақтықпен өңделуі (атап айтқанда: қорғаныс қолғабын, халат және көзілдірік кию) керек.
8. Ешқашан оны аузыңызға құймаңыз және үлгілерді теріге, шырышты қабыққа және көзге тигізбеңіз.
9. Өңдеу үшін пайдаланылатын қан түтіктері мен бір реттік материалдарды өртеуге арналған арнайы контейнерлерге тастау керек.
10. Реагенттер мен қалдықтар жергілікті талаптарға сәйкес жойылуы тиіс.

GHS ҚАУІПТЕР КЛАССИФИКАЦИЯСЫ

Қауіпті деп жіктелмейді

SDS Қауіпсіздік парағы beckmancoulter.com/techdocs мекенжайы бойынша қолжетімді

САҚТАУ ЖӘНЕ ТҰРАҚТЫЛЫҚ

Құтыны ашпай тұрып және оны ашқаннан кейін, бұл реагентті 2–8°C температурада жарықтан қорғалған жерде сақтау керек.

Тұрақтылық зерттеуіне сәйкес жабық күйіндегі сауыт сөресінің жарамдылық мерзімі: 1095 күндер.

Ашық құтының тұрақтылығы: реагент 180 күн бойы тұрақты болады.

ЗАҚЫМДАЛУ БЕЛГІЛЕРІ

Реагенттердің сыртқы түрінің кез келген өзгерісі олардың зақымдалғандығын көрсетуі мүмкін және реагентті пайдаланбаған жөн.

Қосымша ақпарат алу үшін немесе зақымдалған өнімді алған жағдайда 800-742-2345 (АҚШ немесе Канада) арқылы Beckman Coulter тұтынушыларға қызмет көрсету орталығына қоңырау шалыңыз немесе жергілікті Beckman Coulter компаниясының өкіліне хабарласыңыз.

МАЗМҰНЫ

Натрий азиді консерванты металдан жасалған құбыр желілерінде жарылғыш қосылыстар түзуі мүмкін. NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76) (NIOSH бюллетенін қараңыз: азидтердің жарылу қаупі (16.08.1976)).
Азид қосылыстарының ықтимал түзілуін болдырмау үшін сұйылтылмаған реагентті жойғаннан кейін су құбырларын шайыңыз. Натрий азидін жою тиісті жергілікті ережелерге сәйкес жүзеге асырылуы тиіс.

ҚАЖЕТТІ, БІРАҚ ЖИНАҚПЕН БІРГЕ ЖЕТКІЗІЛМЕГЕН МАТЕРИАЛДАР

- Үлгі алу түтіктері және үлгі алу үшін қажетті материал.
- 10, 100 және 500 мкл ерітінділерге арналған бір реттік ұшы бар автоматты тамызғыштар.
- Эритроциттер гемолизіне арналған пластикалық түтіктер.
- Лизистен кейін жуу әдісі пайдаланылатын эритроцит лизисінің реагенті. Мысалы: VersaLyse (Сілт A09777).
- Лейкоцит фиксация реагенті. Мысалы: IOTest 3 бекіту ерітіндісі (A07800 қараңыз).
- Буфер (PBS: 0,01 М натрий фосфаты; 0,145 М натрий хлориді; pH 7,2).
- Центрифугалау
- Автоматты араластырғыш (араластырғыш түрі).
- Ағын цитометрі.

VERSALYSE РЕАГЕНТІ КӨМЕГІМЕН ОРЫНДАЛАТЫН ПРОЦЕДУРА

1. Әр түтікке белгілі бір конъюгацияланған IOTest антиденесінің 10 тиісті мкл көлемін қосыңыз.
2. Әр түтікке сынақ үлгісінің 100 мкл қосыңыз. Түтіктерді абайлап араластырыңыз.
3. Жарықтан қорғалған бөлме температурасында (18–25°C) 15–20 минут инкубациялаңыз.
4. Содан соң қызыл жасушалардың лизисін орындаңыз. VersaLyse (анық. A09777) парақшасын қарап, жоспардан тыс дайындалған 1 мл «Бекіту және еріту» қоспасын қосудан тұратын «ілеспе бекітумен» деп аталатын процедураны орындаңыз. Бір секунд дереу араластырыңыз және жарықтан қорғалған бөлме температурасында 10 минут бойы инкубациялаңыз.
5. 150 x г шамасында 5 минут бойы бөлме температурасында центрифугалаңыз.
6. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастаңыз.
7. 3 мл PBS ерітіндісін пайдаланып, жасуша массасын қайта ерітіңіз.
8. 5-қадамды қайталаңыз.
9. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастап, жасуша массасын төмендегіні қолдану арқылы қайта ерітіңіз:

- Егер препараттар 24 сағаттан аз сақталатын болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне 0,1% формальдегид қосылады. (0,1% формальдегидті PBS ерітіндісі 12,5 мкл IOTest 3 бекіту ерітіндісін (анық. A07800) 10 еселік концентрациясында 1 мл PBS ерітіндісін сұйылту арқылы алуға болады).
- Егер 2 сағат ішінде талдануы керек болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне формальдегид қосылмайды.

Ескертпе: барлық жағдайда препараттарды 2–8°C температурада, күн көзінен алыс жерде сақтау керек.

КҮТІЛЕТІН МӘНДЕР

Біздің зертханаларда 25 тиісті дені сау донорлардан жаңа алынған қан үлгілері жоғарыда сипатталған реагентпен өңделді. Осы реагентпен қызығушылық тудыратын оң оқиғаларды санау үшін алынған нәтижелер төмендегі кестеде келтірілген:

Оңтайлы нысана	Сан	Орташа мән (%)	SD	CV (%)
Лимфоциттер	25	13,51	5,57	41,25

Бұл мәндер тек ұсыну үшін арналған. Әр зертхана қалыпты донорлардың жергілікті популяциясынан күтілетін өзіндік мәндерді белгілеуі керек.

ӨНІМДІЛІК

Өнімділік жөніндегі деректер 24 сағаттық үлгілерді пайдаланып, жоғарыда сипатталған процедура арқылы алынады. Бұл үлгілер алдын ала антикоагулянт ретінде EDTA тұзы арқылы стерильді түтіктерге жиналады. Талдау иммундық бояудан соң 2 сағат ішінде жасалады.

ЕРЕКШЕЛІГІ

B9E9 (HRC20) клоны 1993 жылы АҚШ, Бостон қаласында өткен 5-ші HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens («Адам лейкоциттерінің дифференциация антигендері» атты HLDA семинары) кезінде CD20 антигеніне жатқызылды (WS коды: CD20.12, B бөлімі) (11).

ДӘЛДІК

Оң мәндердің пайызы жаңа алынған қанды қолдану арқылы анықталды. Әрбір үлгі CD20-Pacific Blue моноклоналды антидене реагентінің 2 топтамасын пайдаланып 2 аспапта 1 күн бойы күніне екі рет 4 рет талданды. Өлшемдер (% оң) Navios ағын цитометрінде жүргізілді. Талдау CLSI EP5-A2 әдісі негізінде жүргізілді: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Сандық өлшеу әдістерінің дәлдік өнімділігін бағалау).

Біздің қабылдау критерийлері әрбір популяция үшін өлшенген оң оқиғалардың санына байланысты:

- Оң оқиға болса <1500, CV <15%
- Оң оқиға болса >1500, CV <10%

Лимфоциттер							
Оң оқиғалар саны (Орташа мән) = 945							
	Аралық оператор	Цитометраралық	Топтама ішілік	Топтама аралық	Жүгіру арасында	Жүгіру ішінде	Жалпы
CV (%)	2,87	2,83	5,53	1,70	2,64	3,92	6,44
НӘТИЖЕЛЕР	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ДҰРЫСТЫҚ

CD20-Pacific Blue дұрыстығы Navios ағын цитометрінде өңделген жаңа алынған қан үлгілерінің жинағындағы, предикат ретінде анықтамалық реагентпен нәтижелерді салыстыру арқылы бағаланған. Сынақ пен анықтамалық реагент арасындағы ауытқу, сынақ нәтижелері арасындағы айырмашылық негізінде анықталған. Егер қателік рұқсат етілген қателер ауқымында болса немесе p-мәні айтарлықтай айырмашылықты көрсетпесе (>0,05), онда екі реагенттің сынау нәтижелері баламалы болып саналады.

Алынған нәтижелер келесі кестеде толық көрсетілген:

Донорлар саны = 25				
Оңтайлы нысана	Орташа мән Δ	Δ % Жасуша критерийлері	p-мәні	НӘТИЖЕЛЕР
Лимфоциттер	-0,65	<3	0,059	PASS

БОС СЫНАМА ШЕГІ ЖӘНЕ АНЫҚТАУ ШЕГІ

Зерттеу CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, клиникалық зертханалық өлшеу процедураларын анықтау мүмкіндігін бағалау) нұсқауына сәйкес жүргізілді. Анықтау шегі (LOD) – бұл рет-ретімен анықтауға болатын аналиттің ең төмен концентрациясы. Алынған нәтижелер келесі кестеде жинақталған:

Positive Target	Бос сынама шегі (жасуша/мкл)	Анықтау шегі (жасуша/мкл)
Лимфоциттер	2	3

ШЕКТЕУЛЕР

1. Цитометр дұрыс бапталмаған, флуоресценттенудің ағып кетуі дұрыс өтелмеген және аймақтар мұқият орналастырмаған жағдайда, ағын цитометриясы қате нәтижелер беруі мүмкін.
2. RBC лизис әдісін жуу қадамымен пайдаланған жөн, себебі бұл реагент «жуусыз» лизис әдістері үшін оңтайландырылмаған.
3. Жүргізілген процедуралар техникалық нұсқау брошюрасына сәйкес және тиісті зертханалық тәжірибемен үйлесімді болған жағдайда ғана дұрыс, әрі жаңғыртылуы мүмкін нәтижелерді алуға болады.
4. Осы реагенттің конъюгацияланған антиденесі арнайы сигнал мен арнайы емес сигналдың ең жақсы қатынасын қамтамасыз ететіндей калибрленген. Сондықтан әрбір сынақты жүргізгенде реагент көлемінің үлгі көлеміне қатынасын сақтау маңызды.
5. гиперлейкоцитоз жағдайында шамамен 5 x 10^9 лейкоцит/л (12) мәнін алу үшін PBS ерітіндісінде қанды сұйылтыңыз.
6. Кейбір жіті бүйрек жеткіліксіздігі немесе гемоглобинопатия сияқты аурулар жағдайында, эритроциттер лизисі баяу, толық емес немесе тіпті мүмкін емес болуы мүмкін. Бұл жағдайда бояудан бұрын тығыздық градиентін (мысалы, Ficoll) пайдаланып мононуклеарлы жасушаларды оқшаулап алу ұсынылады (13).
7. Адамға қарсы моноклоналды антиденелер терапиясымен емделген пациенттерде арнайы мақсатты антигендерді анықтау емдік антиденеңің ішінара немесе толық бұғатталуына байланысты төмендеуі немесе болмауы мүмкін.
8. Нәтижелер CD20-Pacific Blue пациенттің жалпы клиникалық деректері тұрғысынан түсіндірілуге тиіс, соның ішінде: симптомдар, клиникалық анамнез, қосымша сынақтардың деректері және басқа тиісті ақпарат.

Мысалдар мен анықтамалар алу үшін қосымшаны қараңыз.

САУДА БЕЛГІЛЕРІ

Beckman Coulter, стильденген логотип, сонымен қатар Beckman Coulter өнім мен қызмет көрсету белгілері — бұл АҚШ және басқа елдердегі Beckman Coulter, Inc. сауда белгілері немесе тіркелген сауда белгілері.

Pacific Blue — бұл Molecular Probes, Inc. компаниясының сауда белгісі.

ҚОСЫМША АҚПАРАТ

Еуропалық Одақтағы және бірдей реттеу режимі (зертханалық жағдайдағы медициналық диагностикалық құрылғылар туралы 2017/746/ЕО қаулысы) бар елдердегі пациент/пайдаланушы/үшінші тарап үшін; егер осы құрылғыны пайдалану кезінде немесе оны пайдалану нәтижесінде елеулі оқиға орын алса, өндірушіге және/немесе оның уәкілетті өкіліне және ұлттық органыңызға хабарлаңыз.

Қауіпсіздік пен өнімділік бойынша қорытынды мәліметтер EUDAMED дерекқорында қолжетімді: ec.europa.eu/tools/eudamed.

Өзгерту тарихы

AD ҚАЙТА ҚАРАУ:	Шығарылған күні: Қазан 2019

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AW	Наурыз 2022 ж.
Beckman Coulter ғаламдық таңбалау саясатына және IVD-R (ЕО) 2017/746 талаптарына сәйкес жасалған жаңартулар:	
Қосылған бөлімдер	«BSI 2797 нөмірі», «Мақсатты пайдаланушы», «Клиникалық маңызы», «Концентрациясы», «Анықтық», «Дұрыстық», «Бос сынама шегі және анықтау шегі», «Қосымша ақпарат», «Өзгерту тарихы».
Қосылған ақпарат	«Шектеулер» бөлімінен қараңыз
Фразалар және типографиялық жаңартулар	«Процедура», «Өнімділік», «Шектеулер», «Ескерту және сақтық шаралары» «Сақтау және тұрақтылық» бөлімдерін қараңыз.
Жойылған бөлімдер	«Клиникалық қолдану мысалы», «Реагенттер», «Зертханаішілік жаңғыртылу», «Сызықтық»
Жаңартылған бөлімдер	«Пайдалану мақсаты», «GHS қауіптер классификациясы», «Зақымдалу белгілері», «Процедура», «Қосымша».

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AX	Сәуір 2023
Жаңартылған бөлімдер	Қазақ тілін қосу
Жаңартылған бөлімдер	Сақтау және тұрақтылық

Қайта қаралған нұсқасы	AY
Қайта қаралған күні	Мамыр 2024
Жаңартылған аудармалар	**Клиникалық маңызы:**
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Қайта қаралған нұсқасы	AZ
Қайта қаралған күні	Шілде 2024
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Таңбалар пернесі

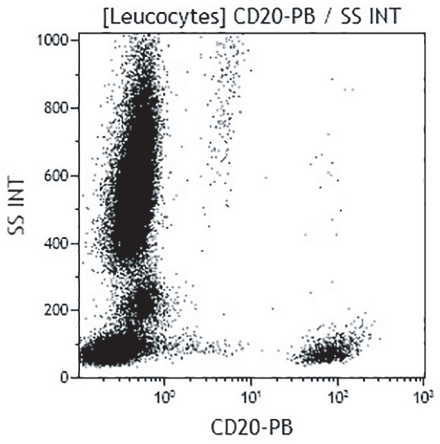
Таңбалар глоссарийі beckman.com/techdocs сайтында (құжат нөмірі: B60062) қолжетімді

APPENDIX

- EXAMPLES

Whole blood samples stained with IOTest CD20-Pacific Blue Conjugated Antibody.

Acquisition is performed with a Beckman Coulter Navios flow cytometer equipped with the Navios analysis software.



REFERENCES

1. N. Cruz-Rodriguez, A. L. Combita, L. J. Enciso, L. F. Raney, P. L. Pinzon, O. C. Lozano, A. M. Campos, N. Peñaloza, J. Solano, M. V. Herrera, J. Zabaleta, S. Quijano, "Prognostic stratification improvement by integrating ID1/ID3/IGJ gene expression signature and immunophenotypic profile in adult patients with B-ALL.", J. Exp. Clin. Cancer Res. 36, 37 (2017).
2. D. L. Mandelker, D. M. Dorfman, B. Li, O. Pozdnyakova, "Antigen expression patterns of MYC-rearranged versus non-MYC-rearranged B-cell lymphomas by flow cytometry.", Leuk. Lymphoma. 55, 2592–2596 (2014).
3. H. Shao, K. R. Calvo, M. Grönborg, P. R. Tembhare, R. J. Kreitman, M. Stetler-Stevenson, C. M. Yuan, "Distinguishing hairy cell leukemia variant from hairy cell leukemia: development and validation of diagnostic criteria.", Leuk. Res. 37, 401–409 (2013).
4. H. Lau, A. Nagy, S. K. Atwater, M. J. Cascio, R. S. Ohgami, "An integrated flow cytometry analysis of 286 mature B cell neoplasms identifies CD13 as a useful marker for diagnostic subtyping.", Int. J. Lab. Hematol. 40, 715–720 (2018).
5. P. R. Tembhare, G. Marti, A. Wiestner, H. Degheidy, M. Farooqui, R. J. Kreitman, G. A. Jasper, C. M. Yuan, D. Liewehr, D. Venzon, M. Stetler-Stevenson, "Quantification of expression of antigens targeted by antibody-based therapy in chronic lymphocytic leukemia.", Am. J. Clin. Pathol. 140, 813–818 (2013).
6. V. K. Prevodnik, J. Lavrenčak, M. Horvat, B. J. Novakovič, "The predictive significance of CD20 expression in B-cell lymphomas.", Diagn Pathol. 6, 33 (2011).
7. M. Y. Platt, M. E. DeLelys, F. I. Preffer, A. R. Sohani, "Flow cytometry is of limited utility in the early identification of “double-hit” B-cell lymphomas.", Cytometry B Clin Cytom. 84, 143–148 (2013).
8. J. Chovancová, T. Bernard, O. Stehlíková, D. Šálek, A. Janíková, J. Mayer, M. Doubek, "Detection of minimal residual disease in mantle cell lymphoma-establishment of novel eight-color flow cytometry approach.", Cytometry B Clin Cytom. 88, 92–100 (2015).
9. Y. Miura, N. Fukuhara, J. Yamamoto, K. Kohata, K. Ishizawa, R. Ichinohasama, H. Harigae, "Clinicopathological features of malignant lymphoma in Japan: the Miyagi Study.", Tohoku J. Exp. Med. 224, 151–160 (2011).
10. B. H. Davis, J.T. Holden, M. C. Bene, et al. "2006 Bethesda International Consensus Recommendations on the Flow Cytometric Immunophenotypic Analysis of Hematolymphoid Neoplasia: Medical Indications." Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 72B:S5-S13 (2007).
11. Zhou, L.J., Tedder, T.F., "CD20 Workshop panel report", 1995, Leucocyte Typing V, White Cell Differentiation Antigens. Schlossman, S.F., et al., Eds., Oxford University Press, 511-514.
12. H42-A2 Vol.27 No. 16. P30. Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry; Approved Guideline - Second Edition.
13. Ibrahim FF, Ghannam MM, Ali FM., "Effect of dialysis on erythrocyte membrane of chronically hemodialyzed patients"., 2002. Ren Fail., Nov;24(6):779-90.

IMMUNOTECH SAS 是贝克曼库尔特公司的旗下公司，地址：130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France，电话：+(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda
Alameda Rio Negro, 500, 15 andar, Torre B Alphaville Industrial
CEP 06.454-000 Barueri, São Paulo, Brasil
CNPJ: 42.160.812/0001-44 Telefone: 0800-771-8818

製造販売業者: ベックマン·コールター株式会社
〒135-0063
東京都江東区有明三丁目5 番7号
TOC有明ウエストタワー

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

 IMMUNOTECH SAS A Beckman Coulter Company, 130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France, +(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

BECKMAN COULTER
MADE IN France

CE 2797

IOTest
Conjugated Antibody
CD10-APC

REF B92400 100 tests; 1 mL, 10 µL / test

TABLE OF CONTENTS

English . . . 2
Français (France) (fr-fr) . . . 6
Deutsche (de-de) . . . 10
Italiano (it-it) . . . 14
Español (es-es) . . . 18
Português (Portugal) (pt-pt) . . . 22
Dansk (da-dk) . . . 26
Svenska (sv-se) . . . 30
Norsk (nb-no) . . . 34
Suomi (fi-fi) . . . 38
Ελληνικά (el-gr) . . . 42
日本語 (ja-jp) . . . 46
中文（中国）(zh-cn) . . . 50
Lietuvių (lt-lt) . . . 54
Magyar (hu-hu) . . . 58
Polski (pl-pl) . . . 62
Čeština (cs-cz) . . . 66
Slovák (sk-sk) . . . 70
한국어 (ko-kr) . . . 74
Türkçe (tr-tr) . . . 78
Русский (ru-ru) . . . 82
Eestlane (et-ee) . . . 86
Hrvatski (hr-hr) . . . 90
Български (bg-bg) . . . 94
中文（台灣）(zh-tw) . . . 98
Română (ro-ro) . . . 102
Slovenščina (sl-si) . . . 106
Srpski (sr-rs) . . . 110
Latviešu (lv-lv) . . . 114
Українська (uk-ua) . . . 118
Português (Brasil) (pt-br) . . . 122
Nederlands (nl-nl) . . . 126
Tiếng Việt (vi-vn) . . . 130
Қазақша (kk-kz) . . . 134
APPENDIX . . . 138
REFERENCES . . . 139

© 2024 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

	Specifications
Specificity	CD10
Clone	ALB1
Hybridoma	NS1 x balb/c
Immunogen	Human Leukemia cells
Immunoglobulin	IgG1
Species	Mouse
Purification	Affinity chromatography
Fluorochrome	Allophycocyanin (APC)
Molar ratio	APC / Ig: 0.5 - 1.5
λ excitation	633/638 nm
Emission Peak	660 nm
Buffer	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA and 0.1% NaN_3

IOTest
Conjugated Antibody
CD10-APC

REF B92400 100 tests; 1 mL, 10 µL / test

For *in vitro* diagnostic use.

INTENDED USE

This fluorochrome-conjugated antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the CD10 antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

PRINCIPLE

This test is based on the ability of specific monoclonal antibodies to bind to the antigenic determinants expressed by leucocytes.

Specific staining of the leucocytes is performed by incubating the sample with the IOTest reagent. The red cells are then removed by lysis and the leucocytes, which are unaffected by this process, are analyzed by flow cytometry.

The flow cytometer measures light diffusion and the fluorescence of cells. It makes possible the delimitation of the population of interest within the electronic window defined on a histogram, which correlates the orthogonal diffusion of light (Side Scatter or SS) and the diffusion of narrow-angle light (Forward Scatter or FS). Other histograms combining two of the different parameters available on the cytometer can be used as supports in the gating stage depending on the application chosen by the user.

The fluorescence of the delimited cells is analyzed in order to distinguish the positively-stained events from the unstained ones. The results are expressed as a percentage of positive events in relation to all the events acquired by the gating.

INTENDED USER

This product is intended for laboratory professional use.

CLINICAL RELEVANCE

The CD10-APC is a CD10 antibody used to identify and characterize cells expressing the CD10 antigen by flow cytometry. This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.

When used in combination with other markers, this product can be used in one or more of the following functions:

- To aid in the differential diagnosis of hematologically abnormal patients suspected of having hematopoietic neoplasm and to monitor patients with known hematopoietic neoplasm.
- To aid in the prognosis of patients having hematopoietic neoplasm.

See following references :

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

SAMPLES

Venous blood must be taken using sterile tubes containing an EDTA salt as the anticoagulant.

The samples should be kept at room temperature (18 – 25°C) and not shaken. The samples should be homogenized by gentle agitation prior to taking the test sample.

The samples must be analyzed within 24 hours of venipuncture.

CONCENTRATION

See lot specific Certificate of Analysis at www.beckman.com.

WARNING AND PRECAUTIONS

1. Do not use the reagent beyond the expiry date.
2. Do not freeze.
3. Let it come to room temperature (18 – 25°C) before use.
4. Minimize exposure to light.
5. Avoid microbial contamination of the reagents, or false results may occur.

6. Antibody solutions containing sodium azide (NaN_3) should be handled with care. Do not take internally and avoid all contact with the skin, mucosa and eyes.

   Moreover, in an acid medium, sodium azide can form the potentially dangerous hydrazoic acid. If it needs to be disposed of, it is recommended that the reagent be diluted in a large volume of water before pouring it into the drainage system so as to avoid the accumulation of sodium azide in metal pipes and to prevent the risk of explosion.
7. All blood samples must be considered as potentially infectious and must be handled with care (in particular: the wearing of protective gloves, gowns and goggles).
8. Never pipet by mouth, and avoid all contact of the samples with the skin, mucosa and eyes.
9. Blood tubes and disposable material used for handling should be disposed of in ad hoc containers intended for incineration.
10. Reagents and waste should be eliminated according to local requirements.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

SDS Safety Data Sheet is available at beckmancoulter.com/techdocs

STORAGE AND STABILITY

This reagent must be kept at between 2 and 8°C and protected from light, before and after the vial has been opened.

Closed vial shelf life per stability study: 943 days.

Stability of opened vial: the reagent is stable for 180 days.

EVIDENCE OF DETERIORATION

Any change in the physical appearance of the reagents may indicate deterioration and the reagent should not be used.

For additional information, or if damaged product is received, call Beckman Coulter Customer Service at 800-742-2345 (USA or Canada) or contact your local Beckman Coulter Representative.

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).
To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

MATERIALS NEEDED BUT NOT SUPPLIED WITH KIT:

- Sampling tubes and material necessary for sampling.
- Automatic pipettes with disposable tips for 10, 100 and 500 µL.
- Plastic haemolysis tubes.
- Red cell lysis reagent with washing stage after lysis. For example: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leucocyte fixation reagent. For example : IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800).
- Isotype control APC : IOTest reagent (Ref. IM2475).
- Buffer (PBS: 0.01 M sodium phosphate; 0.145 M sodium chloride; pH 7.2).
- Centrifuge.
- Automatic agitator (Vortex type).
- Flow cytometer.

PROCEDURE WITH VERSALYSE REAGENT

For each sample analyzed, in addition to the test tube, one control tube can be added in which the cells are mixed in the presence of the isotype control (Ref. IM2475).

1. Add 10 µL of specific IOTest conjugated antibody to each test tube and if necessary, 10 µL of the isotype control to each control tube.
2. Add 100 µL of the test sample to each tube. Vortex the tubes gently.
3. Incubate for 15 to 20 minutes at room temperature (18 – 25°C), protected from light.
4. Then perform lysis of the red cells. Refer to VersaLyse (Ref. A09777) leaflet and follow preferably the procedure called “with concomitant fixation”, which consists of adding 1 mL of the “Fix-and-Lyse” mixture prepared extemporaneously. Vortex immediately for one second and incubate for 10 minutes at room temperature, protected from light.
5. Centrifuge for 5 minutes at 150 x g at room temperature.
6. Remove the supernatant by aspiration.
7. Resuspend the cell pellet using 3 mL of PBS.
8. Repeat step 5.
9. Remove the supernatant by aspiration and resuspend the cell pellet using:

- 0.5 mL or 1 mL of PBS plus 0.1% of formaldehyde if the preparations are to be kept less than 24 hours. (A 0.1% formaldehyde PBS can be obtained by diluting 12.5 µL of the IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800) at its 10X concentration in 1 mL of PBS).
- 0.5 mL or 1 mL of PBS without formaldehyde, if the preparations are to be analyzed within 2 hours.

Note: In all cases, keep the preparations between 2 and 8°C and protected from light.

EXPECTED VALUES

In our laboratories, the whole blood samples of 25 apparently healthy donors were treated using the reagent described above. The results obtained for the count of the positive events of interest with this reagent are given in the table below :

Positive Target	Number	Mean (%)	SD	CV (%)
Granulocytes	25	98.08	1.99	2

These values are intended to be representative only. Each laboratory should establish its own expected values from the local population of normal donors.

PERFORMANCE

Performance data are obtained using the procedure described above on less than 24 hour-old blood samples previously collected in sterile tubes with EDTA salt as anticoagulant. Analysis is performed within 2 hours following immunostaining.

SPECIFICITY

The CALLA gene encodes a 100-kD type II transmembrane glycoprotein. The CALLA related DNA sequences are found on human chromosome 3J (10). CALLA, (CD10), was described as a surface enzyme expressed on early lymphoid progenitors and neutrophils, and identified as the zinc metalloprotease, neutral endopeptidase 24.11 (NEP, "enkephalinase"). The CD10 enzyme is known to hydrolyze a variety of biologically active peptides, including met-enkephalin, formyl-met-leu-phe (f-MLP), and substance P, which are involved in the process of cell differentiation and maturation.

The monoclonal antibody ALB1 was studied during the 1st HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens, held in Paris, France, 1982 (11).

PRECISION

The percent positive values were determined using Whole Blood. Each sample was run 4 times, twice a day for 1 day on 2 instruments using 2 lots of CD10-APC Monoclonal Antibody Reagents. Measurements (% positive) were made on Navios flow cytometer. Analysis was conducted based on the CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.

Our acceptance criteria is dependent on the number of positive events measured for each population:

- If positive event <1500, CV <15%
- If positive event >1500, CV <10%

Granulocytes							
Number of positive events (Mean) = 9259							
	Inter-Operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-run	Intra-run	Total
CV (%)	0.20	0.18	0.34	0.04	0.25	0.12	0.39
RESULTS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURACY

The accuracy of CD10-APC was assessed by comparing the results with a reference reagent as the predicate on a set of whole blood samples run on a Navios flow cytometer. The bias between test and reference reagent was determined based on the difference between test results. If the bias is within the allowable error range or the p-value indicates no significant difference (> 0.05), then test results for the two reagents are considered as equivalent.

The results obtained are summarized in the following table below:

Number of donors = 25				
Positive Target	Mean Δ	Δ % Cell criteria	p-value	RESULTS
Granulocytes	-0.51	<5	0.029	PASS

LIMIT OF BLANK AND LIMIT OF DETECTION

A study was conducted in accordance with CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures. The Limit of Detection (LOD) is the lowest concentration of analyte that can be consistently detected. Results obtained are summarized in the following table:

Positive Target	Limit of Blank (cell/µL)	Limit of Detection (cell/µL)
Granulocytes	2	3

LIMITATIONS

1. Flow cytometry may produce false results if the cytometer has not been aligned perfectly, if fluorescence leaks have not been correctly compensated for and if the regions have not been carefully positioned.
2. It is preferable to use a RBC lysis technique with a washing step, as this reagent has not been optimized for "no wash" lysis techniques.
3. Accurate and reproducible results will be obtained as long as the procedures used are in accordance with the technical insert leaflet and compatible with good laboratory practices.
4. The conjugated antibody of this reagent is calibrated so as to offer the best specific signal/non-specific signal ratio. Therefore, it is important to adhere to the reagent volume/sample volume ratio in every test.
5. In the case of a hyperleucocytosis, dilute the blood in PBS so as to obtain a value of approximately 5 x 10^9 leucocytes/L (12).
6. In certain disease states, such as severe renal failure or haemoglobinopathies, lysis of red cells may be slow, incomplete or even impossible. In this case, it is recommended to isolate mononucleated cells using a density gradient (Ficoll, for example) prior to staining (13).
7. In patients treated with anti-human monoclonal antibody therapies, detection of the specific targeted antigens may be diminished or absent due to partial or complete blocking by the therapeutic antibody.
8. The CD10-APC results should be interpreted in light of the total clinical presentation of the patient, including: symptoms, clinical history, data from additional tests, and other appropriate information.

See the Appendix for examples and references.

TRADEMARKS

Beckman Coulter, the stylized logo, and the Beckman Coulter product and service marks mentioned herein are trademarks or registered trademarks of Beckman Coulter, Inc. in the United States and other countries.

ADDITIONAL INFORMATION

For a patient/user/third party in the European Union and in countries with identical regulatory regime (Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices); if, during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorized representative and to your national authority.

The Summary of Safety and Performance is available from the EUDAMED database: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISION HISTORY

REVISION AD:	Release date : September 2019

REVISION	**Release Date**
AW	May 2022
Updates to comply with the Beckman Coulter Global labelling Policy and according to IVD-R (EU)2017/746 requirements:	
Added sections	BSI 2797 Number, Intended User, Clinical Relevance, Concentration, Precision, Accuracy, Limit of blank and limit of detection, Additional Information, Revision History.
Added information	See sections Limitations
Phrasing or typographic updates	See sections Procedure, Performance, Limitations, Warning and Precautions, Storage and Stability.
Removed sections	Example of clinical applications, Reagents, Intra-laboratory reproducibilty, Linearity
Updated sections	Intended Use, GHS Hazard Classification, Evidence of deterioration, Procedure, Appendix.

REVISION	**Release Date**
AX	April 2023
Updated sections	Add Kazakh
Updated sections	Storage and stability

Revised Version	AY
Revised Date	May 2024
Updated Translations	**Clinical relevance :**
Updated sections	Revision History

Revised Version	AZ
Revised Date	December 2024
Updated sections	Revision History
Updated Translations	Product name

Symbols Key

Glossary of Symbols is available at beckman.com/techdocs (document number B60062)

BECKMAN COULTER
MADE IN France

CE 2797

IOTest
Conjugated Antibody
Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

TABLE OF CONTENTS

English . . . 2
Français (France) (fr-fr) . . . 6
Deutsche (de-de) . . . 10
Italiano (it-it) . . . 14
Español (es-es) . . . 18
Português (Portugal) (pt-pt) . . . 22
Dansk (da-dk) . . . 26
Svenska (sv-se) . . . 30
Norsk (nb-no) . . . 34
Suomi (fi-fi) . . . 38
Ελληνικά (el-gr) . . . 42
日本語 (ja-jp) . . . 46
中文（中国）(zh-cn) . . . 50
Lietuvių (lt-lt) . . . 54
Magyar (hu-hu) . . . 58
Polski (pl-pl) . . . 62
Čeština (cs-cz) . . . 66
Slovák (sk-sk) . . . 70
한국어 (ko-kr) . . . 74
Türkçe (tr-tr) . . . 78
Русский (ru-ru) . . . 82
Eestlane (et-ee) . . . 86
Hrvatski (hr-hr) . . . 90
Български (bg-bg) . . . 94
中文（台灣）(zh-tw) . . . 98
Română (ro-ro) . . . 102
Slovenščina (sl-si) . . . 106
Srpski (sr-rs) . . . 110
Latviešu (lv-lv) . . . 114
Українська (uk-ua) . . . 118
Português (Brasil) (pt-br) . . . 122
Nederlands (nl-nl) . . . 126
Tiếng Việt (vi-vn) . . . 130
Қазақша (kk-kz) . . . 134
APPENDIX . . . 138
REFERENCES . . . 139

© 2024 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

	Specifications
Specificity	NG2
Clone	7.1
Hybridoma	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Readus cell line
Immunoglobulin	IgG1
Species	Mouse
Purification	Affinity Chromatography
Fluorochrome	R Phycoerythrin (PE)
Molar ratio	PE / Ig: 0.5 - 1.5
λ excitation	488 nm
Emission Peak	575 nm
Buffer	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA and 0.1% NaN_3

IOTest
Conjugated Antibody
Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

For *in vitro* diagnostic use.

INTENDED USE

This fluorochrome-conjugated antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the NG2 antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

PRINCIPLE

This test is based on the ability of specific monoclonal antibodies to bind to the antigenic determinants expressed by leucocytes.

Specific staining of the leucocytes is performed by incubating the sample with the IOTest reagent. The red cells are then removed by lysis and the leucocytes, which are unaffected by this process, are analyzed by flow cytometry.

The flow cytometer measures light diffusion and the fluorescence of cells. It makes possible the delimitation of the population of interest within the electronic window defined on a histogram, which correlates the orthogonal diffusion of light (Side Scatter or SS) and the diffusion of narrow-angle light (Forward Scatter or FS). Other histograms combining two of the different parameters available on the cytometer can be used as supports in the gating stage depending on the application chosen by the user.

The fluorescence of the delimited cells is analyzed in order to distinguish the positively-stained events from the unstained ones. The results are expressed as a percentage of positive events in relation to all the events acquired by the gating.

INTENDED USER

This product is intended for laboratory professional use.

CLINICAL RELEVANCE

The Anti-NG2-PE is a Anti-NG2 antibody used to identify and characterize cells expressing the NG2 antigen by flow cytometry. This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.

When used in combination with other markers, this product can be used in one or more of the following functions:

- To aid in the differential diagnosis of hematologically abnormal patients suspected of having hematopoietic neoplasm and to monitor patients with known hematopoietic neoplasm.
- To aid in the prognosis of patients having hematopoietic neoplasm.

See following references :

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

SAMPLES

Venous blood must be taken using sterile tubes containing an EDTA salt as the anticoagulant.

The samples should be kept at room temperature (18 – 25°C) and not shaken. The samples should be homogenized by gentle agitation prior to taking the test sample.

The samples must be analyzed within 24 hours of venipuncture.

WARNING AND PRECAUTIONS

1. Do not use the reagent beyond the expiry date.
2. Do not freeze.
3. Let it come to room temperature (18 – 25°C) before use.
4. Minimize exposure to light.
5. Avoid microbial contamination of the reagents, or false results may occur.
6. Antibody solutions containing sodium azide (NaN_3) should be handled with care. Do not take internally and avoid all contact with the skin, mucosa and eyes.

Moreover, in an acid medium, sodium azide can form the potentially dangerous hydrazoic acid. If it needs to be disposed of, it is recommended that the reagent be diluted in a large volume of water before pouring it into the drainage system so as to avoid the accumulation of sodium azide in metal pipes and to prevent the risk of explosion.

7. All blood samples must be considered as potentially infectious and must be handled with care (in particular: the wearing of protective gloves, gowns and goggles).
8. Never pipet by mouth, and avoid all contact of the samples with the skin, mucosa and eyes.
9. Blood tubes and disposable material used for handling should be disposed of in ad hoc containers intended for incineration.
10. Reagents and waste should be eliminated according to local requirements.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

SDS Safety Data Sheet is available at beckmancoulter.com/techdocs

STORAGE AND STABILITY

This reagent must be kept at between 2 and 8°C and protected from light, before and after the vial has been opened.

Closed vial shelf life per stability study: 1095 days.

Stability of opened vial: the reagent is stable for 180 days.

EVIDENCE OF DETERIORATION

Any change in the physical appearance of the reagents may indicate deterioration and the reagent should not be used.

For additional information, or if damaged product is received, call Beckman Coulter Customer Service at 800-742-2345 (USA or Canada) or contact your local Beckman Coulter Representative.

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).
To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

MATERIALS NEEDED BUT NOT SUPPLIED WITH KIT:

- Sampling tubes and material necessary for sampling.
- Automatic pipettes with disposable tips for 20, 100 and 500 µL.
- Plastic haemolysis tubes.
- Red cell lysis reagent with washing stage after lysis. For example: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leucocyte fixation reagent. For example : IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800).
- Isotype control PE : IOTest reagent (Ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0.01 M sodium phosphate; 0.145 M sodium chloride; pH 7.2).
- Centrifuge.
- Automatic agitator (Vortex type).
- Flow cytometer.

PROCEDURE WITH VERSALYSE REAGENT

For each sample analyzed, in addition to the test tube, one control tube can be added in which the cells are mixed in the presence of the isotype control (Ref. A07796).

1. Add 20 µL of specific IOTest conjugated antibody to each test tube and if necessary, 20 µL of the isotype control to each control tube.
2. Add 100 µL of the test sample to each tube. Vortex the tubes gently.
3. Incubate for 15 to 20 minutes at room temperature (18 – 25°C), protected from light.
4. Then perform lysis of the red cells. Refer to VersaLyse (Ref. A09777) leaflet and follow preferably the procedure called “with concomitant fixation”, which consists of adding 1 mL of the “Fix-and-Lyse” mixture prepared extemporaneously. Vortex immediately for one second and incubate for 10 minutes at room temperature, protected from light.
5. Centrifuge for 5 minutes at 150 x g at room temperature.
6. Remove the supernatant by aspiration.
7. Resuspend the cell pellet using 3 mL of PBS.
8. Repeat step 5.
9. Remove the supernatant by aspiration and resuspend the cell pellet using:

- 0.5 mL or 1 mL of PBS plus 0.1% of formaldehyde if the preparations are to be kept less than 24 hours. (A 0.1% formaldehyde PBS can be obtained by diluting 12.5 µL of the IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800) at its 10X concentration in 1 mL of PBS).
- 0.5 mL or 1 mL of PBS without formaldehyde, if the preparations are to be analyzed within 2 hours.

Note: In all cases, keep the preparations between 2 and 8°C and protected from light.

EXPECTED VALUES

There is no expected value relevant for this product.

PERFORMANCE

Performance data are obtained using the procedure described above on less than 24 hour-old blood samples previously collected in sterile tubes with EDTA salt as anticoagulant. Analysis is performed within 2 hours following immunostaining.

SPECIFICITY

Neuron glia antigen-2 (NG2), proteoglycan also known as chondroitin sulphate proteoglycan 4, or melanoma-associated chondroitin sulfate proteoglycan is a 250 kDa type-1 membrane glycoprotein expressed by many central nervous system (CNS) cells during development and differentiation and play important roles in angiogenesis, wound healing and tumor growth. The chondroitin sulfate proteoglycan class of molecules may be inhibitors of cell adhesion and migration (10) and may serve as barriers to cell migration in neural crest pathway. The 7.1 monoclonal antibody recognizes a cell-surface chondroitin sulfate proteoglycan molecule with a molecular weight of 200 – 220 kDa known as the human homologue of the rat NG2 antigen. The NG2 antigen is found on human glial cell populations (11). It is not expressed on normal hematopoietic cells.

PRECISION

The percent positive values were determined using Whole Blood spiked with positive cells. Each sample was run 4 times, twice a day for 1 day on 2 instruments using 2 lots of Anti-NG2-PE Monoclonal Antibody Reagents. Measurements (% positive) were made on Navios flow cytometer. Analysis was conducted based on the CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.

Our acceptance criteria is dependent on the number of positive events measured for each population:

- If positive event <1500, CV <15%
- If positive event >1500, CV <10%

Whole Blood spiked with HELA Cell line							
Number of positive events (Mean) = 4262							
	Inter-Operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-run	Intra-run	Total
CV (%)	1.00	3.03	8.11	0.97	7.83	1.87	8.71
RESULTS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURACY

The accuracy of Anti-NG2-PE was assessed by comparing the results with a reference reagent as the predicate on a set of whole blood samples spiked with positive cells run on a Navios flow cytometer. The bias between test and reference reagent was determined based on the difference between test results. If the bias is within the allowable error range or the p-value indicates no significant difference (> 0.05), then test results for the two reagents are considered as equivalent.

The results obtained are summarized in the following table below:

Number of donors = 25				
Positive Target	Mean Δ	Δ % Cell criteria	p-value	RESULTS
Whole Blood spiked with HELA Cell line	0.01	<5	0.978	PASS

LIMIT OF BLANK AND LIMIT OF DETECTION

A study was conducted in accordance with CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures. The Limit of Detection (LOD) is the lowest concentration of analyte that can be consistently detected. Results obtained are summarized in the following table:

Positive Target	Limit of Blank (cell/µL)	Limit of Detection (cell/µL)
HELA Cell line	1	3

LIMITATIONS

1. Flow cytometry may produce false results if the cytometer has not been aligned perfectly, if fluorescence leaks have not been correctly compensated for and if the regions have not been carefully positioned.
2. It is preferable to use a RBC lysis technique with a washing step, as this reagent has not been optimized for "no wash" lysis techniques.
3. Accurate and reproducible results will be obtained as long as the procedures used are in accordance with the technical insert leaflet and compatible with good laboratory practices.
4. The conjugated antibody of this reagent is calibrated so as to offer the best specific signal/non-specific signal ratio. Therefore, it is important to adhere to the reagent volume/sample volume ratio in every test.
5. In the case of a hyperleucocytosis, dilute the blood in PBS so as to obtain a value of approximately 5 x 10^9 leucocytes/L (12).
6. In certain disease states, such as severe renal failure or haemoglobinopathies, lysis of red cells may be slow, incomplete or even impossible. In this case, it is recommended to isolate mononucleated cells using a density gradient (Ficoll, for example) prior to staining (13).
7. In patients treated with anti-human monoclonal antibody therapies, detection of the specific targeted antigens may be diminished or absent due to partial or complete blocking by the therapeutic antibody.
8. The Anti-NG2-PE results should be interpreted in light of the total clinical presentation of the patient, including: symptoms, clinical history, data from additional tests, and other appropriate information.

See the Appendix for examples and references.

TRADEMARKS

Beckman Coulter, the stylized logo, and the Beckman Coulter product and service marks mentioned herein are trademarks or registered trademarks of Beckman Coulter, Inc. in the United States and other countries.

ADDITIONAL INFORMATION

For a patient/user/third party in the European Union and in countries with identical regulatory regime (Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices); if, during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorized representative and to your national authority.

The Summary of Safety and Performance is available from the EUDAMED database: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISION HISTORY

REVISION AD:	Release date : October 2019

REVISION	**Release Date**
AW	May 2022
Updates to comply with the Beckman Coulter Global labelling Policy and according to IVD-R (EU)2017/746 requirements:	
Added sections	BSI 2797 Number, Intended User, Clinical Relevance, Concentration, Precision, Accuracy, Limit of blank and limit of detection, Additional Information, Revision History.
Added information	See sections Limitations
Phrasing or typographic updates	See sections Procedure, Performance, Limitations, Warning and Precautions, Storage and Stability.
Removed sections	Example of clinical applications, Reagents, Intra-laboratory reproducibilty, Linearity
Updated sections	Intended Use, GHS Hazard Classification, Evidence of deterioration, Procedure, Appendix.

REVISION	**Release Date**
AX	April 2023
Updated sections	Add Kazakh
Updated sections	Storage and stability

Revised Version	AY
Revised Date	May 2024
Updated Translations	**Clinical relevance :**
Updated sections	Revision History

Revised Version	AZ
Revised Date	July 2024
Updated sections	Revision History

Symbols Key

Glossary of Symbols is available at beckman.com/techdocs (document number B60062)

	Spécifications
Spécificité	NG2
Clone	7,1
Hybridome	SP2/0 x balb/c
Immunogène	Readus cell line
Immunoglobuline	IgG1
Espèce	Souris
Purification	Chromatographie d'affinité
Fluorochrome	R Phycoerythrin (PE)
Rapport molaire	PE/Ig : 0,5 - 1,5
Excitation λ	488 nm
Pic d'émission	575 nm
Solution tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA et 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticorps conjugué Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Pour un usage diagnostique *in vitro.*

UTILISATION

Cet anticorps conjugué-fluorochrome permet l'identification qualitative non automatisée des populations de cellules exprimant l'antigène NG2 présent dans les échantillons biologiques humains à l'aide d'une cytométrie en flux (voir la section « Échantillons » ci-dessous).

PRINCIPE

Ce test est fondé sur la capacité d'anticorps monoclonaux spécifiques de se lier à des déterminants antigéniques exprimés par les leucocytes.

Une coloration spécifique des leucocytes est effectuée en incubant l'échantillon avec le réactif IOTest. Les globules rouges sont ensuite supprimés par lyses et les leucocytes, qui ne sont pas affectés par cette procédure, sont analysés par cytométrie en flux.

Le cytomètre en flux mesure la diffusion de la lumière et la fluorescence des cellules. Il rend possible la délimitation de la population d'intérêt au sein de la fenêtre électronique définie sur un histogramme, qui met en corrélation la diffusion orthogonale de la lumière (diffusion latérale ou SS) et la diffusion de la lumière en angle étroit (dispersion avant ou FS). D'autres histogrammes combinant deux des différents paramètres disponibles sur le cytomètre peuvent être utilisés comme supports dans la phase de gating en fonction de l'application choisie par l'utilisateur.

La fluorescence des cellules délimitées est analysée de manière à distinguer les événements colorés positifs de ceux qui ne le sont pas. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'événements positifs par rapport à tous les événements acquis grâce à la méthode de gating.

UTILISATEUR PRÉVU

Ce produit est destiné à un usage professionnel en laboratoire.

PERTINENCE CLINIQUE

Le Anti-NG2-PE est un anticorps Anti-NG2 utilisé pour identifier et caractériser les cellules exprimant l'antigène NG2 par cytométrie en flux. Ce produit seul ne peut pas et n'est pas destiné à tirer des conclusions diagnostiques.

Lorsqu'il est utilisé conjointement avec d'autres marqueurs, ce produit peut être utilisé pour l'une ou plusieurs des fonctions suivantes :

- Aider au diagnostic différentiel des patients ayant une hématologie anormale et suspectés d'être atteints d'un néoplasme hématopoïétique et surveiller les patients atteints d'un néoplasme hématopoïétique connu.
- Faciliter le prognostic des patients ayant un néoplasme hématopoïétique.

Voir les références suivantes :

1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 ; 7 ; 8 ; 9

ÉCHANTILLONS

Le sang veineux doit être prélevé avec des tubes stériles contenant un sel EDTA comme anticoagulant.

Les échantillons doivent être conservés à température ambiante (18–25 °C) et ne doivent pas être agités. Les échantillons doivent être homogénéisés par agitation douce avant de prélever l'échantillon de test.

Les échantillons doivent être analysés dans les 24 heures qui suivent la ponction veineuse.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Ne pas utiliser le réactif au-delà de la date de péremption.
2. Ne pas congeler.
3. Laisser le réactif passer à la température ambiante (18–25 °C) avant de l'utiliser.
4. Minimiser l'exposition à la lumière.
5. Éviter la contamination microbienne des réactifs, ou des résultats erronés peuvent se produire.
6. Les solutions d'anticorps contenant de l'azide de sodium (NaN_3) doivent être manipulées avec précautions. Ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau, les muqueuses et les yeux.

   En outre, dans un milieu acide, l'azide de sodium peut former le potentiellement dangereux acide hydrazoïque. S'il doit être éliminé, il est recommandé de diluer le réactif dans un grand volume d'eau avant de le verser dans le système de drainage afin d'éviter l'accumulation d'azide de sodium dans les tubes métalliques et de prévenir le risque d'explosion.

7. Tous les échantillons de sang doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés avec soin (en particulier : port de gants, de blouses et de lunettes de protection).
8. Ne jamais pipetter avec la bouche et éviter tout contact des échantillons avec la peau, les muqueuses et les yeux.
9. Les tubes de prélèvement sanguin et les matériaux jetables utilisés pour la manipulation doivent être éliminés dans des conteneurs appropriés prévus pour incinération.
10. Les réactifs et les déchets doivent être éliminés conformément aux exigences locales.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux

SDS La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVATION ET STABILITÉ

Ce réactif doit être conservé entre 2 et 8 °C, à l'abri de la lumière, avant et après l'ouverture du flacon.

Durée de conservation du flacon fermé selon l'étude de stabilité : 1095 jours.

Stabilité du flacon ouvert : le réactif est stable pendant 180 jours.

PREUVE DE DÉTÉRIORATION

Tout changement de l'apparence physique des réactifs peut indiquer une détérioration et le réactif ne doit pas être utilisé.

Pour plus de renseignements ou si un produit défectueux est livré, appeler le service client de Beckman Coulter au 800-742-2345 (USA ou Canada), ou votre représentant de Beckman Coulter local.

CONTENU

Les agents de conservation à base d'azide de sodium peuvent former des composés explosifs dans les conduites d'évacuation métalliques. Voir le bulletin NIOSH : Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Dangers d'explosion de l'azide).
Pour éviter l'accumulation potentielle des composés d'azide, rincer les tuyaux d'évacuation à l'eau après l'élimination de réactifs non dilués. L'élimination de l'azide de sodium doit se faire conformément aux réglementations locales en vigueur.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI AVEC CE COFFRET:

- Les tubes d'échantillonnage et le matériel nécessaires pour l'échantillonnage.
- Pipettes automatiques aux embouts jetables pour 20, 100 et 500 µL.
- Tubes d'hémolyse en plastique.
- Réactif de lyse des érythrocytes avec étape de lavage post-lyse. Par exemple : VersaLyse (Réf. A09777).
- Réactif de fixation de leucocyte. Par exemple : Solution fixative IOTest 3 (Réf. A07800).
- Contrôle d'isotype PE : Réactif IOTest (Réf. A07796).
- Tampon (PBS : 0,01 M phosphate de sodium ; 0,145 M chlorure de sodium ; pH 7,2).
- Centrifugeuse.
- Agitateur automatique (type vortex).
- Cytomètre en flux.

PROCÉDURE AVEC RÉACTIF VERSALYSE

Pour chaque échantillon analysé, en plus du tube de test, un tube de contrôle peut être ajouté dans lequel les cellules sont mélangées en présence du contrôle isotypique (Réf. A07796).

1. Ajouter 20 µL d'anticorps conjugué spécifique IOTest à chaque tube de test et si nécessaire,20 µL de contrôle isotypique dans chaque tube de contrôle.
2. Ajouter 100 µL de l'échantillon à tester dans chaque tube. Vortexer doucement les tubes.
3. Incuber pendant 15 à 20 minutes à température ambiante (18–25 °C), à l'abri de la lumière.
4. Puis effectuer la lyse des globules rouges. Consulter la notice VersaLyse (Réf. A09777) et suivre de préférence la procédure appelée « with concomitant fixation » (avec fixation concomitante), qui consiste à ajouter 1 mL du mélange « Fixer et Lyser » préparé à n'importe quel moment. Vortexer immédiatement pendant une seconde et incuber pendant 10 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière.
5. Centrifuger pendant 5 minutes à 150 x g à température ambiante.
6. Retirer le surnageant par aspiration.
7. Remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant 3 mL de PBS.
8. Répéter l'étape 5.
9. Éliminer le liquide surnageant par aspiration et remettre le culot cellulaire en suspension en utilisant :

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS plus 0,1 % de formaldéhyde si les préparations doivent être conservées moins de 24 heures. (Un PBS à 0,1 % de formaldéhyde peut être obtenu en diluant 12,5 µL de solution de fixation IOTest 3 (Réf. A07800) à 10 fois sa concentration dans 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sans formaldéhyde, si les préparations doivent être analysées dans les 2 heures.

Remarque : dans tous les cas, conserver les préparations entre 2 et 8 °C et à l'abri de la lumière.

VALEURS ATTENDUES

Il n'y a pas de valeur attendue pertinente pour ce produit.

PERFORMANCE

Les données de performance sont obtenues à l'aide de la procédure décrite ci-dessus sur des échantillons de sang de moins de 24 heures préalablement collectés dans des tubes stériles contenant du sel EDTA comme anticoagulant. L'analyse est effectuée dans les 2 heures suivant l'immunocoloration.

SPÉCIFICITÉ

L'antigène neural/glial 2 (NG2), un protéoglycane également connu sous le nom de protéoglycane chondroïtine sulfate 4, ou de protéoglycane chondroïtine sulfate associé aux mélanomes est une glycoprotéine membranaire de type 1, d'une masse moléculaire de 250 kDa, exprimée par de nombreuses cellules du système nerveux central (SNC) au cours de leur développement et de leur différenciation, qui joue un rôle important dans l'angiogénèse, la guérison des blessures et la croissance des tumeurs. Les molécules de la classe des protéoglycanes chondroïtine sulfate peuvent jouer un rôle d'inhibiteur de l'adhésion et de la migration cellulaire (10) et peuvent faire office de barrière physique à la migration cellulaire dans le parcours de la crête neurale. L'anticorps monoclonal 7.1 reconnaît une molécule protéoglycane chondroïtine sulfate d'un poids moléculaire de 200–220 kDa présente à la surface des cellules et connue comme étant l'homologue humain de l'antigène NG2 chez le rat. On retrouve l'antigène NG2 sur les populations de cellules gliales humaines (11). Il n'est pas exprimé sur les cellules hématopoïétiques normales.

PRÉCISION

Les valeurs de percentile positives ont été déterminées à l'aide de sang total injecté de cellules positives. Chaque échantillon a été analysé 4 fois, deux fois par jour pendant 1 jour sur 2 instruments à l'aide de 2 lots de réactifs d'anticorps monoclonal Anti-NG2-PE. Les mesures (% positif) ont été effectuées sur le cytomètre en flux Navios. L'analyse a été conduite conformément au document CLSI Méthode EP5-A2 : Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Évaluation de la performance de précision des méthodes de mesures quantitatives).

Notre critère d'acceptation est dépendant du nombre d'événements positifs mesurés pour chaque population :

- Si événement positif < 1 500, CV < 15 %
- Si événement positif > 1 500, CV < 10 %

Sang total injecté de ligne de cellules HELA							
Nombre d'événements positifs (Moyenne) = 4262							
	Inter-opérateur	Inter-cytomètre	Intra-lot	Inter-lot	Inter-analyse	Intra-analyse	Total
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
RÉSULTATS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUDE

L'exactitude de Anti-NG2-PE a été évaluée en comparant les résultats avec un réactif de référence comme prédicat sur un ensemble d'échantillons de sang total injecté de cellules positives analysé sur un cytomètre en flux Navios. L'écart systématique entre le test et le réactif de référence a été déterminé en fonction de la différence entre les résultats du test. Si l'écart systématique se situe dans la plage d'erreurs autorisée ou que la valeur p n'indique aucune différence significative (> 0,05), alors les résultats du test pour les deux réactifs sont considérés comme équivalent.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Nombre de donneurs = 25				
Cible positive	Moyenne Δ	Critères de cellules Δ %	Valeur-p	RÉSULTATS
Sang total injecté de ligne de cellules HELA	0,01	<5	0,978	PASS

LIMITE DU BLANC ET LIMITE DE DÉTECTION

Une étude a été conduite conformément au document CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Évaluation des capacités de détection des procédures de mesures biologiques cliniques). La limite de détection (LOD) est la concentration la plus basse d'analyte qui peut être systématiquement détectée. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Positive Target	Limite du blanc (cellules/µL)	Limite de détection (cellules/µL)
HELA Ligne de cellule	1	3

LIMITES

1. La cytométrie en flux peut produire des résultats erronés si le cytomètre n'a pas été parfaitement aligné, si les fuites de fluorescence n'ont pas été correctement compensées et si les régions n'ont pas été soigneusement positionnées.
2. Il est préférable d'utiliser une technique de lyse des GR comprenant une étape de lavage, comme ce réactif n'a pas été optimisé pour les techniques de lyse « sans lavage ».
3. Des résultats précis et reproductibles seront obtenus tant que les procédures utilisées sont en conformité avec la notice technique et compatibles avec les bonnes pratiques de laboratoire.
4. L'anticorps conjugué de ce réactif est étalonné de manière à offrir le meilleur ratio de signal spécifique/signal non spécifique. Par conséquent, il est important de respecter le ratio de volume de réactif/volume d'échantillon à chaque test.
5. En cas d'hyperleucocytose, diluer le sang dans du PBS de façon à obtenir une valeur d'approximativement 5 x 10^9 leucocytes/L (12).
6. Dans certains états pathologiques, tels qu'une grave insuffisance rénale ou une hémoglobinopathie, la lyse des globules rouges peut être lente, incomplète ou même impossible. Dans ce cas, il est recommandé d'isoler les cellules mononucléées à l'aide d'un gradient de densité (Ficoll, par exemple) avant la coloration (13).
7. Chez les patients traités par thérapie d'anticorps monoclonal anti-humain, la détection d'antigènes ciblés spécifiques peut être diminuée ou absente en raison d'un blocage partiel ou total par l'anticorps thérapeutique.
8. Les résultats de Anti-NG2-PE doivent être interprétés à la lumière du tableau clinique complet du patient, y compris : les symptômes, l'anamnèse, les résultats de tests supplémentaires et toute autre information appropriée.

Voir l'annexe pour des exemples et des références.

MARQUES

Beckman Coulter, le logo stylisé et les marques des produits et des services Beckman Coulter mentionnées ici sont des marques ou des marques déposées de Beckman Coulter, Inc. aux États-Unis et dans d'autres pays.

INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES

Pour un patient/utilisateur/tiers de l'Union européenne et des pays ayant le même régime réglementaire (Règlement 2017/746/UE relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro) ; si, lors de l'utilisation de ce dispositif ou suite à son utilisation, un incident important se produit, veuillez le rapporter au fabricant et/ou à son représentant autorisé et à l'autorité nationale de votre pays.

Le Summary of Safety and Performance (Résumé de sécurité et de performance) est disponible sur la base de données EUDAMED : ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

RÉVISION AD :	Date de publication : octobre 2019

RÉVISION	**Date de publication**
AW	Mai 2022
Mises à jour pour se conformer aux exigences de la politique d'étiquetage générale de Beckman Coulter et aux exigences IVD-R (UE)2017/746 :	
Ajout de sections	Numéro BSI 2797, Utilisateur prévu, Pertinence clinique, Concentration, Exactitude, Précision, Limite du blanc et limite de détection, Informations supplémentaires, Historique de révisions.
Ajout d'informations	Voir les sections Limites
Mises à jour typographiques et de formulations	Voir les sections Procédure, Performance, Limites, Avertissement et précautions, Conservation et stabilité.
Suppression de sections	Exemple d'applications cliniques, réactifs, reproductibilité intra-laboratoire, linéarité
Sections mises à jour	Utilisation, Classification des risques SGH, Preuve de détérioration, Procédure, Annexe.

RÉVISION	**Date de publication**
AX	Avril 2023
Sections mises à jour	Ajouter le kazakh
Sections mises à jour	Conservation et stabilité

Version révisée	AY
Date de révision	Mai 2024
Traductions mises à jour	**Pertinence clinique :**
Sections mises à jour	Historique des révisions

Version révisée	AZ
Date de révision	Juillet 2024
Sections mises à jour	Historique des révisions

Légende des symboles

Un glossaire des symboles est disponible sur beckmancoulter.com/techdocs (document numéro B60062)

	Spezifikationen
Spezifität	NG2
Klon	7,1
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Readus cell line
Immunglobulin	IgG1
Spezies	Maus
Aufreinigung	Affinitätschromatografie
Fluorochrom	R Phycoerythrin (PE)
Molverhältnis	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-Anregung	488 nm
Emissionspeak	575 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA und 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugierter Antikörper Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20 µL/Test

***In-vitro*-Diagnostikum.**

VERWENDUNGSZWECK

Dieser mit einem Fluorochrom konjugierte Antikörper ermöglicht mithilfe der Durchflusszytometrie eine qualitative und nicht automatisierte Identifikation von Zellpopulationen, die das NG2-Antigen exprimieren, das in biologischen Proben menschlicher Herkunft vorhanden ist (siehe den Abschnitt „Proben“ unten).

PRINZIP

Dieser Test basiert auf der Fähigkeit bestimmter monoklonaler Antikörper, an die durch Leukozyten exprimierten antigenen Determinanten zu binden.

Die spezifische Färbung der Leukozyten erfolgt durch Inkubation der Probe mit dem IOTest-Reagenz. Die Erythrozyten können dann mittels Lyse entfernt werden. Die von diesem Vorgang unberührten Leukozyten werden mittels Durchflusszytometrie analysiert.

Das Durchflusszytometer misst die Lichtstreuung und die Fluoreszenz der Zellen. Es ermöglicht die Abgrenzung der gewünschten Population innerhalb des auf einem Histogramm definierten elektronischen Fensters, welches die orthogonale Lichtstreuung (Seitwärtsstreuung, SW) und die Streuung des Lichts im flachen Winkel (Vorwärtsstreuung, VW) in Beziehung zueinander setzt. Andere Histogramme, die zwei der auf dem Zytometer verfügbaren Parameter kombinieren, können zur Unterstützung beim Gating eingesetzt werden, je nachdem welche Anwendung der Benutzer ausgewählt hat.

Die Fluoreszenz der einzelnen Zellen wird analysiert, um die positiv angefärbten Ereignisse von den nicht angefärbten zu unterscheiden. Die Ergebnisse werden als Prozentsatz positiver Ereignisse relativ zu allen durch das Gating erfassten Ereignissen angegeben.

VORGESEHENER BENUTZER

Dieses Produkt ist für den Einsatz durch Laborfachkräfte vorgesehen.

KLINISCHE RELEVANZ

Anti-NG2-PE ist ein Anti-NG2-Antikörper zur durchflusszytometrischen Identifikation und Charakterisierung von Zellen, die das NG2-Antigen exprimieren. Es ist weder möglich noch vorgesehen, alleine anhand dieses Produkts zu einer diagnostischen Schlussfolgerung zu kommen.

Bei Verwendung in Verbindung mit anderen Markern kann dieses Produkt für einen oder mehrere der folgenden Zwecke eingesetzt werden:

- Als Hilfsmittel zur Differenzialdiagnose von hämatologisch anormalen Patienten mit Verdacht auf ein hämatopoetisches Neoplasma und zur Überwachung von Patienten mit bestätigtem hämatopoetischem Neoplasma.
- Als Hilfsmittel bei der Prognose für Patienten mit hämatopoetischem Neoplasma.

Siehe die nachstehenden Literaturhinweise:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

PROBEN

Venöses Blut muss mit sterilen Röhrchen entnommen werden, die ein EDTA-Salz als Antikoagulanz enthalten.

Die Proben bei Raumtemperatur (18–25 °C) aufbewahren und nicht schütteln. Die Proben vor Entnahme der Testprobe durch vorsichtiges Schütteln homogenisieren.

Die Proben müssen innerhalb von 24 Stunden analysiert werden.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Das Reagenz nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden.
2. Nicht einfrieren.
3. Vor der Verwendung auf Raumtemperatur (18–25 °C) bringen.
4. Vor Licht schützen.
5. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien muss vermieden werden, damit kein falsches Ergebnis erzielt wird.
6. Antikörperlösungen, die Natriumazid (NaN_3) enthalten, vorsichtig handhaben. Nicht einnehmen und Berührungen mit Haut, Schleimhäuten und Augen vermeiden.

   Zudem kann Natriumazid in einem sauren Medium zur Bildung potenziell gefährlicher Stickstoffwasserstoffsäure führen. Zur Entsorgung des Reagenzes wird empfohlen, das Reagenz mit viel Wasser zu verdünnen, bevor es in das Abwassersystem gegossen wird, um einer Ansammlung von Natriumazid in den Metallrohren und dem Risiko einer Explosion vorzubeugen.

7. Blutproben sind als potenziell infektiös zu betrachten und müssen mit Vorsicht gehandhabt werden (insbesondere durch Tragen von Schutzhandschuhen, -kittel und -brille).
8. Niemals mit dem Mund pipettieren und jeglichen Kontakt der Proben mit Haut, Schleimhaut und Augen vermeiden.
9. Blutrährchen und Einwegmaterial, das zur Handhabung verwendet wird, müssen in dafür vorgesehenen, für die Verbrennung bestimmten Behältern entsorgt werden.
10. Reagenzien und Abfälle sind entsprechend den örtlichen Anforderungen zu entsorgen.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft

SDS Das Sicherheitsdatenblatt ist auf beckmancoulter.com/techdocs verfügbar.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Dieses Reagenz muss vor und nach dem Öffnen des Fläschchens lichtgeschützt zwischen 2 und 8 °C gelagert werden.

Haltbarkeit der geschlossenen Durchstechflasche gemäß Stabilitätsstudie: 1095 Tage.

Stabilität geöffneter Fläschchen: Das Reagenz ist 180 Tage lang stabil.

VERFALLSANZEICHEN

Ein verändertes Aussehen der Reagenzien kann ein Verfallsanzeichen sein. Entsprechende Reagenzien dürfen nicht verwendet werden.

Wenn Sie weitere Informationen wünschen oder falls das Produkt beschädigt bei Ihnen eintrifft, setzen Sie sich (innerhalb der USA und Kanada) unter der Rufnummer 800-742-2345 mit dem Kundendienst von Beckman Coulter bzw. außerhalb dieser Länder mit dem für Sie zuständigen Beckman Coulter-Mitarbeiter in Verbindung.

INHALT

Natriumazid als Konservierungsmittel kann in metallischen Abflussleitungen explosive Verbindungen bilden. Siehe NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (NIOSH-Bulletin: Gefahr durch explosive Azide).
Um eine mögliche Akkumulation von Azidverbindungen zu vermeiden, die Abwasserrohre nach der Entsorgung von unverdünntem Reagenz mit Wasser spülen. Natriumazid muss entsprechend den örtlichen behördlichen Vorschriften entsorgt werden.

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT IM KIT ENTHALTENE ARTIKEL:

- Probenahmeröhrchen und für die Probenahme benötigte Materialien.
- Automatische Pipetten mit Einwegspritzen für 20, 100 und 500 µL.
- Hämolyseröhrchen aus Kunststoff.
- Reagenz zur Lyse der Erythrozyten mit Waschstufe nach der Lyse. Beispiel: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagenz zur Leukozytenfixierung. Beispiel: IOTest 3-Fixierungslösung (Ref. A07800).
- Isotypkontrolle PE: IOTest-Reagenz (Ref. A07796).
- Puffer (PBS: 0,01 M Natriumphosphat; 0,145 M Natriumchlorid; pH 7,2).
- Zentrifuge.
- Automatisches Mischgerät (Typ Vortex-Mischer).
- Durchflusszytometer.

VERFAHREN MIT VERSALYSE-REAGENZ

Für jede analysierte Probe kann zusätzlich zum Teströhrchen noch ein Kontrollröhrchen verwendet werden, in dem die Zellen in Gegenwart der Isotypkontrolle (Ref. A07796) gemischt werden.

1. 20 µL des spezifischen konjugierten IOTest-Antikörpers in jedes Teströhrchen und bei Bedarf 20 µL der Isotypkontrolle in jedes Kontrollröhrchen geben.
2. 100 µL der Testprobe in jedes Röhrchen geben. Die Röhrchen sachte mittels Vortex-Mischer mischen.
3. Bei Raumtemperatur (18–25 °C) 15 bis 20 Minuten lang lichtgeschützt inkubieren.
4. Im Anschluss die Erythrozyten lysieren. Das Merkblatt für VersaLyse (Ref. A09777) beachten und vorzugsweise das Verfahren mit dem Titel „with concomitant fixation“ (mit gleichzeitiger Fixierung) befolgen, das eine Zugabe von 1 mL des spontan zubereiteten „Fix-and-Lyse“(Fixierung und Lyse)-Gemisches vorsieht. Sofort eine Sekunde lang auf dem Vortex-Mischer mischen und 10 Minuten lang lichtgeschützt bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Bei 150 x g 5 Minuten lang bei Raumtemperatur zentrifugieren.
6. Den Überstand absaugen.
7. Das Zellpellet in 3 mL PBS resuspendieren.
8. Schritt 5 wiederholen.
9. Den Überstand absaugen und das Zellpellet resuspendieren mit:

- 0,5 mL oder 1 mL PBS plus 0,1 % Formaldehyd, wenn die Präparate weniger als 24 Stunden aufbewahrt werden sollen. (Ein 0,1%iges Formaldehyd-PBS-Gemisch kann hergestellt werden, indem 12,5 µL der IOTest 3-Fixierlösung (Ref. A07800) bei 10-facher Konzentration in 1 mL PBS verdünnt werden.)
- 0,5 mL oder 1 mL PBS ohne Formaldehyd, wenn die Präparate innerhalb von weniger als 2 Stunden analysiert werden sollen.

Hinweis: Die Präparate in jedem Fall zwischen 2 und 8 °C und vor Licht geschützt aufbewahren.

ERWARTETE WERTE

Für dieses Produkt gibt es keinen relevanten erwarteten Wert.

LEISTUNG

Leistungsdaten werden unter Anwendung des oben beschriebenen Verfahrens mit weniger als 24 Stunden alten Blutproben ermittelt, die zuvor in sterile Röhrchen mit EDTA-Salz als Antikoagulanz entnommen wurden. Die Analyse erfolgt innerhalb von 2 Stunden nach der Immunfärbung.

SPEZIFITÄT

Das Neuron-Glia-Antigen-2 (NG2), ein Proteoglykan, das auch als Chondroitinsulfat-Proteoglykan 4 oder melanomassoziiertes Chondroitinsulfat-Proteoglykan bekannt ist, ist ein 250-kDa-Membranglykoprotein des Typs 1, das von vielen Zellen des zentralen Nervensystems (ZNS) während der Entwicklung und Differenzierung exprimiert wird und entscheidende Rollen bei der Angiogenese, Wundheilung und dem Tumorwachstum spielt. Die Chondroitinsulfat-Proteoglykan-Klasse an Molekülen kann als Inhibitor für die Zelladhäsion und -migration (10) sowie als Barriere für die Zellmigrationen bei Neuralleistenpfaden dienen. Der monoklonale Antikörper 7.1 erkennt ein Chondroitinsulfat-Proteoglykan-Molekül auf der Zelloberfläche mit einem Molekulargewicht von 200–220 kDa, bekannt als das menschliche Homolog des NG2-Antigens von Ratten. Das NG2-Antigen ist in menschlichen Glial-Zellpopulationen vorzufinden (11). Es wird nicht in normalen hämatopoetischen Zellen exprimiert.

PRÄZISION

Die prozentualen positiven Werte wurden unter Verwendung von mit positiven Zellen angereichertem Vollblut bestimmt. Jede Probe wurde zweimal täglich 1 Tag lang unter Verwendung von 2 Chargen der Reagenzien mit dem monoklonalen Antikörper Anti-NG2-PE 4 Mal auf 2 Instrumenten analysiert. Messungen (% positiv) wurden mit dem Navios-Durchflusszytometer vorgenommen. Die Analyse folgte den Vorgaben der CLSI-Methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Beurteilung der Präzisionsleistung von quantitativen Messmethoden).

Unsere Akzeptanzkriterien sind abhängig von der Anzahl an positiven Ereignissen, die für jede Population gemessen werden:

- Wenn positives Ereignis < 1 500, VK < 15 %
- Wenn positives Ereignis > 1 500, VK < 10 %

Mit HELA-Zelllinie angereichertes Vollblut							
Anzahl der positiven Ereignisse (Mittelwert) = 4262							
	Zwischen Bedienern	Zwischen Durchflusszytometern	Innerhalb einer Charge	Zwischen Chargen	Zwischen Läufen	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
VK (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
ERGEBNISSE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit von Anti-NG2-PE wurde anhand eines Vergleichs der Ergebnisse mit einem Referenzreagenz als Prädikat für einen Satz aus mit positiven Zellen angereicherten Vollblutproben bewertet, die auf einem Navios-Durchflusszytometer analysiert wurden. Die Abweichung zwischen Test- und Referenzreagenz wurde auf der Grundlage der Differenz zwischen Testergebnissen bestimmt. Sollte die Abweichung innerhalb des zulässigen Fehlerbereichs liegen oder der p-Wert keine signifikante Differenz (> 0,05) nahelegen, gelten die Testergebnisse für die beiden Reagenzien als gleichwertig.

Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Anzahl der Spender = 25				
Positives Ziel	Mittelwert Δ	Δ % Zellkriterien	p-Wert	ERGEBNISSE
Mit HELA-Zelllinie angereichertes Vollblut	0,01	<5	0,978	PASS

GRENZWERT FÜR LEERWERT UND NACHWEISGRENZE

Es wurde eine Studie gemäß CLSI-Dokument EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluierung des Detektionsvermögens von klinischen Labormessverfahren), durchgeführt. Die Nachweisgrenze (LOD) ist die niedrigste Konzentration des Analyten, die durchweg nachgewiesen werden kann. Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Positive Target	Grenzwert für Leerwert (Zelle/µL)	Nachweisgrenze (Zelle/µL)
HELA Zelllinie	1	3

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Die Durchflusszytometrie kann falsche Ergebnisse liefern, wenn das Zytometer nicht perfekt ausgerichtet wurde, wenn Fluoreszenzlecks nicht korrekt kompensiert wurden und wenn die Bereiche nicht sorgfältig positioniert wurden.
2. Vorzugsweise sollte eine ERY-Lysetechnik mit einem Waschschritt angewandt werden, da dieses Reagenz nicht für Lysetechniken ohne Waschen optimiert wurde.
3. Genaue und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, sofern die verwendeten Verfahren der technischen Packungsbeilage entsprechen und mit der guten Laborpraxis kompatibel sind.
4. Der konjugierte Antikörper dieses Reagenzes ist so kalibriert, dass er das beste Verhältnis von spezifischem zu unspezifischem Signal bietet. Daher ist es wichtig, das Verhältnis Reagenzvolumen/Probenvolumen bei jedem Test einzuhalten.
5. Im Falle einer Hyperleukozytose das Blut in PBS verdünnen, um einen Wert von ungefähr 5 x 10^9 Leukozyten/L zu erhalten(12).
6. Bei bestimmten Krankheitszuständen, beispielsweise einem schweren Nierenversagen oder Hämoglobinopathien, kann die Lyse der Erythrozyten möglicherweise nur langsam oder unvollständig erfolgen oder sogar unmöglich sein. In diesem Fall empfiehlt es sich, vor dem Färben einkernige Zellen mittels eines Dichtegradienten (beispielsweise Ficoll) zu isolieren (13).

7. Bei Patienten, die sich Therapien mit anti-humanen monoklonalen Antikörpern unterziehen, kann das Nachweisvermögen für die spezifischen anvisierten Antigene aufgrund einer teilweisen oder vollständigen Blockierung durch die therapeutischen Antikörper vermindert sein oder gänzlich ausbleiben.
8. Die Ergebnisse für Anti-NG2-PE müssen unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde für den Patienten interpretiert werden, einschließlich Symptomen, klinischer Vorgeschichte, Daten zusätzlicher Tests sowie sonstiger relevanter Informationen.

Beispiele und Literaturhinweise siehe Anhang.

MARKEN

Beckman Coulter, das stilisierte Logo und die in diesem Dokument erwähnten Beckman Coulter-Produkt- und Dienstleistungsmarken sind in den USA und anderen Ländern Marken oder eingetragene Marken von Beckman Coulter, Inc.

WEITERE INFORMATIONEN

Für einen Patienten/Benutzer/Dritten in der Europäischen Union und in Ländern mit identischer Regulierungspraxis (Verordnung 2017/746/EU über In-vitro-Diagnostika) gilt Folgendes: Sollte es im Rahmen der Verwendung dieses Produktes oder infolge der Verwendung dieses Produktes zu einem schwerwiegenden Zwischenfall gekommen sein, ist dieser dem Hersteller und/oder dessen Bevollmächtigten sowie der nationalen Behörde zu melden.

Die „Summary of Safety and Performance“ (Bericht über Sicherheit und Leistung) kann aus der EUDAMED-Datenbank abgerufen werden: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSVERLAUF

REVISION AD:	Freigabedatum: Oktober 2019

REVISION	**Freigabedatum**
AW	Mai 2022
Aktualisierungen vorgenommen, um den Vorgaben der globalen Etikettierungsrichtlinie von Beckman Coulter und den Vorgaben nach IVD-R (EU) 2017/746 zu entsprechen:	
Abschnitte hinzugefügt	Nummer nach BSI 2797; Vorgesehener Benutzer; Klinische Anwendung; Konzentration; Präzision; Genauigkeit; Grenzwert für Leerwert und Nachweisgrenze; Weitere Informationen; Revisionsübersicht.
Informationen hinzugefügt	Siehe Abschnitt Einschränkungen
Formulierung oder Typografie aktualisiert	Siehe die Abschnitte Verfahren; Leistung; Einschränkungen; Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen; Lagerung und Stabilität.
Abschnitte gestrichen	Beispiel für klinische Anwendungen; Reagenzien; Reproduzierbarkeit innerhalb des Labors; Linearität
Aktualisierte Abschnitte	Verwendungszweck; GHS-Gefahrstoffklassifizierung; Verfallsanzeichen; Verfahren; Anhang.

REVISION	**Freigabedatum**
AX	April 2023
Aktualisierte Abschnitte	Kasachisch hinzufügen
Aktualisierte Abschnitte	Lagerung und Stabilität

Überarbeitete Version	AY
Überarbeitungsdatum	Mai 2024
Aktualisierte Übersetzungen	**Klinische Relevanz:**
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Überarbeitete Version	AZ
Überarbeitungsdatum	Juli 2024
Aktualisierte Abschnitte	Revisionsverlauf

Liste der Symbole

Das Glossar der Symbole ist auf beckman.com/techdocs (Dokumentnummer B60062) verfügbar.

	Specifiche
Specificità	NG2
Clone	7,1
Ibridoma	SP2/0 x balb/c
Immunogeno	Readus cell line
Immunoglobulina	IgG1
Specie	Topo
Purificazione	Cromatografia di affinità
Fluorocromo	R Phycoerythrin (PE)
Rapporto molare	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Eccitazione λ	488 nm
Picco di emissione	575 nm
Tampone	PBS pH 7,2 più 2 mg/mL di BSA e NaN_3 0,1%

IOTest

Anticorpo coniugato Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Per uso diagnostico *in vitro.*

USO PREVISTO

Questo anticorpo coniugato con fluorocromo consente l'identificazione qualitativa e non automatizzata di popolazioni cellulari che esprimono l'antigene NG2 presente nei campioni biologici umani mediante citometria a flusso (vedere la sezione "Campioni" di seguito).

PRINCIPIO

Questo test si basa sulla capacità di specifici anticorpi monoclonali di legarsi ai determinanti antigenici espressi dai leucociti.

La colorazione specifica dei leucociti viene eseguita incubando il campione con il reagente IOTest. Gli eritrociti vengono quindi rimossi tramite lisi e i leucociti, non interessati da questo processo, vengono analizzati tramite citometria a flusso.

Il citometro a flusso misura la diffusione di luce e la fluorescenza delle cellule. Ciò consente la delimitazione della popolazione di interesse con la finestra elettronica definita in un istogramma, che correla la diffusione ortogonale della luce (scattering laterale o SS) e la diffusione della luce ad angolo stretto (scattering frontale o FS). Altri istogrammi che combinano due dei diversi parametri disponibili sul citometro possono essere usati come supporti nella fase di determinazione del gate in base alle applicazioni scelte dall'utente.

La fluorescenza delle cellule delimitate viene analizzata per distinguere gli eventi colorati in modo positivo e quelli non colorati. I risultati sono espressi come percentuale di eventi positivi in relazione a tutti gli eventi acquisiti mediante determinazione del gate.

UTENTE PREVISTO

Questo prodotto è destinato all'uso professionale in laboratorio.

RILEVANZA CLINICA

Anti-NG2-PE è un anticorpo Anti-NG2 utilizzato per identificare e caratterizzare le cellule che esprimono l'antigene NG2 mediante citometria a flusso. Questo prodotto da solo non può e non intende generare alcuna conclusione diagnostica.

Se impiegato in combinazione con altri marcatori, questo prodotto può essere utilizzato con una o più delle seguenti funzioni:

- Come supporto nella diagnosi differenziale di pazienti con anomalie ematologiche e sospetta neoplasia ematopoietica e nel monitoraggio di pazienti con neoplasia ematopoietica nota.
- Come supporto nella prognosi di pazienti con neoplasia ematopoietica.

Vedere i riferimenti seguenti:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

CAMPIONI

I campioni di sangue venoso devono essere prelevati utilizzando provette sterili contenenti un sale EDTA come anticoagulante.

I campioni devono essere conservati a temperatura ambiente (18-25 °C) e non devono essere agitati. I campioni devono essere omogeneizzati agitandoli con delicatezza prima di prelevare il campione per il test.

I campioni devono essere analizzati entro 24 ore dalla venipuntura.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza.
2. Non congelare.
3. Prima dell'uso, portare a temperatura ambiente (18-25 °C).
4. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce.
5. Evitare la contaminazione microbica dei reagenti, poiché potrebbe falsare i risultati.
6. Le soluzioni di anticorpi che contengono sodio azide (NaN_3) devono essere maneggiate con cura. Non ingerire ed evitare qualsiasi contatto con cute, mucose e occhi.

   Inoltre, in un mezzo acido, il sodio azide può formare acido idrazoico, che è potenzialmente pericoloso. Per lo smaltimento, si consiglia di diluire il reagente in un grande volume di acqua prima di versarlo nell'impianto di scarico, in modo da evitare l'accumulo di sodio azide nelle tubazioni metalliche ed evitare il rischio di esplosione.

7. Tutti i campioni di sangue devono essere considerati potenzialmente infetti e devono essere maneggiati con cura (in particolare, indossando guanti, camici e occhiali protettivi).
8. Non pipettare mai usando la bocca ed evitare il contatto dei campioni con la pelle, le mucose e gli occhi.
9. Le provette per il sangue e i materiali monouso usati per la manipolazione devono essere smaltiti in appositi contenitori destinati all'inceneritore.
10. I reagenti e i rifiuti devono essere smaltiti conformemente alla normative locali.

CLASSIFICAZIONE DEI PERICOLI GHS

Classificato come non pericoloso

SDS La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile all'indirizzo beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Questo reagente deve essere mantenuto a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce, prima e dopo l'apertura della fiala.

Durata di conservazione della fiala chiusa secondo studi di stabilità: 1095 giorni.

Stabilità di una fiala aperta: il reagente è stabile per 180 giorni.

INDICI DI DETERIORAMENTO

Qualsiasi cambiamento dell'aspetto fisico dei reagenti può indicare un deterioramento. In tale caso, non utilizzare il reagente.

Per ulteriori informazioni, o nel caso in cui il prodotto ricevuto risulti danneggiato, rivolgersi all'assistenza clienti Beckman Coulter al numero 800-742-2345 (USA o Canada) o mettersi in contatto con il rappresentante locale Beckman Coulter.

SOMMARIO

Il conservante sodio azide può formare composti esplosivi nelle tubazioni metalliche di scarico. Vedere il bollettino NIOSH: Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Bollettino dell'Istituto Nazionale per la Sicurezza e la Salute sul Lavoro: Rischio di esplosione del sodio azide).
Per evitare il possibile accumulo di azidi, lavare i tubi di scarico con acqua dopo lo smaltimento del reagente puro. Il sodio azide deve essere eliminato conformemente alle normative locali applicabili.

COMPONENTI NECESSARI MA NON FORNITI CON IL KIT:

- Provette per campioni e materiale necessario per il campionamento.
- Pipette automatiche con punte monouso per 20, 100 e 500 µL.
- Provette per emolisi in plastica.
- Reagente per lisi degli eritrociti con fase di lavaggio successiva alla lisi. Ad esempio: VersaLyse (Rif. A09777).
- Reagente di fissaggio dei leucociti. Ad esempio: Soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800).
- Controllo di isotipo PE: reagente IOTest (Rif. A07796).
- Tampone (PBS: 0,01 M di fosfato di sodio, 0,145 M di cloruro di sodio, pH 7,2).
- Centrifugare.
- Agitatore automatico (tipo Vortex).
- Citometro a flusso.

PROCEDURA CON REAGENTE VERSALYSE

Per ogni campione analizzato, oltre alla provetta del test, si può aggiungere una provetta di controllo in cui miscelare le cellule in presenza di controllo di isotipo (Rif. A07796).

1. Aggiungere 20 µL di anticorpo coniugato IOTest specifico in ogni provetta del test e, se necessario, 20 µL di controllo di isotipo in ogni provetta di controllo.
2. Aggiungere 100 µL di campione del test in ogni provetta. Agitare delicatamente le provette con Vortex.
3. Incubare a temperatura ambiente (18-25 °C) per 15-20 minuti, al riparo dalla luce.
4. Quindi eseguire la lisi degli eritrociti. Consultare il foglietto illustrativo di VersaLyse (Rif. A09777) e seguire preferibilmente la procedura denominata "with concomitant fixation" (con fissazione concomitante), che consiste nell'aggiungere 1 mL della miscela fissante e lisante preparata estemporaneamente. Miscelare immediatamente con Vortex per un secondo e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente, al riparo dalla luce.
5. Centrifugare per 5 minuti a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Rimuovere il surnatante mediante aspirazione.
7. Risospendere il pellet cellulare utilizzando 3 mL di PBS.
8. Ripetere il passaggio 5.
9. Eliminare il surnatante tramite aspirazione e risospendere il pellet cellulare tramite:

- 0,5 mL o 1 mL di PBS più 0,1% di formaldeide, se i preparati devono essere conservati per meno di 24 ore. È possibile ottenere PBS con formaldeide allo 0,1% diluendo 12,5 µL di soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800) alla sua concentrazione di 10X in 1 mL di PBS.
- 0,5 mL o 1 mL di PBS senza formaldeide, se i preparati devono essere analizzati entro 2 ore.

Nota: in tutti i casi, mantenere i preparati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce.

VALORI ATTESI

Non esiste un valore atteso rilevante per questo prodotto.

PRESTAZIONI

I dati delle prestazioni si ottengono adottando la procedura descritta in precedenza su campioni di sangue raccolti da meno di 24 ore in provette sterili con anticoagulante EDTA. L'analisi viene eseguita entro 2 ore dall'immunocolorazione.

SPECIFICITÀ

Il proteoglicano NG2 (antigene neuro-gliale 2), noto anche come proteoglicano di solfato di condroitina 4 o proteoglicano di solfato di condroitina associato a melanoma, è associato alla glicoproteina di membrana di tipo 1 da 250 kDa espressa da molte cellule del sistema nervoso centrale (SNC) durante lo sviluppo e la differenziazione e svolge un ruolo essenziale nell'angiogenesi, nella guarigione delle ferite e nella crescita delle neoplasie. La classe di molecole di proteoglicano di solfato di condroitina può essere inibitrice dell'adesione e della migrazione cellulare (10) e servire come barriera alla migrazione cellulare nel percorso della cresta neurale. L'anticorpo monoclonale 7.1 riconosce una molecola di proteoglicano di solfato di condroitina della superficie cellulare con un peso molecolare di 200–220 kDa noto come omologo umano dell'antigene NG2 del ratto. L'antigene NG2 è stato trovato nelle popolazioni di cellule gliali umane (11). Non viene espresso sulle normali cellule ematopoietiche.

PRECISIONE

I valori percentuali positivi sono stati determinati utilizzando sangue intero corretto con cellule positive. Ogni campione è stato analizzato 4 volte, due volte al giorno per 1 giorno su 2 strumenti utilizzando 2 lotti di reagenti per anticorpi monoclonali Anti-NG2-PE. Le misurazioni (% positive) sono state eseguite sul citometro a flusso Navios. L'analisi è stata condotta secondo il metodo EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Valutazione delle prestazioni di precisione dei metodi di misurazione quantitativa).

I nostri criteri di accettazione dipendono dal numero di eventi positivi misurati per ogni popolazione:

- Se evento positivo < 1.500, CV < 15%
- Se evento positivo > 1.500, CV < 10%

Sangue intero corretto con HELA linea cellulare							
Numero di eventi positivi (media) = 4262							
	Inter-operatore	Inter-citometro	Intra-lotto	Inter-lotto	Inter-analisi	Intra-analisi	Totale
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
RISULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURATEZZA

L'accuratezza di Anti-NG2-PE è stata valutata confrontando i risultati con un reagente di riferimento come predicato su una serie di campioni di sangue intero corretto con cellule positive eseguiti su un citometro a flusso Navios. La distorsione tra il reagente in esame e quello di riferimento è stata determinata in base alla differenza tra i risultati del test. Se la distorsione rientra nell'intervallo di errore consentito o il valore p indica che non vi è una differenza significativa (> 0,05), allora i risultati dei test per i due reagenti sono considerati equivalenti.

I risultati ottenuti sono riepilogati nella tabella seguente:

Numero di donatori = 25				
Target positivo	Δ medio	Criteri cellulari Δ %	Valore p	RISULTATI
Sangue intero corretto con HELA linea cellulare	0,01	<5	0,978	PASS

LIMITE DEL BIANCO E LIMITE DI RILEVAZIONE

È stato effettuato uno studio in conformità al documento EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Valutazione delle capacità di rilevamento delle procedure di misurazione del laboratorio clinico). Il limite di rilevazione (LoD) è la più bassa concentrazione di analita che può essere costantemente rilevata. I risultati ottenuti sono riepilogati nella seguente tabella:

Positive Target	Limite del bianco (cellula/µL)	Limite di rilevazione (cellula/µL)
HELA Linea cellulare	1	3

LIMITAZIONI

1. La citometria a flusso può produrre falsi risultati se il citometro non viene allineato perfettamente, le perdite di fluorescenza non vengono correttamente compensate e le regioni non vengono posizionate attentamente.
2. È preferibile utilizzare una tecnica di lisi RBC con una fase di lavaggio, in quanto il reagente non è stato ottimizzato per tecniche di lisi "senza lavaggio".
3. Seguendo le procedure descritte nel foglietto illustrativo con le informazioni tecniche, compatibili con le buone pratiche di laboratorio, è possibile ottenere risultati accurati e riproducibili.
4. L'anticorpo coniugato di questo reagente è calibrato in modo da offrire un rapporto segnale specifico/segnale non specifico ottimale. Di conseguenza, è importante rispettare il rapporto fra volume di reagente e volume di campione in tutti i test.
5. In caso di iperleucocitosi, diluire il sangue in PBS in modo da ottenere un valore di circa 5 x 10^9 leucociti/L (12).
6. In alcuni stati patologici, come insufficienza renale grave o emoglobinopatie, la lisi degli eritrociti può risultare lenta, incompleta o persino impossibile. In questo caso, è consigliabile isolare le cellule mononucleate usando un gradiente di densità (ad esempio, Ficoll) prima della colorazione (13).
7. In pazienti trattati con terapie a base di anticorpi monoclonali anti-umani, il rilevamento di antigeni specifici può essere minore o assente a causa del blocco parziale o completo da parte dell'anticorpo terapeutico.
8. I risultati Anti-NG2-PE devono essere interpretati alla luce del quadro clinico completo del paziente che comprende: sintomatologia, anamnesi clinica, risultati di altri test e altre informazioni appropriate.

Per esempi e riferimenti, vedere l'appendice.

MARCHI COMMERCIALI

Beckman Coulter, il logo stilizzato ed i marchi commerciali dei prodotti e servizi di Beckman Coulter menzionati qui, sono marchi commerciali o marchi commerciali registrati di Beckman Coulter, Inc., negli Stati Uniti e in altri paesi.

INFORMAZIONI AGGIUNTIVE

Per un paziente/utente/terza parte nell'Unione Europea e in paesi con identico regime normativo (Regolamento 2017/746/UE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro): se, durante l'utilizzo di questo dispositivo o in seguito al suo utilizzo, si fosse verificato un incidente grave, si prega di segnalarlo al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e all'autorità nazionale competente.

Il Summary of Safety and Performance (Sintesi relativa alla sicurezza e alle prestazioni) è disponibile nel database EUDAMED all'indirizzo: ec.europa.eu/tools/eudamed.

CRONOLOGIA REVISIONI

REVISIONE AD:	Data di pubblicazione: Ottobre 2019

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AW	Maggio 2022
Aggiornamenti conformi alla politica sull'etichettatura globale di Beckman Coulter e ai requisiti IVD-R (UE)2017/746:	
Sezioni aggiunte	Numero BSI 2797, Utente previsto, Rilevanza clinica, Concentrazione, Precisione, Accuratezza, Limite del bianco e limite di rilevazione, Informazioni aggiuntive, Cronologia revisioni.
Aggiunta di informazioni	Vedere le sezioni Limitazioni
Aggiornamenti testuali o tipografici	Vedere le sezioni Procedura, Prestazioni, Limitazioni, Avvertenze e precauzioni, Conservazione e stabilità.
Sezioni rimosse	Esempio di applicazioni cliniche, Reagenti, Riproducibilità intra-laboratorio, Linearità
Sezioni aggiornate	Uso previsto, Classificazione pericoli GHS, Indici di deterioramento, Procedura, Appendice.

REVISIONE	**Data di pubblicazione**
AX	Aprile 2023
Sezioni aggiornate	Aggiungere la lingua kazaka
Sezioni aggiornate	Conservazione e stabilità

Versione revisionata	AY
Data di revisione	Maggio 2024
Traduzioni aggiornate	**Rilevanza clinica:**
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Versione revisionata	AZ
Data di revisione	Luglio 2024
Sezioni aggiornate	Cronologia revisioni

Legenda dei simboli

Il Glossario dei simboli è disponibile all'indirizzo beckman.com/techdocs (documento numero B60062)

	Especificaciones
Especificidad	NG2
Clon	7,1
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Inmunógeno	Readus cell line
Inmunoglobulina	IgG1
Especie	Ratón
Purificación	Cromatografía de afinidad
Fluorocromo	R Phycoerythrin (PE)
Proporción molar	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Excitación λ	488 nm
Pico de emisión	575 nm
Tampón	PBS pH 7,2 más 2 mg/mL BSA y 0,1 % NaN_3

IOTest

Anticuerpo conjugado Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20 µL/prueba

Para uso diagnóstico *in vitro.*

USO PREVISTO

Este anticuerpo conjugado con un fluorocromo permite la identificación cualitativa y no automatizada de poblaciones de células que expresan el antígeno NG2 presente en muestras biológicas humanas mediante citometría de flujo (véase la sección «Muestras» más adelante).

PRINCIPIO

Esta prueba se basa en la capacidad de anticuerpos monoclonales específicos para unirse a los determinantes antigénicos expresados por leucocitos.

La tinción específica de los leucocitos se realiza incubando la muestra con el reactivo IOTest. A continuación, se eliminan los eritrocitos mediante lisis y los leucocitos, que no se ven afectados por este proceso, se analizan mediante citometría de flujo.

El citómetro de flujo mide la dispersión de la luz y la fluorescencia de las células. Permite acotar la población de interés dentro de una ventana electrónica, definida en un histograma que correlaciona la dispersión lateral de luz (Side Scatter o SS) con la dispersión frontal de la luz (Forward Scatter o FS). Se pueden utilizar otros histogramas que combinen dos de los distintos parámetros disponibles en el citómetro como apoyo para la fase de selección en función de la aplicación utilizada por el usuario.

La fluorescencia de las células acotadas se analiza para distinguir los eventos con tinción positiva de los eventos sin teñir. Los resultados se expresan como un porcentaje de eventos positivos en relación con todos los eventos adquiridos mediante la selección.

USUARIO PREVISTO

Este producto está diseñado para su uso en un laboratorio profesional.

IMPORTANCIA CLÍNICA

El reactivo Anti-NG2-PE es un anticuerpo Anti-NG2 utilizado para identificar y caracterizar células que expresan el antígeno NG2 mediante citometría de flujo. Este producto por sí solo no puede y no está diseñado para generar una conclusión diagnóstica.

Cuando se usa en combinación con otros marcadores, este producto puede utilizarse en una o más de las siguientes funciones:

- Ayudar al diagnóstico diferencial de pacientes con anomalías hematológicas en los que se sospecha la presencia de una neoplasia hematopoyética y realizar el seguimiento de pacientes con una neoplasia hematopoyética conocida.
- Ayudar en el pronóstico de pacientes que padecen una neoplasia hematopoyética.

Consulte las siguientes referencias:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

MUESTRAS

La sangre venosa debe recogerse en tubos de muestra estériles que contengan una sal de EDTA como anticoagulante.

Las muestras deben mantenerse a temperatura ambiente (18-25 °C) y no agitarse. Antes de tomar la muestra de prueba, es necesario homogeneizarla mediante una agitación suave.

Las muestras deben analizarse en el plazo de 24 horas tras la venopunción.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. No use el reactivo después de la fecha de caducidad.
2. No lo congele.
3. Déjelo a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su utilización.
4. Minimice el tiempo de exposición a la luz.
5. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, ya que esto puede provocar resultados falsos.
6. Las soluciones de anticuerpo que contienen azida sódica (NaN_3) deben manipularse con precaución. No ingerir y evitar todo contacto con la piel, la mucosa y los ojos.

   Asimismo, en un medio ácido, la azida sódica puede formar ácido hidrazoico potencialmente peligroso. Cuando se vaya a desechar, se recomienda diluir el reactivo en abundante agua antes de verterlo en el sistema de drenaje para evitar la acumulación de azida sódica en tubos metálicos y el riesgo de explosión.

7. Todas las muestras sanguíneas deben considerarse posiblemente infecciosas y deben manipularse con cuidado (en especial, hay que llevar guantes, bata y gafas de protección).
8. No pipetee nunca con la boca y evite todo contacto de las muestras con la piel, las mucosas y los ojos.
9. Los tubos para sangre y el material desechable utilizados para la manipulación deben eliminarse en recipientes especiales previstos para la incineración.
10. Los reactivos y los desechos deben eliminarse de acuerdo con los requisitos locales.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico

SDS La ficha de datos de seguridad está disponible en beckmancoulter.com/techdocs

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Este reactivo debe conservarse entre 2 y 8 °C en un lugar protegido de la luz, antes y después de abrir el vial.

Vida útil del vial cerrado según estudio de estabilidad: 1095 días.

Estabilidad del vial abierto: el reactivo es estable durante 180 días.

SIGNOS DE DETERIORO

Cualquier cambio en el aspecto físico de los reactivos puede indicar un deterioro, por lo que no debe utilizarse el reactivo.

Para obtener información adicional o si el producto está dañado, llame al servicio de atención al cliente de Beckman Coulter en el 800-742-2345 (EE. UU. o Canadá) o póngase en contacto con su representante local de Beckman Coulter.

CONTENIDO

El conservante de azida sódica puede formar compuestos explosivos en las tuberías metálicas del desagüe. Véase el NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Boletín de NIOSH: Peligro de explosión con la azida) (16/8/76).
Para evitar la posible acumulación de compuestos de azida, limpie con agua los tubos de desagüe tras la eliminación del reactivo sin diluir. Para desechar la azida sódica deben seguirse las normativas locales adecuadas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS CON EL KIT:

- Tubos y material de muestras necesarios para el muestreo.
- Pipetas automáticas para puntas desechables de 20, 100 y 500 µL.
- Tubos de hemólisis de plástico.
- Reactivo de lisis de glóbulos rojos con estado de lavado después de la lisis. Por ejemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reactivo de fijación de leucocitos. Por ejemplo: Solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800).
- Control de isotipo PE: Reactivo IOTest (Ref. A07796).
- Tampón (PBS: 0,01 M de fosfato de sodio; 0,145 M de cloruro sódico; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de flujo.

PROCEDIMIENTO CON EL REACTIVO VERSALYSE

Para cada muestra analizada, además del tubo de ensayo, se puede añadir un tubo de control en el que se mezclan las células en presencia de los controles de isotipo (Ref. A07796).

1. Añadir 20 µL de anticuerpos conjugados específicos IOTest a cada tubo de muestra problema y, si es necesario, 20 µL del control de isotipo a cada tubo de control.
2. Añadir 100 µL de la muestra problema a cada tubo. Mezclar suavemente los tubos en el Vórtex.
3. Incube entre 15 y 20 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C) y protegido de la luz.
4. A continuación, lleve a cabo la lisis de los eritrocitos. Consulte la ficha técnica VersaLyse (Ref. A09777) y siga preferiblemente el procedimiento denominado «with conconmitant fixation» (con fijación concomitante), que consiste en añadir 1 mL de la mezcla «Fijar y lisar» preparada extemporáneamente. Agite inmediatamente con vórtex durante un segundo e incube durante 10 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g a temperatura ambiente.
6. Elimine el sobrenadante mediante aspiración.
7. Vuelva a suspender el sedimento celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita el paso 5.
9. Retire el sobrenadante mediante aspiración y vuelva a suspender el sedimento celular con:

- 0,5 mL o 1 mL de PBS más el 0,1 % de formaldehído si las preparaciones deben conservarse menos de 24 horas. (Se puede obtener un 0,1 % de PBS de formaldehído mediante la dilución de 12,5 µL de la solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800) a su concentración de 10x en 1 mL de PBS).
- 0,5 mL o 1 mL de PBS sin formaldehído si las preparaciones deben analizarse en un plazo de 2 horas.

Nota: En todos los casos, mantenga las preparaciones protegidas de la luz entre 2 y 8 °C.

VALORES ESPERADOS

No existen valores esperados relevantes para este producto.

RENDIMIENTO

Los datos de rendimiento se obtuvieron utilizando el procedimiento descrito anteriormente en muestras de sangre con menos de 24 horas desde su extracción en tubos estériles con sal de EDTA como anticoagulante. El análisis se realizó en el plazo de 2 horas desde su inmunotinción.

ESPECIFICIDAD

El antígeno neuroglial 2 (NG2), un proteoglucano también conocido como proteoglucano de sulfato de condroitina 4, es una glucoproteína membranaria de tipo 1 con un peso molecular de 250 kDa expresada por muchas células del sistema nervioso central (SNC) durante el crecimiento y la diferenciación, y desempeña un papel importante en la angiogénesis, la cicatrización de heridas y el crecimiento tumoral. Es posible que la clase de moléculas proteoglucano de sulfato de condroitina inhiban la adhesión y la migración celulares (10) y funcionen como barreras para la migración celular en la ruta de la cresta neural. El anticuerpo monoclonal 7.1 reconoce una molécula de proteoglucano de sulfato de condroitina de superficie celular con un peso molecular de 200-220 kDa conocida como el homólogo humano del antígeno NG2 de rata. El antígeno NG2 se encuentra en poblaciones de células gliales humanas (11). No se expresa en células hematopoyéticas normales.

PRECISIÓN

Los valores positivos porcentuales se determinaron usando sangre total enriquecida con células positivas. Cada muestra se procesó 4 veces, dos veces al día durante 1 día en 2 instrumentos utilizando 2 lotes de reactivos de anticuerpo monoclonal Anti-NG2-PE. Las mediciones (% de positivos) se realizaron en un citómetro de flujo Navios. El análisis se realizó según el método EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluación del rendimiento de la precisión de los métodos de medición cuantitativos).

Nuestro criterio de aceptación depende del número de eventos positivos determinado en cada población:

- Si el número de eventos positivos es < 1500, CV < 15 %
- Si el número de eventos positivos es > 1500, CV < 10 %

Sangre total enriquecida con la línea celular HELA							
Número de eventos positivos (media) = 4262							
	Entre operadores	Entre citómetros	Intralote	Entre lotes	Entre análisis	Intraanálisis	Total
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUD

La exactitud de Anti-NG2-PE se evaluó comparando los resultados con un reactivo de referencia como valor previsto en un conjunto de muestras de sangre total enriquecidas con células positivas procesadas en un citómetro de flujo Navios. El sesgo entre la muestra problema y el reactivo de referencia se determinó en función de la diferencia entre los resultados de la prueba. Si el sesgo está dentro del rango de error permitido o el valor p indica una diferencia no significativa (> 0,05), entonces los resultados de la prueba de los dos reactivos se consideran equivalentes.

Los resultados obtenidos se resumen en la tabla que se muestra a continuación:

Número de donantes = 25				
Objetivo positivo	Δ medio	Criterios de Δ % de células	Valor p	RESULTADOS
Sangre total enriquecida con la línea celular HELA	0,01	<5	0,978	PASS

LÍMITE DE BLANCO Y LÍMITE DE DETECCIÓN

Se realizó un estudio conforme a la norma EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluación de la capacidad de detección para procedimientos de medición en laboratorios clínicos). El límite de detección (LD) es la concentración de analito más baja que se puede detectar sistemáticamente. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla siguiente:

Positive Target	Límite de Blanco (células/µL)	Límite de Detección (células/µL)
HELA Línea celular	1	3

LIMITACIONES

1. La citometría de flujo puede producir resultados falsos si el citómetro no se ha alineado a la perfección, si las fugas de fluorescencia no se han compensado correctamente y si las regiones no se han colocado con atención.
2. Es preferible utilizar una técnica de lisis de ERIT con un paso de lavado, ya que este reactivo no se ha optimizado para técnicas de lisis «sin lavado».
3. Se obtendrán resultados exactos y reproducibles siempre que los procedimientos utilizados sean conformes al folleto técnico y compatibles con las prácticas correctas de laboratorio.
4. El anticuerpo conjugado de este reactivo se calibra para ofrecer la mejor relación de señal específica/señal no específica. Por lo tanto, es importante cumplir la relación de volumen del reactivo/volumen de la muestra en cada prueba.
5. En caso de hiperleucocitosis, diluya la sangre en PBS para obtener un valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucocitos/L (12).
6. En algunos estados de la enfermedad, como el fallo renal grave o las hemoglobinopatías, la lisis de los eritrocitos puede ser lenta, incompleta o incluso imposible. En este caso, se recomienda aislar las células mononucleares por gradiente de densidad (por ejemplo, Ficoll) antes de la tinción (13).
7. En pacientes tratados con terapias con anticuerpos monoclonales anti-humanos, la detección de los antígenos diana específicos puede estar disminuida o ausente debido al bloqueo parcial o completo por el anticuerpo terapéutico.
8. Los resultados de Anti-NG2-PE deben interpretarse a la luz del cuadro clínico total del paciente, incluidos: síntomas, historial clínico, datos de pruebas adicionales y demás información pertinente.

Consulte el anexo para ver ejemplos y referencias.

MARCAS COMERCIALES

Beckman Coulter, el logotipo estilizado y las marcas de productos y servicios de Beckman Coulter aquí mencionadas son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de Beckman Coulter, Inc. en Estados Unidos y otros países.

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para pacientes/usuarios/terceros de la Unión Europea y países con el mismo régimen normativo (Reglamento 2017/746/UE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro); si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produjese un incidente grave, informe al fabricante y/o a su representante autorizado y a la autoridad nacional.

El Summary of Safety and Performance (Resumen de seguridad y rendimiento) está disponible en la base de datos EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIAL DE REVISIONES

REVISIÓN AD:	Fecha de publicación: Octubre de 2019

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AW	Mayo de 2022
Actualizaciones para cumplir con la política de etiquetado global de Beckman Coulter y conforme a los requisitos del Reglamento (UE)2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro:	
Se han añadido secciones	Número BSI 2797, Usuario previsto, Rendimiento clínico, Concentración, Precisión, Exactitud, Límite de blanco y límite de detección, Información adicional, Historial de revisiones.
Información añadida	Véase la sección Limitaciones
Actualizaciones de redacción y tipográficas	Véanse las secciones Procedimiento, Rendimiento, Limitaciones, Advertencias y precauciones, Conservación y Estabilidad.
Se han eliminado secciones	Ejemplo de aplicaciones clínicas, Reactivos, Reproducibilidad intralaboratorio, Linealidad
Se han actualizado las secciones	Uso previsto, Clasificación de material peligroso según el SGA, Signos de deterioro, Procedimiento, Anexo.

REVISIÓN	**Fecha de publicación**
AX	Abril 2023
Se han actualizado las secciones	Añadir kazajo
Se han actualizado las secciones	Conservación y Estabilidad

Versión revisada	AY
Fecha de revisión	Mayo 2024
Traducciones actualizadas	**Relevancia clínica:**
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Versión revisada	AZ
Fecha de revisión	Julio 2024
Se han actualizado las secciones	Historial de Revisiones

Lista de símbolos

El glosario de símbolos está disponible en beckman.com/techdocs (número de documento B60062)

	Especificações
Especificidade	NG2
Clone	7,1
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunogénio	Readus cell line
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Rato
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	R Phycoerythrin (PE)
Razão molar	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	575 nm
Tampão	PBS com pH 7,2 mais 2 mg/mL de ASB e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20 µL/teste

Para fins de diagnóstico *in vitro.*

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Este anticorpo conjugado com fluorocromos permite a identificação qualitativa e não automatizada de populações de células que expressam o antigénio NG2 presente em amostras biológicas humanas utilizando citometria de fluxo (consulte a secção «Amostras» abaixo).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade de os anticorpos monoclonais específicos se ligarem aos determinantes antigénicos expressados por leucócitos.

A coloração específica dos leucócitos é realizada incubando a amostra com o reagente IOTest. Em seguida, os glóbulos vermelhos são removidos por lise e os leucócitos, que não são afetados por este processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citómetro de fluxo mede a difusão de luz e a fluorescência das células. Permite delimitar a população de interesse dentro da janela eletrónica definida num histograma que correlaciona a difusão ortogonal de luz (dispersão lateral ou DL) e a difusão de luz em ângulos estreitos (dispersão frontal ou DF). É possível utilizar outros histogramas que combinam dois dos vários parâmetros disponíveis no citómetro como suporte na fase de delimitação, consoante a aplicação escolhida pelo utilizador.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são apresentados como uma percentagem de eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos por meio da delimitação.

UTILIZADOR PREVISTO

Este produto destina-se a ser utilizado por profissionais de laboratório.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O Anti-NG2-PE é um anticorpo de Anti-NG2 utilizado para identificar e caracterizar células que expressam o antigénio NG2 por citometria de fluxo. Este produto, por si só, não pode e não se destina a gerar qualquer conclusão de diagnóstico.

Quando utilizado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser utilizado numa ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com alterações hematológicas, suspeitos de padecerem de neoplasia hematopoiética, e para monitorizar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.
- Para auxiliar no prognóstico de pacientes com neoplasia hematopoiética.

Consulte as seguintes referências:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

AMOSTRAS

O sangue venoso deve ser recolhido utilizando tubos estéreis que contenham um sal de AEDT como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas à temperatura ambiente (18–25 °C) e não devem ser agitadas. As amostras devem ser homogeneizadas, agitando-as levemente, antes de a amostra de teste ser retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a punção venosa.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não utilize o reagente depois da data de validade.
2. Não congele.
3. Aguarde que fique à temperatura ambiente (18–25 °C) antes da utilização.
4. Evite a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, caso contrário, poderão ocorrer falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos que contêm azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não ingira e evite qualquer contacto com a pele, as mucosas e os olhos.

   Adicionalmente, num meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazóico potencialmente perigoso. Se a sua eliminação for necessária, é recomendável que o reagente seja diluído num grande volume de água antes de ser vertido no sistema de drenagem, para evitar a acumulação de azida sódica em tubos metálicos e prevenir o risco de explosão.

7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas potencialmente infeciosas e manuseadas com cuidado (em especial, devem ser usados óculos, batas e luvas de proteção).
8. Nunca pipete com a boca e evite qualquer contacto das amostras com a pele, as mucosas e os olhos.
9. Os tubos de sangue e os materiais descartáveis utilizados para manuseamento devem ser eliminados em recipientes específicos destinados a incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Ficha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido a uma temperatura entre 2 e 8 °C e protegido da luz, antes e após a abertura do frasco.

Vida útil em frasco fechado para estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente permanece estável durante 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DEGRADAÇÃO

Uma alteração no aspeto físico dos reagentes poderá indicar deterioração, pelo que o reagente não deve ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, contacte a assistência ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou contacte o seu representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em sistemas de canalizações metálicas. Consulte o boletim do NIOSH: Explosive Azide Hazards (Perigos de explosão da azida) (16-8-76).
Para evitar a possível acumulação de compostos de azida, enxague as condutas de resíduos com água após a eliminação do reagente não diluído. A eliminação de azida sódica deve ser efetuada de acordo com os regulamentos locais adequados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostras e materiais necessários para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 20, 100 e 500 µL.
- Tubos de plástico para hemólise.
- Reagente de lise de glóbulos vermelhos com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controlo de isotipo PE de : reagente IOTest (Ref. A07796).
- Tampão (PBS: 0,01 M de fosfato de sódio; 0,145 M de cloreto de sódio; pH 7,2).
- Centrifugue.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM REAGENTE VERSALYSE

Além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controlo a cada amostra analisada, no qual as células são misturadas na presença do controlo de isotipo (Ref. A07796).

1. Adicione 20 µL de anticorpo conjugado com IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 20 µL dos controlos de isotipo a cada tubo de controlo.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos à temperatura ambiente (18–25 °C), protegido da luz.
4. Em seguida, realize a lise dos glóbulos vermelhos. Consulte o folheto VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento denominado «with concomitant fixation» (com fixação concomitante) que consiste em adicionar 1 mL da mistura de «Fixação e lise» preparada extemporaneamente. Agite imediatamente em vórtex durante um segundo e incube durante 10 minutos à temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 150 x g à temperatura ambiente.
6. Remova o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular com 3 mL de PBS.
8. Repita o passo 5.
9. Remova o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular com o seguinte:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído se as preparações se destinarem a ser mantidas por menos de 24 horas. (É possível obter PBS com 0,1% de formaldeído diluindo 12,5 µL de solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na respetiva concentração de 10X em 1 mL de SSTF).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído se as preparações se destinarem a ser analisadas no prazo de 2 horas.

Nota: Mantenha sempre as preparações entre 2 e 8 °C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Não existe um valor esperado relevante para este produto.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos utilizando o procedimento descrito acima em amostras de sangue colhidas há menos de 24 horas em tubos de amostra estéreis com sal de AEDT como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

O antigénio neuronal glial 2 (NG2), um proteoglicano também conhecido como proteoglicano de sulfato de condroitina 4 ou proteoglicano de sulfato de condroitina associado ao melanoma é uma glicoproteína de membrana do tipo 1 com 250 kDa expressa por muitas células do sistema nervoso central (SNC) durante o desenvolvimento e a diferenciação e desempenha papéis importantes na angiogénese, cicatrização e no crescimento de tumores. A classe de moléculas de proteoglicano de sulfato de condroitina pode ser um inibidor de adesão e migração celular (10) e pode servir como barreira à migração celular no percurso da crista neural. O anticorpo monoclonal 7.1 reconhece uma molécula de proteoglicano de sulfato de condroitina de superfície celular com um peso molecular de 200–220 kDa, conhecida como o homólogo humano do antigénio NG2 de rato. O antigénio NG2 é encontrado em populações de células gliais humanas (11). Não é expresso em células hematopoiéticas normais.

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados utilizando sangue total misturado com células positivas. Cada amostra foi executada 4 vezes, duas vezes por dia para 1 dia em 2 instrumentos, utilizando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de Anti-NG2-PE. As medições (% de positivos) foram realizadas no citómetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação do desempenho de precisão dos métodos de medição quantitativos).

Os nossos critérios de aceitação estão dependentes do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Em caso de eventos positivos <1500, CV <15%
- Em caso de eventos positivos >1500, CV <10%

Sangue total misturado com HELA linha celular							
Número de eventos positivos (média) = 4262							
	Interoperador	Intercitómetro	Intralote	Interlote	Interprocessamento	Intraprocessamento	Total
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do Anti-NG2-PE foi avaliada através da comparação dos resultados com um reagente de referência como equivalente, num conjunto de amostras de sangue total misturadas com células positivas e executadas num citómetro de fluxo Navios. A tendência entre o teste e o reagente de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados do teste. Se a tendência se encontrar dentro do intervalo de erro permitido ou o valor p não indicar uma diferença significativa (>0,05), os resultados do teste de ambos os reagentes são considerados equivalentes.

Os resultados obtidos encontram-se resumidos na tabela abaixo:

Número de dadores = 25				
Alvo positivo	Δ médio	Critérios celulares de % Δ	Valor p	RESULTADOS
Sangue total misturado com HELA linha celular	0,01	<5	0,978	PASS

LIMITE DO BRANCO E LIMITE DE DETEÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com o CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de deteção para procedimentos de medição em laboratórios clínicos). O Limite de deteção (LD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detetada consistentemente. Os resultados obtidos são resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite do branco (célula/µL)	Limite de deteção (célula/µL)
HELA Linha celular	1	3

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo poderá produzir falsos resultados se o citómetro não tiver sido perfeitamente alinhado, se as fugas de fluorescência não tiverem sido compensadas corretamente e se as regiões não tiverem sido cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível utilizar uma técnica de lise de RBC com um passo de lavagem, uma vez que este reagente não foi otimizado para técnicas de lise «sem lavagem».
3. Serão obtidos resultados exatos e reprodutíveis desde que os procedimentos utilizados estejam de acordo com o folheto técnico e cumpram as boas práticas laboratoriais.
4. O anticorpo conjugado deste reagente é calibrado para proporcionar a melhor relação entre sinal específico/sinal não específico. Por conseguinte, é importante respeitar a relação entre volume do reagente/volume da amostra em todos os testes.
5. No caso de uma hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (12).
6. Em determinados estados de doença, como insuficiência renal grave ou hemoglobinopatias, a lise de glóbulos vermelhos poderá ser lenta, incompleta ou até impossível. Neste caso, recomenda-se isolar células mononucleadas utilizando um gradiente de densidade (por exemplo, Ficoll) antes da coloração (13).
7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a deteção dos antigénios específicos visados pode ser reduzida ou inexistente devido ao bloqueio parcial ou total causado pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de Anti-NG2-PE devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo sintomas, historial clínico, dados de testes adicionais e outras informações relevantes.

Consulte o Anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logótipo estilizado e as marcas de produtos e serviços da Beckman Coulter mencionadas neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e noutros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/utilizador/terceiro na União Europeia e em países com um regime regulamentar idêntico (Regulamento 2017/746/UE relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico in vitro): se, durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, ocorrer um incidente grave, comunique-o ao fabricante e/ou ao respetivo representante autorizado e à autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível a partir da base de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÕES

REVISÃO AD:	Data de lançamento: Outubro de 2019

REVISÃO	**Data de lançamento**
AW	Maio de 2022
Atualizações no sentido de cumprir a política de rotulagem da Beckman Coulter Global e os requisitos do regulamento IVD-R (UE)2017/746:	
Secções adicionadas	Número BSI 2797, Utilizador previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite do branco e limite de deteção, Informações adicionais, Histórico de revisões.
Informações adicionadas	Consulte as secções Limitações
Atualizações à fraseologia ou tipografia	Consulte as secções Procedimento, Realização, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Secções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Secções atualizadas	Utilização prevista, Classificação de perigo GHS, Indícios de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de lançamento**
AX	Abril 2023
Secções atualizadas	Adicionar cazaque
Secções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revista	AY
Data de revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Versão revista	AZ
Data de revisão	Julho 2024
Secções atualizadas	Histórico de revisões

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (número do documento B60062)

	Specifikationer
Specificitet	NG2
Klon	7,1
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Readus cell line
Immunoglobulin	IgG1
Arter	Mus
Oprensning	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molarforhold	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-magnetisering	488 nm
Emissionsspids	575 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA og 0,1% NaN_3

IOTest

Konjugeret antistof Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Til *in vitro* diagnostisk brug.

TILSIGTET BRUG

Dette fluorokromkonjugerede antistof muliggør, ved hjælp af flowcytometri, kvalitativ og ikke-automatiseret identifikation af cellepopulationer, der udtrykker NG2-antigenet, som findes i humane biologiske prøver (se afsnittet ”Prøver” forneden).

PRINCIP

Denne test er baseret på specifikke monoklonale antistoffers evne til at binde sig til de antigene determinanter, der udtrykkes af leukocytter.

Den specifikke farvning af leukocytterne udføres ved inkubation af prøven med IOTest-reagenset. Erytrocytterne fjernes derefter med lysering, og leukocytterne, som ikke påvirkes af denne proces, analyseres ved flowcytometri.

Flowcytometeret måler lysets diffusion og cellernes fluorescens. Dette gør det muligt at afgrænse interessepopulationen inden for det elektroniske vindue, der defineres på et histogram, som korrelerer den ortogonale diffusion af lys (Side Scatter (sidespredning) eller SS) og diffusionen af lys med en snæver vinkel (Forward Scatter (forlæns spredning) eller FS). Andre histogrammer, der kombinerer to af de forskellige parametre, der er til rådighed på cytometret, kan benyttes som støtte under gating-trinnet, afhængig af den af brugeren valgte applikation.

De afgrænsede cellers fluorescens analyseres med henblik på at kunne skelne de positive farvningshændelser fra de ufarvede. Resultaterne udtrykkes som en procentdel af positive hændelser i relation til alle de hændelser, som erhverves ved gatingen.

TILSIGTET BRUGER

Dette produkt er beregnet til professionel brug i laboratoriet.

KLINISK RELEVANS

Anti-NG2-PE er et Anti-NG2-antistof, der anvendes til at identificere og karakterisere celler, der udtrykker NG2-antigenet ved flowcytometri. Dette produkt, anvendt alene, kan ikke og er ikke beregnet til at generere nogen diagnostisk konklusion.

Anvendt i kombination med andre markører kan dette produkt benyttes i en eller flere af følgende funktioner:

- Til hjælp ved differentialdiagnosticering af hæmatologisk unormale patienter ved formodning om hæmatopoietisk neoplasme, samt til overvågning af patienter med kendt hæmatopoietisk neoplasme.
- Til hjælp ved prognosticering af patienter med hæmatologisk neoplasi.

Se følgende referencer:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

PRØVER

Prøver af venøst blod skal udtages i sterile prøverør, der indeholder et EDTA-salt som antikoagulant.

Prøverne skal opbevares ved stuetemperatur (18-25 °C) og må ikke rystes. Prøverne skal homogeniseres ved forsigtig omrysten før udtagning af analyseprøven.

Prøverne skal behandles inden for 24 timer efter venepunktur.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Brug ikke reagenset efter udløbsdatoen.
2. Må ikke nedfryses.
3. Bring det til stuetemperatur (18-25 °C) før brug.
4. Minimér eksponering for lys.
5. Undgå mikrobiel kontaminering reagenserne, idet det kan føre til fejlagtige resultater.
6. Antistofopløsninger, der indeholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsigtighed. Må ikke indtages, og undgå enhver kontakt med hud, slimhinder og øjne.

   I syremedier kan natriumazid desuden danne den potentielt farlige hydrogenazid. Hvis det skal bortskaffes, anbefales det, at reagenset fortyndes i en stor mængde vand, inden det hældes i kloakken, for at undgå ophobning af natriumazid i metalrør og dermed forebygge risikoen for eksplosioner.

7. Alle blodprøver skal anses som potentielt smittefarlige og skal behandles forsigtigt (husk især at bruge beskyttelseshandsker, forklæde og beskyttelsesbriller).
8. Sug aldrig med munden, og undgå at prøverne kommer i kontakt med hud, slimhinde og øjne.
9. Blodprøvetagningsrør og engangsmateriale, der bruges i forbindelse med håndteringen, skal bortskaffes i ad hoc-beholdere, der er beregnet til bortskaffelse.
10. Reagenser og affald skal bortskaffes i henhold til gældende lokale krav.

GHS FAREKLASSIFIKATION

Ikke klassificeret som farlig

SDS Sikkerhedsdatablad er tilgængelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Dette reagens skal opbevares ved mellem 2 og 8 °C og beskyttes mod lys før og efter, at hætteglasset er åbnet.

Stabilitet i lukket hætteglas: 1095 dage.

Stabilitet i åbent hætteglas: Reagenset er stabilt i 180 dage.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Ændringer i den måde, reagenset ser ud på, kan være tegn på forringelse, og reagenset må ikke anvendes.

Ring til Beckman Coulters kundeservice på 800-742-2345 (USA eller Canada), eller kontakt den lokale Beckman Coulter-repræsentant for at få flere oplysninger, eller hvis du modtager et beskadiget produkt.

INDHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive forbindelser i drænledninger af metal. Se NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (Fare for eksplosiv azid). For at undgå en eventuel akkumulering af azidforbindelser, skylles afløbsrør med vand efter bortskaffelse af ufortyndet reagens. Natriumazid skal bortskaffes i overensstemmelse med relevante lokale forskrifter.

PÅKRÆVEDE MATERIALER, SOM IKKE LEVERES MED SÆT:

- Prøvetagningsrør og materiale, der er påkrævet til prøvetagning.
- Automatiske pipetter med engangsspidser til 20, 100 og 500 µL.
- Plasthæmolyserør.
- Reagens til lysering af erytrocytter med vaskefase efter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens til leukocytfiksering. For eksempel: IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800).
- IsotypekontrolPE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumphosphat; 0,145 M natriumchlorid; pH 7,2).
- Centrifuge
- Automatisk omrører (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MED VERSALYSE-REAGENS

Der kan tilføjes et kontrolrør for hvert prøverør, der analyseres, hvormed cellerne blandes under isotype-kontrollerne (ref. A07796).

1. Tilføj 20 µL specifikt IOTest-konjugeret antistof til hvert prøverør og, om nødvendigt, 20 µL negativ kontrol til hvert kontrolprøverør.
2. Tilføj 100 µL af prøven til hvert prøverør. Vortex rørene forsigtigt.
3. Inkubér i 15 til 20 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C), beskyttet mod lys.
4. Udfør derefter analyse af de røde celler. Se brochure fra VersaLyse (ref. A09777) og følg den foretrukne procedure kaldet “med sideløbende fiksering”, som består i at tilsætte 1 mL af blandingen “Fix-and-Lyse”, der fremstilles samtidig. Vortex øjeblikkeligt i et sekund, og inkubér i 10 minutter ved stuetemperatur, beskyttet imod lys.
5. Centrifugér i 5 minutter ved 150 x g ved stuetemperatur.
6. Fjern supernatanten via aspiration.
7. Resuspender cellepelleten med 3 mL PBS.
8. Gentag trin 5.
9. Fjern supernatanten vha. aspiration, og resuspender cellepelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyd, hvis præparaterne skal opbevares mindre end 24 timer. (En formaldehyd-PBS på 0,1% kan opnås ved fortynding af 12,5 µL af IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800) ved dets 10X koncentration i 1 mL af PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uden formaldehyd, hvis præparaterne skal analyseres inden for 2 timer.

Bemærk: Præparaterne skal under alle omstændigheder beskyttes mod lys og opbevares ved 2-8 °C.

FORVENTEDE VÆRDIER

Der er ingen forventet relevant værdi forbundet med dette produkt.

YDEEVNE

Præstationsdata opnås, når proceduren beskrevet foroven, anvendes på mindre end 24 timer gamle blodprøver, tidligere indsamlet i sterile prøverør med EDTA-salt som antikoagulant. Analyse skal foretages senest 2 timer efter immunfarvning.

SPECIFICITET

Neuroglia-antigen-2 (NG2), proteoglykan også kendt som kondroitinsulfatproteoglykan 4 eller melanomassocieret kondroitinsulfatproteoglykan er et 250 kDa type-1 membranglykoprotein, der eksprimeres af mange centralnervesystem- (CNS) celler under udvikling og differentiering, og som spiller vigtige roller ved angiogenese, sårheling og tumorvækst. Kondroitinsulfatproteoglykan-klassen af molekyler kan være hæmmere af celladhæsion og -migration (10) og kan fungere som barrierer mod cellemigration i crista neuralis-baner. Det 7.1 monoklonale antistof genkender en celleoverflademolekyle med kondroitinsulfatproteoglykan med en molekylevægt på 200-220 kDa kendt som det humane homolog af NG2-rotteantigenet. NG2-antigenet findes i populationer med humane gliøse celler (11). Det eksprimeres ikke i normale hæmatopoietiske celler.

PRÆCISION

De procentvise positive værdier blev bestemt ved anvendelse af fuldblod tilsat positive celler. Hver prøve blev kørt 4 gange, to gange dagligt i 1 dag, på 2 instrumenter med Anti-NG2-PE monoklonale antistofreagenser fra 2 lots. Målingerne (% positiv) blev foretaget på Navios-flowcytometer. Analysen blev udført i henhold til CLSI-protokollen EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering af kvantitative målemetoders præcisionsevne).

Vores acceptkriterier afhænger af antallet af positive hændelser målt for hver population:

- Hvis positiv hændelse < 1500, CV < 15%
- Hvis positiv hændelse > 1500, CV < 10%

Fuldblod tilsat HELA-cellelinje							
Antal positive hændelser (middelværdi) = 4262							
	Inter-operatør	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-kørsel	Intra-kørsel	I alt
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØJAGTIGHED

Nøjagtigheden af Anti-NG2-PE blev vurderet ved sammenligning af resultaterne med et referencereagens som prædikat på et sæt fuldblodsprøver tilsat positive celler kørt på et Navios-flowcytometer. Bias mellem test- og referencereagens blev bestemt på basis af forskellen mellem testresultaterne. Hvis bias er inden for det tilladte fejlområde, eller hvis p-værdien ikke indikerer nogen signifikant forskel (> 0,05), anses testresultaterne for de to reagenser for at være ækvivalente.

De opnåede resultater opsummeres i nedenstående tabel:

Antal donorer = 25				
Positivt mål	Middelværdi Δ	Δ % cellekriterie	p-værdi	RESULTATER
Fuldblod tilsat HELA-cellelinje	0,01	<5	0,978	PASS

GRÆNSE FOR BLANK OG DETEKTIONSGRÆNSE

En undersøgelse blev gennemført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering af detektionsevne for kliniske laboratoriemåleprocedurer). Detektionsgrænsen (LOD) er den laveste koncentration af analyt, der kan detekteres konsekvent. De opnåede resultater er opsummeret i nedenstående tabel:

Positive Target	Grænse for blank (celle/µL)	Detektionsgrænse (celle/µL)
HELA Cellelinje	1	3

BEGRÆNSNINGER

1. Flowcytometri kan give forkerte resultater, hvis cytometeret ikke er perfekt justeret, hvis der ikke er blevet kompenseret korrekt for fluorescenslækager, eller hvis områderne ikke er blevet placeret omhyggeligt.
2. Det anbefales at anvende en RBC-lyseringsteknik med et vasketrin, da dette reagens ikke er blevet optimeret til ”no wash”-lyseringsteknikker.
3. Der genereres nøjagtige og reproducerbare resultater, så længe de anvendte procedurer er i overensstemmelse med de tekniske anvisninger på indlæsgssedlen og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerede antistof for dette reagens kalibreres for at kunne tilbyde det bedste specifikke forhold mellem signal/ikke-specifikt signal. Det er derfor vigtigt at overholde forholdet mellem reagensvolumen og prøvevolumen i hver enkelt test.
5. I tilfælde af en hyperleukocytose skal blodet fortyndes i PBS for at opnå en værdi på ca. 5×10^9 leukocytter/L (12).
6. I visse sygdomstilstande, f.eks. alvorligt nyresvigt eller hæmoglobinopatier, kan lysering af røde celler være langsom, ufuldstændig eller endog umulig. I dette tilfælde anbefales det at isolere enkernede celler ved hjælp af en densitetsgradient (f.eks. Ficoll) forud for farvningen (13).
7. Hos patienter behandlet med anti-humane monoklonale antistofterapier, kan påvisning af de respektive specifikke antigener være formindsket eller fraværende, på grund af delvis eller fuldstændig blokering af det terapeutiske antistof.
8. Anti-NG2-PE-resultaterne bør fortolkes i lyset af patientens samlede kliniske præsentation, herunder symptomer, sygehistorie, data fra andre tests samt anden relevant information.

Se Tillæg for eksempler og referencer.

VAREMÆRKER

Beckman Coulter, det stiliserede logo og de Beckman Coulter produkt- og servicemærker, der er omtalt heri, er varemærker eller registrerede varemærker tilhørende Beckman Coulter, Inc. i USA og andre lande.

YDERLIGERE OPLYSNINGER

For en patient/bruger/tredjepart i Den Europæiske Union og i lande med identisk lovgivningsmæssig reguleringsordning (forordning 2017/746/EU om medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik); hvis der er sket en alvorlig hændelse under brugen af dette apparat eller som et resultat af dens anvendelse, skal du rapportere den til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og til din nationale myndighed.

Summary of Safety and Performance (Sammenfatning af Sikkerhed og Ydeevne) er tilgængeligt fra EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVISION AD:	Frigivelsesdato: Oktober 2019

REVISION	**Udgivelsesdato**
AW	Maj 2022
Opdateringer for at sikre overholdelse af Beckman Coulters globale mærkningspolitik og overensstemmelse med IVD-R (EU)2017/746:	
Tilføjede afsnit	BSI 2797-nummer, Tilsigtet bruger, Klinisk relevans, Koncentration, Præcision, Nøjagtighed, Grænse for blank og detektionsgrænse, Yderligere oplysninger, Revisionshistorik.
Tilføjet information	Se afsnittet Begrænsninger
Opdatering af formulering eller typografi	Se afsnittene Procedure, Præstation, Begrænsninger, Advarsel og forholdsregler, Opbevaring og Holdbarhed.
Fjernede afsnit	Eksempel på klinisk anvendelse, Reagenser, Intra-laboratorie reproducerbarhed, Linearitet
Opdaterede afsnit	Tilsigtet brug, GHS-fareklassifikation, Tegn på forringelse, Procedure, Tillæg.

REVISION	**Udgivelsesdato**
AX	April 2023
Opdaterede afsnit	Kasakhisk er blevet tilføjet
Opdaterede afsnit	Opbevaring og holdbarhed

Revideret version	AY
Revisionsdato	Maj 2024
Opdaterede oversættelser	**Klinisk relevans:**
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Revideret version	AZ
Revisionsdato	Juli 2024
Opdaterede afsnit	Revisionshistorik

Symbolnøgle

En ordliste over symboler findes på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Specifikationer
Specificitet	NG2
Klon	7,1
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Readus cell line
Immunglobulin	IgG1
Arter	Mus
Rening	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molförhållande	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ excitering	488 nm
Emissionstopp	575 nm
Buffert	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA och 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugerad antikropp Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

För *in vitro* diagnostiskt bruk.

AVSEDD ANVÄNDNING

Denna fluorokromkonjugerade antikropp möjliggör kvalitativ och ej automatiserad identifiering av cellpopulationer som uttrycker NG2-antigenet som förekommer i humana biologiska prover med användning av flödescytometri (se avsnittet ”Prov” nedan).

PRINCIP

Detta test är baserat på förmågan hos specifika monoklonala antikroppar att bindas till de antigena determinanter som uttrycks av leukocyter.

Specifik färgning av leukocyterna utförs genom att inkubera provet med IOTest-reagenset. De röda cellerna avlägsnas sedan via lysering och leukocyterna, som inte påverkas av denna process, analyseras med flödescytometri.

Flödescytometern mäter ljusdiffusion och fluorescens av celler. Det möjliggör avgränsningen av populationen av intresse i det elektroniska fönstret definierat i ett histogram, som korrelerar den rätvinkliga ljusspridningen (sidospridning eller SS) och spridningen av snävt ljus (framåtspridning eller FS). Andra histogram som kombinerar två av de tillgängliga parametrarna på cytometern, kan användas som stöd i gating-skedet beroende på tillämpningen som användaren har valt.

Fluorescensen av de begränsade cellerna analyseras för att skilja ut positivt färgade händelser från ofärgade händelser. Resultaten uttrycks som en procentandel av positiva händelser i relation till alla händelser som samlats in med hjälp av gating.

AVSEDD ANVÄNDARE

Denna produkt är avsedd för yrkesmässig laboratorieanvändning.

KLINISK RELEVANS

Anti-NG2-PE är en Anti-NG2-antikropp som används för att identifiera och egenskapsbestämma celler som uttrycker NG2-antigenen med hjälp av flödescytometri. Denna produkt kan inte och är inte avsedd för att ensam ge upphov till någon diagnostisk slutsats.

Vid användning i kombination med andra markörer kan denna produkt användas i en eller flera av följande funktioner:

- Som hjälp vid differentialdiagnostisering av hematologiskt onormala patienter som misstänks ha en hematopoetisk tumör eller för övervakning av patienter med känd hematopoetisk tumör.
- Som hjälp vid prognostisering av patienter med blodsjukdomar.

Se följande referenser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

PROV

Venblod måste tas i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant.

Proverna bör förvaras i rumstemperatur (18–25 °C) och inte skakas. Prover bör vara homogeniserade genom försiktig omrörning innan provet tas.

Proverna måste analyseras inom 24 timmar efter venpunktur.

VARNING OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Använd inte reagenset efter utgångsdatumet.
2. Får ej frysas.
3. Låt den komma till rumstemperatur (18–25 °C) före användning.
4. Minimera exponering för ljus.
5. Undvik mikrobiell kontaminering av reagens. Det kan leda till felaktiga resultat.
6. Antikroppslösningar som innehåller natriumazid (NaN_3) bör hanteras med försiktighet. Inta inte internt och undvik all kontakt med hud, slemhinnor och ögon.

   I syramedium kan natriumazid dessutom bilda potentiellt farlig hydrazinsyra. Om reagensen måste kasseras rekommenderar vi att den späds ut med en stor volym vatten innan den hälls ut i avloppssystemet för att undvika explosionsrisk och att natriumazid ackumuleras i metallrören.

7. Alla blodprover måste betraktas som potentiellt smittsamma och ska hanteras med försiktighet (i synnerhet vad gäller användande av skyddshandskar, rockar och skyddsglasögon).
8. Pipettera aldrig med munnen och se till att proverna inte kommer i kontakt med hud, slemhinnor och ögon.
9. Blodprovsrör och engångsmaterial som används för hantering ska kasseras i särskilda behållare avsedda för förbränning.
10. Reagens och avfall ska kasseras i enlighet med lokala krav.

RISKKLASSIFICERING ENLIGT GHS

Ej klassat som farligt

SDS Säkerhetsdatablad finns tillgängligt på beckmancoulter.com/techdocs

FÖRVARING OCH STABILITET

Detta reagens måste hållas mellan 2 och 8 °C och skyddas mot ljus, före och efter att ampullen öppnats.

Hållbarhet för sluten ampull per stabilitetsstudie: 1095 dagar.

Stabilitet i öppen ampull: reagenset är stabilt i 180 dagar.

TECKEN PÅ FÖRSÄMRING

Alla förändringar i reagensens fysiska utseende kan indikera försämring och att reagenset inte ska användas.

För mer information eller om en skadad produkt tas emot, ring Beckman Coulter kundtjänst på 800-742-2345 (USA eller Kanada) eller kontakta din lokala Beckman Coulter-representant.

INNEHÅLL

Konserveringsmedlet natriumazid kan bilda explosiva föreningar i avloppsledningar av metall. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (76-8-16) (Bulletin från den amerikanska motsvarigheten till arbetsmiljöverket: Fara för azidexplosion).
För att undvika risken för ansamling av azidföreningar ska avloppsrören spolas igenom med vatten efter att outspädda reagenser har kasserats. Kassering av natriumazid måste ske i enlighet med tillämpliga lokala regler.

MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE FÖLJER MED KITET:

- Provrör och nödvändigt material för provtagning.
- Automatiska pipetter med engångsspetsar för 20, 100 och 500 µL.
- Hemolysrör av plast.
- Lyseringsreagens för röda blodceller med tvätt efter lyseringen. Till exempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens för leukocytfixering. Till exempel: IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800).
- Isotyp-kontroll PE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffert (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Centrifugera.
- Automatisk omrörare (Vortex-typ).
- Flödescytometer.

PROCEDUR MED VERSALYSE-REAGENS

För varje analyserat prov kan förutom provröret ett kontrollprovrör läggas till i vilket cellerna blandas i närvaro av isotypkontrollerna (ref. A07796).

1. Tillsätt 20 µL av specifik IOTest-konjugerad antikropp till varje provrör och vid behov 20 µL av isotypkontroll till varje kontrollprovrör.
2. Tillsätt 100 µL av testprovet i varje provrör. Vortexblanda provrören försiktigt.
3. Inkubera i 15 till 20 minuter vid rumstemperatur (18–25 °C) och skyddat mot ljus.
4. Utför sedan lysering av de röda blodkropparna. Se bladet VersaLyse (ref. A09777) och följ företrädesvis proceduren som benämns ”med samtidig fixering”, som består av att tillsätta 1 mL av ”Fixera-och-lysera”-blandningen som beretts strax innan. Vortexblanda omedelbart i en sekund och inkubera i 10 minuter vid rumstemperatur och skyddat mot ljus.
5. Centrifugera i 5 minuter vid 150 x g vid rumstemperatur.
6. Avlägsna ytskiktet genom aspiration.
7. Återsuspendera cellpelleten med 3 mL PBS.
8. Upprepa steg 5.
9. Avlägsna ytskiktet genom aspiration och återsuspendera cellpelleten med:

- 0,5 mL eller 1 mL av PBS plus 0,1 % formaldehyd om preparaten är avsedda att förvaras mindre än 24 timmar. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan erhållas genom spädning av 12,5 µL av IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800) i dess 10X-koncentration i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS utan formaldehyd, om preparaten är avsedda att analyseras inom 2 timmar.

Anmärkning: Behåll i samtliga fall beredningarna vid 2 till 8 °C och skyddade från ljus.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

Denna produkt har inget relevant förväntat värde.

PRESTANDA

Prestandadata erhålls med proceduren som beskrivs ovan på blodprov som är färskare än 24 timmar som tagits i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant. Analys utförs inom 2 timmar efter immunfärgning.

SPECIFICITET

Neuron glia antigen-2 (NG2), proteoglykan även kallat kondroitinsulfatproteoglykan 4, eller melanomrelaterat kondroitinsulfatproteoglykan är ett 250 kDa typ-1 membranglykoprotein som uttrycks av många celler i det centrala nervsystemet (CNS) under utveckling och differentiering och spelar viktiga roller i angiogenes, sårläkning och tumörtillväxt. Kondroitinsulfatproteoglykanklassen av molekyler kan hämma celladhesion och -migration (10) och kan användas som barriärer mot cellmigration i neuralkammen. Den monoklonala antikroppen 7.1 känner igen en kondroitinsulfatproteoglykanmolekyl i cellytan med en molekylvikt på 200–220 kDa, känd som den humana motsvarigheten till råttans NG2-antigen. NG2-antigenet finns på humana gliacellpopulationer (11). Det uttrycks inte på normala hematopoesceller.

PRECISION

Procentvärdet för positiva värden bestämdes med helblod med tillsatta positiva celler. Varje prov kördes 4 gånger, två gånger om dagen under 1 dag på 2 instrument med 2 loter Anti-NG2-PE monoklonala antikroppsreagens. Mätningar (% positiva) utfördes på Navios flödescytometer. Analys utfördes baserat på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Utvärdering av precisionsprestanda för kvantitativa mätmetoder).

Våra acceptanskriterier beror på antalet positiva händelser som uppmäts för varje population:

- Om positiv händelse < 1 500, CV < 15 %
- Om positiv händelse > 1 500, CV < 10 %

Helblod som tillsatts HELA cell-linje							
Antal positiva händelse (medelvärde) = 4262							
	Mellan operatörer	Mellan cytometrar	Inom lot	Mellan loter	Mellan körningar	Inom körning	Totalt
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
RESULTAT	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NOGGRANNHET

Noggrannheten hos Anti-NG2-PE bedömdes genom att jämföra resultaten med en referensreagens som predikat för en uppsättning helblodprov som tillförts positiva celler och körts på en Navios flödescytometer. Bias mellan test- och referensreagens bestämdes baserat på skillnaden mellan testresultat. Om bias ligger inom tillåtet felintervall eller p-värdet anger att det inte finns någon signifikant skillnad (> 0,05), så anses testresultaten för de två reagenserna vara likvärdiga.

Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell nedan:

Antal donatorer = 25				
Positivt mål	Medelvärde Δ	Δ % cellkriterier	p-värde	RESULTAT
Helblod som tillsatts HELA cell-linje	0,01	<5	0,978	PASS

BLANKGRÄNS OCH DETEKTIONSGRÄNS

En studie genomfördes i enlighet med CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Utvärdering av detekteringsförmåga för kliniska laboratoriemätningsprocedurer). Detektionsgräns (LoD) är den lägsta analytkoncentrationen som konsekvent kan detekteras. Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell:

Positive Target	Blankgräns (cell/µL)	Detektionsgräns (cell/µL)
HELA Cellinje	1	3

BEGRÄNSNINGAR

1. Flödescytometri kan ge falska resultat om cytometern inte har justerats perfekt, om fluorescensläckor inte har kompenserats korrekt och om regionerna inte har placerats noggrant.
2. Det är bäst att använda en RBC-lyseringsteknik med ett tvättsteg, eftersom denna reagens inte optimerats för lyseringstekniker ”utan tvätt”.
3. Noggranna och reproducerbara resultat kommer att erhållas så länge de förfaranden som används är i enlighet med den tekniska bipacksedeln och förenliga med god laboratoriepraxis.
4. Den konjugerade antikroppen för detta reagens är kalibrerad för att erbjuda det bästa specifik signal/icke-specifik signal-förhållandet. Därför är det viktigt att följa reagensvolym/provvolym-förhållandet i varje test.
5. Vid hyperleukocytos, späd blodet i PBS för att erhålla ett värde på cirka 5 x 10^9 leukocyter/L (12).
6. Vid vissa sjukdomstillstånd, såsom vid mycket svår njursvikt eller hemoglobinopatier, kan lysering av röda celler vara långsam, ofullständig eller till och med omöjlig. I detta fall är det rekommenderat att isolera mononukleära celler med användning av en densitetsgradient (till exempel Ficoll) innan färgningen (13).
7. Hos patienter som behandlas med anti-human monoklonala antikroppar kan detektering av de specifika eftersökta antigenerna minska eller utebli på grund av delvis eller fullständig blockering från behandlingens antikropp.
8. Resultat för Anti-NG2-PE bör tolkas med tanke på patientens totala kliniska bild, inklusive: symptom, anamnes, information från övriga test och annan lämplig information.

Se bilagan för exempel och referenser.

VARUMÄRKEN

Beckman Coulter, den stiliserade logotypen och Beckman Coulters produkt- och tjänstmärken som nämns häri är varumärken eller registrerade varumärken som tillhör Beckman Coulter, Inc. i USA eller andra länder.

YTTERLIGARE INFORMATION

För en patient/användare/tredje part inom EU och i länder med identiskt regelsystem (förordning 2017/746/EU om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik); om, vid användning av denna enhet eller som ett resultat av dess användning, en allvarlig incident inträffat ska den rapporteras till tillverkaren och/eller till dess auktoriserade representant och till den nationella myndigheten.

Summary of Safety and Performance (Sammanfattning av säkerhet och prestanda) finns tillgänglig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVIDERING AD:	Publiceringsdatum: Oktober 2019

REVISION	**Publiceringsdatum**
AW	Maj 2022
Uppdateringar för att uppfylla Beckman Coulter globala etiketteringspolicy och kraven i IVD-R (EU)2017/746:	
Tillagda avsnitt	BSI 2797 Nummer, Avsedd användare, Klinisk relevans, Koncentration, Precision, Noggrannhet, Blankgräns och detektionsgräns, Ytterligare information, Revisionshistorik.
Tillagd information	Se avsnittet Begränsningar
Ordval eller typografiska uppdateringar	Se avsnitten Procedur, Prestanda, Begränsningar, Varningar och försiktighetsåtgärder, Förvaring och stabilitet.
Borttagna avsnitt	Exempel på kliniska tillämpningar, Reagens, Reproducerbarhet inom laboratorium, Linearitet
Uppdaterade avsnitt	Avsedd användning, Faroklassificering enligt GHS, Tecken på försämring, Procedur, Bilaga.

REVISION	**Publiceringsdatum**
AX	April 2023
Uppdaterade avsnitt	Lägg till kazakiska
Uppdaterade avsnitt	Förvaring och hållbarhet

Reviderad version	AY
Datum för revidering	Maj 2024
Uppdaterade översättningar	**Klinisk relevans:**
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Reviderad version	AZ
Datum för revidering	Juli 2024
Uppdaterade avsnitt	Revisionshistorik

Teckenförklaring för symboler

Ordlista för symboler finns på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Spesifikasjoner
Spesifisitet	NG2
Klon	7,1
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Readus cell line
Immunoglobulin	IgG1
Art	Mus
Rensing	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molart forhold	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-eksitasjon	488 nm
Strålingstopp	575 nm
Buffer	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/mL BSA og 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugert antistoff Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

For *in vitro*-diagnose.

TILTENKT BRUK

Dette fluorokromkonjugerte antistoffet muliggjør kvalitativ og ikke-automatisert identifisering av cellepopulasjoner som uttrykker NG2-antigenet som finnes i humane biologiske prøver, ved hjelp av flowcytometri (se avsnittet «Prøver» nedenfor).

PRINSIPP

Denne testen er basert på evnen spesifikke monoklonale antistoffer har til å binde seg til antigendeterminantene uttrykt av leukocytter.

Spesifikk farging av leukocyttene utføres ved inkubering av prøven med IOTest-reagenset. De røde cellene fjernes deretter ved lysering, og leukocyttene, som er uberørt av denne prosessen, analyseres ved flowcytometri.

Flytcytometeret måler lysdiffusjon og cellenes fluorescens. Det gjør det mulig å avgrense populasjonen som skal undersøkes innenfor det elektroniske vinduet som er definert på et histogram, og som korrelerer den ortogonale lysspredningen (sidespredning eller SS) og spredningen av trangvinklet lys (foroverpredning eller FS). Andre histogrammer som kombinerer to av de ulike parametrene på cytometeret kan brukes som støtte ved gatingstadiet, avhengig av programmet som velges av brukeren.

Fluorescensen i de avgrensede cellene analyseres for å skille de positivt fargede hendelsene fra de ufargede. Resultatene er uttrykt som en prosentandel positive hendelser i forhold til alle hendelser innhentet ved gatingen.

TILTENKT BRUKER

Dette produktet skal brukes av profesjonelle brukere på laboratorier.

KLINISK RELEVANS

Anti-NG2-PE er et Anti-NG2-antistoff som brukes til å identifisere og karakterisere celler som uttrykker NG2-antigenet, ved hjelp av flowcytometri. Dette produktet alene kan ikke og er ikke ment å generere en diagnostisk konklusjon.

Når dette produktet brukes i kombinasjon med andre markører, kan det brukes i én eller flere av følgende funksjoner:

- For å bistå ved differensialdiagnostisering av hematologisk unormale pasienter med mistenkt hematopoietisk neoplasi og følge opp pasienter med kjent hematopoietisk neoplasi.
- For å bidra ved prognostisering av pasienter med hematopoietisk neoplasi.

Se følgende referanser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

PRØVER

Veneblod må tas ved bruk av sterile rør som inneholder EDTA-salt som antikoagulant.

Prøvene skal oppbevares i romtemperatur (18–25 °C) og ikke ristes. Prøvene skal homogeniseres ved forsiktig risting før du tar testprøven.

Prøvene må analyseres innen 24 timer etter venepunksjon.

ADVARSEL OG FORHOLDSREGLER

1. Reagenset må ikke brukes etter utløpsdatoen.
2. Må ikke fryses.
3. La det nå romtemperatur (18–25 °C) før bruk.
4. Bør ikke utsettes for lys.
5. Unngå mikrobiell kontaminering av reagensene, ellers kan det gi feil resultater.
6. Antistoffløsninger som inneholder natriumazid (NaN_3), skal håndteres med forsiktighet. Ikke til innvortes bruk. Unngå all kontakt med hud, slimhinner og øyne.

   Videre kan natriumazid i et syremedium danne potensielt farlig hydrogenazid. Hvis reagenset må kasseres, anbefales det at det fortynnes i store mengder vann før det tømmes i avløpssystemet, slik at man unngår opphopning av natriumazid i metallrør, og for å hindre eksplosjonsfare.

7. Alle blodprøver må betraktes som potensielt smittefarlige og må håndteres med forsiktighet (gjelder spesielt: bruk av vernehansker, laboratoriefrakk og vernebriller).
8. Pipetter aldri med munnen, og unngå at prøvene kommer i kontakt med huden, slimhinnene og øynene.
9. Blodprøverør og engangsmateriale som brukes til håndtering, skal kastes i beholdere beregnet for forbrenning.
10. Reagenser og avfall skal kastes i henhold til lokale krav.

GHS-FAREKLASSIFISERING

Ikke klassifisert som farlig

SDS Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på beckmancoulter.com/techdocs

OPPBEVARING OG STABILITET

Dette reagenset må oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttes mot lys før og etter at flasken er åpnet.

Holdbarhet i lukket flaske ifølge stabilitetsstudie: 1095 dager.

Stabilitet for åpnet flaske: reagenset er stabilt i 180 dager.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Endringer i reagensenes fysiske utseende kan være tegn på redusert kvalitet, og slike reagenser skal ikke brukes.

For ytterligere informasjon eller hvis produktet mottas skadet, kan Beckman Coulter kundeservice 800-742-2345 (USA og Canada) eller den lokale Beckman Coulter-representanten kontaktes.

INNHOLD

Natriumazid kan danne eksplosive blandinger i metalliske avløpsrør. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Fare for eksplosive azider) (16.8.76). For å unngå mulig opphopning av azidforbindelser må avløpsrør skylles med vann etter avhending av ufortynnet reagens. Avfallshåndtering av natriumazid må skje i samsvar med relevante lokale forskrifter.

NØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE FØLGER MED SETTET:

- Prøvetakingsrør og materiale nødvendig for prøvetaking.
- Automatiske pipetter med engangsspisser til 20, 100 og 500 µL.
- Hemolyserør av plast.
- Rød cellelyseringsreagens med vasketrinn etter lysering. For eksempel: VersaLyse (ref. A09777).
- Leukocytt-fikseringsreagens. For eksempel: IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800).
- -isotypekontroll PE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Sentrifuger.
- Automatisk omrører (vortekstype).
- Flytcytometer.

PROSEDYRE MED VERSALYSE-REAGENS

For hver prøve som analyseres, kan det i tillegg til testrøret legges til ett kontrollrør hvor cellene er blandet med tilstedeværelse av isotypekontrollen (ref. A07796).

1. Tilsett 20 µL spesifikt IOTest-konjugert antistoff i hvert testrør og ved behov 20 µL av isotypekontrollen i hvert kontrollrør.
2. Tilsett 100 µL av testprøven i hvert rør. Vorteks rørene forsiktig.
3. Inkuber i 15 til 20 minutter ved romtemperatur (18–25 °C), beskyttet mot lys.
4. Utfør deretter lysering av de røde blodcellene. Les brosjyren VersaLyse (ref. A09777), og prøv å følge prosedyren kalt «with concomitant fixation» (med samtidig fiksering) som består av å tilsette 1 mL av «fikserings- og lyseringsblandingen» som klargjøres prompte. Bland på vorteksmikser umiddelbart i ett sekund, og inkuber i 10 minutter ved romtemperatur, beskyttet mot lys.
5. Sentrifugeres i 5 minutter ved 150 x g ved romtemperatur.
6. Fjern supernatanten ved aspirasjon.
7. Resuspender cellepelleten i 3 mL PBS.
8. Gjenta trinn 5.
9. Fjern supernatanten ved aspirasjon, og resuspender cellepelleten ved hjelp av:

- 0,5 mL eller 1 mL PBS pluss 0,1 % formaldehyd hvis preparatene skal oppbevares i mindre enn 24 timer. (En 0,1 % formaldehyd-PBS kan oppnås ved å fortynne 12,5 µL IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800) ved 10X konsentrasjon i 1 mL PBS).
- 0,5 mL eller 1 mL PBS uten formaldehyd hvis preparatene skal analyseres innen 2 timer.

Merk: I alle tilfeller skal preparatene oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttet mot lys.

FORVENTEDE VERDIER

Det er ingen forventet verdi som er relevant for dette produktet.

YTELSE

Ytelsesdata er fremskaffet ved bruk av prosedyren som er beskrevet ovenfor på mindre enn 24 timer gamle blodprøver som tidligere er samlet i sterile rør med EDTA-salt som antikoagulant. Analysen utføres innen 2 timer etter immunfarging.

SPESIFISITET

Neuronglia-antigen-2 (NG2), proteoglykan også kjent som kondroitinsulfatproteoglykan 4, eller melanomassosiert kondroitinsulfatproteoglykan er et 250 kDa type-1-membranglykoprotein som uttrykkes av mange celler i sentralnervesystemet (CNS) under utvikling og differensiering og spiller viktige roller ved angiogenese, sårtilheling og tumorvekst. Kondroitinsulfatproteoglykanklassen av molekyler kan være inhibitorer av celleadhesjon og -migrering (10) og kan fungere som barrierer for cellemigrering i nervekammens reaksjonsvei. Det monoklonale antistoffet 7.1 gjenkjenner et overflate-kondroitinsulfatproteoglykanmolekyl med en molekylvekt på 200–220 kDa kjent som den humane homologen til NG2-antigenet hos rotte. NG2-antigenet finnes på humane gliacellepopulasjoner (11). Det uttrykkes ikke på normale hematopoietiske celler.

PRESISJON

Prosentandelen positive verdier ble bestemt med fullblod tilsatt positive celler. Hver prøve ble kjørt 4 ganger, to ganger om dagen i 1 dag på 2 instrumenter med 2 partier Anti-NG2-PE monoklonale antistoffreagenser. Målinger (% positiv) ble foretatt på et Navios-flytcytometer. Analysen ble utført basert på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering av presisjonsytelse ved kvantitative målemetoder).

Våre godkjenningskriterier er avhengige av antall positive hendelser som måles for hver populasjon:

- Hvis positiv hendelse < 1 500, VK < 15 %
- Hvis positiv hendelse > 1 500, VK < 10 %

Fullblod tilsatt HELA-cellelinje							
Antall positive hendelser (gjennomsnitt) = 4262							
	Mellom operatører	Mellom cytometere	Innenfor samme lot	Mellom loter	Mellom kjøringer	Innenfor samme kjøring	Total
VK (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØYAKTIGHET

Nøyaktigheten til Anti-NG2-PE ble vurdert ved å sammenligne resultatene med et referansereagens som predikatet på et sett med fullblodsprøver tilsatt positive celler kjørt på et Navios-flytcytometer. Skjevheten mellom test- og referansereagens ble bestemt basert på forskjellen mellom testresultater. Hvis skjevheten er innenfor det tillatte feilområdet eller p-verdien angir ingen vesentlig forskjell (> 0,05), anses testresultatene for de to reagensene som tilsvarende.

De oppnådde resultatene er oppsummert i den følgende tabellen:

Antall donorer = 25				
Positivt mål	Gjennomsnittlig Δ	Δ % cellekriterier	p-verdi	RESULTATER
Fullblod tilsatt HELA-cellelinje	0,01	<5	0,978	PASS

GRENSE FOR BLANKPRØVE OG DETEKSJONSGRENSE

En studie ble gjennomført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering av deteksjonsevne for måleprosedyrer på kliniske laboratorier). Deteksjonsgrensen (LOD) er den laveste analyttkonsentrasjonen som kan detekteres konsekvent. Resultatene som ble oppnådd, er oppsummert i tabellen nedenfor:

Positive Target	Grense for blankprøve (celle/µL)	Deteksjonsgrense (celle/µL)
HELA Cell line	1	3

BEGRENSNINGER

1. Flowcytometri kan gi falske resultater hvis cytometeret ikke har blitt justert nøyaktig, hvis fluorescenslekkasjer ikke er kompensert riktig, og hvis regionene ikke er nøye plassert.
2. Det er best å bruke en RBC-lyseringsteknikk med et vasketrinn, ettersom dette reagenset ikke er optimert for lyseringsteknikker uten vask.
3. Nøyaktige og reproduserbare resultater vil oppnås så lenge de anvendte prosedyrene er i samsvar med det tekniske pakningsvedlegget og god laboratoriepraksis.
4. Det konjugerte antistoffet til dette reagenset er kalibrert for å oppnå best mulig forhold mellom spesifikt signal og ikke-spesifikt signal. Derfor er det viktig å overholde forholdet mellom reagensvolum og prøvevolum i hver test.
5. Ved hyperleukocytose fortynnes blodet i PBS for å oppnå en verdi på omtrent 5 x 10^9 leukocytter/L (12).
6. Ved visse sykdomstilstander, for eksempel alvorlig nyresvikt eller hemoglobinopatier, kan lyseringen av røde celler være langsom, ufullstendig eller til og med umulig. I dette tilfellet anbefales det å isolere mononukleærerte celler ved hjelp av en densitetsgradient (for eksempel Ficoll) før farging (13).
7. Hos pasienter som behandles med antihumane, monoklonale antistoffbehandlinger, kan deteksjon av bestemte målantigener reduseres eller være fraværende på grunn av delvis eller fullstendig blokkering av det terapeutiske antistoffet.
8. Anti-NG2-PE-resultatene skal tolkes i lys av den totale kliniske vurderingen av pasienten, inkludert: symptomer, klinisk historie, data fra flere tester og annen aktuell informasjon.

Se vedlegget for eksempler og referanser.

VAREMERKER

Beckman Coulter, den stiliserte logoen og vare- og servicemerkene til Beckman Coulter som er omtalt her, er varemerker eller registrerte varemerker som tilhører Beckman Coulter, Inc. i USA og andre land.

TILLEGGSINFORMASJON

For pasient/bruker/tredjepart i EU og land med identisk regelverk (EUs forordning nr. 2017/746 om in vitro-diagnostisk medisinsk utstyr); hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av dette utstyret, eller som et resultat av bruken, skal dette rapporteres til produsenten og/eller den autoriserte representanten samt til nasjonal myndighet.

Summary of Safety and Performance (Sammendrag av sikkerhet og ytelse) er tilgjengelig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISJONSHISTORIE

REVISJON AD:	Utgivelsesdato: Oktober 2019

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AW	Mai 2022
Oppdateringer skal overholde de globale merkingsreglene til Beckman Coulter og være i samsvar med krav iht. IVD-R (EU)2017/746:	
Innsatte avsnitt	BSI 2797-nummer, Tiltenkt bruker, Klinisk relevans, Konsentrasjon, Presisjon, Nøyaktighet, Grense for blankprøve og deteksjonsgrense, Tilleggsinformasjon, Revisjonshistorie.
Innsatt informasjon	Se avsnittet Begrensninger
Oppdatering av formulering eller typografi	Se avsnittene Prosedyre, Ytelse, Begrensninger, Advarsler og forholdsregler, Oppbevaring og stabilitet.
Fjernede avsnitt	Eksempel på kliniske bruksområder, Reagenser, Reproduserbarhet innenfor samme laboratorium, Linearitet
Oppdaterte avsnitt	Tiltenkt bruk, GHS-fareklassifisering, Tegn på nedbryting, Prosedyre, Vedlegg.

REVISJON	**Utgivelsesdato**
AX	april 2023
Oppdaterte avsnitt	Lagt til kasakhisk
Oppdaterte avsnitt	Oppbevaring og stabilitet

Revidert versjon	AY
Revisjonsdato	mai 2024
Oppdatert oversettelser	**Klinisk relevans:**
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Revidert versjon	AZ
Revisjonsdato	juli 2024
Oppdaterte avsnitt	Revisjonshistorikk

Symbolforklaring

Symbolordliste er tilgjengelig på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Tekniset tiedot
Spesifisyys	NG2
Klooni	7,1
Hybridooma	SP2/0 x balb/c
Immunogeeni	Readus cell line
Immunoglobuliini	IgG1
Lajit	Hiiri
Puhdistus	Affiniteettikromatografia
Fluorokromi	R Phycoerythrin (PE)
Moolisuhde	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-viritys	488 nm
Säteilyhuippu	575 nm
Puskuri	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA:ta ja 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugoitunut vasta-aine Anti-NG2-PE

REF B92429 100 testiä; 2 ml, 20 µl / testi

Diagnostiseen *in vitro* -käyttöön.

KÄYTTÖTARKOITUS

Tämän fluorokromikonjugoidun vasta-aineen avulla voidaan kvalitatiivisesti ja muilla kuin automaattisilla tavoilla tunnistaa solupopulaatioita, jotka ilmentävät ihmisen biologisissa näytteissä esiintyvää NG2-antigeeniä virtaussytometriaa käyttämällä (katso jäljempää kohta Näytteet).

PERIAATE

Testi perustuu tiettyjen monoklonaalisten vasta-aineiden kykyyn sitoutua leukosyyttien ilmentämiin antigeenideterminantteihin.

Leukosyyttien spesifinen värjäys tehdään inkuboimalla näyte IOTest-reagenssilla. Punasolut poistetaan sen jälkeen lyysaamalla, ja leukosyytit, joihin tämä prosessi ei vaikuta, analysoidaan virtaussytometrialla.

Virtaussytometri mittaa valonhajontaa ja solujen fluoresenssia. Sen avulla on mahdollista rajata kiinnostuksen kohteena olevan populaatio pylväskaavioon määritetyssä elektronisessa ikkunassa, jossa ortogonaalinen valonhajonta (sivusironta eli SS) vastaa kapean kulman valonhajontaa (eteenpäinsironta eli FS). Muita sytometrin kahta eri parametria yhdistäviä pylväskaavioita voidaan käyttää rajaamisvaiheen tukena käyttäjän valitseman sovelluksen mukaan.

Rajattujen solujen fluoresenssi analysoidaan, jotta positiivisesti värjäytyneet tapahtumat voidaan erottaa värjäytymättömistä tapahtumista. Tulokset ilmaistaan positiivisten tapahtumien prosenttimääränä suhteessa kaikkiin rajauksella kerättyihin tapahtumiin.

AIOTTU KÄYTTÄJÄ

Tämä tuote on tarkoitettu ammattimaiseen laboratoriokäyttöön.

KLIININEN RELEVANSSI

Anti-NG2-PE on Anti-NG2-vasta-aine, jota käytetään NG2-antigeeniä ilmentävien solujen tunnistamiseen ja karakterisointiin virtaussytometrian avulla. Pelkästään tämän tuotteen avulla ei voi tehdä mitään diagnostisia johtopäätöksiä, eikä sitä ole tarkoitettu diagnostisten johtopäätösten tekemiseen.

Kun sitä käytetään yhdessä muiden merkkiaineiden kanssa, tuotetta voidaan käyttää yhteen tai useaan seuraavista toiminnoista:

- Erotusdiagnostiikan tueksi hematologisesti poikkeavilla potilailla, joilla epäillään olevan hematopoieettisia kasvaimia, ja sellaisten potilaiden seurantaan, joilla tiedetään olevan hematopoieettisia kasvaimia.
- Avuksi ennusteen tekemiseen potilaista, joilla on hematopoieettinen neoplasma.

Katso seuraavat viitteet:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

NÄYTTEET

Laskimoverinäytteet on otettava käyttäen steriilejä putkia, joissa on antikoagulanttina EDTA-suolaa.

Näytteet on säilytettävä huoneenlämmössä (18–25 °C), eikä niitä saa ravistaa. Näytteet on homogenoitava sekoittamalla hellävaraisesti ennen testinäytteen ottamista.

Näytteet on analysoitava 24 tunnin sisällä laskimopunktiosta.

VAROITUS JA VAROTOIMET

1. Älä käytä reagenssia viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
2. Ei saa jäätyä.
3. Anna sen lämmetä huoneenlämpöiseksi (18–25 °C) ennen käyttöä.
4. Minimoi altistuminen valolle.
5. Vältä reagenssien mikrobikontaminaatiota, muutoin vaarana ovat virheelliset tulokset.
6. Natriumatsidia (NaN_3) sisältäviä vasta-aineliuoksia tulee käsitellä varoen. Sitä ei saa niellä, ja sen joutumista iholle, limakalvoille ja silmiin on vältettävä.

   Lisäksi happamassa liuoksessa natriumatsidi voi muodostaa mahdollisesti vaarallista hydratsoehappoa. Jos reagenssi on hävitettävä, se on suositeltavaa laimentaa suureen vesimäärään ennen sen kaatamista viemäriin, jotta natriumatsidia ei pääse kertymään metalliputkiin ja vältetään räjähdysvaara.

7. Kaikkia verinäytteitä on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina, ja niitä on käsiteltävä varovaisesti (erityisesti on muistettava suojakäsineiden, -pukujen ja -lasien käyttö).
8. Älä koskaan pipetoi suulla ja vältä näytteiden kaikkea kosketusta ihoon, limakalvoihin ja silmiin.
9. Veriputket ja käsittelyyn käytetyt kertakäyttöiset materiaalit on hävitettävä poltettaviksi tarkoitetuissa ad hoc -astioissa.
10. Reagenssit ja jätteet on hävitettävä paikallisten vaatimusten mukaisesti.

GHS-VAARALUOKITUS

Ei luokiteltu vaaralliseksi

SDS Käyttöturvallisuustiedote on saatavana osoitteessa beckmancoulter.com/techdocs

SÄILYTYS JA STABILITEETTI

Tätä reagensseja on säilytettävä 2–8 °C:n lämpötilassa ja suojattava valolta ennen ampullin avaamista ja sen jälkeen.

Suljetun ampullin säilyvyysaika stabiliteettitutkimuksen mukaan: 1095 päivää.

Avatun ampullin stabiliteetti: reagenssi on stabiili 180 päivän ajan.

MERKIT PILAANTUMISESTA

Mahdolliset muutokset reagenssin fyysisessä ulkonäössä voivat viitata huonontumiseen, eikä reagenssia saa tällöin käyttää.

Jos tarvitset lisätietoja tai jos sait vahingoittuneen tuotteen, soita Beckman Coulter -asiakaspalveluun numeroon 800 742 2345 (USA ja Kanada) tai ota yhteyttä Beckman Coulterin paikalliseen edustajaan.

SISÄLTÖ

Natriumatsidi-säilöntäaine saattaa muodostaa räjähtäviä yhdisteitä metallisissa viemäriputkissa. Katso NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.08.1976). Huuhtele viemäriputket vedellä laimentamattoman reagenssin poiston jälkeen mahdollisen atsidiyhdisteiden kerääntymisen estämiseksi. Hävitä natriumatsidi asianmukaisten paikallismääräysten mukaisesti.

TARVITTAVAT MATERIAALIT, JOITA EI TOIMITETA SARJAN MUKANA:

- Näytteenottoon tarvittavat näytteenottoputket ja materiaalit.
- Automaattiset pipetit, joissa kertakäyttökärjet 20, 100 ja 500 µl.
- Muoviset hemolyysiputket.
- Punasolujen lyysireagenssi ja pesuvaihe lyysin jälkeen. Esimerkiksi: VersaLyse (viite A09777).
- Leukosyyttien kiinnitysreagenssi. Esimerkiksi: IOTest 3 -fiksatiiviliuos (viite A07800).
- Isotyyppinen kontrolli PE: IOTest-reagenssi (viite A07796).
- Puskuri (PBS: 0,01 M natriumfosfaattia, 0,145 M natriumkloridia, pH 7,2).
- Sentrifugi.
- Automaattinen sekoitin (Vortex-/pyörretyyppinen).
- Virtaussytometri.

VERSALYSE-REAGENSSIN MENETTELY

Jokaiselle analysoidulle näytteelle voidaan lisätä testiputken lisäksi yksi kontrolliputki, jossa solut sekoitetaan käyttämällä isotyyppistä kontrollia (ref. A07796).

1. Lisää 20 µl spesifisiä IOTest-konjugoituja vasta-aineita jokaiseen testiputkeen ja tarvittaessa 20 µl isotyyppistä kontrollia jokaiseen kontrolliputkeen.
2. Lisää 100 µl testinäytettä kuhunkin putkeen. Sekoita putkia vorteksilla varovaisesti.
3. Inkuboi 15–20 minuuttia huoneenlämmössä (18–25 °C), valolta suojattuna.
4. Tee sitten punasolujen lyysaus. Tutustu VersaLyse (viite A09777) -selosteeseen ja noudata mieluiten menettelyä, jonka nimessä on maininta ”rinnakkaiskiinnityksen kanssa” ja johon sisältyy ohje lisätä 1 ml kiinnitys- ja lyysiseosta, joka on valmistettu kyseistä tapausta varten. Sekoita välittömästi vorteksilla yhden sekunnin ajan ja inkuboi 10 minuuttia huoneenlämmössä, valolta suojattuna.
5. Sentrifugoi 150 x g 5 minuutin ajan huoneenlämmössä.
6. Poista supernatantti aspiroimalla.
7. Suspendoi solupelletti uudelleen käyttämällä 3 ml PBS:ää.
8. Toista vaihe 5.
9. Poista supernatantti aspiroimalla ja suspendoi solupelletti käyttämällä:

- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää plus 0,1 % formaldehydiä, jos valmisteet aiotaan säilyttää alle 24 tuntia. (0,1 % formaldehydiä sisältävä PBS saadaan laimentamalla 12,5 µl IOTest 3 -fiksatiiviliuosta (viite A07800) sen 10-kertaisella pitoisuudella 1 ml:aan PBS:ää).
- 0,5 ml tai 1 ml PBS:ää ilman formaldehydiä, jos valmisteet tullaan analysoimaan 2 tunnin sisällä.

Huomautus: Pidä valmisteet kaikissa tapauksissa 2–8 °C:n lämpötilassa ja valolta suojattuna.

ODOTETUT ARVOT

Tämän tuotteen kannalta olennaista odotettua arvoa ei ole.

SUORITUSKYKY

Suorituskykytiedot saadaan edellä kuvatulla menetelmällä käyttämällä alle 24 tunnin ikäisistä näytteistä, jotka on aiemmin kerätty steriileihin putkiin, joissa antikoagulanttina on EDTA-suola. Analyysi suoritetaan 2 tunnin kuluessa immunovärjäyksestä.

SPESIFISYYS

Neuroglia-antigeeni-2 (NG2), myös kondroitiinisulfaattiproteoglykaani 4:nä tai melanoomaan liittyvänä kondroitiinisulfaattiproteoglykaanina tunnettu proteoglykaani on 250 kDa:n tyypin 1 membraaninen glykoproteiini, jota monet keskushermoston (CNS) solut ilmentävät kehittymisen ja erilaistumisen aikana ja jolla on tärkeä rooli angiogeneesissä, haavojen paranemisessa ja kasvainten kasvussa. Molekyylien kondroitiinisulfaattiproteoglykaaniluokka voi estää solujen kiinnittymistä (adheesiota) ja liikkumista (migraatiota) (10), ja se voi toimia esteenä solujen liikkumiselle hermostopienareitillä. Monoklonaalinen vasta-aine 7.1 tunnistaa solupinnan kondroitiinisulfaattiproteoglykaanimolekyylin, joka on molekyylipainoltaan 200–220 kDa ja tunnetaan rotan NG2-antigeenin ihmisen homologina. NG2-antigeeniä esiintyy ihmisen glia- eli hermotukisolupopulaatioissa (11). Se ei ilmene normaaleissa hematopoieettisissa soluissa.

TARKKUUS

Prosentuaaliset positiiviset arvot määritettiin käyttämällä kokoverta, johon oli lisätty positiivisia soluja. Jokainen näyte käsiteltiin 4 kertaa, kahdesti päivässä päivänä 1 2 laitteessa käyttämällä 2 erää Anti-NG2-PE monoklonaalisia vasta-ainereagensseja. Mittaukset (% positiivisia) tehtiin Navios-virtaussytometrillä. Analyysi tehtiin perustuen CLSI:n menetelmään EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivisten mittausmenetelmien tarkkuussuorituskyvyn arviointi).

Hyväksyntäkriteerimme on riippuvainen kussakin populaatiossa mitattujen positiivisten tapahtumien määrästä:

- Jos tapahtuma on positiivinen < 1 500, CV < 15 %
- Jos tapahtuma on positiivinen > 1 500, CV < 10 %

Kokoveri, johon on lisätty HELA -solulinja							
Positiivisten näytteiden lukumäärä (keskiarvo) = 4262							
	Käyttäjien välinen	Sytometrin sisäinen	Erän sisäinen	Erien välinen	Ajojen välinen	Ajon sisäinen	Yhteensä
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
TULOKSET	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ULKOINEN TARKKUUS

Kohteen Anti-NG2-PE tarkkuus arvioitiin vertaamalla tuloksia viitereagenssiin, joka toimi Navios-virtaussytometrilla käsitellyn kokoverinäytesarjan, johon oli lisätty positiivisia soluja, predikaattina. Testireagenssin ja vertailureagenssin välinen poikkeama määritettiin testitulosten välisen eron perusteella. Jos poikkeama on sallitun virhealueen rajoissa tai p-arvo ei osoita merkityksellistä eroa (> 0,05), näiden kahden reagenssin testituloksia pidetään vastaavina.

Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Luovuttajien määrä = 25				
Positiivinen kohde	Keskiarvo Δ	Δ % -solukriteeri	p-arvo	TULOKSET
Kokoveri, johon on lisätty HELA -solulinja	0,01	<5	0,978	PASS

NOLLAMITTAUKSEN YLÄRAJA JA MITTAUKSEN ALARAJA

Tutkimus tehtiin CLSI EP17-A2:n mukaisesti, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Detektiokyvyn arviointi kliinisissä laboratoriomittausmenettelyissä). Mittauksen alaraja (LoD) on analyytin alhaisin pitoisuus, joka voidaan havaita johdonmukaisesti. Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

Positive Target	Nollamittauksen yläraja (solu/µl)	Mittauksen alaraja (solu/µl)
HELA Solulinja	1	3

RAJOITUKSET

1. Virtaussytometrialla saadut tulokset voivat olla virheellisiä, jos sytometri on kohdistettu epätarkasti, jos fluoresenssivuotoja ei ole kompensoitu oikein ja jos alueita ei ole sijoitettu tarkasti.
2. On suositeltavaa käyttää punasolujen lyysaukseen pesuvaiheen sisältävää tekniikkaa, koska tätä reagenssia ei ole optimoitu lyysaustekniikoille, joihin ei sisälly pesua.
3. Tulokset oivat tarkkoja ja toistettavissa, kunhan käytetyt menetelmät ovat teknisen selosteen mukaisia ja noudattavat hyviä laboratoriokäytäntöjä.
4. Tämän reagenssin konjugoitu vasta-aine kalibroidaan siten, että saadaan paras spesifisen signaalin ja epäspesifisen signaalin suhde. Siksi on tärkeää noudattaa reagenssin tilavuuden / näytteen suhdetta jokaisessa testissä.
5. Jos kyseessä on hyperleukosytoosi, laimenna veri PBS:ään siten, että saat arvoksi noin 5 x 10^9 leukosyyttiä/l (12).
6. Tietyissä sairaustiloissa, kuten vaikeassa munuaisten vajaatoiminnassa tai hemoglobinopatioissa, punasolujen hajoaminen voi olla hidasta, epätäydellistä tai jopa mahdotonta. Tässä tapauksessa yksitumaiset solut on suositeltavaa eristää käyttämällä tiheysgradienttia (esimerkiksi Ficoll) ennen värjäystä (13).
7. Potilailla, joita on hoidettu muun kuin ihmisen monoklonaalisilla vasta-aineilla, kohdeantigeenin havaitseminen voi heikentyä tai estyä osittain tai kokonaan hoidossa käytetyn vasta-aineen vaikutuksesta.
8. Anti-NG2-PE-tulosten tulkinnassa on otettava huomioon potilaan kaikki kliiniset tiedot, mukaan lukien oireet, kliininen historia, lisätestien tiedot ja muut asianmukaiset tiedot.

Katso esimerkkejä ja viitteitä liitteestä.

TAVARAMERKIT

Beckman Coulter, tyylitelty logo ja tässä mainitut Beckman Coulter -tuotteiden ja palveluiden merkit ovat Beckman Coulter, Inc:in tavaramerkkejä tai rekisteröityjä tavaramerkkejä Yhdysvalloissa ja muissa maissa.

LISÄTIETOJA

Potilaalle / käyttäjälle / kolmannelle osapuolelle Euroopan unionin alueella ja maissa, joissa on samanlainen sääntelyjärjestelmä (in vitro -diagnostiikkaan tarkoitettuja lääkinnällisiä laitteita koskeva asetus 2017/746/EU): jos tämän laitteen käytön aikana tai sen käytön seurauksena on tapahtunut vakava tapahtuma, ilmoita siitä valmistajalle ja/tai valmistajan valtuutetulle edustajalle sekä kansalliselle viranomaiselle.

Turvallisuutta ja suorituskykyä koskeva yhteenveto on saatavilla EUDAMED-tietokannasta osoitteesta ec.europa.eu/tools/eudamed.

TARKISTUSHISTORIA

VERSIO AD:	Julkaisupäivä: Lokakuu 2019

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AW	Toukokuu 2022
Päivitetty noudattamaan Beckman Coulterin maailmanlaajuista merkintämenettelyä ja IVD-R (EU)2017/746 -standardin vaatimuksia:	
Lisätyt osat	BSI 2797 -numero, Käyttötarkoituksen mukainen käyttäjä, Kliininen relevanssi, Pitoisuus, Tarkkuus, Ulkoinen tarkkuus, Nollamittauksen yläraja ja mittauksen alaraja, Lisätietoja, Tarkistushistoria.
Lisätyt tiedot	Katso kohta Rajoitukset
Sanamuodot tai typografiset päivitykset	Katso kohdat Menettely, Suorituskyky, Rajoitukset, Varoitus ja varotoimet, Säilytys ja stabiliteetti.
Poistetut osat	Esimerkki kliinisistä käyttötarkoituksista, Reagenssit, Laboratorionsisäinen toistettavuus, Lineaarisuus
Päivitetyt osat	Käyttötarkoitus, GHS-vaaraluokitus, Merkit pilaantumisesta, Menettely, Liite.

VERSIO	**Julkaisupäivä**
AX	Huhtikuu 2023
Päivitetyt osat	Lisää kazakki
Päivitetyt osat	Säilytys ja stabiliteetti

Tarkistettu versio	AY
Tarkistuksen päivämäärä	Toukokuu 2024
Päivitetyt käännökset	**Kliininen merkitys:**
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Tarkistettu versio	AZ
Tarkistuksen päivämäärä	Heinäkuu 2024
Päivitetyt osat	Tarkistushistoria

Symboliluettelo

Symbolisanasto on saatavana osoitteessa beckman.com/techdocs (asiakirjan numero B60062)

	Προδιαγραφές
Ειδικότητα	NG2
Κλώνος	7,1
Υβρίδωμα	SP2/0 x balb/c
Ανοσογόνο	Readus cell line
Ανοσοσφαιρίνη	IgG1
Είδος	Μυς
Κάθαρση	Χρωματογραφία συγγένειας
Φθορόχρωμα	R Phycoerythrin (PE)
Γραμμομοριακή αναλογία	PE/Ig: 0,5 - 1,5
διέγερση λ	488 nm
Μέγιστη τιμή εκπομπών	575 nm
Ρυθμιστικό Διάλυμα	PBS pH 7,2 συν 2 mg/mL BSA και 0,1% NaN_3

IOTest
Συζευγμένο αντίσωμα
Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20 µL/εξέταση

Για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Αυτό το συζευγμένο με φθοροχρώματα αντίσωμα επιτρέπει την ποιοτική και μη αυτοματοποιημένη ταυτοποίηση των κυτταρικών πληθυσμών που εκφράζουν το αντιγόνο NG2 που απαντάται σε ανθρώπινα βιολογικά δείγματα, με χρήση κυτταρομετρίας ροής (δείτε την παρακάτω ενότητα «Δείγματα»).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Αυτή η εξέταση βασίζεται στην ικανότητα συγκεκριμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων να δεσμεύονται στους αντιγονικούς καθοριστές που εκφράζονται από τα λευκοκύτταρα.

Η ειδική χρώση των λευκοκυττάρων πραγματοποιείται μέσω της επώασης του δείγματος με το αντιδραστήριο IOTest. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια αφαιρούνται στη συνέχεια με λύση και τα λευκοκύτταρα, τα οποία δεν επηρεάζονται από αυτήν τη διαδικασία, αναλύονται με κυτταρομετρία ροής.

Το κυτταρόμετρο ροής μετρά τη διάχυση φωτός και τον φθορισμό των κυττάρων. Καθιστά δυνατή την οριοθέτηση του πληθυσμού ενδιαφέροντος εντός του ηλεκτρονικού παραθύρου που ορίζεται σε ένα ιστόγραμμα, το οποίο συσχετίζει την ορθογώνια διάχυση φωτός (πλάγια σκέδαση ή SS) και τη διάχυση φωτός κλειστής γωνίας (πρόσθια σκέδαση ή FS). Άλλα ιστογράμματα που συνδυάζουν δύο από τις διαθέσιμες διαφορετικές παραμέτρους του κυτταρόμετρου μπορούν να χρησιμοποιηθούν υποστηρικτικά κατά το στάδιο της οριοθέτησης, ανάλογα με την εφαρμογή που επιλέγει ο χρήστης.

Ο φθορισμός των οριοθετημένων κυττάρων αναλύεται προκειμένου να είναι δυνατή η διάκριση μεταξύ των θετικά σημασμένων συμβάντων και των μη σημασμένων συμβάντων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ποσοστό των θετικών συμβάντων σε σχέση με το σύνολο των συμβάντων που ελήφθησαν από την οριοθέτηση.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΟΣ ΧΡΗΣΤΗΣ

Αυτό το προϊόν προορίζεται για επαγγελματική εργαστηριακή χρήση.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΝΑΦΕΙΑ

Το Anti-NG2-PE είναι ένα αντίσωμα Anti-NG2 που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό κυττάρων που εκφράζουν το αντιγόνο NG2 με κυτταρομετρία ροής. Αυτό το προϊόν από μόνο του δεν μπορεί να παράγει οποιοδήποτε διαγνωστικό συμπέρασμα και δεν προορίζεται για αυτήν τη χρήση.

Όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλους δείκτες, αυτό το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μία ή περισσότερες από τις ακόλουθες λειτουργίες:

- Ως βοήθημα στη διαφορική διάγνωση μη φυσιολογικών αιματολογικά ασθενών με υποψία αιμοποιητικής νεοπλασίας και για την παρακολούθηση ασθενών με γνωστή αιμοποιητική νεοπλασία.
- Ως βοήθημα στην πρόγνωση ασθενών με αιμοποιητική νεοπλασία.

Δείτε τις ακόλουθες παραπομπές:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Τα δείγματα φλεβικού αίματος πρέπει να διατηρούνται σε αποστειρωμένα σωληνάρια που περιέχουν άλας EDTA ως αντιπηκτικό.

Τα δείγματα θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) και δεν θα πρέπει να ανακινούνται. Πριν από τη λήψη του δείγματος προς εξέταση, τα δείγματα πρέπει να ομογενοποιούνται με ήπια ανάδευση.

Τα δείγματα πρέπει να αναλύονται εντός 24 ωρών από τη φλεβοκέντηση.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

1. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης.
2. Μην καταψύχετε.
3. Αφήστε το να περιέλθει σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) πριν από τη χρήση.
4. Ελαχιστοποιήστε την έκθεση στο φως.
5. Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διαφορετικά ενδέχεται να προκύψουν ψευδή αποτελέσματα.
6. Να χειρίζεστε τα διαλύματα αντισωμάτων που περιέχουν αζίδιο του νατρίου (NaN_3) με προσοχή. Μην εισπνέετε και αποφεύγετε κάθε επαφή με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.

Επιπλέον, σε όξινο μέσο, το αζίδιο του νατρίου μπορεί να σχηματίσει ένα δυνητικά επικίνδυνο υδραζωτικό οξύ. Αν χρειαστεί να απορριφθεί, συνιστάται η αραίωση του αντιδραστηρίου με μεγάλη ποσότητα νερού πριν από την έκχυση στο αποχετευτικό σύστημα, προκειμένου να αποφευχθεί η συσσώρευση αζιδίου του νατρίου στις μεταλλικές σωληνώσεις και να αποτραπεί ο κίνδυνος έκρηξης.

7. Πρέπει να θεωρείτε όλα τα δείγματα αίματος δυνητικά μολυσματικά και να τα χειρίζεστε με προσοχή (ειδικότερα: να φοράτε προστατευτικά γάντια, ποδιές και γυαλιά).
8. Μην χρησιμοποιείτε ποτέ πιπέτα με το στόμα και αποφεύγετε κάθε επαφή των δειγμάτων με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.
9. Τα σωληνάρια αίματος και το υλικό μίας χρήσης που χρησιμοποιούνται για τον χειρισμό πρέπει να απορρίπτονται σε ειδικά δοχεία που προορίζονται για αποτέφρωση.
10. Τα αντιδραστήρια και τα απόβλητα πρέπει να απομακρύνονται σύμφωνα με τις τοπικές απαιτήσεις.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ GHS

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο

SDS Το δελτίο δεδομένων ασφάλειας διατίθεται στη διεύθυνση beckmancoulter.com/techdocs

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Πρέπει να φυλάσσετε αυτό το αντιδραστήριο σε θερμοκρασία 2 έως 8 °C και να το προστατεύετε από το φως πριν και μετά το άνοιγμα του φιαλιδίου.

Διάρκεια ζωής κλειστού φιαλιδίου ανά μελέτη σταθερότητας: 1095 ημέρες.

Σταθερότητα ανοιχτού φιαλιδίου: το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό για 180 ημέρες.

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ

Οποιαδήποτε μεταβολή στην εμφάνιση των αντιδραστηρίων είναι πιθανό να υποδεικνύει αλλοίωση και το αντιδραστήριο δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται.

Για επιπλέον πληροφορίες ή σε περίπτωση παραλαβής ελαττωματικού προϊόντος, επικοινωνήστε με την υπηρεσία εξυπηρέτησης πελατών της Beckman Coulter στο 800-742-2345 (για ΗΠΑ και Καναδά) ή με τον τοπικό αντιπρόσωπο της Beckman Coulter.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Το συντηρητικό αζιδίου του νατρίου μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικές ενώσεις στους μεταλλικούς αποχετευτικούς αγωγούς. Δείτε το ενημερωτικό δελτίο του NIOSH: Explosive Azide Hazard (Κίνδυνος έκρηξης αζιδίου) (16/8/76)
Για να αποφύγετε την ενδεχόμενη συσσώρευση ενώσεων αζιδίου, να εκπλένετε τους σωλήνες αποβλήτων με νερό μετά την απόρριψη μη αραιωμένου αντιδραστηρίου. Η απόρριψη του αζιδίου του νατρίου πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους αντίστοιχους τοπικούς κανονισμούς.

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ KIT:

- Σωλήνες δειγματοληψίας και υλικό που είναι απαραίτητο για τη δειγματοληψία.
- Αυτόματες πιπέτες με ρύγχη μιας χρήσης για 20, 100 και 500 µL.
- Πλαστικά σωληνάρια αιμόλυσης.
- Αντιδραστήριο λύσης ερυθροκυττάρων με στάδιο πλύσης μετά τη λύση. Για παράδειγμα: VersaLyse (Ref. A09777).
- Αντιδραστήριο μονιμοποίησης λευκοκυττάρων. Για παράδειγμα: Διάλυμα μονιμοποίησης IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ισοτυπικός μάρτυρας PE: Αντιδραστήριο IOTest (Ref. A07796).
- Ρυθμιστικό διάλυμα (PBS: 0,01 M φωσφορικό νάτριο, 0,145 M χλωριούχο νάτριο, pH 7,2).
- Φυγόκεντρος.
- Αυτόματος αναδευτήρας (τύπου περιδίνησης).
- Κυτταρόμετρο ροής.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ VERSALYSE

Για κάθε δείγμα που αναλύεται, εκτός του σωληναρίου εξέτασης, μπορεί να προστεθεί ένα σωληνάριο μάρτυρα μέσα στο οποίο αναμειγνύονται τα κύτταρα παρουσία του ισοτυπικού μάρτυρα (Ref. A07796).

1. Προσθέστε 20 µL ειδικού συζευγμένου αντισώματος IOTest σε κάθε δοκιμαστικό σωληνάριο και, εάν απαιτείται, 20 µL του ισοτυπικού μάρτυρα σε κάθε σωληνάριο μάρτυρα.
2. Προσθέστε 100 µL του αναλυόμενου δείγματος σε κάθε σωληνάριο. Περιδινήστε απαλά τα σωληνάρια.
3. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) για 15 έως 20 λεπτά, προστατεύοντας από το φως.
4. Στη συνέχεια, πραγματοποιήστε λύση των ερυθροκυττάρων. Ανατρέξτε στο φύλλο οδηγιών του VersaLyse (Ref. A09777) και ακολουθήστε κατά προτίμηση τη διαδικασία «με ταυτόχρονη μονιμοποίηση», που περιλαμβάνει την προσθήκη 1 mL μείγματος «μονιμοποίησης και λύσης», το οποίο παρασκευάστηκε πρόχειρα. Περιδινήστε αμέσως επί ένα δευτερόλεπτο και επωάστε επί 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, προστατεύοντας από το φως.
5. Φυγοκεντρήστε για 5 λεπτά στα 150 x g σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση.
7. Πραγματοποιήστε επαναιώρηση του κυτταρικού ιζήματος με 3 mL PBS.
8. Επαναλάβετε το βήμα 5.
9. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση και επαναιωρήστε το κυτταρικό ίζημα με:

- 0,5 mL ή 1 mL PBS συν 0,1% φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να φυλαχθούν για λιγότερο από 24 ώρες. (Μπορείτε να παρασκευάσετε διάλυμα 0,1% φορμαλδεΰδης/PBS με αραίωση 12,5 µL του μονιμοποιητικού διαλύματος IOTest 3 (Ref. A07800) 10πλάσιας συγκέντρωσης σε 1 mL PBS).
- 0,5 mL ή 1 mL PBS χωρίς φορμαλδεΰδη, αν τα παρασκευάσματα πρόκειται να αναλυθούν εντός 2 ωρών.

Σημείωση: Σε κάθε περίπτωση, φυλάσσετε τα παρασκευάσματα προστατευμένα από το φως, σε θερμοκρασία μεταξύ 2 και 8 °C.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Δεν υπάρχει αναμενόμενη τιμή σχετικά με αυτό το προϊόν.

ΑΠΟΔΟΣΗ

Τα δεδομένα απόδοσης λαμβάνονται με χρήση της διαδικασίας που περιγράφηκε παραπάνω σε δείγματα αίματος ηλικίας μικρότερης των 24 ωρών που συλλέχθηκαν προηγουμένως σε αποστειρωμένα σωληνάρια με άλας EDTA ως αντιπηκτικό. Η ανάλυση εκτελείται εντός 2 ωρών από την ανοσοχρώση.

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Το νευρογλοιακό αντιγόνο-2 (NG2), η πρωτεογλυκάνη γνωστή και ως πρωτεογλυκάνη 4 θειικής χονδροϊτίνης, ή η σχετιζόμενη με μελάνωμα πρωτεογλυκάνη θειικής χονδροϊτίνης είναι μια μεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη 250 kDa τύπου 1 που εκφράζεται από πολλά κύτταρα του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) κατά τα στάδια ανάπτυξης και διαφοροποίησης, και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αγγειογένεση, την επούλωση τραυμάτων και την αύξηση των όγκων. Η κατηγορία μορίων πρωτεογλυκάνης θειικής χονδροϊτίνης ενδέχεται να αναστέλλει την προσκόλληση και τη μετανάστευση κυττάρων (10) και πιθανόν να λειτουργεί παρεμποδιστικά ως προς τη μετανάστευση κυττάρων στην οδό κυττάρων της νευρικής ακρολοφίας. Το μονοκλωνικό αντίσωμα 7.1 αναγνωρίζει ένα κυτταροεπιφανειακό μόριο πρωτεογλυκάνης θειικής χονδροϊτίνης με μοριακό βάρος 200–220 kDa, γνωστό ως το ανθρώπινο ομόλογο του αντιγόνου NG2 επίμυος. Το αντιγόνο NG2 απαντάται σε πληθυσμούς ανθρώπινων γλοιοκυττάρων (11). Δεν εκφράζεται σε φυσιολογικά αιμοποιητικά κύτταρα.

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Οι ποσοστιαίες θετικές τιμές προσδιορίστηκαν με χρήση ολικού αίματος ενισχυμένου με θετικά κύτταρα. Κάθε δείγμα αναλύθηκε 4 φορές, δύο φορές την ημέρα για 1 ημέρα σε 2 όργανα με χρήση 2 παρτίδων αντιδραστηρίων μονοκλωνικού αντισώματος Anti-NG2-PE. Οι μετρήσεις (% θετικών) πραγματοποιήθηκαν σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με βάση τη μέθοδο CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Αξιολόγηση της απόδοσης ακρίβειας για μεθόδους ποσοτικής μέτρησης).

Τα κριτήρια έγκρισης εξαρτώνται από τον αριθμό των θετικών συμβάντων που μετρώνται για κάθε πληθυσμό:

- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος <1.500, <15% CV
- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος >1.500, <10% CV

Ολικό αίμα ενισχυμένο με HELA σειρά κυττάρων							
Αριθμός θετικών συμβάντων (μέσος όρος) = 4262							
	Μεταξύ χειριστών	Μεταξύ κυτταρόμετρων	Εντός παρτίδας	Μεταξύ παρτίδων	Μεταξύ αναλύσεων	Εντός ανάλυσης	Σύνολο
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ακρίβεια του Anti-NG2-PE αξιολογήθηκε μέσω σύγκρισης των αποτελεσμάτων με ένα αντιδραστήριο αναφοράς ως μέσο πρόγνωσης, σε ένα σύνολο δειγμάτων ολικού αίματος ενισχυμένου με θετικά κύτταρα που αναλύθηκε σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Το συστηματικό σφάλμα μεταξύ εξέτασης και αντιδραστηρίου αναφοράς προσδιορίστηκε με βάση τη διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δοκιμής. Εάν το συστηματικό σφάλμα βρίσκεται εντός του επιτρεπόμενου εύρους σφαλμάτων ή η τιμή p δεν υποδεικνύει καμία σημαντική διαφορά (>0,05), τα αποτελέσματα δοκιμών για τα δύο αντιδραστήρια θεωρούνται ισοδύναμα.

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον πίνακα που ακολουθεί:

Αριθμός δοτών = 25				
Θετικός στόχος	Μέση τιμή Δ	Κριτήρια κυττάρων Δ %	Τιμή p	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
Ολικό αίμα ενισχυμένο με HELA σειρά κυττάρων	0,01	<5	0,978	PASS

ΟΡΙΟ ΤΥΦΛΟΥ ΚΑΙ ΟΡΙΟ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

Διεξήχθη μια μελέτη με βάση τις οδηγίες του CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Αξιολόγηση της ικανότητας ανίχνευσης για διαδικασίες μέτρησης κλινικών εργαστηρίων). Το όριο ανίχνευσης (OA) είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση αναλυόμενης ουσίας που μπορεί να ανιχνευτεί σταθερά. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Positive Target	Όριο τυφλού (κύτταρο/μL)	Όριο ανίχνευσης (κύτταρο/μL)
HELA Κυτταρική σειρά	1	3

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Η κυτταρομετρία ροής ενδέχεται να παράγει ψευδή αποτελέσματα αν το κυτταρόμετρο δεν είναι σωστά ευθυγραμμισμένο, αν οι διαρροές φθορισμού δεν έχουν αντισταθμιστεί σωστά και αν οι περιοχές δεν έχουν τοποθετηθεί προσεκτικά.
2. Η τεχνική λύσης RBC είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται με ένα βήμα πλύσης, καθώς το συγκεκριμένο αντιδραστήριο δεν έχει βελτιστοποιηθεί για τεχνικές λύσης «χωρίς πλύση».
3. Ακριβή και επαναλήψιμα αποτελέσματα προκύπτουν στο μέτρο που οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι σύμφωνες με το ένθετο τεχνικών οδηγιών και συμβατές με τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές.
4. Το συζευγμένο αντίσωμα αυτού του αντιδραστηρίου είναι βαθμονομημένο ώστε να προσφέρει την καλύτερη αναλογία ειδικής σήμανσης/μη ειδικής σήμανσης. Γι' αυτό είναι σημαντικό να τηρείτε την αναλογία όγκου αντιδραστηρίου/όγκου δείγματος σε κάθε εξέταση.
5. Σε περίπτωση υπερλευκοκυττάρωσης, αραιώστε το αίμα σε PBS ώστε να επιτευχθεί τιμή περίπου 5 x 10^9 λευκοκύτταρα/L (12).

6. Σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις, όπως η σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια ή οι αιμοσφαιρινοπάθειες, η λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων ενδέχεται να είναι αργή, ατελής ή και ανέφικτη. Σε αυτήν την περίπτωση, συνιστάται η απομόνωση των μονοπύρηνων κυττάρων με διαβάθμιση πυκνότητας (για παράδειγμα Ficoll) πριν από τη χρώση (13).
7. Σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπείες με αντι-ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα, η ανίχνευση των ειδικών στοχευόμενων αντιγόνων ενδέχεται να είναι μειωμένη ή να απουσιάζει λόγω μερικού ή πλήρους αποκλεισμού από το θεραπευτικό αντίσωμα.
8. Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων Anti-NG2-PE θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η συνολική κλινική εικόνα του ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων των συμπτωμάτων, του κλινικού ιστορικού, των δεδομένων πρόσθετων εξετάσεων και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Δείτε το Παράρτημα για παραδείγματα και παραπομπές.

ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ

Η επωνυμία Beckman Coulter, το τυποποιημένο λογότυπο και τα σήματα προϊόντων και υπηρεσιών της Beckman Coulter που αναφέρονται στο παρόν είναι εμπορικά σήματα ή σήματα κατατεθέντα της Beckman Coulter, Inc. στις Ηνωμένες Πολιτείες και σε άλλες χώρες.

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Για ασθενή/χρήστη/τρίτους στην Ευρωπαϊκή Ένωση και σε χώρες με όμοιο ρυθμιστικό καθεστώς (Οδηγία 2017/746/ΕΕ σχετικά με τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα), εάν, κατά τη χρήση αυτής της συσκευής ή ως αποτέλεσμα της χρήσης της, προκύψει σοβαρό περιστατικό, πρέπει να το αναφέρετε στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στις εθνικές αρχές της χώρας στην οποία κατοικείτε.

Το Summary of Safety and Performance (Σύνοψη ασφάλειας και απόδοσης) είναι διαθέσιμο στη βάση δεδομένων EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΕΩΝ

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ AD:	Ημερομηνία έκδοσης: Οκτώβριος 2019

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AW	2022. május
Ενημερώσεις για την επίτευξη συμμόρφωσης με την παγκόσμια πολιτική σήμανσης της Beckman Coulter και σύμφωνα με τις απαιτήσεις IVD-R (ΕΕ)2017/746:	
Προσθήκη ενοτήτων	Αριθμός BSI 2797, προβλεπόμενος χρήστης, κλινική συνάφεια, συγκέντρωση, πιστότητα, ακρίβεια, όριο τυφλού και όριο ανίχνευσης, πρόσθετες πληροφορίες, ιστορικό αναθεωρήσεων.
Προσθήκη πληροφοριών	Δείτε τις ενότητες «Περιορισμοί»
Εκφραστικές ή τυπογραφικές ενημερώσεις	Δείτε τις ενότητες «Διαδικασία», «Απόδοση», «Περιορισμοί», «Προειδοποίηση και προφυλάξεις», «Αποθήκευση και σταθερότητα».
Αφαίρεση ενοτήτων	Παράδειγμα κλινικών εφαρμογών, αντιδραστήρια, διεργαστηριακή επαναληψιμότητα, γραμμικότητα
Ενημερωμένες ενότητες	Προβλεπόμενη χρήση, Ταξινόμηση επικινδυνότητας κατά GHS, Ενδείξεις αλλοίωσης, Διαδικασία, Παράρτημα.

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	**Ημερομηνία έκδοσης**
AX	Απρίλιος 2023
Ενημερωμένες ενότητες	Προσθήκη Καζακικών
Ενημερωμένες ενότητες	Φύλαξη και σταθερότητα

Αναθεωρημένη έκδοση	AY
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Μάιος 2024
Ενημέρωση μεταφράσεων	**Κλινική συνάφεια:**
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθεωρημένη έκδοση	AZ
Αναθεωρημένη ημερομηνία	Ιούλιος 2024
Ενημερωμένες ενότητες	Ιστορικό αναθεωρήσεων

Υπόμνημα συμβόλων

Το γλωσσάριο συμβόλων είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση beckman.com/techdocs (αριθμός εγγράφου B60062)

	仕様
特異性	NG2
クローン	7.1
ハイブリドーマ	SP2/0 x balb/c
免疫原	Readus cell line
免疫グロブリン	IgG1
動物種	マウス
精製	アフィニティークロマトグラフィー
蛍光色素	R Phycoerythrin (PE)
モル比	PE / Ig： 0.5 - 1.5
λ励起	488 nm
発光のピーク	575 nm
緩衝化剤	PBS(pH 7.2) + 2 mg/mL BSAおよび0.1% NaN_3

IOTest

コンジュゲート抗体
Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20 µL/テスト

体外診断用。

用途

この蛍光色素結合抗体混合物により、フローサイトメトリーを用いてヒト生物検体に存在するNG2抗原を発現する細胞集団の定性的かつ非自動での同定が可能になります（以下の「検体」の項を参照）。

原理

このテストは、白血球が発現する抗原決定因子に対する特異的モノクローナル抗体の結合能に基づいています。

白血球の特異的染色は、検体をIOTest試薬とインキュベートすることによって行います。次に、赤血球を溶解によって除去し、このプロセスの影響を受けない白血球をフローサイトメトリーによって分析します。

フローサイトメーターは、細胞の光拡散および蛍光を測定します。これにより、直角散乱光（側方散乱、SS）および鋭角散乱光（前方散乱、FS）と相関するヒストグラム上で規定した電子枠内で対象集団の限界設定が可能になります。ユーザーが選択したアプリケーションに依存して、サイトメーターで利用可能な種々のパラメーターの2つを組み合わせたその他のヒストグラムが、ゲーティング段階の補助として利用できます。

陽性染色イベントと未染色イベントを鑑別するために、区分した細胞の蛍光を測定します。結果は、ゲーティングで得られた全イベントに対する陽性イベントの比率として表します。

対象ユーザー

本製品は、検査室での専門的な使用を目的としています。

臨床的妥当性

Anti-NG2-PEは、フローサイトメトリーでNG2抗原を発現する細胞を同定および特性評価するために使用するAnti-NG2抗体です。この製品だけで診断の結論を下すことはできず、そのように意図されていません。

本製品は、他のマーカーと組み合わせて使用する場合、次の機能の1つまたは複数で使用できます。

- 造血系新生物が疑われる血液学的に異常な患者の鑑別診断を補助し、既知の造血系新生物を有する患者をモニタリングするため。
- 造血系新生物を有する患者の予後を支援するため。

以下の参考文献を参照してください。

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

検体

静脈血は、抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブを用いて採取しなければなりません。

検体は室温（18～25°C）で保管し、揺らさないようにする必要があります。検体は、テスト検体を採取する前に、穏やかな撹拌によって均質化する必要があります。

この検体は、静脈穿刺から24時間以内に分析する必要があります。

警告および注意

1. 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
2. 凍結しないでください。
3. 使用前に室温（18～25°C）にしてください。
4. 露光をできるだけ避けてください。
5. 試薬の微生物汚染を避けてください。誤った結果の原因となる場合があります。
6. アジ化ナトリウム（NaN_3）を含む抗体溶液は慎重に扱う必要があります。体内に摂取してはならず、皮膚、粘膜および眼との接触はすべて避けてください。

   また、酸性媒体では、アジ化ナトリウムから潜在的危険性のあるアジ化水素酸が生成されることがあります。アジ化ナトリウムを含む試薬を廃棄する必要がある場合、金属製のパイプにアジ化ナトリウムが蓄積しないように、また爆発の危険性を防ぐために、試薬を多量の水で希釈してから排水システムに廃棄することを推奨します。

7. すべての血液検体は感染性の可能性があるとみなして慎重に取り扱う必要があります（特に保護手袋、実験着、ゴーグルの着用）。
8. 絶対に口でピペットを吸わないでください。また、皮膚、粘膜、目に検体が接触しないようにしてください。
9. 使用済みの採血管およびディスポーザブル製品は、焼却用の専用容器に入れて廃棄してください。
10. 試薬や廃棄物は地方自治体の要件に従って廃棄してください。

GHSハザード分類

危険有害物質には分類されない

SDS　安全性データシートは、beckmancoulter.com/techdocsで入手できます。

保管および安定性

この試薬は、バイアル開封の前後に2～8℃で保管し、遮光する必要があります。

各安定性試験におけるクローズドバイアルの保存期間：1095日間

開封後のバイアル：試薬は180日間安定しています。

変質や劣化の兆候

試薬の物理的な外観の変化は劣化の徴候である場合があり、その試薬を使用してはなりません。

追加情報に関して、または損傷している製品をお受け取りになった場合、ベックマン・コールターのカスタマーサービス800-742-2345（米国またはカナダ）にお電話をくださるか、最寄りの代理店に連絡してください。

内容

保存剤のアジ化ナトリウムは、金属製排水管内で爆発性化合物を生成するおそれがあります。 NIOSH Bulletinを参照してください: アジド爆発危険性（76/8/16）
アジド化合物が蓄積する可能性を回避するため、未希釈の試薬を廃棄した後は排水管を水で洗い流します。アジ化ナトリウムは地方自治体の規定に従い適切に廃棄してください。

ご用意いただくもの:

- サンプリングに必要なサンプリングチューブと材料。
- 使い捨てチップ付き自動ピペット（100および500 µL用）。20
- プラスチックの溶血チューブ。
- 溶血処理後に洗浄操作した赤血球溶血試薬。例：VersaLyse（製品番号A09777）。
- 白血球固定試薬。例：IOTest 3固定液（製品番号A07800）。
- アイソタイプ対照PE：IOTest試薬（製品番号A07796）。
- 緩衝化剤（PBS：0.01 Mリン酸ナトリウム、0.145 M塩化ナトリウム、pH 7.2）。
- 遠心機
- 自動アジテーター（ボルテックスタイプ）。
- フローサイトメーター

VERSALYSE試薬による手順

測定する各検体について、テストチューブのほか、アイソタイプ対照存在下で細胞を混合した対照チューブ1本を追加することができます（製品番号A07796）。

1. 各テストチューブに20 µLの特異的IOTest結合抗体を加え、必要に応じて20 µLのアイソタイプ対照を各対照チューブに加えます。
2. 各チューブに100 µLのテスト検体を添加します。チューブを穏やかに攪拌します。
3. 遮光した状態で、室温（18～25°C）で15～20分間インキュベートします。
4. 次に、赤血球の溶解を行います。VersaLyse(製品番号A09777)のリーフレットを参照し、できれば「同時固定」と呼ばれる手順に従います。この手順では、その場で調製した「固定/溶解」混合液1 mLを加えます。直ちに1秒間撹拌し、室温、遮光下で10分間インキュベートします。
5. 室温で5分間遠心分離（150 x g）します。
6. 吸引により上清を除去します。
7. 3 mLのPBSを用いて細胞ペレットを懸濁します。
8. ステップ5を繰り返します。
9. 吸引により上清を除去し、以下により細胞ペレットを再懸濁します。

- 調製液の保存期間が24時間未満の場合、ホルムアルデヒド0.1％を含むPBS 0.5 mLまたは1 mL。（0.1%ホルムアルデヒドを含むPBSは、12.5 µLの10倍濃度のIOTest 3固定液（製品番号A07800）を1 mLのPBSに希釈して作製できます）。
- 調製液を2時間以内に分析する場合、ホルムアルデヒドを含まないPBS 0.5 mLまたは1 mL。

注記：いかなる場合でも、調製液は2～8°Cに保ち、遮光してください。

期待値

本製品に関連する期待値はありません。

性能

性能データは、以前に抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブに採取した24時間未満経過した血液検体を対象に、上述の手順を用いて取得しなければなりません。分析は、免疫染色後2時間以内に行います。

特異性

プロテオグリカンであるニューロングリア抗原-2（NG2）（別名コンドロイチン硫酸プロテオグリカン4、またはメラノーマ関連コンドロイチン硫酸プロテオグリカン）は、発生分化の間に多くの中枢神経系（CNS）細胞で発現する250 kDaの1型膜糖タンパク質で、血管新生、創傷治癒、および腫瘍成長に重要な役割を果たします。コンドロイチン硫酸プロテオグリカンクラスの分子は、細胞の接着及び移行の阻害剤（10）である可能性があり、神経堤経路における細胞移行の障壁として機能する可能性があります。7.1モノクローナル抗体は、ラットNG2抗原のヒト同族体として知られる分子量200 ~ 220 kDaの細胞表面コンドロイチン硫酸プロテオグリカン分子を認識します。NG2抗原は、ヒトのグリア細胞集団に存在します（11）。NG2抗原は正常な造血細胞には発現しません。

精密性

陽性細胞を添加した全血を用いて、陽性率の値を判定しました。各検体について、2つの装置で各4回を1日に2回、2ロットのAnti-NG2-PEモノクローナル抗体試薬を使用して測定しました。Naviosフローサイトメーターで測定（%陽性）しました。CLSIメソッドEP5-A2に基づいて分析しました。Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.（定量的測定メソッドの精密性性能の評価。）

当社の判定基準は、各集団について測定された陽性イベントの数によって異なります。

- 陽性イベント< 1,500の場合、CV< 15%
- 陽性イベント> 1,500の場合、CV< 10%

HELA細胞株を添加した全血							
陽性イベント数（平均）= 4262							
	オペレータ間	血球計算器間	ロット内	ロット間	測定間	測定内	総計
CV（%）	1.00	3.03	8.11	0.97	7.83	1.87	8.71
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

正確性

Anti-NG2-PEの正確度は、一連の陽性細胞を添加した全血検体についてNaviosフローサイトメーターで測定した規準としての参照試薬と、結果を比較して評価しました。テスト試薬と参照試薬との間のバイアスは、テスト結果の差に基づいて決定しました。バイアスが許容誤差範囲内にある場合、またはp値が有意差を示さない場合（> 0.05）、2つの試薬のテスト結果は同等と見なされます。

得られた結果を、下表にまとめます。

ドナー数 = 25				
陽性標的細胞	平均Δ	Δ % 細胞基準	p値	結果
HELA細胞株を添加した全血	0.01	<5	0.978	PASS

ブランク上限と検出限界

試験は、CLSI EP17-A2、Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（臨床検査室測定手順の検出能力の評価）に基づいて実施されました。検出限界（LoD）とは、一貫して検出可能な分析物の最小濃度です。取得した結果は、下表に表示されています。

Positive Target	ブランク上限（細胞/µL）	検出限界（細胞/µL）
HELA細胞株	1	3

制限事項

1. フローサイトメトリーは、血球計数器が完全に配列されていない場合、蛍光リークが正しく相殺されていない場合、および領域が慎重に配置されていない場合、誤った結果を示す可能性があります。
2. この試薬は「洗浄なし」溶解手法用に最適化されていないため、洗浄ステップでRBC溶解法を使用することをお勧めします。
3. 取扱説明書および対応する検査室の実施基準に従って作業する限り、正確かつ再現性のある結果が得られます。
4. この試薬の結合抗体は、特異的シグナル/非特異的シグナル比が最適となるようにキャリブレーションされています。そのため、各テストでは、試薬量/検体量比を順守することが重要です。
5. 白血球増加症の場合、白血球数がおよそ5 x 10^9個/Lとなるよう、血液をPBSで希釈してください（12）。
6. 重度の腎不全やヘモグロビン異常など、特定の疾患状態では、赤血球の溶解が遅くなったり、不完全になったり、あるいは溶解できないことさえあります。この場合、染色する前に密度勾配（Ficollなど）を使用して単核細胞を分離することを推奨します（13）。
7. 抗ヒトモノクローナル抗体療法で治療を受けた患者では、治療用抗体による部分的または完全な遮断により、特定の標的抗原の検出が減少または消失する場合があります。
8. Anti-NG2-PEの結果は、患者の総合的な臨床像、例えば諸症状、病歴、他のテストデータ、その他の該当情報などを踏まえて解釈する必要があります。

附録にある例および参考文献を参照してください。

商標

ここに記載されているBeckman Coulter、ロゴマーク、ならびにベックマン・コールターの製品およびサービスマークは、ベックマン・コールターの米国およびその他の国における商標と登録商標です。

その他

欧州連合、および規制制度が欧州連合と同一の国の患者/ユーザー/第三者（体外診断医療機器規制2017/746/EU）については、本機器の使用中または使用の結果、重大な事故が発生した場合、製造元および/または認定代理店ならびに所管の行政機関に報告してください。

「安全性および性能の概要」はEUDAMEDデータベース：ec.europa.eu/tools/eudamedより入手できます。

改訂履歴

改訂番号 AD：	発売日：2019年10月

改訂	**発行日**
AW	2022年5月
ベックマン・コールターのグローバルラベリングポリシーおよびIVD-R（EU）2017/746の要件に準拠するための更新：	
セクションの追加	BSI 2797番号、対象ユーザー、臨床関連性、濃度、精度、正確度、ブランク上限および検出限界、その他、改訂履歴。
情報を追加	「制限事項」のセクションを参照してください
言い回しまたはタイプミスの更新	「手順」、「性能」、「制限」、「警告および注意」、「保管および安定性」のセクションを参照してください。
セクションの削除	臨床応用の例、試薬、検査室内再現性、直線性
セクションの更新	用途、GHSハザード分類、変質や劣化の兆候、手順、附録。

改訂	**発行日**
AX	4月 2023
セクションの更新	カザフ語を追加
セクションの更新	コントロールの調製

改訂版	AY
改訂日	5月 2024
更新された翻訳	**臨床的妥当性**：
セクションの更新	保管および安定性

改訂版	AZ
改訂日	7月 2024
セクションの更新	保管および安定性

記号凡例

記号一覧は、beckman.com/techdocsで入手できます（文書番号B60062）

	规格
特异性	NG2
克隆	7.1
杂交瘤	SP2/0 x balb/c
免疫原	Readus cell line
免疫球蛋白	lgG1
种类	小鼠
纯化	亲和色谱法
荧光染料	R Phycoerythrin (PE)
摩尔比率	PE/lg： 0.5 - 1.5
λ 激励	488 nm
辐射峰值	575 nm
缓冲液	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 和 0.1% NaN_3

IOTest

结合抗体
Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20 µL/测试

供体外诊断使用。

预期用途

此种荧光染料结合抗体可通过流式细胞术对人体生物样本中存在的 NG2 抗原表达细胞群进行定性和非自动化鉴别（参阅下文“样本”部分）。

原理

该测试以特异性单克隆抗体能够与白细胞表达的抗原决定簇相结合这一特性为基础。

将样本与 IOTest 试剂一起培育，以便进行白细胞的特异性染色。然后通过裂解去除红细胞，再使用流式细胞术分析不受裂解过程影响的白细胞。

流式细胞仪可测定细胞的光漫射和荧光。这样可以限定直方图上定义的电子窗口内的感兴趣群体，直方图可以关联光的正交漫射（侧向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。细胞仪上可用的结合两个不同参数的其他直方图可以用于支持设门阶段，具体取决于用户所选的应用。

为了区分阳性染色事件和未染色事件，我们对划定细胞的荧光进行了分析。结果表示为阳性事件相对于设门获得的所有事件的百分比。

预期用户

本产品的预期用户为实验室专业人员。

临床意义

Anti-NG2-PE 是一种 Anti-NG2 抗体，用于通过流式细胞分析鉴定和表征表达 NG2 抗原的细胞。单独使用此产品不能产生任何诊断结论，这也并非其预期用途。

与其他标志物结合使用时，本产品可用于以下一种或多种用途：

- 对疑似有造血系统肿瘤的血液学异常患者进行辅助鉴别诊断，并对已知患有造血系统肿瘤的患者进行监测。
- 辅助造血系统肿瘤患者的预后诊断。

参阅以下参考文献：

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

样本

必须使用含有 EDTA 盐作为抗凝血剂的无菌试管采集静脉血。

样本应保存在室温 (18-25°C) 条件下，并注意避免摇动。在吸取测试样本之前，应通过轻轻搅动使样本均质化。

样本必须在静脉采血后的 24 小时内分析。

警告和注意事项

1. 请勿使用已过失效日期的试剂。
2. 切勿冷冻。
3. 使用前使其达到室温 (18–25°C)。
4. 尽量减少曝光。
5. 避免试剂受到微生物污染，否则可能出现错误结果。
6. 应小心处理含有叠氮化钠 (NaN_3) 的抗体溶液。请勿内服，并避免接触皮肤、粘膜和眼睛。

   此外，在中度酸性条件下，叠氮化钠可形成具有潜在危害的叠氮酸。若需要对其进行处置，建议您在将试剂倒入排污系统前用大量清水将其稀释，以避免叠氮化钠在金属管中累积并预防爆炸。
7. 所有血样都必须被视为具有潜在传染性，并且必须小心处理（具体地讲：穿戴防护手套、防护服和护目镜）。
8. 不得通过嘴巴移液，并避免样本以任何方式接触皮肤、黏膜和眼睛。
9. 用于处理的血液试管和一次性材料应丢弃于专门用于焚化的容器中。
10. 应根据当地要求处置试剂和废物。

GHS 危险等级分类

未被归为危险品

SDS 化学品安全技术说明书发布在 beckmancoulter.com/techdocs 上

存储和稳定性

在开瓶前后，必须将此试剂保存在 2-8°C 环境下，并注意避免光照。

根据稳定性研究的开封前保质期：1095 天。

已开瓶试剂的稳定性：试剂可稳定保存 180 天。

变质的迹象

试剂物理外观的任何变化都可能表明试剂变质，此时不应使用试剂。

有关其他信息，或者如果收到受损产品，请致电贝克曼库尔特公司客服：800-742-2345（美国或加拿大），或联系您当地的贝克曼库尔特代表。

目录

叠氮化钠防腐剂可在金属下水管道中形成易爆化合物。 请参阅 NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76)（美国国家职业安全与卫生研究所公报：易爆的叠氮化物危险品 [76/8/16]）。
为避免可能产生的叠氮化合物堆积，请在丢弃未经稀释的试剂后用水冲洗排污管。对叠氮化钠的丢弃必须符合当地的相关规定。

试剂盒中未提供的必需材料：

- 采样所需的采样管和材料。
- 可吸取 20100 和 500 µL 试剂的带有一次性吸头的自动移液器。
- 塑料溶血管。
- 红细胞溶解试剂在溶解后清洗。例如：VersaLyse（REF A09777）。
- 白细胞固定剂。例如：IOTest 3 固定剂（REF A07800）。
- 同型质控品 PE：IOTest 试剂（REF A07796）。
- 缓冲液（PBS：0.01 M 磷酸钠；0.145 M 氯化钠；pH 7.2）。
- 离心处理。
- 自动搅动器（旋涡型）。
- 流式细胞仪。

VERSALYSE 试剂的使用程序

对于分析的每种样本，除使用分析测试试管外，还可增加一个质控品试管，以在其中混合细胞与同型质控品（REF A07796）。

1. 将 20 µL 特异性 IOTest 结合抗体添加到每个分析测试试管中，并视需要将 20 µL 同型质控品添加到每个质控品试管中。
2. 添加 100 µL 测试样本到每个试管中。轻轻摇动试管。
3. 在室温 (18–25°C) 下避光孵育 15-20 分钟。
4. 然后进行红细胞裂解。请参阅 VersaLyse（REF A09777）说明书，最好按照名为“同时固定”的程序实施：加入 1 mL 临时配制的“固定-裂解”混合液。立即摇动 1 秒，并在室温条件下培育 10 分钟，注意避光。
5. 在室温下以 150 x g 离心处理 5 分钟。
6. 通过吸样去除上层清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新悬浮细胞微粒。
8. 重复第 5 步。
9. 通过吸样去除上层清液并使用以下溶液重新悬浮细胞微粒：

- 0.5 mL 或 1 mL PBS 与 0.1% 甲醛，若备品的保存时间低于 24 小时。（可通过在 1 mL PBS 中稀释 10 倍浓度的 12.5 µL IOTest 3 固定剂 [REF A07800] 获取含 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 0.5 mL 或 1 mL PBS，无甲醛，若制剂将在 2 小时内分析。

注释：任何情况下，制备试剂均需在 2-8°C 下避光保存。

预计值

没有与此产品相关的预期值。

性能

使用上文描述的程序，通过分析之前采集在无菌试管（含有 EDTA 盐作为抗凝血剂）中未达 24 小时的血液样本获得了性能数据。在免疫染色后的 2 小时内进行分析。

特异性

神经元胶质抗原-2 (NG2) 蛋白聚糖又称为硫酸软骨素蛋白聚糖 4 或黑素瘤相关的硫酸软骨素蛋白聚糖，是一种分子量为 250 kDa 的 1 型膜糖蛋白，由许多中枢神经系统 (CNS) 细胞在发育和分化过程中表达，并在血管生成、伤口愈合和肿瘤生长中起重要作用。硫酸软骨素蛋白聚糖类分子可作为细胞粘附和迁移的抑制剂 (10)，并且可充当神经嵴通路中细胞迁移的屏障。7.1 单克隆抗体可识别分子量为 200-220 kDa 的细胞表面硫酸软骨素蛋白聚糖分子，该分子被称为大鼠 NG2 抗原的人同系物。NG2 抗原表达于人类神经胶质细胞群 (11)。其在正常造血细胞上无表达。

精度

阳性百分比值用掺入阳性细胞的全血测定。每份样本使用 2 个批次的 Anti-NG2-PE 单克隆抗体试剂，在 2 台仪器上运行 4 次，每天 2 次，持续 1 天。使用 Navios 流式细胞仪进行测量（阳性 %）。分析基于 CLSI method EP5-A2：Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：定量测量方法精度性能的评估）。

我们的接受限取决于针对每个群体所测得的阳性颗粒数：

- 如果阳性颗粒数 < 1,500，则 CV < 15%
- 如果阳性颗粒数 > 1,500，则 CV < 10%

掺有 HELA 细胞系的全血							
阳性颗粒数（平均值）= 4262							
	操作人员间	细胞仪间	批次内	批次间	运行间	运行内	总数
CV (%)	1.00	3.03	8.11	0.97	7.83	1.87	8.71
结果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

准确性

评估 Anti-NG2-PE 的准确性的方法为：将其与参考试剂分别应用于一组掺有阳性细胞的全血样本，然后用 Navios 流式细胞仪进行检测，之后比较结果。该测试与参考试剂之间的偏差根据测试结果的差异而确定。如果偏差在允许的错误范围内，或者 p 值没有显著差异 (> 0.05)，则认为这两种试剂的测试结果是等效的。

所得结果如下表所示：

献血人次 = 25				
阳性目标	平均值 Δ	Δ % 细胞标准	p 值	结果
掺有 HELA 细胞系的全血	0.01	<5	0.978	PASS

空白检测限和检测限

研究人员根据 CLSI EP17-A2 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2 临床实验室测量程序检测能力的评估）进行了一项研究。检测限 (LOD) 指可被一致检出的最低分析物浓度。所得结果如下表所示：

Positive Target	空白检测限（个细胞/µL）	检测限（个细胞/µL）
HELA 细胞系	1	3

限制

1. 若流式细胞术未完全校准、荧光泄漏未得到正确补偿或未在该区域谨慎定位，则流式细胞术可能会产生错误结果。
2. 最好使用包含洗涤步骤的 RBC 裂解技术，因为该试剂未针对“无洗涤”裂解技术进行优化。
3. 只要所使用的程序符合技术插页说明书并遵守实验室管理规范，就可以获得准确和可重现的结果。
4. 校准该试剂的结合抗体，以提供最佳的特异性信号/非特异性信号比率。因此，在每次测试中都务必遵从此试剂体积/样本体积比率。
5. 如果白细胞过多，请在 PBS 中稀释血液，使白细胞浓度降低到约 5 x 10^9 个/L (12)。
6. 在严重肾衰竭、血红蛋白病等特定疾病状态中，红细胞裂解会变得缓慢、不完全，甚至无法实现。在这种情况下，建议在染色前通过密度梯度（例如聚蔗糖）隔离单核细胞 (13)。
7. 接受抗人单克隆抗体治疗的患者可能会因治疗抗体的部分或完全阻断而难以或无法检测特定的靶抗原。
8. 在判读 Anti-NG2-PE 结果时，需参照患者的整体临床表现，包括：症状、临床病史、其他检查数据和其他适用的信息。

请参阅附录中的示例和参考文献。

商标

Beckman Coulter、标志以及文中提及的贝克曼库尔特产品和服务标记均是美国贝克曼库尔特有限公司在美国和其他国家/地区的商标或注册商标。

其他信息

对于欧盟及具有相同监管制度的国家/地区的患者/用户/第三方（Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices [有关体外诊断医疗装置的法规 2017/746/EU]）：如果在使用本装置期间或由于使用本装置而发生严重事件，请向制造商和/或其授权代表以及当地国家主管部门报告。

Summary of Safety and Performance（安全和性能摘要）提供在 EUDAMED 数据库中：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修订历史

修订版本 AD：	发布日期：2019 年 10 月

修订	**发布日期**
AW	2022 年 5 月
更新文档以符合贝克曼库尔特公司全球标签政策和 IVD-R (EU)2017/746 的要求：	
新增章节	BSI 2797 编号、预期用户、临床意义、浓度、精度、准确性、空白检测限和检测限、其他信息、修订记录。
添加了信息	参阅“限制”章节

更新了措辞或版面	参阅程序、性能、限制、警告和注意事项、储存和稳定性章节。
删除了几个章节	临床应用示例、试剂、实验室内重复性、线性度
更新后章节	预期用途、GHS 危险等级分类、变质的迹象、程序、附录。

修订	**发布日期**
AX	4 月 2023
更新后章节	添加哈萨克语
更新后章节	储存及稳定性

修订版本	AY
修订日期	5 月 2024
更新的翻译	**临床意义**：
更新后章节	修订历史

修订版本	AZ
修订日期	7 月 2024
更新后章节	修订历史

符号注解

符号词汇表发布于 beckman.com/techdocs（文档编号 B60062）

	Specifikacijos
Specifiškumas	NG2
Klonas	7,1
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunogenas	Readus cell line
Imunoglobulinas	IgG1
Rūšis	Pelė
Išgryninimas	Gimininguмo chromatografija
Fluorochromas	R Phycoerythrin (PE)
Molinis santykis	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ žadinimas	488 nm
Spinduliuotės smailė	575 nm
Buferinis tirpalas	7,2 pH fosfato buferinis tirpalas plius 2 mg/ml GSA ir 0,1 % NaN_3

„IOTest“
Konjuguotas antikūnas Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 ml, 20 µl vienam tyrimui

Diagnostikai *in vitro*.

NAUDOJIMO PASKIRTIS

Naudojant šį su fluorochromu konjuguotą antikūną, srauto citometrijos būdu galima kokybiškai ir neautomatizuotu būdu identifikuoti ląstelių populiacijas, išreiškiančias NG2 antigeną, esantį žmogaus biologiniuose mėginiuose (žr. paskesnį skyrių „Mėginiai“).

PRINCIPAS

Šis tyrimas pagrįstas specifinių monokloninių antikūnų gebėjimu jungtis prie antigenų determinantų, kuriuos ekspresuoja leukocitai.

Specifinis leukocitų dažymo procesas atliekamas mėginį inkubuojant reagentu „IOTest“. Tada lizuojant pašalinami eritrocitai ir srauto citometrijos būdu analizuojami leukocitai, kurie per šį etapą nepaveikiami.

Srauto citometru matuojama ląstelių šviesos sklaida ir fluorescencija. Šiuo būdu galima tiriamąją populiaciją apriboti histogramoje apibrėžtu elektroniniu langu, kuris koreliuoja su šviesos sklaida stačiu kampu (šonine sklaida arba ŠS) ir šviesos sklaida smailu kampu (priekine sklaida arba FS). Kitos citometre įdiegtos histogramos, kuriose derinami du skirtingi parametrai, gali būti naudojamos kaip papildoma priemonė nustatant atrankos intervalus, žiūrint, kokį naudojimo būdą pasirinko naudotojas.

Analizuojant apribotų ląstelių fluorescenciją, teigiamai nudažyti įvykiai atskiriami nuo neigiamai nudažytų. Rezultatai išreiškiami kaip teigiamų įvykių procentinė dalis visų įvykių, gautų nustačius atrankos intervalą, atžvilgiu.

NUMATOMAS NAUDOTOJAS

Šis gaminys skirtas naudoti specialistams laboratorijose.

KLINIKINĖ SVARBA

Anti-NG2-PE yra Anti-NG2 antikūnas, naudojamas NG2 antigeną ekspresuojančioms ląstelėms identifikuoti ir charakterizuoti srauto citometrijos būdu. Naudojant vien šį gaminį negalima padaryti jokios diagnostinės išvados ir jis nėra tam skirtas.

Kartu su kitais žymenimis naudojamas šis gaminys gali būti naudojamas vienu ar keliais iš toliau nurodytų tikslų.

- Hematologiškai nenormalių pacientų, kuriems įtariama kraujodaros sistemos neoplazma, diferencinei diagnozei palengvinti ir pacientams, kuriems jau nustatyta kraujodaros sistemos neoplazma, stebėti.
- Kraujodaros sistemos neoplazma sergančių pacientų prognozės numatymui palengvinti.

Žr. šias nuorodas:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

MĖGINIAI

Veninio kraujo mėginius reikia imti į sterilius mėgintuvėlius su EDTA druska kaip antikoaguliantu.

Mėginius reikia laikyti kambario temperatūroje (18–25 °C) ir nekratyti. Prieš paimant tiriamąjį mėginį reikia atsargiai sujudinti mėginus, kad jie taptų vienalyčiai.

Mėginiai turi būti išanalizuoti per 24 valandas po venų punkcijos.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. Reagento nenaudoti pasibaigus galiojimo laikui.
2. Neužšaldyti.
3. Prieš naudojant reikia leisti sušilti iki kambario temperatūros (18–25 °C).
4. Laikykite kuo mažiau apšviestoje vietoje.
5. Saugokite, kad reagentai nebūtų užteršti mikrobais, nes antraip gali būti gaunami klaidingi rezultatai.
6. Su antikūnų tirpalais, kurių sudėtyje yra natrio azido (NaN_3), reikia elgtis atsargiai. Nevartokite į vidų ir saugokitės, kad nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.

   Be to, rūgščioje terpėje natrio azidas gali išskirti potencialiai pavojingą hidrazo rūgštį. Jei jį reikia pašalinti, prieš pilant į nutekėjimo sistemą, reagentą rekomenduojama praskiesti dideliu vandens kiekiu, kad būtų išvengta natrio azido kaupimosi metaliniuose vamzdžiuose ir išvengta sprogimo pavojaus.

7. Visi kraujo mėginiai turi būti laikomi potencialiai užkrečiamais ir su jais turi būti elgiamasi atsargiai (itin svarbu dėvėti apsaugines pirštines, apsiaustus ir akinius).
8. Jokiu būdu nesiurbkite burna ir saugokitės, kad mėginių nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.
9. Panaudoti kraujo mėgintuvėliai ir vienkartinės medžiagos turėtų būti išmetami į sudeginamas ad hoc talpyklas.
10. Reagentai ir atliekos turi būti šalinami pagal vietinius reikalavimus.

GHS PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Neklasifikuojama kaip pavojinga

SDS Saugos duomenų lapą galima gauti interneto svetainėje beckmancoulter.com/techdocs

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Prieš atidarant ir atidarius buteliuką reagentas turi būti laikomas 2–8 °C temperatūroje ir saugomas nuo šviesos.

Uždaryto buteliuko tinkamumo naudoti laikas pagal stabilumo tyrimą: 1095 d.

Atidaryto buteliuko stabilumas: reagentas lieka stabilus 180 d.

KOKYBĖS PABLOGĖJIMO POŽYMIAI

Bet koks reagentų fizinės išvaizdos pokytis gali reikšti pablogėjusias gaminio savybes, todėl tokio reagento naudoti negalima.

Prireikus papildomos informacijos arba gavę sugadintą gaminį skambinkite į „Beckman Coulter“ klientų aptarnavimo skyrių telefonu 800-742-2345 (JAV arba Kanadoje) arba susisiekite su vietiniu „Beckman Coulter“ atstovu.

TURINYS

Natrio azido konservantas metalo vamzdynuose gali sudaryti sprogiuosius junginius. Žr. „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (Nacionalinio darbų saugos ir sveikatos instituto biuletenį: sprogstamojo azido pavojus) (76-8-16).
Norėdami išvengti galimo azido junginių susikaupimo, išpylę į kanalizacijos sistemą neatskiesto reagento, vandeniu praplaukite nutekamuosius vamzdžius. Natrio azidas turi būti šalinamas pagal taikomų vietos reglamentų reikalavimus.

REIKALINGOS, BET SU RINKINIU NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS

- Mėginiams imti reikalingi mėginių ėmimo mėgintuvėliai ir medžiagos.
- Automatinės pipetės su vienkartiniais antgaliais, skirtos 20, 100 ir 500 µl tūrio mėginiams.
- Plastikiniai hemolizės mėgintuvėliai.
- Raudonųjų kraujo kūnelių lizavimo reagentas su plovimo etapu baigus lizuoti. Pavyzdys: „VersaLyse“ (kat. nr. A09777).
- Leukocitų fiksavimo reagentas. Pavyzdys: fiksavimo tirpalas „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800).
- Izotipų kontrolinė medžiaga PE: „IOTest“ reagentas (kat. Nr. A07796).
- Buferinis tirpalas (fosfato buferinis tirpalas: 0,01 M natrio fosfato; 0,145 M natrio chlorido; pH 7,2).
- Nucentrifuguokite.
- Automatinis maišytuvas (sūkurinio tipo).
- Srauto citometras.

PROCEDŪRA NAUDOJANT REAGENTĄ „VERSALYSE“

Analizuojant kiekvieną mėginį, be tiriamojo mėgintuvėlio galima naudoti vieną kontrolinį mėgintuvėlį, kuriame ląstelės sumaišytos su izotipine kontroline medžiaga (kat. Nr. A07796).

1. Į kiekvieną tiriamąjį mėgintuvėlį įpilkite po 20 µl specifinio su „IOTest“ konjuguoto antikūno ir prireikus į kiekvieną kontrolinį mėgintuvėlį įpilkite po 20 µl kiekvieno izotipo kontrolinės medžiagos.
2. Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite po 100 µl tiriamojo mėginio. Mėgintuvėlius atsargiai išmaišykite sūkuriniu būdu.
3. 15–20 minučių inkubuokite kambario temperatūroje (18–25 °C), saugodami nuo šviesos.
4. Tai padarę sulizuokite eritrocitus. Žr. „VersaLyse“ (kat. Nr. A09777) informacinį lapelį; rekomenduojama laikytis procedūros, vadinamos „su vienalaikiu fiksavimu“, kurios metu įpilama 1 ml prieš pat naudojant paruošto fiksavimo ir lizavimo mišinio. Tuojau pat vieną sekundę maišykite sūkuriniu būdu ir 10 minučių inkubuokite kambario temperatūroje, saugodami nuo šviesos.
5. 5 minutes centrifuguokite veikiant 150 x g jėgai kambario temperatūroje.
6. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą.
7. Iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami 3 ml fosfato buferinį tirpalą.
8. Pakartokite 5 veiksmą.
9. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą ir iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami toliau nurodytas medžiagas.

- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo ir 0,1 % formaldehido, jeigu preparatai bus laikomi mažiau nei 24 val. (0,1 % formaldehido fosfato buferinio tirpalo galima gauti 12,5 µl 10X koncentracijos fiksavimo tirpalo „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800) atskiedus 1 ml fosfato buferinio tirpalo.)
- 0,5 ml arba 1 ml fosfato buferinio tirpalo be formaldehido, jeigu preparatai bus analizuojami per 2 val.

Pastaba. Visais atvejais preparatus laikykite 2–8 °C temperatūroje ir saugodami nuo šviesos.

TIKĖTINOS VERTĖS

Šiam gaminiui aktualios numatomos vertės nėra.

VEIKIMAS

Veikimo duomenys gauti, pirmiau aprašytą procedūrą atliekant su mažiau nei 24 val. senumo mėginiais, kurie buvo anksčiau paimti į sterilius mėgintuvėlius su antikoaguliantu EDTA druska. Analizė atliekama ne vėliau kaip 2 val. po imunodažymo.

SPECIFIŠKUMAS

Neuronų glijos antigenas 2 (NG2) – proteoglikanas, dar vadinamas chrondroitino sulfato proteoglikanu 4 arba su melanoma susijusiu chondroitino sulfato proteoglikanu – yra 250 kDa 1 tipo membranos glikoproteinas, kuris ekspresuojamas daugelio besivystančių ir besidiferencijuojančių centrinės nervų sistemos (CNS) ląstelių ir svarbus angiogenezei, žaizdų gijimui ir navikų augimui. Chondroitino sulfato proteoglikano molekulių klasė gali veikti kaip ląstelių sukibimo ir migravimo inhibitoriai (10) ir ląstelių migracijos barjerai nervinės keteros kelyje. 7.1 monokloninis antikūnas atpažįsta ląstelės paviršiaus chondroitino sulfato proteoglikano molekulę, kurios molekulinis svoris 200–220 kDa, žinomą kaip žiurkių NG2 antigeno žmogaus homologą. NG2 antigenas randamas žmogaus glijos ląstelių populiacijose (11). Ant įprastinių kraujodaros ląstelių jis neekspresuojamas.

GLAUDUMAS

Procentinės teigiamosios vertės nustatytos naudojant teigiamomis ląstelėmis papildytą visą kraują. Kiekvienas mėginys buvo analizuojamas 4 kartus: 1 dieną, po du kartus, naudojant 2 prietaisus ir 2 Anti-NG2-PE monokloninių antikūnų reagentų partijas. Matavimai (% teigiamų) buvo atlikti srauto citometru „Navios“. Analizė atlikta pagal „CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods“ (CLSI metodą EP5-A2 „Kiekybinių matavimo metodų glaudumo veikimo vertinimas“).

Mūsų priėmimo kriterijai priklauso nuo kiekvienoje populiacijoje nustatyto teigiamų įvykių skaičiaus:

- jeigu teigiamų įvykių < 1 500, VK < 15 %
- Jeigu teigiamų įvykių > 1 500, VK < 10 %

Visas kraujas, papildytas HELA ląstelių linija							
Teigiamų įvykių skaičius (vidurkis) = 4262							
	Skirtingų operatorių	Skirtingų citometrų	Tos pačios partijos	Skirtingų partijų	Skirtingų analizių	Tos pačios analizės	Iš viso
VK (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
REZULTATAI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TIKSLUMAS

Anti-NG2-PE tikslumas vertintas palyginant rezultatus su etaloniniu reagentu kaip patvirtinamąja priemone, srauto citometru „Navios“ analizuojant teigiamomis ląstelėmis papildytų viso kraujo mėginių rinkinį. Bandomojo ir etaloninio reagentų paklaida nustatyta pagal tyrimo rezultatų skirtumą. Jeigu paklaida neviršija leidžiamojo paklaidų diapazono arba p reikšmė nerodo reikšmingo skirtumo (> 0,05), abiejų reagentų tyrimo rezultatai laikomi lygiaverčiais.

Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Donorų skaičius = 25				
Teigiamas taikinys	Vidurkis Δ	Δ % ląstelių kriterijai	p reikšmė	REZULTATAI
Visas kraujas, papildytas HELA ląstelių linija	0,01	<5	0,978	PASS

RUOŠINIO RIBA IR APTIKIMO RIBA

Pagal CLSI EP17-A2 dokumentą „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Klinikinių laboratorinių matavimų procedūrų aptikimo pajėgumų vertinimas) atliktas mokslinis tyrimas. Aptikimo riba (LOD) yra mažiausioji analitės koncentracija, kurią galima nuolat aptikti. Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Positive Target	Ruošinio riba (ląst./µl)	Aptikimo riba (ląst./µl)
HELA Ląstelių linija	1	3

RIBOJIMAI

1. Atliekant srauto citometriją klaidingi rezultatai gali būti gauti tuo atveju, jei citometras nebuvo tiksliai sureguliuotas, fluorescencijos nuotėkiai nebuvo tinkamai kompensuoti ar regionai nebuvo kruopščiai išdėstyti.
2. Pageidautina taikant RBC lizavimo metodą atlikti plovimo etapą, nes šis reagentas nėra optimizuotas lizavimo „be plovimo“ metodikoms.
3. Tikslūs ir atkuriami rezultatai bus gaunami tol, kol naudojamos procedūros atitiks techniniame lapelyje pateiktą informaciją ir bus atliekamos laikantis geros laboratorijos praktikos.
4. Šio reagento konjuguotas antikūnas sukalibruotas taip, kad būtų gaunamas geriausias specifinio ir nespecifinio signalų santykis. Dėl šios priežasties atliekant kiekvieną tyrimą svarbu tiksliai laikytis nurodyto reagento ir mėginio tūrių santykio.
5. Hiperleukocitozės atveju kraują atskieskite fosfato buferiniu tirpalu, kad gautumėte maždaug 5 x 10^9 leukocitų/l koncentraciją (12).
6. Sergant kai kuriomis ligomis, pavyzdžiui, sunkiu inkstų nepakankamumu arba hemoglobinopatijomis, eritrocitai gali būti lėtai arba nevisiškai sulizuojami arba jų visai neįmanoma lizuoti. Tokiu atveju rekomenduojama prieš dažant atskirti vienbranduoles ląsteles tankio gradiento būdu (pavyzdžiui, Ficollo) (13).
7. Jeigu pacientams atliekama žmogaus monokloninių antikūnų terapija, specifiniai tiksliniai antigenai gali būti aptinkami prasčiau arba visai neaptinkami dėl dalinio arba visiško terapinio antikūno blokavimo.
8. Anti-NG2-PE rezultatai turi būti interpretuojami remiantis bendra paciento klinikine būkle, atsižvelgiant į: simptomus, klinikinę anamnezę, papildomų tyrimų duomenis ir kitą atitinkamą informaciją.

Pavyzdžiai ir nuorodos pateikti priede.

PREKIŲ ŽENKLAI

„Beckman Coulter“, stilizuotas logotipas ir kiti šiame dokumente nurodyti „Beckman Coulter“ gaminių ir prekių ženklai yra „Beckman Coulter, Inc.“ prekių ženklai arba registruotieji prekių ženklai Jungtinėse Amerikos Valstijose ir kitose šalyse.

PAPILDOMA INFORMACIJA

Pacientams / naudotojams / trečiosioms šalims Europos Sąjungoje ir šalyse, kuriose galioja identiški reguliaciniai reikalavimai (Reglamentas (ES) 2017/746 dėl in vitro diagnostikos medicinos priemonių): jeigu naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko sunkus incidentas, apie jį praneškite gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui ir savo šalies nacionalinei institucijai.

„Summary of Safety and Performance“ (Saugos ir veikimo suvestinė) pateikiama EUDAMED interneto svetainėje ec.europa.eu/tools/eudamed.

PERŽIŪRŲ ISTORIJA

PERŽIŪRA AD:	Leidimo data: 2019 m. spalis

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AW	2022 m. gegužė
Atnaujinta pagal „Beckman Coulter“ visuotinių ženklinimo taisyklių ir IVD-R (ES)2017/746 reikalavimus.	
Pridėti skyriai	BSI 2797 numeris, „Numatomas naudotojas“, „Klinikinė svarba“, „Koncentracija“, „Glaudumas“, „Tikslumas“, „Ruošinio riba ir aptikimo riba“, „Papildoma informacija“, „Peržiūrų istorija“.
Pridėta informacija	Žr. skyrių „Ribojimai“
Frazavimo arba tipografiniai atnaujinimai	Žr. skyrius „Procedūra“, „Veikimas“, „Ribojimai“, „Įspėjimai ir atsargumo priemonės“, „Laikymas ir stabilumas“.
Pašalinti skyriai	„Klinikinio naudojimo pavyzdys“, „Reagentai“, „Laboratorijos vidaus atkartojamumas“, „Tiesiškumas“
Atnaujinti skyriai	„Paskirtis“, „Visuotiniai suderintos sistemos (GHS) pavojingumo klasifikacija“, „Kokybės pablogėjimo požymiai“, „Procedūra“, priedas.

PERŽIŪRA	**Leidimo data**
AX	Balandis 2023
Atnaujinti skyriai	Pridėta kazachų kalba
Atnaujinti skyriai	Laikymas ir stabilumas

Peržiūrėta versija	AY
Peržiūros data	Gegužė 2024
Atnaujintas vertimas	**Klinikinė svarba:**
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Peržiūrėta versija	AZ
Peržiūros data	Liepa 2024
Atnaujinti skyriai	Peržiūrų istorija

Simbolių sutartiniai ženklai

Simbolių terminų žodynas pateikiamas interneto svetainėje beckman.com/techdocs (dokumento numeris B60062).

	Specifikációk
Specificitás	NG2
Klón	7,1
Hibridóma	SP2/0 x balb/c
Immunogén	Readus cell line
Immunglobulin	IgG1
Faj	Egér
Tisztítás	Affinitáskromatográfia
Fluorokróm	R Phycoerythrin (PE)
Moláris arány	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ gerjesztés	488 nm
Kibocsátási csúcs	575 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plusz 2 mg/mL BSA és 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugált antitest
Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20 µL/teszt

***In vitro* diagnosztikai használatra.**

RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

Ez a fluorokrómmal konjugált antitest lehetővé teszi a humán biológiai mintákban a(z) NG2 antigént expresszáló sejtpopulációk áramlási citometriával végzett kvalitatív és nem automatizált azonosítását (lásd a „Minták” című alábbi fejezet).

MŰKÖDÉSI ELV

A vizsgálat azon alapul, hogy a specifikus monoklonális antitestek képesek-e kötődni a leukociták által expresszált antigén-determinánsokhoz.

A leukociták specifikus festése a mintának az IOTest reagenssel való inkubálásával történik. Az eritrocitákat ezután lízissel eltávolítják, és a leukocitákat, amelyekre nincs hatással ez a művelet, analizálni lehet áramlási citometriával.

Az áramlási citométer a sejtek fényszórását és fluoreszcenciáját méri. Ez lehetővé teszi a vizsgált populáció elhatárolását egy olyan elektronikus ablakon belül, amelyet a derékszögben szórt fény (oldalszóródás vagy SS) és a hegyes szögben szórt fény (előreszóródás vagy FS) intenzitását összehasonlító hisztogramon határoztak meg. Más, a citométer által mértek közül két paramétert kombináló hisztogramok használhatók kiegészítésként a kapuzási fázisban, a felhasználó által választott alkalmazástól függően.

Az elkülönített sejtek fluoreszcenciáját a rendszer elemzi a pozitívan festődött események megkülönböztetésére a nem festődöttektől. Az eredmények kifejezése a pozitív események százalékos arányaként történik a kapuzás által regisztrált összes eseményhez képest.

CÉLFELHASZNÁLÓ

Ez a termék laboratóriumi szakemberek általi használatra készült.

KLINIKAI JELENTŐSÉG

A Anti-NG2-PE a Anti-NG2 antitest, amely a(z) NG2 antigént expresszáló sejtek áramlási citometriás azonosítására és jellemzésére szolgál. Ez a termék önmagában nem képes arra, és nem is arra a célra lett kialakítva, hogy bármilyen diagnosztikai következtetést generáljon.

Más markerekkel kombinált használata esetén ez a termék az alábbiak közül egy vagy több célra használható:

- Segít azon rendellenes vérképű betegek differenciáldiagnózisában, akiknél hemopoetikus neoplasia gyanítható, valamint segít az ismerten hemopoetikus neoplasiaval rendelkező betegek monitorozásában.
- Segít a hemopoetikus neoplasiaban szenvedő betegek prognózisának felállításában.

Lásd a következő hivatkozásokat:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

MINTÁK

A vénás vért steril, alvadásgátlóként EDTA sóját tartalmazó csövekbe kell gyűjteni.

A mintákat szobahőmérsékleten (18–25 °C között) kell tárolni, és nem szabad felrázni. A tesztminta vétele előtt a mintákat homogenizálni kell óvatos rázással.

A minták elemzését a vénaszúráshoz képest 24 órán belül el kell végezni.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

1. Ne használja a reagenst a lejárati időn túl.
2. Fagyasztani tilos.
3. Használat előtt hagyja felmelegedni szobahőmérsékletre (18–25 °C).
4. Minimalizálja a fényexpozíciót.
5. Kerülje el a reagensek mikrobiális kontaminációját, ebben az esetben hamis eredményeket kaphat.
6. A nátrium-azidot (NaN_3) tartalmazó antitestoldatokat körültekintően kell kezelni. A terméket nem szabad lenyelni, és nem érintkezhet bőrrel, nyálkahártyával vagy a szemmel.

   Sőt, savas közegben a nátrium-azid potenciálisan robbanékony nitrogén-hidrogénsavat képez. Ha ártalmatlanítani kell, javasolt a reagenst nagy mennyiségű vízzel hígítani a szennyvízcsatornába öntés előtt, hogy ne halmozódhasson fel nátrium-azid a fémcsövekben, és ne keletkezzen robbanásveszély.

7. Minden vérmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és óvatosan kell kezelni (azaz védőkesztyűt, köpenyt és szemüveget viselve).
8. Soha ne pipettázzon szájjal, és a minták soha ne érintkezzenek szemmel, bőrrel vagy nyálkahártyával!
9. A vércsöveket és a kezeléshez használt, egyszer használatos anyagokat olyan ad hoc tartóedényben kell kidobni, amely égetésre szolgál.
10. A reagenseket és a hulladékot a helyi követelmények szerint kell ártalmatlanítani.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Nincs veszélyes anyagként besorolva

SDS A biztonsági adatlap megtalálható a következő weboldalon: beckmancoulter.com/techdocs

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A reagenst a fiola kibontása előtt és után is 2 és 8 °C között, fénytől védve kell tárolni.

A lezárt fiola eltarthatósági ideje a stabilitási vizsgálat alapján: 1095 nap.

A felbontott fiola stabilitása: a reagens 180 napig stabil.

A MINŐSÉGROMLÁS JELEI

A reagensek fizikai megjelenésének bármilyen megváltozása megromlásra utalhat, és a reagenst nem szabad felhasználni.

További információkért, illetve sérült termék kézhezvétele esetén hívja a Beckman Coulter ügyfélszolgálatát a 800-742-2345-es számon (az Amerikai Egyesült Államokban és Kanadában), vagy lépjen kapcsolatba a Beckman Coulter területileg illetékes képviselőjével.

A CSOMAG TARTALMA

A nátrium-azid tartósítószer robbanékony vegyületeket képezhet a fém lefolyócsövekben. Lásd az alábbi NIOSH-közleményt: Explosive Azide Hazard (Robbanékony azidokkal kapcsolatos veszélyek) (76. 8. 16.).
Az azidvegyületek esetleges felhalmozódásának elkerülése érdekében a hígítatlan reagens szennyvízlefolyóba történő kiöntése után a szennyvízvezetéket vízzel át kell öblíteni. A nátrium-azid ártalmatlanítását a vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell végezni.

SZÜKSÉGES, DE A KÉSZLETTEL NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK:

- Mintacsövek és a mintavételhez használt anyagok.
- Automata pipetták eldobható hegyekkel 20, 100 és 500 µL-hez.
- Műanyag hemolíziscsövek.
- Vörösvértesteket lizáló reagens, a lízis után mosási fázissal. Például: VersaLyse (Ref. A09777).
- Leukocitafixáló reagens. Például: IOTest 3 fixálóoldat (Ref. A07800).
- Izotípus-kontroll PE: IOTest reagens (Ref. A07796).
- Puffer (PBS: 0,01 M nátrium-foszfát; 0,145 M nátrium-klorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automata keverő (vortex típusú).
- Áramlási citométer.

ELJÁRÁS VERSALYSE REAGENS ESETÉN

Mindegyik analizált minta esetében a vizsgált mintacsövön kívül a vizsgálatot ki lehet egészíteni egy kontrollmintacsővel is, amelyben a sejtek az izotípus-kontroll jelenlétében vannak összekeverve (Ref. A07796).

1. Adjon mindegyik mintacsőhöz 20 µL specifikus IOTest konjugált antitestet, és szükség esetén mindegyik kontrollmintacsőhöz 20 µL izotípuskontrollt.
2. Adjon 100 µL tesztmintát mindegyik mintacsőhöz. Óvatosan vortexelje a mintacsöveket.
3. Inkubálja 15–20 percig szobahőmérsékleten (18–25 °C), fénytől védett helyen.
4. Ezután végezze el a vörösvértestek lízisét. Kövesse a VersaLyse (Ref. A09777) füzet utasításait és lehetőség szerint a „konkomittáns fixációval” nevű eljárást alkalmazza, amelynek során 1 mL, akkor és ott elkészített „Fix-and-Lyse” keveréket kell hozzáadni a mintához. Azonnal vortexelje egy másodpercig, majd inkubálja 10 percig szobahőmérsékleten, fénytől védve.
5. Centrifugálja 5 percig szobahőmérsékleten, 150 x g-vel.
6. Felszívás segítségével távolítsa el a felülúszót.
7. Reszuszpendálja a sejtpelletet 3 mL PBS-ben.
8. Ismételje meg az 5. lépést.
9. Felszívással távolítsa el a felülúszót, és reszuszpendálja a sejtpelletet az alábbi reagenssel:

- 0,1% formaldehidet tartalmazó 0,5 mL vagy 1 mL PBS, ha a készítményt kevesebb mint 24 óráig fogják tárolni. (0,1% formaldehidet tartalmazó PBS készítéséhez hígítson 12,5 µL IOTest 3 fixálóoldatot (Ref. A07800) a 10X koncentrációra 1 mL PBS-ben.)
- 0,5 mL vagy 1 mL PBS formaldehid nélkül, ha a preparátum elemzése 2 órán belül fog történni.

Megjegyzés: A készítményeket fénytől védve, 2 és 8 °C között kell tárolni.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

Ennél a terméknél nincsenek releváns várt értékek.

TELJESÍTMÉNY

A teljesítményadatokat a fent leírt eljárás segítségével lehet megkapni az alvadásgátlóként EDTA-sót tartalmazó steril csövekbe levett vérmintákból a vérvételt követő kevesebb mint 24 órán belül. Az analízist az immunfestést követő 2 órán belül kell elvégezni.

SPECIFICITÁS

A neuron-gliaantigén-2 (NG2) proteoglikán, más néven kondroitin-szulfát proteoglikán 4 vagy melanomával kapcsolatos kondroitin-szulfát proteoglikán egy 250 kDa molekulatömegű, 1-es típusú membrán-glikoprotein, amelyet a központi idegrendszer számos sejtje expresszál a fejlődés és a differenciálódás során, és fontos szerepet játszik az érképződésben, a sebgyógyulásban és a daganatok növekedésében. A kondroitin-szulfát proteoglikán molekulacsoport gátolhatja a sejtadhéziót és -vándorlást (10), és a sejtvándorlást megakadályozó gátként szerepelhet a velősánc sejtjeinek útjában. A 7.1-es monoklonális antitest felismer egy sejtfelszíni kondroitin-szulfát proteoglikán molekulát, amelynek molekulasúlya 200–220 kDa, és a patkány NG2 antigén humán megfelelőjeként ismert. Az NG2 antigén megtalálható a humán gliasejt-populációkban (11). Nem expresszálódik a normális hemopoetikus sejteken.

PRECIZITÁS

A százalékos pozitív értékeket pozitív sejtekkel kiegészített teljes vér felhasználásával határozták meg. Mindegyik mintát 4-szer futtatták, naponta kétszer 1 napig, 2 berendezésen, a Anti-NG2-PE monoklonális antitest reagensek 2 gyártási tételének felhasználásával. A méréseket (pozitív %) Navios áramlási citométerrel végezték. Az analízist a CLSI által közzétett EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (A kvantitatív mérési módszerek precizitási teljesítményének értékelése) módszer alapján végezték.

Az elfogadhatósági kritériumaink az egyes populációknál mért pozitív események számától függ:

- Ha a pozitív esemény < 1500, CV < 15%
- Ha a pozitív esemény > 1500, CV < 10%

Teljes vér HELA sejtvonallal kiegészítve							
Pozitív események száma (átlag) = 4262							
	Felhasználók közötti	Citométerek közötti	Egy gyártási tételen belüli	Eltérő gyártási tételek közötti	Futtatások közötti	Egy futtatáson belüli	Összes
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
EREDMÉNYEK	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PONTOSSÁG

A Anti-NG2-PE pontosságának értékeléséhez összevetették egy referencia reagens és pozitív sejtekkel kiegészített, Navios áramlási citométeren futtatott teljesvér-minták eredményeit. A teszt- és a referenciareagens közötti torzítást a teszteredmények közötti különbségek alapján határozták meg. Ha a torzítás a megengedhető hibatartományon belül maradt, vagy ha a p-érték nem jelzett szignifikáns különbséget (> 0,05), akkor a két reagenssel kapott teszteredményeket egyenértékűnek tekintették.

Az eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Donorok száma = 25				
Pozitív cél	Átlag Δ	Δ % sejt kritériumok	p-érték	EREDMÉNYEK
Teljes vér HELA sejtvonallal kiegészítve	0,01	<5	0,978	PASS

VAK HATÁRÉRTÉK ÉS KIMUTATHATÓSÁGI HATÁRÉRTÉK

Vizsgálatot végeztek a CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (A klinikai laboratóriumi mérési eljárások kimutatási képességének értékelése) útmutatónak megfelelően. Kimutathatósági határérték (LOD) – a vizsgált anyag következetesen kimutatható legalacsonyabb koncentrációja. A kapott eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

Positive Target	Vak határérték (sejt/µL)	Kimutathatósági határérték (sejt/µL)
HELA Sejtvonal	1	3

KORLÁTOZÁSOK

1. Az áramlási citometria hamis eredményeket adhat, ha a citométert nem igazítják tökéletesen, ha nem kompenzálják megfelelően a fluoreszcenciaszivárgást és ha a régiókat nem pozicionálják elég gondosan.
2. Érdemes egy mosási lépést is tartalmazó vörösvértest lizáló módszert alkalmazni, mivel ezt a reagenst nem optimalizálták „mosás nélküli” lizáló módszerekhez.
3. Pontos és megismételhető eredmények születnek, amennyiben az eljárásokat a műszaki tájékoztató szerint és a helyes laboratóriumi gyakorlattal összhangban végzik el.
4. A reagens konjugált antitestjét úgy kalibrálták, hogy a legjobb specifikus jel/nem specifikus jel arányt produkálja. Ezért fontos, hogy minden tesztnél betartsa a reagenstérfogat/mintatérfogat arányt.
5. Emelkedett leukocitaszám esetén hígítsa a vért annyi PBS hozzáadásával, hogy a fehérvérsejtek koncentrációja körülbelül 5 x 10^9 leukocita/L legyen (12).
6. Bizonyos betegségek, például súlyos veseelégtelenség vagy hemoglobinopátiák esetében előfordulhat, hogy a vörösvértestek lízise lassú, részleges, vagy akár lehetetlen. Ilyenkor javasolt a festés előtt a mononukleáris sejtek elkülönítése egy sűrűséggradiens alapján működő eljárással (ilyen például a Ficoll) (13).
7. A humán antigén elleni monoklonális antitest terápiában részesülő betegek esetében a specifikus célantigén kimutatásának mértéke csökkenhet vagy sikertelen lehet az alkalmazott terápiás antitest által okozott részleges vagy teljes gátlás miatt.

8. Az Anti-NG2-PE eredményeket a beteg teljes klinikai képének fényében kell értelmezni, figyelembe véve a tüneteket, a kórtörténetet, más tesztek eredményeit és egyéb releváns adatokat.

A példákért és az irodalomjegyzékért lásd a Függeléket.

VÉDJEGYEK

A Beckman Coulter, a stilizált logó, valamint az itt említett Beckman Coulter termék- és szolgáltatásjegyek a Beckman Coulter, Inc. védjegyei vagy bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és más országokban.

TOVÁBBI INFORMÁCIÓK

Az Európai Unióban, illetve az EU-val azonos szabályozási rendszerrel (lásd: az EU 2017/746 rendelete az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökről) rendelkező országokban élő beteg/felhasználó/harmadik fél esetében: ha a jelen eszköz használata során vagy használata eredményeként súlyos váratlan esemény történik, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy hivatalos területi képviselőjének, valamint az illetékes nemzeti hatóságnak.

A Summary of Safety and Performance (A biztonság és a teljesítmény összefoglalása) című dokumentum elérhető az EUDAMED adatbázisban: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ÁTDOLGOZÁSOK

AD ÁTDOLGOZÁS:	Kiadás dátuma: 2019. október

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AW	2022. május
A Beckman Coulter globális címkézési szabályzatának megfelelő, valamint az IVD-R (EU) 2017/746 követelmények szerinti frissítések:	
Hozzáadott szakaszok	BSI 2797 szám, Célfelhasználó, Klinikai jelentőség, Koncentráció, Precizitás, Pontosság, Vak határérték és kimutathatósági határérték, További információk, Átdolgozások.
Új információk	Lásd a Korlátozások című részeket
Megfogalmazási vagy tipográfiai frissítések	Lásd az Eljárás, Teljesítmény, Korlátozások, Figyelmeztetések és óvintézkedések, Tárolás és stabilitás című részeket.
Eltávolított szakaszok	Példa klinikai alkalmazásra, Reagensek, Laboratóriumon belüli reprodukálhatóság, Linearitás
Frissített szakaszok	Rendeltetésszerű használat, GHS szerinti veszélyességi besorolás, A minőségromlás jelei, Eljárás, Függelék.

ÁTDOLGOZÁS	**Közzététel dátuma**
AX	Április 2023
Frissített szakaszok	Kazak nyelv hozzáadása
Frissített szakaszok	Tárolás és stabilitás

Átdolgozott verzió	AY
Átdolgozás dátuma	Május 2024
Frissített fordítások	**Klinikai jelentőség:**
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Átdolgozott verzió	AZ
Átdolgozás dátuma	július 2024
Frissített szakaszok	Változtatási előzmények

Szimbólumok listája

A szimbólumok jegyzéke elérhető a következő weboldalon: beckman.com/techdocs (dokumentumszám: B60062)

	Specyfikacje
Swoistość	NG2
Klon	7,1
Hybrydoma	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Readus cell line
Immunoglobulina	IgG1
Gatunek	Mysz
Oczyszczanie	Chromatografia powinowactwa
Fluorochrom	R Phycoerythrin (PE)
Stosunek molowy	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Wzbudzenie λ	488 nm
Pik emisji	575 nm
Bufor	PBS o pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA i 0,1% NaN_3

IOTest

Przeciwciało skoniugowane Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20 µL / test

Do użytku diagnostycznego *in vitro*.

PRZEZNACZENIE

To przeciwciało skoniugowane z fluorochromem umożliwia jakościową i niezautomatyzowaną identyfikację populacji komórek wykazujących ekspresję antygenu NG2 obecnego w ludzkich próbkach biologicznych metodą cytometrii przepływowej (zobacz część „Próbki" poniżej).

ZASADA DZIAŁANIA

Ten test jest oparty na zdolności swoistych przeciwciał monoklonalnych do wiązania się z determinantami antygenowymi ekspresjonowanymi przez lekukocyty.

Barwienie swoiste leukocytów jest wykonywane poprzez inkubację próbki z odczynnikiem IOTest. Krwinki czerwone są następnie usuwane poprzez lizę, a leukocyty, na które ta liza nie wpływa, są analizowane metodą cytometrii przepływowej.

Cytometr przepływowy mierzy rozpraszanie światła i fluorescencję komórek. Umożliwia to odgraniczenie populacji zainteresowania w elektronicznym oknie zdefiniowanym na histogramie, który koreluje ortogonalne rozpraszanie światła (rozpraszanie boczne — Side Scatter, w skrócie SS) i rozpraszanie światła pod wąskim kątem (rozpraszanie do przodu, Forward Scatter, w skrócie FS). Na etapie bramkowania, w zależności od zastosowania wybranego przez użytkownika, można używać innych histogramów łączących dwa z różnych parametrów dostępnych w cytometrze.

Fluorescencja odgraniczonych komórek jest analizowana w celu odróżnienia zdarzeń barwionych dodatnio od zdarzeń nieulegających barwieniu. Wyniki są wyrażane jako odsetek zdarzeń dodatnich względem wszystkich zdarzeń zarejestrowanych poprzez bramkowanie.

UŻYTKOWNIK DOCELOWY

Produkt jest przeznaczony do profesjonalnego użytku w laboratoriach.

ZNACZENIE KLINICZNE

Anti-NG2-PE to przeciwciało Anti-NG2 służące do identyfikowania i charakteryzowania komórek wykazujących ekspresję antygenu NG2 za pomocą cytometrii przepływowej. Ten produkt nie może samodzielnie generować i nie jest przeznaczony do generowania jakichkolwiek wniosków diagnostycznych.

W połączeniu z innymi markerami produkt ten może służyć do jednego lub kilku z następujących zastosowań:

- Do wspomagania diagnostyki różnicowej pacjentów z nieprawidłowym obrazem hematologicznym i podejrzeniem nowotworu układu krwiotwórczego oraz do monitorowania pacjentów ze stwierdzonym nowotworem układu krwiotwórczego.
- Jako pomoc w ustaleniu rokowania u pacjentów z nowotworem układu krwiotwórczego.

Zobacz poniższe piśmiennictwo:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

PRÓBKI

Krew żylną należy pobierać do sterylnych probówek zawierających antykoagulant w postaci soli EDTA.

Próbki należy przechowywać w temperaturze pokojowej (18–25°C), bez wytrząsania. Przed pobraniem próbki do testu należy uzyskać jednorodną mieszaninę poprzez delikatne mieszanie.

Próbki muszą zostać zbadane w ciągu 24 godzin od pobrania krwi żylnej przez nakłucie.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Nie używać odczynników po upływie daty ważności.
2. Nie zamrażać.
3. Przed użyciem odczekać, aż osiągnie temperaturę pokojową (18–25°C).
4. Maksymalnie ograniczyć narażenie na działanie światła.
5. Nie dopuścić do skażenia mikrobiologicznego odczynników, gdyż może to spowodować uzyskanie fałszywych wyników.
6. Z roztworami przeciwciał zawierającymi azydek sodu (NaN_3) należy postępować ostrożnie. Nie spożywać i nie dopuszczać do kontaktu ze skórą, błoną śluzową oraz oczami.

   Ponadto w środowisku kwaśnym azydek sodu może tworzyć potencjalnie niebezpieczny kwas azotowodorowy. W przypadku konieczności usunięcia zalecane jest rozcieńczenie odczynnika w dużej objętości wody przed wlaniem go do kanalizacji, aby uniknąć gromadzenia się azydku sodu w metalowych rurach i uniknąć ryzyka wybuchu.

7. Wszystkie próbki krwi należy uważać za potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi ostrożnie (w szczególności nosić ochronne rękawice, fartuchy i okulary).
8. Nigdy nie wolno pipetować ustami. Nie dopuszczać do kontaktu próbek ze skórą, błonami śluzowymi i oczami.
9. Probówki przeznaczone na krew i materiały jednorazowego użytku używane podczas procedury należy usuwać do pojemników ad hoc przeznaczonych do spalenia.
10. Odczynniki i odpady należy usuwać zgodnie z wymogami lokalnymi.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Produkt nie został sklasyfikowany jako niebezpieczny

SDS Karta charakterystyki jest dostępna pod adresem beckmancoulter.com/techdocs

MAGAZYNOWANIE I STABILNOŚĆ

Ten odczynnik musi być przechowywany w temperaturze 2–8°C z zapewnieniem ochrony przed światłem, zarówno przed otwarciem fiolki jak i po jej otwarciu.

W oparciu o wyniki badania stabilności dopuszczalny okres przechowywania w zamkniętej fiolce ustalono na: 1095 dni.

Stabilność otwartej fiolki: odczynnik zachowuje stabilność przez 180 dni.

OZNAKA POGORSZENIA WŁAŚCIWOŚCI

Wszelkie zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników mogą wskazywać na pogorszenie właściwości — odczynników takich nie należy używać.

W celu otrzymania dodatkowych informacji lub w przypadku otrzymania uszkodzonego produktu należy skontaktować się z działem obsługi klienta firmy Beckman Coulter pod numerem telefonu 800-742-2345 (USA lub Kanada) lub z miejscowym przedstawicielem firmy Beckman Coulter.

ZAWARTOŚĆ

Środek konserwujący, azydek sodu, może tworzyć związki wybuchowe w metalowych rurach kanalizacyjnych. Patrz NIOSH Bulletin (Biuletyn instytutu NIOSH): Explosive Azide Hazard (Niebezpieczeństwo wybuchu azydku) (16.8.76).
Po usunięciu nierozcieńczonego odczynnika należy przepłukać rury ściekowe wodą, aby uniknąć gromadzenia się azydków. Azydek sodu musi być usuwany zgodnie z odpowiednimi przepisami lokalnymi.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE Z ZESTAWEM:

- Probówki do pobierania próbek i materiały wymagane do pobierania próbek.
- Pipety automatyczne z jednorazowymi końcówkami na 20, 100 i 500 µL.
- Probówki z tworzywa sztucznego przeznaczone do hemolizy.
- Odczynnik do lizy erytrocytów, z etapem przemywania po etapie lizy. Przykład: VersaLyse (nr ref. A09777).
- Odczynnik do utrwalania limfocytów. Przykład: Roztwór utrwalający IOTest 3 (nr ref. A07800).
- Kontrola izotypowa PE: Odczynnik IOTest (nr ref. A07796).
- Bufor (PBS: 0,01 M fosforan sodu; 0,145 M chlorek sodu; pH 7,2).
- Wirówka.
- Mieszadło automatyczne (typu worteks).
- Cytometr przepływowy.

PROCEDURA Z ODCZYNNIKIEM VERSALYSE

Do każdej badanej próbki, dodatkowo oprócz probówki testowej, można dodać jedną probówkę kontrolną, w której komórki są mieszane w obecności kontroli izotypowej (nr ref. A07796).

1. Dodać po 20 µL swoistego przeciwciała skoniugowanego IOTest do każdej probówki testowej i, w razie potrzeby, po 20 µL kontroli izotypowej do każdej probówki kontrolnej.
2. Do każdej probówki dodać 100 µL próbki testowej. Łagodnie worteksować probówki.
3. Inkubować przez 15–20 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C), chroniąc przed światłem.
4. Następnie przeprowadzić lizę krwinek czerwonych. Zapoznać się z ulotką VersaLyse (nr ref. A09777). Preferowane jest postępowanie zgodnie z procedurą „z towarzyszącym utrwalaniem”, która polega na dodaniu 1 mL przygotowanej wcześniej mieszaniny do utrwalania i lizy (Fix-and-Lyse). Bezzwłocznie worteksować przez jedną sekundę i inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej, chroniąc przed światłem.
5. Wirować przez 5 minut przy 150 x g w temperaturze pokojowej.
6. Usunąć supernatant poprzez zasysanie.
7. Zawiesić osad komórkowy w 3 mL PBS.
8. Powtórzyć etap 5.
9. Usunąć supernatant poprzez zasysanie i ponownie zawiesić osad komórkowy w:

- 0,5 mL lub 1 mL PBS oraz 0,1% formaldehydu, jeśli preparaty mają być przechowywane przez mniej niż 24 godz. (0,1% roztwór formaldehydu w PBS można uzyskać, rozcieńczając 12,5 µL roztworu utrwalającego IOTest 3 (nr ref. A07800) stężonego 10X w 1 mL PBS).
- 0,5 mL lub 1 mL PBS bez formaldehydu, jeśli preparaty zostaną poddane analizie w ciągu 2 godz.

Uwaga: Niezależnie od sytuacji preparaty należy przechowywać w temperaturze 2–8°C, chroniąc je przed światłem.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

Nie ma wartości oczekiwanej istotnej dla tego produktu.

WYDAJNOŚĆ

Dane dotyczące wydajności uzyskano z wykorzystaniem procedury opisanej powyżej na próbkach krwi mających mniej niż 24 godziny, uprzednio pobranych do sterylnych probówek z solą EDTA jako antykoagulantem. Badanie przeprowadzono w ciągu 2 godzin po barwieniu immunologicznym.

SWOISTOŚĆ

Antygen-2 gleju neuronu (NG2), proteoglikan znany również jako proteglikan 4 siarczanu chondroityny lub związany z czerniakiem proteoglikan siarczanu chondroityny to mająca masę 250 kDa glikoproteina błonowa typu 1 ulegająca ekspresji na wielu komórkach ośrodkowego układu nerwowego (OUN) podczas rozwoju i różnicowania oraz odgrywająca ważne role w angiogenezie, gojeniu ran i wzroście guza. Cząsteczki proteoglikanu siarczanu chondroityny mogą być inhibitorami adhezji i migracji komórkowej (10) oraz mogą służyć jako bariery migracji komórkowej w szlakach grzebienia nerwowego. Przeciwciało monoklonalne 7.1 rozpoznaje cząsteczkę siarczanu chondroityny powierzchni komórki o masie molekularnej 200–220 kDa znaną jako ludzki homolog antygenu NG2 szczura. Antygen NG2 występuje na populacjach ludzkich komórek glejowych (11). Nie ulega ekspresji na prawidłowych komórkach hematopoetycznych.

PRECYZJA

Odsetek wartości dodatnich określono przy użyciu krwi pełnej z dodanymi komórkami dodatnimi. Każdą próbkę oznaczano 4 razy, dwa razy na dobę przez 1 dzień na 2 analizatorach przy użyciu 2 serii odczynnika przeciwciała monoklonalnego Anti-NG2-PE. Pomiary (% dodatnich) przeprowadzono na cytometrze przepływowym Navios. Badanie przeprowadzono na podstawie metody opisanej w wytycznych CLSI w dokumencie EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Ocena wydajności precyzji metody pomiarów ilościowych).

Nasze kryteria akceptacji są uzależnione od liczby zdarzeń dodatnich zmierzonych w każdej populacji:

- Jeśli zdarzenie dodatnie < 1500, WZ < 15%
- Jeśli zdarzenie dodatnie > 1500, WZ < 10%

Krew pełna z dodaną linią komórkową HELA							
Liczba zdarzeń dodatnich (średnia) = 4262							
	Między operatorami	Między cytometrami	W ramach serii	Między seriami	Między oznaczeniami	W ramach analizy	Łącznie
WZ (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
WYNIKI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOKŁADNOŚĆ

Dokładność odczynnika Anti-NG2-PE oceniano poprzez porównanie wyników uzyskanych za pomocą tego odczynnika z wynikami uzyskanymi za pomocą odczynnika referencyjnego, wykorzystywanego jako odniesienie, na zestawie próbek krwi pełnej z dodanymi komórkami dodatnimi oznaczanych na cytometrze przepływowym Navios. Odchylenie między odczynnikiem testowym i referencyjnym określono na podstawie różnicy między wynikami testu. Jeśli odchylenie mieści się w dopuszczalnym zakresie błędu lub wartość p wskazuje na brak istotnej różnicy (> 0,05), wyniki testu dla dwóch odczynników są uznawane za równoważne.

W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Liczba dawców = 25				
Dodatnie docelowe komórki	Średnia Δ	Kryteria Δ % komórki	Wartość p	WYNIKI
Krew pełna z dodaną linią komórkową HELA	0,01	<5	0,978	PASS

GRANICA PRÓBY ŚLEPEJ I GRANICA WYKRYWALNOŚCI

Przeprowadzono badanie zgodnie z dokumentem CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zdolności wykrywania dla procedur pomiarowych w laboratoriach medycznych). Granica wykrywalności (LOD) to najniższe stężenie analitu, które może być powtarzalnie wykrywane. W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

Positive Target	Granica próby ślepej (l. komórek/µL)	Granica wykrywalności (l. komórek/µL)
Linia komórkowa HELA	1	3

ORGANICZENIA

1. Wyniki cytometrii przepływowej mogą być zafałszowane, jeśli osiowanie cytometru nie było dokładne, przepuszczona fluorescencja nie została prawidłowo skompensowana, a regiony nie zostały starannie upozycjonowane.
2. Preferowane jest stosowanie techniki lizy RBC z etapem przemywania, ponieważ odczynnik ten nie został zoptymalizowany dla technik lizy „bez przemywania”.
3. Uzyskane wyniki będą dokładne i odtwarzalne pod warunkiem, że stosowane będą procedury zgodne z informacjami zawartymi w ulotce z danymi technicznymi oraz z dobrymi praktykami laboratoryjnymi.
4. Skoniugowane przeciwciało zawarte w tym odczynniku zostało skalibrowane tak, aby zapewniać najlepszy stosunek sygnału swoistego do nieswoistego. Dlatego ważne jest przestrzeganie stosunku objętości odczynnika do objętości próbki w każdym teście.
5. W przypadku hiperleukocytozy należy rozcieńczyć krew w PBS, aby uzyskać wartość w przybliżeniu 5 x 10^9 leukocytów/L (12).
6. W niektórych stanach chorobowych, takich jak ciężka niewydolność nerek lub hemoglobinopatie, liza krwinek czerwonych może być powolna, niepełna lub nawet niemożliwa. W takich przypadkach przed barwieniem zalecane jest wyizolowanie komórek jednojądrzastych na gradiencie gęstości (na przykład Ficoll) (13).
7. U pacjentów poddawanych terapii anty-ludzkimi przeciwciałami monoklonalnymi, wykrywanie swoistych antygenów docelowych może być osłabione lub niemożliwe z powodu częściowego lub całkowitego zablokowania przez przeciwciało terapeutyczne.

8. Wyniki oznaczenia Anti-NG2-PE należy interpretować w świetle ogólnego obrazu klinicznego pacjenta, w tym objawów, historii klinicznej, danych z dodatkowych testów oraz innych właściwych informacji.

Przykłady i piśmiennictwo można znaleźć w załączniku.

ZNAKI TOWAROWE

Beckman Coulter, stylizowane logo oraz wymienione w tym dokumencie znaki produktów i usług firmy Beckman Coulter są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Beckman Coulter, Inc. w Stanach Zjednoczonych i innych krajach.

DODATKOWE INFORMACJE

Dotyczy pacjentów/użytkowników/stron trzecich w Unii Europejskiej i w krajach o identycznym systemie regulacyjnym (rozporządzenie 2017/746/UE w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro) — jeśli podczas lub w wyniku korzystania z tego wyrobu wystąpi poważny incydent, należy zgłosić go producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz odpowiedniemu organowi krajowemu.

Dokument The Summary of Safety and Performance (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania) jest dostępne w bazie danych EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIA ZMIAN

WERSJA AD:	Data wydania: październik 2019 r.

WERSJA	**Data wydania**
AW	Maj 2022 r.
Aktualizacje w celu zapewnienia zgodności z globalnymi zasadami oznakowania firmy Beckman Coulter i według wymogów rozporządzenia IVD-R (UE)2017/746:	
Dodano części	Numer BSI 2797, Użytkownik docelowy, Znaczenie kliniczne, Stężenie, Precyzja, Dokładność, Granica próby ślepej i granica wykrywalności, Informacje dodatkowe, Historia zmian.
Dodano informacje	Zobacz części Ograniczenia
Aktualizacje wyrażeń lub typograficzne	Zobacz części Procedura, Wydajność, Ograniczenia, Ostrzeżenia i środki ostrożności, Magazynowanie i stabilność.
Usunięte części	Przykłady zastosowań klinicznych, Odczynniki, Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna, Liniowość
Zaktualizowane części	Przeznaczenie, Klasyfikacja zagrożeń wg GHS, Dowód pogorszenia jakości, Procedura, Załącznik.

WERSJA	**Data wydania**
AX	Kwiecień 2023
Zaktualizowane części	Dodano język kazachski
Zaktualizowane części	Przechowywanie i stabilność

Wersja zmieniona	AY
Data zmiany	Maj 2024
Zaktualizowano tłumaczenia	**Znaczenie kliniczne:**
Zaktualizowane części	Historia zmian

Wersja zmieniona	AZ
Data zmiany	Lipiec 2024
Zaktualizowane części	Historia zmian

Legenda symboli

Słowniczek symboli jest dostępny pod adresem beckman.com/techdocs (numer dokumentu B60062)

	Specifikace
Specificita	NG2
Klon	7,1
Hybridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Readus cell line
Imunoglobulin	IgG1
Druhy	Myš
Purifikace	Afinitní chromatografie
Fluorochrom	R Phycoerythrin (PE)
Molární poměr	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Excitace λ	488 nm
Emisní vrchol	575 nm
Pufr	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugovaná protilátka Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 ml, 20 µl/test

Pro diagnostické účely *in vitro*.

URČENÉ POUŽITÍ

Tato protilátka konjugovaná s fluorochromem umožňuje kvalitativní a neautomatizovanou identifikaci buněčných populací exprimujících antigen NG2 v lidských biologických vzorcích (viz část „Vzorky“ níže) pomocí průtokové cytometrie.

PRINCIP

Tento test je založen na schopnosti monoklonálních protilátek specificky se vázat na antigenní determinanty exprimované na leukocytech.

Specifické značení leukocytů se provádí inkubováním vzorku s reagencií IOTest. Červené krvinky jsou poté odstraněny provedením lýzy a bílé krvinky, jež tímto procesem nejsou ovlivněny, jsou analyzovány na průtokovém cytometru.

Průtokový cytometr měří difúzi světla a fluorescenci buněk. Umožňuje oddělit zkoumanou populaci v rámci elektronického okna definovaného na histogramu, který je v korelaci s ortogonální difúzí světla (kolmý rozptyl) a s difúzí světla v úzkém úhlu (přímý rozptyl). Jako podporu ve fázi gatování lze, v závislosti na aplikaci zvolené uživatelem, použít další histogramy s kombinací dvou různých parametrů, které jsou v cytometru k dispozici.

Fluorescence oddělených buněk je analyzována s cílem odlišit pozitivně obarvené události od neobarvených. Výsledky jsou vyjádřeny jako procentní podíl pozitivních událostí ze všech událostí zjištěných gatováním.

ZAMÝŠLENÝ UŽIVATEL

Tento produkt je určen pro profesionální laboratorní použití.

KLINICKÁ VÝZNAMNOST

Anti-NG2-PE je protilátka Anti-NG2 používaná k identifikaci a charakterizaci buněk exprimujících antigen NG2 pomocí průtokové cytometrie. Tento produkt sám o sobě nevytváří a nemá vytvářet žádný diagnostický závěr.

Při použití v kombinaci s dalšími markery lze tento produkt použít k jedné nebo více z následujících funkcí:

- Jako pomůcka pro diferenciální diagnostiku pacientů s hematologickými abnormalitami, u kterých je podezření na hematopoetickou neoplazii, a k monitorování pacientů se známou hematopoetickou neoplazií.
- Jako pomůcka pro stanovení prognózy u pacientů s hematopoetickou neoplazií.

Viz následující odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

VZORKY

Vzorky žilní krve musejí být odebrány do sterilních zkumavek obsahujících sůl EDTA jako antikoagulační činidlo.

Vzorky by měly být uchovávány při laboratorní teplotě (18–25 °C) a neměly by se protřepávat. Vzorek by měl být před odebráním vzorku k testování homogenizován mírným promícháním.

Vzorky je nutné analyzovat do 24 hodin od venepunkce.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagencii nepoužívejte po datu exspirace.
2. Nezmrazujte.
3. Před použitím nechte vytemperovat na laboratorní teplotu (18–25 °C).
4. Minimalizujte expozici světlu.
5. Zabraňte mikrobiologické kontaminaci reagencií, jinak mohou být výsledky chybné.
6. S roztoky protilátek obsahujícími azid sodný (NaN_3) je třeba manipulovat opatrně. Neužívejte vnitřně a zabraňte veškerému kontaktu s pokožkou, sliznicemi a očima.

   V kyselém prostředí může azid sodný navíc vytvářet potenciálně nebezpečnou kyselinu azidovodíkovou. Při likvidaci se doporučuje před vylitím do odpadu reagencii zředit velkým objemem vody, aby nedocházelo k hromadění nebezpečného azidu sodného v kovovém potrubí a předešlo se tak riziku exploze.

7. Všechny vzorky krve je nutno považovat za potenciálně infekční a je nutné manipulovat s nimi opatrně (zvláště: používat ochranné rukavice, pláště a brýle).
8. Nikdy nepipetujte ústy a zabraňte tomu, aby se vzorky dostaly do kontaktu s kůží, sliznicí ani očima.
9. Zkumavky s krví a jednorázový materiál určený pro manipulaci je třeba likvidovat v kontejnerech ad hoc určených ke spálení.
10. Reagencie a odpad by měly být odstraňovány v souladu s místními požadavky.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Není klasifikované jako nebezpečné

SDS Bezpečnostní list je k dispozici na internetové adrese beckmancoulter.com/techdocs.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Před otevřením lahvičky a po jejím otevření musí být tato reagencie uchovávána při teplotě mezi 2 a 8 °C a chráněna před světlem.

Doba použitelnosti uzavřené lahvičky podle studie stability: 1095 dnů/dní.

Stabilita již jednou otevřené lahvičky: reagencie je stabilní po dobu 180 dní.

ZNÁMKY ZHORŠENÍ KVALITY

Jakákoli změna fyzického vzhledu reagencií může znamenat jejich znehodnocení a taková reagencie by se neměla používat.

Pokud potřebujete další informace nebo jste obdrželi poškozený produkt, zavolejte na telefonní číslo zákaznické služby společnosti Beckman Coulter 800-742-2345 (USA nebo Kanada) nebo se obraťte na místního zástupce společnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervační látka azid sodný může v kovovém odpadním potrubí vytvářet výbušné sloučeniny. Viz buletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečí výbušných azidů) (16.8.76).
Po vypuštění neředěné reagencie propláchněte odpadní potrubí vodou, aby se v něm nehromadily azidové sloučeniny. Likvidace azidu sodného musí být prováděna podle příslušných místních předpisů.

MATERIÁLY POTŘEBNÉ, ALE NEDODANÉ SE SOUPRAVOU:

- Zkumavky na odběr vzorků a materiál potřebný k odběru vzorků.
- Automatické pipety s jednorázovými špičkami pro 20, 100 a 500 µl.
- Plastové zkumavky na hemolýzu.
- Reagencie pro lýzu červených krvinek s fází promývání po lýze. Například: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagencie pro fixaci leukocytů. Například: Fixační roztok IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotypová kontrola PE: Reagencie IOTest (ref. A07796).
- Pufr (PBS: 0,01 M fosforečnan sodný; 0,145 M chlorid sodný; pH 7,2).
- Odstředivka.
- Automatické míchadlo (typu vortex).
- Průtokový cytometr.

POSTUP S REAGENCIÍ VERSALYSE

Pro každý analyzovaný vzorek lze kromě testovací zkumavky přidat jednu kontrolní zkumavku, v níž jsou buňky promíchány v přítomnosti izotypové kontroly (ref. A07796).

1. Do každé z testovacích zkumavek přidejte 20 µl konjugované protilátky specifické pro IOTest a podle potřeby do každé ze zkumavek kontroly přidejte 20 µl kontroly izotypu.
2. Do každé zkumavky přidejte 100 µl testovaného vzorku. Zkumavky jemně promíchejte na vortexové míchačce.
3. Provádějte inkubaci po dobu 15 až 20 minut při laboratorní teplotě (18–25 °C), chraňte před světlem.
4. Poté lyzujte červené krvinky. Postupujte dle brožury VersaLyse (ref. A09777) a řiďte se, pokud možno, postupem nazvaným „s průvodní fixací“, který spočívá v přidání 1 ml fixační a lyzační směsi připravené bezprostředně před použitím. Ihned vortexujte po dobu jedné sekundy a inkubujte po dobu 10 minut při laboratorní teplotě, přičemž chraňte před světlem.
5. Odstřeďujte 5 minut při 150 x g při laboratorní teplotě.
6. Supernatant odsajte.
7. Resuspendujte buněčnou peletu pomocí 3 ml PBS.
8. Opakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte buněčnou peletu pomocí:

- 0,5 ml nebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, pokud mají být preparáty uchovány po dobu kratší než 24 hodin. (PBS s 0,1 % formaldehydu lze získat zředěním 12,5 µl fixačního roztoku IOTest 3 (ref. A07800) o koncentraci 10x v 1 ml PBS.)
- 0,5 ml nebo 1 ml PBS bez formaldehydu, pokud mají být preparáty analyzovány do 2 hodin.

Poznámka: Ve všech případech uchovávejte preparáty při teplotě mezi 2 a 8 °C a chraňte je před světlem.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Tento produkt nemá žádnou relevantní očekávanou hodnotu.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Data o výkonu se získávají výše popsaným postupem na vzorcích krve starých méně než 24 hodin, které byly odebrány do sterilních zkumavek se solí EDTA jakožto antikoagulačním činidlem. Analýza se provádí do 2 hodin od imunobarvení.

SPECIFICITA

Neuronový gliový antigen-2 (NG2), proteoglykan, nazývaný také chondroitin-sulfát-proteoglykan 4 či chondroitin-sulfát-proteoglykan asociovaný s melanomem, je membránový glykoprotein typu 1 o molekulární hmotnosti 250 kDa. Je exprimován mnoha buňkami centrální nervové soustavy během vývoje a diferenciace a hraje důležitou roli při angiogenezi, hojení ran a růstu nádorů. Molekuly třídy chondroitin-sulfát-proteoglykanu mohou být inhibitory adheze a migrace buněk (10) a mohou sloužit jako bariéry migrace buněk při průchodu neurální lištou. Monoklonální protilátka 7.1 rozpoznává molekulu chondroitin-sulfát-proteoglykanu buněčného povrchu s molekulární hmotností 200–220 kDa známou jako lidský homolog krysího antigenu NG2. Antigen NG2 se vyskytuje u populací lidských gliových buněk (11). U normálních hematopoetických buněk není exprimován.

PRECIZNOST

Procentuální pozitivní hodnoty byly stanoveny pomocí plné krve obohacené pozitivními buňkami. Každý vzorek byl analyzován 4krát, dvakrát denně v průběhu 1 dne na 2 přístrojích pomocí 2 šarží reagencií s monoklonální protilátkou Anti-NG2-PE. Měření (% pozitivních) byla provedena na průtokovém cytometru Navios. Analýza byla provedena na základě metody CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vyhodnocení výkonu preciznosti kvantitativních měřicích metod).

Naše kritéria přijatelnosti závisí na počtu pozitivních událostí změřených pro každou populaci:

- Pokud pozitivní událost < 1 500, VK < 15 %
- Pokud pozitivní událost > 1 500, VK < 10 %

Plná krev obohacená buněčnou linií HELA							
Počet pozitivních událostí (průměr) = 4262							
	Mezi obslužnými pracovníky	Mezi cytometry	V rámci šarže	Mezi šaržemi	Mezi cykly	V rámci cyklu	Celkem
VK (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PŘESNOST

Přesnost Anti-NG2-PE byla vyhodnocena porovnáním výsledků s referenční reagencií sloužící jako srovnávací látka na sadě vzorků plné krve obohacené pozitivními buňkami a analyzované na průtokovém cytometru Navios. Na základě rozdílu mezi výsledky testů byla stanovena odchylka mezi testem a referenční reagencií. Pokud je odchylka v rámci rozsahu přípustné chyby nebo hodnota p naznačuje, že nedošlo k žádnému významnému rozdílu (> 0,05), výsledky testů daných dvou reagencií se považují za shodné.

Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Počet dárců = 25				
Pozitivní nosič	Průměr Δ	Kritéria Δ % buněk	Hodnota p	VÝSLEDKY
Plná krev obohacená buněčnou linií HELA	0,01	<5	0,978	PASS

MEZ PRÁZDNÉHO VZORKU A MEZ MĚŘITELNOSTI

Byla provedena studie v souladu se směrnicí CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnocení schopnosti detekce pro klinické laboratorní postupy měření). Mez měřitelnosti (LOD) je nejnižší koncentrace analytu, kterou lze spolehlivě detekovat. Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Positive Target	Mez prázdného vzorku (buňky/µl)	Mez měřitelnosti (buňky/µl)
HELA Buněčná linie	1	3

OMEZENÍ

1. Průtoková cytometrie může přinést falešné výsledky, pokud cytometr nebyl dokonale seřízen, pokud nebyly správně kompenzovány úniky fluorescence a pokud oblasti nebyly pečlivě umístěny.
2. Je vhodné používat techniku lýzy RBC s promývacím krokem, protože tato reagencie není optimalizována pro techniku lýzy bez promývání.
3. Přesných a reprodukovatelných výsledků bude dosaženo, pokud jsou použité postupy v souladu s technickým příbalovým letákem a se správnou laboratorní praxí.
4. Konjugovaná protilátka této reagencie je kalibrována tak, aby poskytovala nejlepší možný poměr specifického signálu k nespecifickému signálu. Proto je důležité při každém testu dodržovat poměr objemu reagencie a objemu vzorku.
5. V případě hyperleukocytózy nařeďte krev v přípravku PBS tak, aby byla dosažena hodnota přibližně 5 x 10^9 leukocytů/l (12).
6. U určitých chorob, například závažného selhání ledvin či hemoglobinopatií, se může stát, že lýza červených krvinek bude probíhat pomalu, nedokončí se, nebo dokonce nebude možná. V tomto případě se před značením doporučuje izolovat mononukleární buňky s použitím hustotního gradientu (např. Ficoll) (13).
7. U pacientů léčených pomocí monoklonálních protilátek proti lidským antigenům může být detekce specificky cílených antigenů snížena nebo může chybět kvůli částečné nebo celkové blokaci terapeutickými protilátkami.
8. Výsledky analýzy Anti-NG2-PE je nutné interpretovat s přihlédnutím k celkovému klinickému obrazu pacienta, včetně symptomů, klinické anamnézy, údajů z dalších testů a dalších vhodných informací.

Příklady a reference jsou uvedeny v příloze.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, stylizované logo a známky produktů a služeb společnosti Beckman Coulter uvedené v tomto dokumentu jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Beckman Coulter, Inc. ve Spojených státech amerických a dalších zemích.

DALŠÍ INFORMACE

Pro pacienty, uživatele nebo třetí osoby v Evropské unii a v zemích se stejným regulačním režimem (nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro); pokud při používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání dojde k závažné nehodě, prosím ohlaste tuto nehodu výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a kompetentnímu vnitrostátnímu orgánu.

Summary of Safety and Performance (Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti) je k dispozici v databázi EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIE REVIZÍ

REVIZE AD:	Datum vydání: Říjen 2019

REVIZE	**Datum vydání**
AW	Květen 2022
Aktualizace kvůli shodě s globálními zásadami označování společnosti Beckman Coulter a dle požadavků IVD-R (EU) 2017/746:	
Přidání částí	Číslo BSI 2797, Určený uživatel, Klinická významnost, Koncentrace, Preciznost, Přesnost, Mez prázdného vzorku a mez měřitelnosti, Další informace, Historie změn.
Přidány informace	Viz část Omezení
Aktualizace formulací a typografické aktualizace	Viz části Postup, Výkon, Omezení, Varování a bezpečnostní opatření, Skladování a stabilita.
Odstranění částí	Příklad klinických použití, Reagencie, Reprodukovatelnost v rámci laboratoře, Linearita
Aktualizované části	Určené použití, Klasifikace nebezpečí podle GHS, Známky znehodnocení, Postup, Příloha.

REVIZE	**Datum vydání**
AX	duben 2023
Aktualizované části	Přidání kazašského jazyka
Aktualizované části	Skladování a stabilita

Revidovaná verze	AY
Datum revize	Květen 2024
Aktualizované překlady	**Klinická významnost:**
Aktualizované části	Historie revizí

Revidovaná verze	AZ
Datum revize	cervenec 2024
Aktualizované části	Historie revizí

Klíč k symbolům

Slovníček symbolů je k dispozici na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	Špecifikácie
Špecificita	NG2
Klon	7,1
Hybridóm	SP2/0 x balb/c
Imunogén	Readus cell line
Imunoglobulín	IgG1
Druhy	Myš
Purifikácia	Afinitná chromatografia
Fluorochróm	R Phycoerythrin (PE)
Molárny pomer	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Excitácia λ	488 nm
Vrchol emisií	575 nm
Tlmivý roztok	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugovaná protilátka
Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 ml, 20 µl/test

Na *in vitro* diagnostické použitie.

URČENÉ POUŽITIE

Táto protilátka konjugovaná s fluorochrómom umožňuje pomocou prietokovej cytometrie vykonávať kvalitatívnu, neautomatizovanú identifikáciu populácie buniek exprimujúcich antigén NG2 v ľudských biologických vzorkách (pozri časť „vzorky“ nižšie).

PRINCÍP

Tento test je založený na schopnosti špecifických monoklonálnych protilátok viazať sa na antigénne determinanty exprimované na leukocytoch.

Špecifické farbenie leukocytov sa vykoná inkubáciou vzorky s činidlom IOTest. Červené krvinky sa následne odstránia lýzou a leukocyty, na ktoré tento postup nemá vplyv, sa analyzujú prietokovou cytometriou.

Prietokový cytometer meria rozptyl svetla a fluorescenciu buniek. Umožňuje vymedzenie požadovanej populácie v rámci elektronického okna zadefinovaného v histograme znázorňujúcom koreláciu ortogonálneho rozptylu svetla (bočný rozptyl, SS) a rozptylu svetla v úzkom uhle (predný rozptyl, FS). Ostatné histogramy obsahujúce kombináciu dvoch rozličných parametrov dostupných na cytometri možno použiť na podporu vo fáze gatingu v závislosti od aplikácie zvolenej používateľom.

Fluorescencia vymedzených buniek sa analyzuje s cieľom odlíšiť pozitívne sfarbené udalosti od nesfarbených. Výsledky sú vyjadrené ako percento pozitívnych udalostí vzhľadom na všetky udalosti zaznamenané gatingom.

URČENÝ POUŽÍVATEĽ

Tento produkt je určený na profesionálne laboratórne použitie.

KLINICKÝ VÝZNAM

Anti-NG2-PE je protilátka proti Anti-NG2 používaná na identifikáciu a charakterizáciu buniek exprimujúcich antigén NG2 pomocou prietokovej cytometrie. Tento produkt sám osebe nemôže a ani nemá slúžiť na vyvodzovanie akýchkoľvek diagnostických záverov.

Pri použití v kombinácii s inými markermi možno tento produkt použiť na jeden alebo viac z týchto účelov:

- Ako pomôcka pri diferenciálnej diagnostike hematologicky abnormálnych pacientov s podozrením na hematopoetickú neoplazmu a na monitorovanie pacientov so známou hematopoetickou neoplazmou.
- ako pomôcka pri stanovovaní prognózy u pacientov s hematopoetickou neoplazmou,

Pozrite si nasledujúce odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

VZORKY

Vzorky žilovej krvi musia byť odobraté do sterilných skúmaviek, ktoré obsahujú soľ EDTA ako antikoagulačné činidlo.

Vzorky by sa mali uchovávať pri izbovej teplote (18 – 25 °C) a nemalo by sa nimi triasť. Vzorky by sa mali pred odobratím testovacej vzorky homogenizovať jemným pretrepaním.

Vzorky sa musia analyzovať do 24 hodín od odberu.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

1. Činidlo nepoužívajte po dátume exspirácie.
2. Nezamrazujte.
3. Pred použitím nechajte zahriať na izbovú teplotu (18 – 25 °C).
4. Minimalizujte vystavenie svetlu.
5. Zabráňte mikrobiálnej kontaminácii činidiel, inak môže dôjsť k falošným výsledkom.
6. S roztokmi protilátok obsahujúcimi azid sodný (NaN_3) by sa malo zaobchádzať opatrne. Nepožívajte ich a vyhýbajte sa akémukoľvek kontaktu s kožou, sliznicami a očami.

V médiu s obsahom kyseliny môže navyše azid sodný vytvárať potenciálne nebezpečnú kyselinu azidovodíkovú. Ak je činidlo potrebné zlikvidovať, odporúča sa ho pred vyliatím do kanalizácie zriediť vo veľkom objeme vody, aby sa predišlo riziku explózie v dôsledku hromadenia azidu sodného v kovovom potrubí.

7. Všetky vzorky krvi sa musia považovať za potenciálne infekčné, a preto sa s nimi musí narábať opatrne (predovšetkým: používajte ochranné rukavice, plášte a okuliare).
8. Nikdy nepipetujte ústami a zabráňte akémukoľvek kontaktu vzoriek s pokožkou, sliznicami a očami.
9. Skúmavky na krv a jednorazový materiál používané pri manipulácii sa musia zlikvidovať do schválených nádob určených na spálenie.
10. Činidlá a odpad by sa mali eliminovať v súlade s miestnymi požiadavkami.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Nie je klasifikované ako nebezpečné

SDS Bezpečnostný list je dostupný na adrese beckmancoulter.com/techdocs

SKLADOVANIE A STABILITA

Toto činidlo sa musí skladovať pri teplote od 2 do 8 °C a chrániť pred svetlom pred aj po otvorení fľaštičky.

Doba použiteľnosti uzavretej fľaštičky podľa štúdie stability: 1095 dní.

Stabilita otvorenej fľaštičky: činidlo je stabilné 180 dní.

ZNÁMKY ZNEHODNOTENIA

Akákoľvek zmena fyzického vzhľadu činidla môže svedčiť o zhoršení kvality a takéto činidlo by sa nemalo používať.

Ak potrebujete ďalšie informácie alebo ak je výrobok poškodený, kontaktujte stredisko zákazníckych služieb spoločnosti Beckman Coulter na telefónnom čísle 800-742-2345 (ak sa nachádzate v USA alebo Kanade) alebo kontaktujte miestneho zástupcu spoločnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervačné činidlo azid sodný môže v kovovej kanalizačnej sieti vytvárať výbušné zlúčeniny. Pozrite si informačný bulletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečenstvo výbušného azidu) (16. 8. 76).
Aby nedošlo k možnému nahromadeniu azidových zlúčenín, po likvidácii neriedeného činidla vypláchnite potrubie vodou. Likvidácia azidu sodného musí prebiehať v súlade s príslušnými miestnymi predpismi.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ NIE JE SÚČASŤOU SÚPRAVY:

- Vzorkovacie skúmavky a materiál potrebný na vzorkovanie.
- Automatické pipety s jednorazovými špičkami na dávkovanie objemov 20, 100 a 500 µl.
- Plastové hemolytické skúmavky.
- Činidlo na lýzu červených krviniek s umývacou fázou po lýze. Napríklad: VersaLyse (Ref. A09777).
- Činidlo na fixáciu leukocytov. Napríklad: fixačný roztok IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotypová kontrolaPE: činidlo IOTest (Ref. A07796).
- Tlmiaci roztok (PBS: fosforečnan sodný 0,01 M; chlorid sodný 0,145 M; pH 7,2).
- Centrifúga.
- Automatické miešadlo (typ Vortex).
- Prietokový cytometer.

POSTUP S ČINIDLOM VERSALYSE

Na každú analyzovanú vzorku je možné okrem testovacej skúmavky pridať aj jednu kontrolnú skúmavku, v ktorej sa zmiešajú bunky v prítomnosti izotypovej kontroly (Ref. A07796).

1. Pridajte 20 µl špecifickej konjugovanej protilátky IOTest do každej testovacej skúmavky a v prípade potreby 20 µl izotopovej kontroly do každej kontrolnej skúmavky.
2. Do každej skúmavky pridajte 100 µl testovanej vzorky. Skúmavky jemne vortexujte.
3. Inkubujte 15 až 20 minút pri izbovej teplote (18 – 25 °C) bez prístupu svetla.
4. Potom vykonajte lýzu červených krviniek. Postupujte podľa písomnej informácie VersaLyse (Ref. A09777) a ideálne použite postup označený ako „so sprievodnou fixáciou“, ktorý zahŕňa pridanie 1 ml bezprostredne pripravenej zmesi „na fixáciu a lýzu“. Ihneď premiešajte jednu sekundu a inkubujte 10 minút pri izbovej teplote a chráňte pred svetlom.
5. Odstreďujte 5 minút pri 150 x g pri izbovej teplote.
6. Nasatím odoberte supernatant.
7. Resuspendujte bunkový pelet použitím 3 ml PBS.
8. Zopakujte krok 5.
9. Odsajte supernatant a resuspendujte bunkový pelet použitím:

- 0,5 ml alebo 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehydu, ak sa preparáty budú skladovať kratšie ako 24 hodín. (Roztok PBS s 0,1 % formaldehydu možno pripraviť zriedením 12,5 µl fixačného roztoku IOTest 3 (Ref. A07800) v 10X koncentrácii v 1 ml roztoku PBS).
- 0,5 ml alebo 1 ml PBS bez formaldehydu, ak sa preparáty budú analyzovať do 2 hodín.

Poznámka: Preparáty vždy uchovávajte pri teplote 2 až 8 °C a mimo dosahu svetla.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

Pre tento výrobok neexistuje žiadna relevantná očakávaná hodnota.

VÝKONNOSŤ

Údaje o výkonnosti boli získané pomocou vyššie opísaného postupu z menej ako 24 hodín starých vzoriek krvi odobraných do sterilných skúmaviek so soľou EDTA ako antikoagulačným činidlom. Analýza prebehla do 2 hodín od imunologického farbenia.

ŠPECIFICITA

Neurón-gliový antigén 2 (NG2) proteoglykán, známy aj ako chondroitínsulfát proteoglykán 4, alebo s melanómom súvisiaci chondroitínsulfát proteoglykán, je 250 kDa membránový glykoproteín typu 1, exprimovaný mnohými bunkami centrálnej nervovej sústavy (CNS) počas vývinu a diferenciácie, ktorý zohráva dôležité úlohy pri angiogenéze, hojení rán a raste nádorov. Molekuly triedy chondroitínsulfát proteoglykánu môžu byť inhibítormi bunkovej adhézie a migrácie (10) a môžu slúžiť ako bariéry voči bunkovej migrácii v dráhe neurálnej lišty. Monoklonálna protilátka 7.1 rozoznáva povrchovú bunkovú molekulu chondroitínsulfát proteoglykánu s molekulovou hmotnosťou 200 – 220 kDa, známu ako ľudský homológ potkanieho antigénu NG2. Antigén NG2 sa nachádza na populáciách ľudských gliových buniek (11). Nie je exprimovaný na normálnych hematopoetických bunkách.

PRESNOSŤ

Percentuálne pozitívne hodnoty boli stanovené s použitím plnej krvi s pridanými pozitívnymi bunkami. Každá vzorka bola analyzovaná 4-krát, dva razy denne počas 1 dňa na 2 prístrojoch pri použití 2 šarží činidiel s monoklonálnymi protilátkami proti Anti-NG2-PE. Merania (% pozitívnych) sa vykonávali na prietokovom cytometri Navios. Analýza sa vykonávala podľa metódy CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Hodnotenie zhodnosti pri metódach kvantitatívneho merania).

Naše kritériá prijateľnosti závisia od počtu pozitívnych udalostí nameraného v jednotlivých populáciách:

- Ak je pozitívnych udalostí < 1500, CV < 15 %
- Ak je pozitívnych udalostí > 1500, CV < 10 %

Plná krv s pridanou bunkovou líniou HELA							
Počet pozitívnych udalostí (priemer) = 4262							
	Medzi operátormi	Medzi cytometrami	V rámci jednej šarže	Medzi šaržami	Medzi analýzami	V rámci jednej analýzy	Celkovo
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRESNOSŤ

Presnosť Anti-NG2-PE bola vyhodnotená porovnaním výsledkov s porovnávacím referenčným činidlom na súbore vzoriek plnej krvi s pridanými pozitívnymi bunkami analyzovaných v prietokovom cytometri Navios. Odchýlka medzi testovaným a referenčným činidlom bola stanovená na základe rozdielu medzi výsledkami testov. Ak je odchýlka v medziach prípustného chybového rozsahu, alebo ak p-hodnota svedčí o nevýznamnom rozdiele (> 0,05), výsledky testovania daných dvoch činidiel sa považujú za rovnocenné.

Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Počet darcov = 25				
Pozitívny cieľ	Priemer Δ	Kritériá Δ % buniek	p-hodnota	VÝSLEDKY
Plná krv s pridanou bunkovou líniou HELA	0,01	<5	0,978	PASS

MEDZA PRÁZDNEJ VZORKY A MEDZA MERATEĽNOSTI

Bola vykonaná štúdia v súlade s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnotenie detekčnej schopnosti pre postupy klinických laboratórnych meraní). Medza merateľnosti (LoD) je najnižšia koncentrácia analytu, ktorú možno konzistentne detegovať. Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Positive Target	Medza prázdnej vzorky (buniek/µl)	Medza merateľnosti (buniek/µl)
HELA Bunková línia	1	3

OBMEDZENIA

1. Prietoková cytometria môže vytvárať falošné výsledky, ak cytometer nie je správne zarovnaný, ak úniky fluorescencie nie sú správne kompenzované, alebo ak nie sú oblasti správne umiestnené.
2. Vhodnejšie je používať metódu lýzy RBC s krokom premývania, keďže toto činidlo nie je optimalizované na metódy lýzy „bez premývania“.
3. Presné a reprodukovateľné výsledky sa získajú len vtedy, ak sa použijú postupy v súlade s technickými údajmi v príbalovom letáku a v súlade s osvedčenou laboratórnou praxou.
4. Konjugovaná protilátka tohto činidla sa kalibruje tak, aby ponúkala najlepší pomer špecifického signálu/nešpecifického signálu. Preto je dôležité pri každom teste dodržať pomer objem činidla/objem vzorky.
5. V prípade hyperleukocytózy zrieďte krv v PBS na koncentráciu približne 5 x 10^9 leukocytov/l (12).
6. Pri niektorých chorobných stavoch, akými sú napríklad závažné zlyhanie obličiek alebo hemoglobinopatie, môže byť lýza červených krviniek pomalá, neúplná alebo dokonca nemožná. V takom prípade sa odporúča pred farbením izolovať mononukleárne bunky pomocou hustotného gradientu (napríklad Ficoll) (13).
7. U pacientov liečených monoklonálnymi protilátkami proti ľudským protilátkam môže byť detekcia špecifických cieleným antigénom znížená alebo môže úplne chýbať v dôsledku čiastočného alebo úplného blokovania terapeutickej protilátky.

8. Pri interpretácii výsledkov Anti-NG2-PE treba brať do úvahy celkový klinický obraz pacienta vrátane symptómov, klinickej anamnézy, výsledkov ďalších testov a iných súvisiacich informácií.

Príklady a referencie nájdete v Dodatku.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, štylizované logo a známky produktov a služieb spoločnosti Beckman Coulter spomenuté v tomto dokumente sú ochranné známky alebo registrované ochranné známky spoločnosti Beckman Coulter, Inc. v USA a ďalších krajinách.

DOPLŇUJÚCE INFORMÁCIE

Pre pacienta/používateľa/tretiu stranu v Európskej únii a v krajinách s identickým regulačným režimom (Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/746 o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro): ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne vážna nehoda, nahláste ju výrobcovi a/alebo jeho autorizovanému zástupcovi a vášmu národnému orgánu.

Summary of Safety and Performance (Súhrn informácií o bezpečnosti a výkonnosti) je k dispozícii v databáze EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRIA REVÍZIÍ

REVÍZIA AD:	Dátum vydania: Október 2019

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AW	Máj 2022
Aktualizácie kvôli súladu s dokumentom Beckman Coulter Global Labelling Policy (Globálne pravidlá označovania spoločnosti Beckman Coulter) a podľa požiadaviek nariadenia IVDR (EÚ) 2017/746:	
Pridané časti	Číslo BSI 2797, Určený používateľ, Klinický význam, Koncentrácia, Zhodnosť, Presnosť, Medza prázdnej vzorky a medza merateľnosti, Doplňujúce informácie, História revízií.
Pridané informácie	Pozri časti Obmedzenia
Aktualizácie formulácií alebo typografické aktualizácie	Pozri časti Postup, Výkonnosť, Obmedzenia, Výstraha a opatrenia, Skladovanie a stabilita.
Odstránené časti	Príklad klinických aplikácií, Činidlá, Intralaboratórna reprodukovateľnosť, Linearita
Aktualizované časti	Určené použitie, Klasifikácia nebezpečenstiev podľa GHS, Známky zhoršenia kvality, Postup, Dodatok.

REVÍZIA	**Dátum vydania**
AX	Apríl 2023
Aktualizované časti	Pridať kazaštinu
Aktualizované časti	Skladovanie a stabilita

Revidovaná verzia	AY
Dátum revízie	Máj 2024
Aktualizované preklady	**Klinický význam:**
Aktualizované časti	História revízií

Revidovaná verzia	AZ
Dátum revízie	Júl 2024
Aktualizované časti	História revízií

Popis symbolov

Slovník symbolov je dostupný na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	규격
특이도	NG2
클론	7.1
하이브리도마	SP2/0 x balb/c
면역원	Readus cell line
면역글로불린	IgG1
종	생쥐
정제	친화성 크로마토그래피
형광색소	R Phycoerythrin (PE)
분자비	PE/Ig: 0.5 - 1.5
λ 자극	488 nm
방출 피크	575 nm
완충액	PBS pH 7.2 + 2mg/mL BSA 및 0.1 % NaN_3

IOTest

복합 항체
Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20µL/검사

체외 **진단용으로 사용합니다.**

사용목적

본 형광색소 결합 항체를 사용 시 유세포 분석법으로 인간의 생물학적 검체에 있는 NG2 항원을 나타내는 세포군의 정성적 동정 및 비자동 동정을 수행할 수 있습니다(아래 "검체" 섹션 참조).

원리

이 검사는 백혈구로 발현되는 항원 결정기에 특이적 단일클론 항체가 결합할 수 있는 능력에 기초합니다.

백혈구의 특이적 염색은 검체를 IOTest 시약과 함께 배양하여 수행합니다. 그런 다음 적혈구를 용해하여 제거하고 이 과정에서 영향을 받지 않은 백혈구를 유세포 분석법을 통해 분석하십시오.

유세포 분석기는 세포의 빛 확산과 형광 영역을 측정합니다. 유세포 분석기를 사용하면 빛의 직교 확산(측면 산란, SS)과 좁은 각의 광확산(전방 산란, FS)의 상호 관계를 지정하는 막대그래프상에 정의된 전자 창 내에서 관심 개체의 한계를 결정할 수 있습니다. 유세포 분석기에서 사용할 수 있는 두 가지 파라메타를 결합하는 기타 막대그래프를 사용자가 선택한 애플리케이션에 따라 게이팅 단계에서 지원 자료로 사용 가능합니다.

범위가 결정된 세포의 형광 영역을 분석하여 명확하게 염색된 이벤트와 염색되지 않은 이벤트를 구분합니다. 분석 결과는 게이팅으로 획득한 전체 이벤트와 비교한 양성 이벤트의 비율로 표현합니다.

의도된 사용자

본 제품은 실험실 전문가용입니다.

임상 관련성

Anti-NG2-PE(은)는 NG2 항원을 발현하는 세포를 유세포 분석법으로 동정하고 분석하는 데 사용되는 Anti-NG2 항체입니다. 본 제품만 사용하여 진단과 관련된 결론을 내릴 수 없으며, 해당 용도로 사용해서도 안 됩니다.

다른 표지자와 함께 사용하는 경우 이 제품은 다음 중 하나 이상의 기능에 사용할 수 있습니다.

- 조혈세포성 종양이 의심되고 혈액학적 이상을 동반하는 환자의 감별 진단을 위한 보조 수단으로 활용하거나 알려진 조혈세포성 종양을 가진 환자를 모니터링하는 데 사용합니다.
- 혈액암 환자 예후의 보조 수단으로 활용.

다음 참조를 살펴보십시오.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

검체

정맥혈은 EDTA 염을 항응고제로 포함한 무균 튜브를 사용하여 채취해야 합니다.

검체는 실온(18~25°C)에 보관해야 하며 흔들어서는 안 됩니다. 검사 검체를 채취하기 전에 부드럽게 교반하여 검체를 균질화해야 합니다.

검체는 정맥천자 후 24시간 이내에 분석해야 합니다.

경고 및 주의 사항

1. 유효 기간이 지난 시약은 사용하지 마십시오.
2. 냉동하지 마십시오.
3. 사용 전 실온(18~25°C)에 두십시오.
4. 빛 노출을 최소화하십시오.
5. 시약이 미생물에 오염되지 않도록 하십시오. 그러지 않으면 잘못된 결과를 얻을 수 있습니다.
6. 아지드화나트륨(NaN_3)을 함유한 항체 용액은 주의해서 다루어야 합니다. 흡입을 피하고 피부, 점막 및 눈에 절대 닿지 않도록 하십시오.

   또한 산성 매질에 함유된 아지드화나트륨은 잠재적 위험 물질인 히드라조산을 만들어낼 수 있습니다. 시약을 폐기할 때는 금속 파이프 내 아지드화나트륨 축적과 폭발 위험을 방지하기 위해 다량의 물에 희석한 후 배수 시설로 흘려보내야 합니다.
7. 모든 혈액 검체는 잠재적으로 전염성이 있다고 간주하고 주의해서 다루어야 합니다(특히 보호용 장갑, 가운 및 보안경 착용).

8. 피펫을 절대 입으로 사용하지 않도록 하고 검체가 피부, 점막 및 눈에 닿지 않도록 하십시오.
9. 취급에 사용한 혈액 튜브 및 일회용 물질은 소각용 특수 용기에서 폐기해야 합니다.
10. 시약 및 폐기물은 현지 요구 사항에 따라 제거해야 합니다.

GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음

SDS 안전보건자료는 beckmancoulter.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다.

보관 및 안정성

이 시약은 바이알 개봉 전후에 2~8°C로 유지하면서 빛으로부터 보호해야 합니다.

안정성 시험에 따른 밀봉 바이알 유효 기간: 1095일.

개봉한 바이알의 안정성: 시약은 180일 동안 안정적입니다.

성능 저하 증거

시약 외관에 물리적 변화가 있는 경우 성능 저하를 나타내는 것일 수 있으므로 시약을 사용해서는 안 됩니다.

자세한 정보가 필요하거나 손상된 제품을 받은 경우에는 Beckman Coulter 고객 서비스에 800-742-2345(미국 또는 캐나다)로 또는 현지 Beckman Coulter 담당자에게 문의하십시오.

목차

소디움 아자이드 보존제는 금속 배수관에서 폭발성 화합물을 형성할 수 있습니다. NIOSH 게시판을 참조하십시오. Explosive Azide Hazard(폭발성 아지드 유해물질)(76/8/16)
아지드 화합물의 축적 가능성을 방지하려면 희석되지 않은 시약을 폐기한 다음 폐기 파이프를 물로 세척하십시오. 소디움 아자이드의 폐기는 해당 지역 규정을 따라야 합니다.

필요하지만 키트와 함께 제공되지 않는 품목:

- 검체 튜브와 검체 채취에 필요한 물질.
- 20, 100 및 500µL용 일회용 팁이 있는 자동 피펫.
- 플라스틱 용혈 튜브.
- 용해 후 세척 단계의 적혈구 용해 시약. 예: VersaLyse(참조 A09777).
- 백혈구 고정 시약. 예: IOTest 3 고정액(참조 A07800).
- 동형 정도관리물질PE: IOTest 시약(참조 A07796).
- 완충액(PBS: 0.01M 인산나트륨, 0.145M 염화나트륨, pH 7.2).
- 원심분리기.
- 자동 교반기(교반 유형).
- 유세포 분석기.

VERSALYSE 시약을 이용한 절차

분석할 각 검체마다 검사 튜브와 더불어 동형 대조물질이 있는 상태에서 세포를 혼합하는 하나의 정도관리물질 튜브를 추가할 수 있습니다(참조 A07796).

1. 20µL의 특정 IOTest 결합 항체를 각 검사 튜브에 첨가하고, 필요에 따라 20µL의 동형 정도관리물질을 각 정도관리물질 튜브에 첨가합니다.
2. 100µL의 검사 검체를 각 튜브에 첨가합니다. 튜브를 부드럽게 교반합니다.
3. 실온(18~25°C)에서 빛을 피해 15~20분 동안 배양하십시오.
4. 그런 다음 적혈구 용해를 수행합니다. VersaLyse(참조 A09777) 책자 내용을 참조하여 즉석에서 준비한 1mL의 "고정 및 세포 용해" 혼합물을 첨가하는 "수반 고정" 절차를 따릅니다. 즉시 1초 동안 교반한 후 직사광선을 피해 상온에서 10분 동안 배양합니다.
5. 상온에서 150 x g로 5분 동안 원심분리합니다.
6. 흡입 시 상청액을 제거하십시오.
7. 3mL의 PBS를 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.
8. 5단계를 반복합니다.
9. 그런 다음 흡입 방식으로 상등액을 제거하고 다음을 사용하여 세포 펠릿을 재현탁합니다.

- 조제 물질을 24시간 미만으로 보관하려는 경우 0.1 %의 포름알데히드가 함유된 0.5mL 또는 1mL의 PBS. (0.1 % 포름알데히드 PBS는 12.5µL의 IOTest 3 고정액(참조 A07800)을 1mL의 PBS에 10X 농도로 희석하여 얻을 수 있습니다).
- 조제 물질을 2시간 이내에 분석하려는 경우 포름알데히드가 없는 0.5mL 또는 1mL의 PBS.

참고: 조제물은 항상 빛을 피해 2~8°C로 유지하십시오.

예상 수치

이 제품과 관련된 예상 값은 없습니다.

성능

성능 데이터는 위에 설명한 절차를 이용하여 이전에 EDTA 염을 항응고제로 하여 무균 튜브에서 수집한 지 24시간 미만인 혈액 검체로 획득합니다. 분석은 면역염색 후 2시간 이내에 수행됩니다.

특이도

콘드로이틴 황산염 프로테오글리칸 4 또는 흑색종 연관 콘드로이틴 황산염 프로테오글리칸으로도 알려진 신경세포 아교세포 항원-2(NG2)는 성장 및 감별 시 대부분 중추신경계(CNS) 세포에 의해 발현되는 250 kDa 유형 1 막 당단백으로, 혈관형성, 상처 치유 및 종양 성장에 중요한 역할을 합니다. 콘드로이틴 황산염 프로테오글리칸 분자 부류는 세포 유착 및 이동을 억제할 수 있으며(10) 신경관 경로에서 세포 이동을 막는 장벽으로 작용할 수 있습니다. 7.1 단일 클론 항체는 쥐 NG2 항원의 인간 동족체로 알려지고 분자량이 200~220 kDa인 세포-표면 콘드로이틴 황산염 프로테오글리칸 분자를 인식합니다. NG2 항원은 인간 아교 세포 모집단에서 발견됩니다(11). 일반 조혈 세포에서는 발현되지 않습니다.

정밀도

양성 비율 값은 양성 세포가 첨가된 전혈을 사용하여 측정되었습니다. 각 검체는 2개의 Anti-NG2-PE 단일 클론 항체 시약 로트를 사용하여 2개의 장비에서 하루 동안 일일 2회씩 4번 실행되었습니다. 측정값(양성 비율)은 Navios 유세포 분석기로 도출했습니다. 분석은 CLSI 방법 EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods(EP5-A2: 정량적 측정 방법의 정밀도 성능 평가)를 기반으로 수행했습니다.

허용 기준은 각 집단에서 측정한 양성 이벤트 수에 따라 다릅니다.

- 양성 이벤트 수가 < 1,500인 경우 CV < 15 %
- 양성 이벤트 수가 > 1,500인 경우 CV < 10 %

HELA 세포주가 첨가된 전혈							
양성 이벤트 수(평균) = 4262							
	작업자 간	유세포 분석기 간	로트 내	로트 간	실행 간	실행 내	총계
CV(%)	1.00	3.03	8.11	0.97	7.83	1.87	8.71
결과	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

정확도

Anti-NG2-PE의 정확도는 그 결과를 Navios 유세포 분석기로 처리되었으며 양성 세포가 첨가된 전혈 검체에 공인 참조 시약을 가한 값과 비교하여 평가했습니다. 검사 시약과 참조 시약 간 바이어스는 검사 결과 간 차이를 기반으로 지정되었습니다. 바이어스가 허용 가능한 오차 범위 내에 있거나 p-값이 유의한 차이를 나타내지 않는 경우(> 0.05) 두 시약의 검사 결과는 동일한 것으로 간주됩니다.

얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

공여자 수 = 25				
양성 표적	평균 Δ	Δ % 세포 기준	p-값	결과
HELA 세포주가 첨가된 전혈	0.01	<5	0.978	PASS

공시료 최저 검출한계 및 검출한계

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures(CLSI EP17-A2, 임상 실험실 측정 절차에 대한 검출 능력 평가)에 따라 연구를 실시했습니다. 검출한계(LoD)는 일관되게 검출 가능한 분석물질의 최저 농도입니다. 얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

Positive Target	공시료 최저 검출한계(세포/µL)	검출한계(세포/µL)
HELA 세포주	1	3

한계

1. 유세포 분석기가 완벽하게 정렬되지 않은 경우, 형광 누출이 올바르게 보정되지 않은 경우 또는 영역 위치를 신중하게 지정하지 않은 경우 유세포 분석법에서 잘못된 결과가 나올 수 있습니다.
2. 이 시약은 "비세척" 용해 기법에 최적화되지 않았으므로 세척 단계를 포함한 적혈구 용해법을 사용하는 것이 바람직합니다.
3. 사용한 절차가 동봉된 기술 책자의 내용을 따르고 실험실 모범 사례와 호환되는 경우 정확하고 재현 가능한 결과를 얻을 수 있습니다.
4. 이 시약의 결합 항체는 최상의 특이/비특이 신호비를 제공하도록 보정됩니다. 그러므로 모든 검사에서 시약의 용적/검체 용적 비율을 준수하는 것이 중요합니다.
5. 과백혈구 증가증의 경우 혈액을 PBS에 희석하여 대략 백혈구 5 x 10^9개/L 값을 얻어야 합니다(12).
6. 심한 신부전 또는 혈색소병증 같은 특정 질병 상태에서 적혈구의 용해는 느리거나 불완전하거나 심지어는 불가능할 수도 있습니다. 이러한 경우 염색 전에 밀도 구배(예: Ficoll)를 사용하여 단핵구 세포를 분리하는 것이 좋습니다(13).
7. 항 인간 단일 클론 항체 요법으로 치료받은 환자에서, 특이 표적 항원의 검출이 치료 항체에 의한 일부 또는 전체 차단으로 인해 감소하거나 이루어지지 않을 수 있습니다.
8. Anti-NG2-PE 결과는 증상, 병력, 추가 검사 데이터, 기타 적절한 정보 등 환자의 모든 임상 증상을 고려하여 해석해야 합니다.

예시와 참고 자료는 부록을 참조하십시오.

상표

본 문서에 포함된 Beckman Coulter, 스타일 로고, Beckman Coulter 제품 및 서비스 마크는 미국 및 기타 국가에서 Beckman Coulter, Inc.의 상표이거나 등록 상표입니다.

추가 정보

유럽 연합 및 이와 동일한 규정 체제(EU 규정 2017/746, 체외 진단용 의료 기기 관련)를 사용하는 국가에 거주하는 환자/사용자/타사의 경우, 이 장치의 사용 중이나 사용으로 인해 심각한 상황이 발생했다면 제조업체 및/또는 공인 담당자와 해당 국가의 담당 기관에 신고하십시오.

Summary of Safety and Performance(안전성 및 성능에 관한 개요)는 ec.europa.eu/tools/eudamed 주소의 EUDAMED 데이터베이스에서 확인할 수 있습니다.

개정 이력

개정판 AD:	출시일: 2019년 10월

개정	**발행 날짜**
AW	2022년 5월
Beckman Coulter 글로벌 라벨 지정 정책 및 IVD-R (EU) 2017/746 요건에 따라 업데이트했습니다.	
추가된 섹션	BSI 2797 번호, 대상 사용자, 임상적 관련성, 농도, 정밀도, 정확도, 공시료 최저 검출한계 및 검출한계, 추가 정보, 개정 이력.
추가된 정보	한계 섹션 참조
언어적 표현이나 글자 배치를 업데이트했습니다.	절차, 성능, 한계, 경고 및 주의 사항, 보관 및 안정성 섹션을 참조하십시오.
삭제된 섹션	임상 용도의 예, 시약, 실험실 내 재현성, 직선성
업데이트된 섹션	사용목적, GHS 유해물질 등급, 성능 저하 증거, 절차, 부록.

개정	**발행 날짜**
AX	4월 2023
업데이트된 섹션	카자흐어 추가
업데이트된 섹션	보관 및 안정성

개정된 버전	AY
개정 날짜	5월 2024
업데이트된 번역	**임상적 관련성:**
업데이트된 섹션	개정 이력

개정된 버전	AZ
개정 날짜	7월 2024
업데이트된 섹션	개정 이력

기호 목록

기호 용어집은 beckman.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다(문서 번호 B60062)

	Spesifikasyonlar
Özgüllük	NG2
Klon	7,1
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
İmmünojen	Readus cell line
Immunoglobulin	IgG1
Türler	Fare
Arıtma	Afinite Kromatografisi
Florokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molar oran	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ eksitasyonu	488 nm
Emisyon piki	575 nm
Tampon	PBS pH 7,2 artı 2 mg/mL BSA ve %0,1 NaN_3

IOTest
Konjuge Antikor Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

***İn vitro* diagnostik kullanım içindir.**

KULLANIM AMACI

Bu florokrom konjuge antikor, akış sitometrisi kullanılarak insan biyolojik örneklerinde var olan NG2 antijenini eksprese eden hücre popülasyonlarının otomatik olmayan ve kalitatif tanımlamasına olanak tanır (aşağıdaki "Örnekler" bölümüne bakın).

İLKE

Bu test, spesifik monoklonal antikorların lökositler tarafından eksprese edilen antijenik belirleyicilere bağlanabilmesine dayanmaktadır.

Lökositlerin spesifik boyaması, örnek, IOTest reaktifi ile inkübe edilerek gerçekleştirilir. Sonra kırmızı hücreler parçalanarak giderilir ve bu işlemden etkilenmeyen lökositler, akış sitometrisi ile analiz edilir.

Akış sitometrisi ışık difüzyonunu ve hücre floresanını ölçer. Bu durum, ilgili popülasyonun, ışığın ortogonal difüzyonu (Yana Yayılma veya SS) ve dar açılı ışığın difüzyonu (İleri Yayılma veya FS) ile ilişkilendirilen histogram üzerinde tanımlanmış elektronik pencerede sınırlanmasını sağlar. Sitometredeki farklı parametrelerden ikisini birleştiren diğer histogramlar, kullanıcının seçtiği uygulamaya bağlı olarak kapılama aşamasında destek olarak kullanılabilir.

Sınırlı hücrelerin floresanı analiz edilerek pozitif boyalı olaylar boyasızlardan ayrılır. Sonuçlar pozitif olayların geçiş ile edinilmiş tüm olaylara yüzdesi olarak ifade edilir.

HEDEF KULLANICI

Bu ürün, laboratuvarda profesyonel kullanım için tasarlanmıştır.

KLİNİK GEÇERLİLİK

Anti-NG2-PE, akış sitometrisiyle NG2 antijenini eksprese eden hücreleri tanımlamak ve karakterize etmek amacıyla kullanılan bir -Anti- NG2 antikorudur. Bu ürün tek başına, herhangi bir tanı sonucu oluşturamaz ve tanı sonucu oluşturmak üzere tasarlanmamıştır.

Bu ürün, diğer belirteçlerle birlikte kullanıldığında aşağıdaki işlevlerden biri veya daha fazlası için kullanılabilir:

- Hematopoetik neoplazmı olduğundan şüphelenilen hematolojik olarak anormal hastalarda ayırıcı tanıya yardımcı olmak ve bilinen hematopoetik neoplazmı olan hastaları izlemek için.
- Hematopoetik neoplazmı olan hastalarda prognoza yardımcı olmak için.

Şu referanslara bakın:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

ÖRNEKLER

Antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüpler kullanılarak venöz kan alınmalıdır.

Örnekler oda sıcaklığında (18-25°C) tutulmalı ve çalkalanmamalıdır. Örnekler test örneği alınmadan önce hafifçe çalkalanarak homojenize edilmelidir.

Örnekler venipunktür sonrası 24 saat içinde analiz edilmelidir.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. Reaktifi son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
2. Dondurmayın.
3. Kullanmadan önce oda sıcaklığına (18-25°C) getirin.
4. Işığa maruz kalmasını en aza indirin.
5. Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonundan kaçının yoksa yanlış sonuçlar oluşabilir.
6. Sodyum azid (NaN_3) içeren antikor solüsyonları dikkatle işlenmelidir. Yutmayın ve cilt, mukoza ve gözlerle temasından kaçının.

   Ayrıca, asit ortamında, sodyum azid potansiyel olarak tehlikeli hidrazoik asit oluşturabilir. Atılması gerekiyorsa, metal borularda sodyum azid birikmesini ve patlama riskini önlemek için, reaktifin drenaj sistemine dökülmeden önce çok miktarda suyla seyreltilmesi önerilmektedir.
7. Tüm kan örnekleri potansiyel olarak bulaşıcı olarak kabul edilmeli ve dikkatle ele alınmalıdır (özellikle koruyucu eldiven, önlük ve gözlük takılmalıdır).
8. Asla ağızla pipetleme yapmayın ve örneklerin cilt, mukoza veya gözle herhangi bir şekilde temas etmesini önleyin.

9. Taşıma için kullanılan kan tüpleri ve tek kullanımlık malzeme, yakma amacıyla özel kaplara atılmalıdır.
10. Reaktifler ve atıklar yerel gereksinimlere göre elimine edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır

SDS Güvenlik Bilgi Formuna beckmancoulter.com/techdocs adresinden ulaşılabilir

SAKLAMA VE STABİLİTE

Bu reaktifin, şişe açılmadan önce ve açıldıktan sonra 2 ile 8°C arasında tutulması ve ışıktan korunması gereklidir.

Stabilite çalışması için şişe raf ömrü: 1095 gün.

Açılan şişenin stabilitesi: reaktif 180 gün stabildir.

BOZULMA GÖSTERGESİ

Reaktiflerin fiziksel görünümündeki herhangi bir değişiklik bozulmayı gösterebilir ve reaktif kullanılmamalıdır.

Ek bilgi almak isterseniz veya aldığınız ürün hasarlı çıktıysa, 800-742-2345 numaralı telefondan (ABD veya Kanada) Beckman Coulter Müşteri Hizmetlerini arayın veya yerel Beckman Coulter Temsilcinizle temas kurun.

İÇİNDEKİLER

Sodyum azid koruyucu maddesi metal kanalizasyon hatlarında patlayıcı bileşimler oluşturabilir. NIOSH Bültenine bakın: Explosive Azide Hazard (Patlayıcı Azide Tehlikesi) (16.8.76).
Azid bileşenlerinin olası birikimini engellemek amacıyla, seyreltilmemiş reaktifi çöpe attıktan sonra atık borularını bol suyla yıkayın. Sodyum azid, uygun yerel düzenlemelere göre çöpe atılmalıdır.

GEREKLİ OLAN ANCAK KİT İLE BİRLİKTE VERİLMEYEN MALZEMELER:

- Numune alma tüpleri ve numune alma için gerekli malzemeler.
- 20, 100 ve 500 µL için tek kullanımlık uçlu otomatik pipetler.
- Plastik hemoliz tüpleri.
- Lizis sonrası yıkama aşamasıyla birlikte eritrosit lizis reaktifi. Örneğin: VersaLyse (Ref. A09777).
- Lökosit fiksasyon reaktifi. Örneğin: IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonu (Ref. A07800).
- İzotip kontrolüPE: IOTest reaktifi (Ref. A07796).
- Tampon (PBS: 0,01 M sodyum fosfat; 0,145 M sodyum klorür; pH 7,2).
- Santrifüjleyin.
- Otomatik karıştırıcı (Vorteks tipi).
- Akış sitometresi.

VERSALYSE REAKTİFİ İLE PROSEDÜR

Analiz edilen her örnek için test tüpüne ek olarak, hücrelerin izotip kontrolü varlığında karıştırıldığı bir kontrol tüpü eklenebilir (Ref. A07796).

1. Her test tüpüne 20 µL spesifik IOTest konjuge antikor ve gerekirse, her kontrol tüpüne, 20 µL izotip kontrolü ekleyin.
2. Her bir tüpe 100 µL test örneği ekleyin. Tüpleri yavaşça vorteksleyin.
3. Oda sıcaklığında (18-25°C) ışıktan koruyarak 15-20 dakika boyunca inkübe edin.
4. Ardından kırmızı hücrelerin lizisini gerçekleştirin. VersaLyse (Ref. A09777) broşürüne bakın ve tercihen “birlikte kullanılan fiksasyon ile” adlı, doğaçlama hazırlanan 1 mL “Fiksasyon ve Lizis” karışımını eklemeyi içeren prosedürü izleyin. Hemen bir saniye boyunca vorteksleyin ve ışıktan koruyarak, 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
5. Oda sıcaklığında 5 dakika 150 x g hızda santrifüjleyin.
6. Aspirasyon ile üst fazı alın.
7. 3 mL PBS kullanarak hücre peletini yeniden süspanse edin.
8. Adım 5'i tekrarlayın.
9. Yüzer maddeyi aspirasyonla alın ve hücre topağını şunu kullanarak yeniden süspanse edin:

- Preparatlar 24 saatten az tutulacaksa, 0,5 mL veya 1 mL PBS'nin yanı sıra %0,1 formaldehit. (%0,1 formaldehit PBS, 1 mL PBS içinde 10X konsantre IOTest 3 Fiksasyon Solüsyonundan (Ref. A07800) 12,5 µL seyreltilerek elde edilebilir).
- 0,5 mL veya 1 mL PBS formaldehidsiz, preparatlar 2 saat içinde analiz edilmelidir.

Not: Tüm durumlarda, preperatlar 2 ile 8°C arasında tutulmalı ve ışıktan korunmalıdır.

BEKLENEN DEĞERLER

Bu ürünle ilgili beklenen değer yoktur.

PERFORMANS

Performans verileri, antikoagülan olarak EDTA tuzu içeren steril tüplerde daha önce toplanan, 24 saatten eski olmayan kan örnekleri üzerinde yukarıdaki prosedür kullanılarak elde edilmiştir. İmmün boyamayı takiben 2 saat içinde analiz gerçekleştirilir.

ÖZGÜLLÜK

Kondroitin sülfat proteoglikan 4 veya melanomla ilişkili kondroitin sülfat proteoglikan olarak da bilinen nöron gliya antijeni-2 (NG2), proteoglikan, birçok merkezi sinir sistemi (MSS) hücresi tarafından gelişim ve diferansiyasyon sırasında eksprese edilen 250 kDa tip 1 membran glikoproteinidir ve anjiyogenez, yara iyileşmesi ve tümör büyümesinde önemli rol oynar. Moleküllerin kondroitin sülfat proteoglikan sınıfı, hücre adezyonu ve migrasyonunun (10) inhibitörleri olabilir ve nöral krest yolağında hücre migrasyonu için bariyer teşkil edebilir. 7.1 monoklonal antikor, sıçan NG2 antijeninin insan homologu olarak bilinen 200-220 kDa moleküler ağırlığa sahip bir hücre yüzeyi kondroitin sülfat proteoglikan molekülünü tanır. NG2 antijeni insan gliyal hücre popülasyonları (11) üzerinde bulunur. Normal hematopoietik hücrelerde eksprese edilmez.

KESİNLİK

Yüzde pozitif değerleri, pozitif hücreler eklenen Tam Kan kullanılarak belirlenmiştir. Her örnek, 2 lot Anti-NG2-PE Monoklonal Antikor Reaktifleri kullanılarak 2 cihazda 1 gün için günde iki kez olmak üzere 4 kez çalışılmıştır. Ölçümler (% pozitif) Navios akış sitometresi üzerinde yapılmıştır. Analiz, CLSI yöntemi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kantitatif Ölçüm Yöntemlerinin Kesinlik Performansına İlişkin Değerlendirme) temelinde yürütülmüştür.

Kabul kriterlerimiz, her popülasyon için ölçülen pozitif olay sayısına bağlıdır:

- Pozitif olay <1.500, VK <%15 ise
- Pozitif olay >1.500, VK <%10 ise

HELAHücre soyu eklenmiş Tam Kan							
Pozitif olay sayısı (Ortalama)=4262							
	Kullanıcılar arası	Sitometreler arası	Lot içi	Lotlar arası	Çalışmalar arası	Çalışma içi	Total
VK (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
SONUÇLAR	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOĞRULUK

Anti-NG2-PE doğruluğu, bir Navios akış sitometresinde çalışılan pozitif hücreler eklenmiş tam kan örnekleri grubunda esas alınan bir referans reaktifle sonuçlar karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Test ve referans reaktif arasındaki sapma, test sonuçları arasındaki fark temelinde belirlenmiştir. Sapma, izin verilen hata aralığı dahilindeyse veya p değeri anlamlı fark göstermediğinde (>0,05), iki reaktif için test sonuçlarının eşdeğer olduğu kabul edilir.

Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Donör sayısı=25				
Pozitif Hedef	Ortalama Δ	Δ % Hücre kriteri	p değeri	SONUÇLAR
HELAHücre soyu eklenmiş Tam Kan	0,01	<5	0,978	PASS

KÖR LİMİTİ VE TESPİT LİMİTİ

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klinik Laboratuvar Ölçüm Prosedürleri için Tespit Kabiliyetinin Değerlendirilmesi) ile uyumlu bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Tespit Limiti (LOD), tutarlı olarak tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonudur. Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Positive Target	Kör Limiti (hücre/µL)	Tespit Limiti (hücre/µL)
HELA Hücre dizisi	1	3

SINIRLAMALAR

1. Akış sitometrisi, sitometre mükemmel şekilde hizalanmadıysa, floresan sızıntıları doğru şekilde telafi edilmediyse ve bölgeler dikkatli bir şekilde konumlandırılmadıysa yanlış sonuçlar üretebilir.
2. Bu reaktif “yıkamasız” parçalama teknikleri için optimize edilmediğinden, yıkama adımı içeren bir RBC parçalama tekniği kullanılması tercih edilir.
3. Kullanılan prosedürler teknik bilgi broşürüne uygun olduğu ve iyi laboratuvar uygulamalarına uygun olduğu sürece doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilecektir.
4. Bu reaktifin konjugat antikoru, en iyi spesifik sinyal/spesifik olmayan sinyal oranını sunacak şekilde kalibre edilir. Bu nedenle her testte reaktif hacmi/örnek hacmi oranına bağlı kalmak önemlidir.
5. Hiperlökositoz durumunda yaklaşık 5 x 10^9 lökosit/L (12) değerini elde etmek için kanı PBS içinde seyreltin.
6. Şiddetli böbrek yetmezliği veya hemoglobinopatiler gibi bazı hastalık durumlarında, eritrosit lizisi yavaş, eksik ve hatta imkansız olabilir. Bu durumda mononükleotidli hücrelerin boyama öncesinde yoğunluk gradyanı (örneğin Ficoll) kullanılarak izole edilmesi önerilmektedir (13).
7. Anti-insan monoklonal antikor terapisi ile tedavi edilen hastalarda, terapötik antikorun kısmi veya tam engellemesi nedeniyle spesifik hedeflenen antijenlerin tespiti azalabilir veya yapılamayabilir.
8. Anti-NG2-PE sonuçları; semptomlar, klinik öykü, ilave testlerden elde edilen veriler ve diğer uygun bilgiler dahil olmak üzere hastanın genel klinik tablosu dikkate alınarak yorumlanmalıdır.

Örnekler ve referanslar için Ek'e bakın.

TİCARİ MARKALAR

Bu belgede belirtilen Beckman Coulter, stilize logo ve Beckman Coulter ürün ve hizmet markaları, Beckman Coulter, Inc. firmasının ABD’de ve diğer ülkelerdeki ticari veya tescilli ticari markalarıdır.

EK BİLGİLER

Avrupa Birliği'nde ve aynı düzenleme rejiminin olduğu ülkelerdeki (In Vitro Diagnostik Tıbbi Cihazlar hakkında 2017/746/EU sayılı Yönetmelik) hasta/kullanıcı/üçüncü taraflar için; bu cihazın kullanımı sırasında veya cihazın kullanımının bir sonucu olarak ciddi bir olay meydana gelirse lütfen olayı üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makamınıza bildirin.

Summary of Safety and Performance (Güvenlik ve Performans Özeti) EUDAMED veritabanında mevcuttur: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVİZYON GEÇMİŞİ

REVİZYON AD:	Yayınlanma tarihi: Ekim 2019

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AW	Mayıs 2022
Beckman Coulter Global Etiketleme Politikasıyla uyumluluk sağlamak için ve IVD-R (AB)2017/746 gerekliliklerine göre güncellemeler yapıldı:	
Bölümler eklendi	BSI 2797 Numarası, Hedef Kullanıcı, Klinik Anlam, Konsantrasyon, Kesinlik, Doğruluk, Kör limiti ve tespit limiti, Ek Bilgiler, Revizyon Geçmişi.
Bilgi eklendi	Sınırlamalar bölümlerine bakın
İfade veya yazım güncellemeleri	Prosedür, Performans, Sınırlamalar, Uyarılar ve Önlemler, Saklama ve Stabilite bölümlerine bakın.
Bölümler kaldırıldı	Klinik uygulama örneği, Reaktifler, Laboratuvar içi yeniden üretilebilirlik, Linearite
Güncellenmiş bölümler	Kullanım Amacı, GHS Tehlike Sınıflandırması, Bozulma Göstergesi, Prosedür, Ek.

REVİZYON	**Yayın Tarihi**
AX	Nisan 2023
Güncellenmiş bölümler	Kazakça ekle
Güncellenmiş bölümler	Saklama ve stabilite

Düzeltilmiş Sürüm	AY
Revizyon Tarihi	Mayıs 2024
Güncellenmiş Çeviriler	**Klinik önemi:**
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Düzeltilmiş Sürüm	AZ
Revizyon Tarihi	Temmuz 2024
Güncellenmiş bölümler	Revizyon Geçmişi

Sembol Anahtarı

Semboller Sözlüğü beckman.com/techdocs adresinde bulunabilir (belge numarası B60062)

	Спецификации
Специфичность	NG2
Клон	7,1
Гибридома	SP2/0 x balb/c
Иммуноген	Readus cell line
Иммуноглобулин	IgG1
Вид	Мышь
Очистка	Аффинная хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin (PE)
Молярное отношение	PE / Ig: 0,5 - 1,5
Возбуждение λ	488 nm
Пик эмиссии	575 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 мг/мл БСА и 0,1% NaN_3

Конъюгированное антитело IOTest Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 мл, 20 мкл/тест

Для диагностики *in vitro*.

НАЗНАЧЕНИЕ

Это конъюгированное с флуорохромом антитело позволяет с использованием проточной цитометрии выполнить качественное и не автоматизированное определение клеточных популяций, экспрессирующих антиген NG2, который присутствует в биологических пробах человека (см. раздел «Пробы» ниже).

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Данный тест основан на способности специфических моноклональных антител связывать антигенные детерминанты, экспрессированные лейкоцитами.

Специфическое окрашивание лейкоцитов выполняется путем инкубирования пробы с реагентом IOTest. Затем методом лизиса удаляются эритроциты, и выполняется анализ лейкоцитов, не затронутых этим процессом, методом проточной цитометрии.

Проточный цитометр измеряет светорассеяние и флуоресценцию клеток. Это дает возможность разграничения интересующей популяции в электронном окне, определенном на гистограмме, что коррелирует с ортогональным светорассеянием (боковое рассеяние, или SS) и рассеянием света под острым углом (прямое рассеяние, или FS). Другие гистограммы, сочетающие два из других параметров, доступных на цитометре, могут использоваться как вспомогательные на стадии селекции, в зависимости от приложения, выбранного пользователем.

Флуоресценцию разграниченных клеток анализируют с целью различения положительно-окрашенных и неокрашенных событий. Результаты выражаются в виде процентного отношения положительных событий ко всем событиям, полученным в ходе селекции.

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ

Изделие предназначено для использования в лаборатории персоналом с профессиональной подготовкой.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Anti-NG2-PE представляет собой антитело к Anti-NG2, используемое для идентификации и определения характеристик клеток, экспрессирующих антиген NG2, методом проточной цитометрии. Этот продукт отдельно от других исследований не может приводить к принятию каких-либо диагностических решений и не предназначен для этого.

При использовании в сочетании с другими маркерами этот продукт может использоваться в следующих целях.

- Для использования при дифференциальной диагностике пациентов с отклонениями гематологических результатов (при подозрении на наличие гематопоэтических новообразований), а также для мониторинга пациентов с известным гематопоэтическим новообразованием.
- Для определения прогноза у пациентов с гематопоэтическими новообразованиями.

См. следующие ссылки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

ПРОБЫ

При взятии образца венозной крови необходимо использовать стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта.

Пробы следует хранить при комнатной температуре (18–25°C), не встряхивая. Пробы следует гомогенизировать, осторожно перемешав, до отбора тестовой пробы.

Пробы требуется проанализировать в течение 24 ч после венипункции.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Не используйте реагенты после истечения срока годности.
2. Не замораживать.
3. Перед использованием довести до комнатной температуры (18–25°C).
4. Минимизируют воздействие света.
5. Во избежание получения ошибочных результатов не допускайте микробной контаминации реагентов.
6. Следует с осторожностью обращаться с растворами антител, содержащими натрия азид (NaN_3). Не принимайте внутрь и избегайте любого контакта с кожей, слизистыми оболочками и глазами.

Кроме того, в кислой среде натрия азид может образовывать потенциально опасную азотистоводородную кислоту. Если требуется утилизация, рекомендуется разводить реагент в большом объеме воды, прежде чем выливать его в канализацию, чтобы избежать накопления натрия азида в металлических трубах и исключить возможность взрыва.

7. Все пробы крови должны считаться потенциально инфицированными, при обращении с ними необходимо соблюдать осторожность (в частности, использовать защитные перчатки, одежду и очки).
8. Никогда не пипетируйте ртом и избегайте любого контакта проб с кожей, слизистыми и глазами.
9. При утилизации пробирок и одноразовых материалов следует использовать специальные предназначенные для сжигания контейнеры.
10. При утилизации реагентов и отходов необходимо следовать требованиям местного законодательства.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Не классифицируется как опасное вещество

SDS Паспорт безопасности доступен на сайте beckmancoulter.com/techdocs

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Этот реагент требуется хранить при температуре от 2 до 8°C, защищая от света, до и после вскрытия флакона.

Срок хранения закрытого флакона согласно исследованию стабильности: 1095 день.

Стабильность в открытом флаконе: реагент сохраняет стабильность в течение 180 дн.

ПРИЗНАКИ ПОРЧИ

Любые изменения внешнего вида реагентов могут говорить о порче, использовать такой реагент не следует.

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь со своим местным представителем Beckman Coulter.

СОДЕРЖАНИЕ

Консервант с содержанием азида натрия может образовывать взрывоопасные соединения в металлической водопроводной арматуре. См. бюллетень Национального института по охране труда и промышленной гигиене (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Взрывоопасные азиды) (16.8.76). Чтобы избежать накопления азидных соединений, промывайте сливные трубы водой после сброса неразбавленного реагента. Утилизацию азида натрия следует проводить в соответствии с соответствующими местными нормами.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, КОТОРЫЕ НЕ ВХОДЯТ В НАБОР:

- Необходимые для взятия проб пробирки и материалы.
- Автоматические пипетки с одноразовыми наконечниками для 20, 100 и 500 мкл.
- Пластиковые пробирки для гемолиза.
- Реагент для лизиса эритроцитов с этапом промывки после лизиса. Например: VersaLyse (ссылочный номер A09777).
- Реагент для фиксации лейкоцитов. Например: IOTest 3 Fixative Solution (фиксирующий раствор) (ссылочный номер A07800).
- Изотипический контроль -PE: Реагент IOTest (ссылочный номер A07796).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрия фосфата; 0,145 M натрия хлорида; pH 7,2).
- Центрифугируйте.
- Автоматическая мешалка (вортексная)
- Проточный цитометр.

ПРОЦЕДУРА С РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для каждой анализируемой пробы в дополнение к тестовой пробирке можно добавить одну контрольную пробирку, в которой клетки смешаны в присутствии изотипического контроля (ссылочный номер A07796).

1. В каждую тестовую пробирку добавьте по 20 мкл специфического конъюгированного антитела IOTest, а в каждую контрольную пробирку — по 20 мкл изотипического контроля, если необходимо.
2. Добавьте 100 мкл тестовой пробы в каждую пробирку. Аккуратно перемешайте пробирки на вортексе.
3. Инкубируют при комнатной температуре (18–25°C) в течение 15-20 мин, в защищенном от света месте.
4. Затем выполняют лизис эритроцитов. См. вкладыш VersaLyse (ссылочный номер A09777) и, предпочтительно, следуйте процедуре с названием «с сопутствующей фиксацией», которая заключается в добавлении 1 мл смеси «Фиксирующей и лизирующей», приготовленной для немедленного применения. Немедленно перемешивают на вортексе в течение одной секунды и инкубируют в течение 10 минут при комнатной температуре, защищая от света.
5. Центрифугируют в течение 5 минут при 150 g при комнатной температуре.
6. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации.
7. Ресуспендируют осадок клеток, используя 3 мл PBS.
8. Повторите шаг 5.
9. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации и ресуспендируют осадок клеток, используя:

- 0,5 мл или 1 мл PBS плюс 0,1% формальдегида, если препараты следует хранить менее 24 ч. (PBS с 0,1% формальдегида можно получить путем разведения 12,5 мкл фиксирующего раствора IOTest 3 (ссылочный номер A07800) в 10-кратной концентрации в 1 мл PBS).
- 0,5 мл или 1 мл PBS без формальдегида, если препараты следует проанализировать в течение 2 ч.

Примечание. В обязательном порядке защищайте подготавливаемые материалы от солнечного света, храните их при температуре от 2 до 8°C.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Отсутствуют ожидаемые значения, релевантные для этого продукта.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Рабочие характеристики получены с использованием описанной выше процедуры на пробах, собранных не ранее чем за 24 часа до анализа в стерильные пробирки с солью ЭДТА как антикоагулянтом. Анализ проводится в течение 2 часов после иммуноокрашивания.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Нейроглиальный антиген-2 (NG2), протеогликан, также известный как хондроитина сульфат протеогликан 4, или ассоциированный с меланомой хондроитина сульфат протеогликан, представляет собой мембранный гликопротеин 250 кДа 1 типа, экспрессируемый многими клетками центральной нервной системы (ЦНС) во время развития и дифференцировки, и играет важную роль в ангиогенезе, заживлении ран и росте опухоли. Класс молекул хондроитина сульфат протеогликана может являться ингибитором адгезии и миграции клеток (10) и может служить барьером для миграции клеток в путь нервного гребня. Моноклональное антитело 7.1 распознает молекулу хондроитина сульфат протеогликана клеточной поверхности с молекулярной массой 200–220 кДа, известную как человеческий гомолог крысиного антигена NG2. Антиген NG2 обнаруживается на популяциях глиальных клеток человека (11). Он не экспрессируется на нормальных гематопоэтических клетках.

ПРЕЦИЗИОННОСТЬ

Процент положительных результатов был установлен с использованием цельной крови, в которую добавили положительные клетки. Каждую пробу измеряли 4 раза, два раза в день в течение 1 дня на 2 приборах, с использованием 2 партий реагентов моноклональных антител Anti-NG2-PE. Измерения (% положительных) выполняли на проточном цитометре Navios. Анализ проводился на основе метода CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оценка прецизионности количественных методик измерения).

Наши критерии принятия зависят от количества положительных событий, измеренных для каждой популяции:

- Если положительных событий <1 500, CV <15%
- Если положительных событий >1 500, CV <10%

Цельная кровь с добавлением клеточной линии HELA							
Количество положительных событий (среднее) = 4262							
	Между операторами	Между цитометрами	Внутри партии	Между партиями	Между анализами	Внутри анализа	Итого
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
РЕЗУЛЬТАТЫ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТЬ

Точность Anti-NG2-PE оценивалась путем сравнения результатов с результатами по референсному реагенту как предикатом. Анализ выполняли на проточном цитометре Navios с использованием набора проб цельной крови с добавлением положительных клеток. Систематическая ошибка оценки между тестовым и референсным реагентами была определена на основании различий между результатами теста. Если систематическая ошибка оценки находится в пределах допустимого диапазона ошибки или если p-значение указывает на отсутствие значительного различия (>0,05), тогда результаты теста для двух реагентов рассматриваются как эквивалентные.

Полученные результаты обобщены в таблице далее.

Количество доноров = 25				
Положительная мишень	Среднее значение Δ	Критерии Δ % клеток	p-значение	РЕЗУЛЬТАТЫ
Цельная кровь с добавлением клеточной линии HELA	0,01	<5	0,978	PASS

ПРЕДЕЛ БЛАНКА И ПРЕДЕЛ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Исследование было проведено в соответствии с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Оценка способности обнаружения для методик измерения клинической лаборатории). Предел чувствительности (LOD) — наименьшая концентрация аналита, которая может последовательно обнаруживаться. Полученные результаты обобщены в таблице ниже.

Positive Target	Предел бланка (клеток/мкл)	Предел чувствительности (клеток/мкл)
HELA Клеточная линия	1	3

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. При проведении проточной цитометрии возможно получение ложных результатов, если цитометр не был идеально позиционирован, не была проведена правильная компенсация утечек флуоресцентного агента или точное позиционирование областей.
2. Предпочтительно использовать технику лизиса RBC с шагом промывки, так как этот реагент не был оптимизирован для техник лизиса «без промывки».
3. Для получения точных и повторяемых результатов необходимо выполнять процедуры в соответствии с инструкцией-вкладышем и требованиями надлежащей лабораторной практики.
4. Выполняется калибровка конъюгированного антитела этого реагента с целью получения наилучшего для данной конкретной задачи соотношения специфичного и неспецифичного сигнала. Поэтому при каждом тесте важно придерживаться правильного соотношения объема реагента и пробы.
5. При гиперлейкоцитозе, разбавляют кровь PBS до приблизительно 5 x 10^9 лейкоцитов/л (12).

6. При определенных заболеваниях, таких как острая почечная недостаточность или гемоглобинопатии, лизис эритроцитов может протекать медленно, быть неполным или даже невозможным. В таком случае рекомендуется изолировать одноядерные клетки, используя градиент плотности (например, фиколл), перед окрашиванием (13).
7. У пациентов, получавших лечение античеловеческими моноклональными антителами, обнаружение специфических целевых антител может быть снижено или может отсутствовать вследствие частичной или полной блокировки терапевтическими антителами.
8. Результаты Anti-NG2-PE должны интерпретироваться с учетом общих клинических проявлений пациента, включая симптомы, историю болезни, данные дополнительных тестирований и прочую информацию.

Примеры и ссылки см. в Приложении.

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

Beckman Coulter, стилизованный логотип и упоминаемые здесь знаки продукции и услуг Beckman Coulter являются товарными знаками или зарегистрированными товарными знаками корпорации Beckman Coulter, Inc. в Соединенных Штатах и других странах.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для пациента / пользователя / третьей стороны в Европейском Союзе и в странах с идентичным регуляторным режимом (Регламент 2017/746/EC в отношении медицинских изделий для in vitro диагностики); если, во время использования этого изделия или в результате его использования произошел серьезный инцидент, сообщите о нем производителю и/или его уполномоченному представителю и своему национальному органу регулирования.

Summary of Safety and Performance (Сводные данные по безопасности и функциональным характеристикам) доступны в Европейской базе данных изделий медицинского назначения (EUDAMED): ec.europa.eu/tools/eudamed.

СВЕДЕНИЯ О ВЕРСИЯХ

ВЕРСИЯ AD:	Дата выпуска: Октябрь 2019 г.

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AW	Май 2022 г.
Обновления с целью приведения в соответствие политике международной маркировки Beckman Coulter и для выполнения требований IVD-R (EC)2017/746:	
Добавлены разделы	Номер BSI 2797, «Предполагаемый пользователь», «Клиническая значимость», «Концентрация», «Прецизионность», «Точность», «Предел бланка и предел чувствительности», «Дополнительная информация», «Сведения о версиях».
Добавлена информация	См. раздел «Ограничения»
Обновлены формулировки или исправлены опечатки	См. разделы «Процедура», «Эксплуатационные характеристики», «Ограничения», «Предупреждения и меры предосторожности», «Хранение и стабильность».
Удалены разделы	«Примеры клинических областей применения», «Реагенты», «Внутрилабораторная сходимость», «Линейность»
Обновленные разделы	«Назначение», «Классификация опасностей по системе СГС», «Признаки порчи», «Процедура», «Приложение».

ВЕРСИЯ	**Дата выпуска**
AX	Апрель 2023
Обновленные разделы	Добавить казахский язык
Обновленные разделы	Хранение и стабильность

Пересмотренная версия	AY
Дата пересмотра	Май 2024
Обновленные переводы	**Клиническая значимость:**
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Пересмотренная версия	AZ
Дата пересмотра	Июль 2024
Обновленные разделы	Сведения о версиях

Определения символов

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (номер документа B60062)

	Spetsifikatsioonid
Spetsiifilisus	NG2
Kloon	7,1
Hübridoom	SP2/0 x balb/c
Immunogeen	Readus cell line
Immunoglobuliin	IgG1
Liigid	Hiir
Puhastamine	Afiinsuskromatograafia
Fluorokroom	R Phycoerythrin (PE)
Molaarsuhe	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ergastumine	488 nm
Emission Peak	575 nm
Puhver	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/ml BSA ja 0,1% NaN_3

IOTest
konjugeeritud antikeha
Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 ml, 20 µl / analüüs

***In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks.**

KASUTUSOTSTARVE

See fluorokroomiga konjugeeritud antikeha võimaldab voolutsütomeetriaga kvalitatiivselt ja mitteautomatiseeritult tuvastada rakupopulatsioone, mis esitavad inimese bioloogilistes proovides antigeeni NG2 (vt allpool osa „Proovid“).

PÕHIMÕTE

Analüüs põhineb spetsiifiliste monoklonaalsete antikehade võimel seonduda leukotsüütide sünteesitavate antigeensete determinantidega.

Leukotsüütide eriomaseks värvimiseks tuleb proovi koos tootesarja IOTest reagendiga inkubeerida. Seejärel eemaldatakse erütrotsüüdid lüüsimisega ja pärast seda analüüsitakse voolutsütomeetriaga leukotsüüte, mida see protsess ei mõjuta.

Läbivoolutsütomeeter mõõdab valguse hajumist ja rakkude fluorestsentsi. See muudab võimalikuks huvialuse populatsiooni piiristamise histogrammil määratud elektroonilisel alal. Histogramm korreleerib valguse ortogonaalset hajumist (külghajumine ehk KH) ja kitsasnurga valguse hajumist (edasihajumine ehk EH). Teisi histogramme, kus ühendatakse tsütomeetrias saadaolevat kahte parameetrit, võib kasutada lüüsimisetapis olenevalt kasutaja valitud rakendusest.

Piiritletud rakkude fluorestsentsi analüüsitakse, et eristada positiivselt värvitud sündmusi värvimata sündmustest. Tulemusi kajastatakse positiivsete sündmuste protsentuaalse osakaaluna kõigi väravdamisega hõivatud sündmuste suhtes.

SIHTKASUTAJA

See toode on ette nähtud laboratoorseks kasutamiseks.

KLIINILINE TÄHTSUS

Anti-NG2-PE on Anti-NG2 antikeha, mida kasutatakse NG2 antigeeni sünteesivate rakkude voolutsütomeetriaga tuvastamiseks ja kirjeldamiseks. See toode üksi ei saa ega ole mõeldud ühegi diagnostilise otsuse tegemiseks.

Koos teiste markeritega kasutades saab seda toodet kasutada ühes või mitmes järgmistest funktsioonidest:

- Lihtsustamaks diferentsiaaldiagnoosi panemist hematoloogiliste ebanormaalsustega patsientidele, kellel kahtlustatakse vereloome neoplasmi esinemist, ja teadaoleva vereloome neoplasmiga patsientide monitoorimiseks.
- Vereloome neoplasmiga patsientidele prognoosi andmise hõlbustamiseks.

Vt järgmisi viiteid.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

PROOVID

Veeniverd tuleb võtta steriilsete katsutitega, mis sisaldavad antikoagulandina etüleendiamiintetraatsetaadi (EDTA) soola.

Proove tuleb hoida toatemperatuuril (18–25 °C) ja neid ei tohi raputada. Proove tuleb ühtlustada seda enne näidisproovi võtmist ettevaatlikult loksutades.

Proove tuleb analüüsida 24 tunni jooksul alates veenipunktsioonist.

HOIATUS JA ETTEVAATUSABINÕUD

1. Ärge kasutage reagenti pärast aegumiskuupäeva.
2. Ärge külmutage.
3. Enne kasutamist laske tasakaalustuda toatemperatuuriga (18–25 °C).
4. Minimeerige kokkupuudet valgusega.
5. Vältige reagentide mikroobidega saastumist, vastasel juhul võite saada valed tulemused.
6. Antikehade lahuseid, mis sisaldavad naatriumasiidi (NaN_3), tuleb käsitseda ettevaatlikult. See pole mõeldud seespidiseks kasutamiseks. Vältige kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.

   Lisaks võib naatriumasiid moodustada happelises keskkonnas potentsiaalselt ohtliku hüdrasoonhappe. Kui see tuleb kõrvaldada, on soovitatav lahjendada reagenti suure hulga veega, enne kui see äravoolusüsteemi valada, et vältida plahvatusohtu ja naatriumasiidi kogunemist metalltorudesse.
7. Kõiki vereproove tuleb pidada potentsiaalselt nakkusohtlikuks ja käsitseda ettevaatusega (kasutage kaitsekindaid, kitlit ning kaitseprille).

8. Ärge kunagi pipettige suuga ja vältige proovide kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.
9. Verekatsutid ja käitlemiseks kasutatav ühekordselt kasutatav materjal tuleb hävitada põletamiseks ettenähtud spetsiaalsetes konteinerites.
10. Reagendid ja jäätmed tuleb kõrvaldada vastavalt kohalikele nõuetele.

GHS-I OHUKLASSIFIKATSIOON

Ei ole klassifitseeritud ohtlikuks

SDS Ohutuskaart on saadaval saidil beckmancoulter.com/techdocs

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Seda reagenti tuleb enne ja pärast viaali avamist hoida temperatuuril 2–8 °C ning valguse eest kaitstult.

Suletud viaali säilivusaeg stabiilsusuuringu põhjal: 1095 päeva.

Avatud viaali stabiilsus: reagent on stabiilne 180 päeva.

RIKNEMISE TUNNUSED

Igasugune muutus reagentide füüsilises välimuses võib viidata reagendi riknemisele ja seda ei tohi kasutada.

Lisateabe hankimiseks või kahjustatud toote saamisel helistage Beckman Coulteri klienditeenindusse numbril 800-742-2345 (USA või Kanada) või võtke ühendust kohaliku Beckman Coulteri esindajaga.

SISU

Naatriumasiidist konservant võib moodustada metallist kanalisatsioonitorudes plahvatusohtlikke ühendeid. Vt asutuse NIOSH teadaannet. Explosive Azide Hazard (Plahvatusohtliku asiidi oht) (16.8.76).
Vältimaks võimalikku asiidiühendite akumuleerimist, loputage äravoolutorusid pärast lahjendamata reagendi kõrvaldamist. Naatriumasiidi kõrvaldamine peab olema kooskõlas asjakohaste kohalike eeskirjadega.

VAJALIKUD, KUID KOMPLEKTI MITTEKUULUVAD MATERJALID

- Proovide kogumiseks vajalikud proovivõtukatsutid ja vahendid.
- Automaatpipetid ühekordselt kasutatavate otsakutega, mis võimaldavad teisaldada 20, 100 ja 500 µl.
- Plastist hemolüüsi katsutid.
- Erütrotsüütide lüüsireagent koos pesemisetapiga pärast lüüsi. Analüüsinäide VersaLyse (viitenr A09777).
- Leukotsüütide fikseerimisreagent. Näide Tootesarja IOTest 3 fikseerimisreagent (viitenr A07800).
- Isotüübi kontrollPE: Tootesarja IOTest reagent (viitenr A07796).
- Puhver (PBS: 0,01 M naatriumfosfaat; 0,145 M naatriumkloriid; pH 7,2).
- Tsentrifuugige.
- Automaatsegisti (vibratsioonsegamise tüüpi).
- Voolutsütomeeter.

PROTSEDUUR REAGENDIGA VERSALYSE

Iga analüüsitud proovi kohta võib lisaks analüüsikatsutile lisada ühe kontrollkatsuti, milles rakud segatakse isotüübi kontrolliga (viitenr A07796).

1. Lisage igasse analüüsikatsutisse 20 µl spetsiifilist tootesarja IOTest konjugeeritud antikeha ja vajaduse korral igasse kontrollkatsutisse 20 µl isotüüpset kontrolli.
2. Lisage igasse katsutisse 100 µl analüüsiproovi. Vibratsioonsegage ettevaatlikult katsuteid.
3. Inkubeerige valguse eest kaitstult 15–20 minutit toatemperatuuril (18–25 °C).
4. Seejärel lüüsige erütrotsüüdid. Lugege VersaLyse'i (viitenr A09777) teabelehte ja järgige eelistatavalt protseduuri nimega „samaaegse fikseerimisega", mis põhineb ekstemporaalselt ettevalmistatud 1 ml segu „Fix-and-Lyse" lisamisel. Vibratsioonsegage kohe üks sekund ja inkubeerige 10 minutit toatemperatuuril valguse eest kaitstult.
5. Tsentrifuugige 5 minutit toatemperatuuril kasutades sätet 150 x g.
6. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus.
7. Taassuspendeerige rakusade PBS-is, mille kogus on 3 ml.
8. Korrake etappi 5.
9. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahus ja taassuspendeerige rakugraanuleid vahendiga:

- 0,5 ml või 1 ml PBS-i ja 0,1% formaldehüüdi, kui preparaate tuleb hoida vähem kui 24 tundi. (0,1% formaldehüüdi sisaldava PBS-i saamiseks võite lahjendada 12,5 µl tootesarja IOTest 3 10x kontsentratsioonil fikseerimislahust (viitenr A07800) PBS-is, mille kogus on) 1 ml.
- 0,5 ml või 1 ml formaldehüüdita PBS-iga, kui valmissegusid analüüsitakse 2 tunni jooksul.

Märkus Preparaate tuleb alati hoida temperatuuril 2–8 °C ja valguse eest kaitstult.

OODATUD VÄÄRTUSED

Selle tootega ei ole seotud oodatud väärtusi.

TOIMIMINE

Toimimisandmed saadakse kasutades ülalkirjeldatud protseduuri vähem kui 24 tundi vanadel antikoagulandi EDTA naatriumsoolaga steriilsetesse katsutitesse kogutud vereproovidel. Analüüs tehakse 2 tunni jooksul pärast immuunovärvimist.

SPETSIIFILISUS

Neurogliia antigeen-2 (NG2), proteoglükaan, mida nimetatakse ka kondroitiinsulfaatproteoglükaan 4-ks või melanoomiga seotud kondroitiinsulfaatproteoglükaaniks, on 250 kDa 1. tüüpi membraani glükoproteiin, mis avaldub paljudes kesknärvisüsteemi (CNS) rakkudes nende arengu ja jagunemise kestel ja millel on oluline roll angiogeneesis, haava paranemisel ja kasvaja suurenemisel. Kondroitiinsulfaatproteoglükaani molekuliklass võib tõkestada rakkude kinnitumist ja migreerimist (10) ning toimida tõkkena rakkude migreerimisel neuraalharja rakkude teel. 7.1 monoklonaalne antikeha tunneb ära rakupinna kondroitiinsulfaatproteoglükaani molekuli, mille molekulmass on 200–220 kDa (tuntakse roti NG2 antigeeni homoloogina inimesel). NG2 antigeeni leidub inimese gliiarakkude populatsioonides (11). See ei avaldu normaalsetes vereloomerakkudes.

TÄPSUS

Positiivsete väärtuste protsent määrati täisverega, millele oli lisatud positiivseid rakke. Igat proovi testiti 4 korda, kaks korda päevas, 1 päeva jooksul 2 instrumendil, kasutades 2 Anti-NG2-PE monoklonaalsete antikehade reagentide partiid. Mõõtmised (% positiivne) tehti Naviosi voolutsütomeetriaga. Analüüsiti CLSI meetodi EP5-A2 põhjal. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivsete mõõtmismeetodite täpsuse näitajate hindamine).

Meie sobivuskriteeriumid sõltuvad iga populatsiooni kohta mõõdetud positiivsete sündmuste arvust:

- Positiivse sündmuse korral < 1500, CV < 15%
- Positiivse sündmuse korral > 1500, CV < 10%

Täisveri lisatud HELA rakuliiniga							
Positiivsete sündmuste arv (keskmine) = 4262							
	Kasutajatevaheline	Tsütomeetritevaheline	Partiisisene	Partiidevaheline	Testidevaheline	Testisisene	Kokku
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
TULEMUSED	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

MÕÕTETÄPSUS

Anti-NG2-PE mõõtetäpsust hinnati võrreldes tulemusi võrdlusreagendiga kui predikaadiga täisvereproovide komplektis, millele oli lisatud Naviosi voolutsütomeetriaga testitud positiivseid rakke. Analüüsi- ja võrdlusreagendi erinevused määrati analüüsitulemuste erinevuse põhjal. Kui erisus jääb lubatud veavahemikku või kui p-väärtus ei näita statistiliselt olulist erinevust (> 0,05), loetakse kahe reagendi analüüsitulemused võrdväärseteks.

Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis.

Doonorite arv = 25				
Positiivne siht	Keskmine Δ	Δ% raku kriteeriumid	p-väärtus	TULEMUSED
Täisveri lisatud HELA rakuliiniga	0,01	<5	0,978	PASS

NULLPIIR JA TUVASTUSPIIR

Uuriti vastavalt CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Kliinilise labori mõõtmisprotseduuride avastamisvõime hindamise) nõuetele. Tuvastuspiir (LOD) on väikseim analüüdi kontsentratsioon, mida saab järjekindlalt määrata. Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis:

Positive Target	Nullpiir (rakku/µl)	Tuvastuspiir (rakku/µl)
HELA Rakuliin	1	3

PIIRANGUD

1. Voolutsütomeetria võib anda valed tulemused, kui tsütomeeter ei ole ideaalselt joondatud, kui fluorestsentsi lekkeid ei ole õigesti kompenseeritud ja kui piirkonnad ei ole hoolikalt paigutatud.
2. Eelistatav on kasutada pesemisetapiga RBC lüüsi tehnikat, kuna seda reagenti pole optimeeritud „pesemiseta“ lüüsi tehnikate jaoks.
3. Täpsed ja korratavad tulemused saadakse, kui kasutatavad protseduurid on kooskõlas tehnilise teabelehe ja heade laboritavadega.
4. Selle reagendi pööratud antikeha kalibreeritakse nii, et tagatud oleks parim spetsiifilise/mittespetsiifilise signaali suhe. Seetõttu on igas analüüsis oluline järgida reagendi- ja proovimahu suhet.
5. Hüperleukotsütoosi korral lahjendage verd PBS-is nii, et saadav väärtus oleks ligikaudu 5 x 10^9 leukotsüüti/l kohta (12).
6. Teatud haigusseisundite (näiteks raske neerupuudulikkuse või hemoglobinopaatia) korral võib erütrotsüütide lüüsimine olla aeglane, mittetäielik või isegi võimatu. Sellisel juhul on enne värvimist soovitatav mononukleaarsete rakkude isoleerimine tihedusgradiendi (näiteks Ficoll-gradiendi) abil (13).
7. Inimesevastaste monoklonaalsete antikehadega ravitud patsientidel võib spetsiifiliste antigeenide tuvastamise võime väheneda või puududa, sest need on terapeutiliste antikehade poolt osaliselt või täielikult blokeeritud.
8. Anti-NG2-PE tulemuste tõlgendamisel tuleb arvestada patsiendi terviklikku kliinilist pilti, sh sümptomeid, kliinilist anamneesi, lisaanalüüside andmeid ja muud asjakohast teavet.

Vt näiteid ja viiteid lisast.

KAUBAMÄRGID

Beckman Coulter, stiliseeritud logo ning selles juhendis nimetatud ettevõtte Beckman Coulter toote- ja teenusemärgid on ettevõtte Beckman Coulter, Inc. kaubamärgid või registreeritud kaubamärgid Ameerika Ühendriikides ja teistes riikides.

LISATEAVE

Patsiendile / kasutajale / muule osapoolele Euroopa Liidus ja identse regulatsioonirežiimiga riikides (määrus (EL) nr 2017/746 in vitro diagnostikameditsiiniseadmete kohta), kui selle seadme kasutamise ajal või selle kasutamise tagajärjel on toimunud tõsine vahejuhtum, teatage sellest tootjale ja/või tema volitatud esindajale ning teie riiklikult pädevale asutusele.

Summary of Safety and Performance (Ohutuse ja kliinilise toimivuse kokkuvõte) on EUDAMED-andmebaasis: ec.europa.eu/tools/eudamed.

VERSIOONI AJALUGU

REVISION AD:	Avaldamise kuupäev: oktoober 2019

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AW	Mai 2022
Värskendused, mis vastavad Beckman Coulteri ülemaailmse märgistamise poliitikale ja IVD-R (EL) 2017/746 nõuetele:	
Lisatud osad	BSI 2797 number, sihtkasutaja, kliiniline tähtsus, kontsentratsioon, täpsus, mõõtetäpsus, nullpiir ja tuvastuspiir, lisateave, versiooni ajalugu.
Lisatud informatsioon	Vaata osa „Piirangud“
Fraseerimine või tüpograafiline värskendamine	Vaata osasid Protseduur, Toimimine, Piirangud, Hoiatus ja ettevaatusabinõud, Säilitamine ja stabiilsus.
Eemaldatud osad	Kasutusotstarvete, reagentide, laborisisese korratavuse, lineaarsuse näited
Uuendatud jaotised	Kasutusotstarve, GHS-i ohuklassifikatsioon, Riknemise tunnused, Protseduur, Lisa.

REDAKTSIOON	**Väljaandmise kuupäev**
AX	aprill 2023
Uuendatud jaotised	Lisada kasahhi keel
Uuendatud jaotised	Säilitamine ja stabiilsus

Muudetud versioon	AY
Muutmise kuupäev	mai 2024
Värskendatud tõlked	**Kliiniline tähtsus:**
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Muudetud versioon	AZ
Muutmise kuupäev	juuli 2024
Uuendatud jaotised	Redaktsiooni ajalugu

Sümboli tähis

Sümbolite mõisted on kättesaadavad veebilehel beckman.com/techdocs (dokument nr B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	NG2
Klon	7,1
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Readus cell line
Imunoglobulin	IgG1
Vrsta	Miš
Pročišćavanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molarni omjer	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna emisija	575 nm
Pufer	PBS pH 7,2 uz 2 mg/mL BSA i 0,1 % NaN_3

IOTest

Konjugirano antitijelo Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Za *in vitro* dijagnostičku uporabu.

NAMJENA

To fluorokromom konjugirano antitijelo omogućuje kvalitativno i neautomatizirano prepoznavanje populacija stanica koje eksprimiraju antigen NG2 prisutan u humanim biološkim uzorcima uz pomoć protočne citometrije (pogledajte odjeljak „Uzorci" u nastavku).

NAČELO

Ovaj je test utemeljen na mogućnosti vezivanja specifičnih monoklonskih antitijela na antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično se bojenje leukocita izvodi inkubacijom uzorka s reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utječe, analiziraju se protočnom citometrijom.

Citometar toka mjeri difuziju svjetlosti i fluorescenciju stanica. Omogućuje razgraničavanje promatrane populacije unutar elektroničkog prozora definiranog na histogramu, koji stvara korelaciju između ortogonalne difuzije svjetlosti (bočnog raspršenja (BR)) i difuzije uskokutne svjetlosti (prednjeg raspršenja (PR)). Drugi histogrami koji kombiniraju dva od više različitih parametara dostupnih na citometru mogu se upotrebljavati kao pomoć u fazi ograđivanja ovisno o primjeni koju je odabrao korisnik.

Analizira se fluorescencija ograničenih stanica da bi se pozitivno obojeni događaji odvojili od neobojenih. Rezultati se izražavaju kao postotak pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobivene ograđivanjem.

PREDVIĐENI KORISNIK

Proizvod je namijenjen za profesionalnu laboratorijsku uporabu.

KLINIČKA RELEVANTNOST

Anti-NG2-PE antitijelo je na Anti-NG2 koje se koristi za prepoznavanje i karakteriziranje stanica koje eksprimiraju antigen NG2 protočnom citometrijom. Ovaj proizvod samostalno ne može generirati nikakav dijagnostički zaključak niti je tome namijenjen.

Kada se upotrebljava u kombinaciji s drugim markerima, ovaj se proizvod može upotrebljavati u jednoj ili više sljedećih funkcija:

- Kao pomoć prilikom postavljanja diferencijalne dijagnoze u hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu te za praćenje pacijenata s poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć prilikom donošenja prognoze za pacijente s hematopoetskom neoplazmom.

Pogledajte sljedeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

UZORCI

Venska krv mora se uzeti sterilnim epruvetama koje kao antikoagulans sadrže EDTA sol.

Uzorke držite na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C) i nemojte ih tresti. Prije uzimanja testnog uzorka potrebno je homogenizirati uzorke pažljivim mućkanjem.

Uzorci venske krvi moraju se analizirati u roku od 24 sata od njihova uzimanja.

UPOZORENJE I MJERE OPREZA

1. Reagens nemojte upotrebljavati nakon isteka roka trajanja.
2. Nemojte zamrzavati.
3. Prije upotrebe pustite da dosegne sobnu temperaturu (18 – 25 °C).
4. Smanjite izlaganje svjetlu.
5. Izbjegavajte mikrobnu kontaminaciju reagensa ili može doći do netočnih rezultata.
6. Otopinama antitijela koje sadrže natrijev azid (NaN_3) potrebno je rukovati oprezno. Ne gutajte i izbjegavajte dodir s kožom, sluznicom i očima.

   Štoviše, natrijev azid u kiselom mediju može formirati potencijalno opasnu hidrazoičnu kiselinu. Ako je reagens potrebno odložiti u otpad, preporučuje se da ga razrijedite u velikoj količini vode prije nego što ga izlijete u odvodni sustav da biste izbjegli nakupljanje natrijeva azida u metalnim cijevima i spriječili opasnost od eksplozije.
7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno zaraznima te je njima potrebno rukovati oprezno (odnosno nositi zaštitne rukavice, odjeću i naočale).

8. Nikada ne pipetirajte ustima te izbjegavajte doticaj uzoraka s kožom, sluznicom i očima.
9. Epruvete s krvlju i otpadni materijal za rukovanje treba odložiti u jednokratne spremnike namijenjene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad potrebno je ukloniti u skladu s lokalnim zahtjevima.

KLASIFIKACIJA OPASNOSTI PREMA GHS-U

Nije klasificiran kao opasan

SDS Sigurnosni list dostupan je na adresi beckmancoulter.com/techdocs

POHRANA I STABILNOST

Reagens se mora čuvati na temperaturi između 2 i 8 °C te zaštićen od svjetlosti, kako prije, tako i poslije otvaranja bočice.

Vijek trajanja zatvorene bočice prema ispitivanju stabilnosti: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dana.

DOKAZ PROPADANJA

Svaka promjena fizičkog izgleda reagensa može upućivati na propadanje te se reagens ne smije upotrebljavati.

Ako su vam potrebne dodatne informacije ili ste primili oštećen proizvod, nazovite korisnički servis tvrtke Beckman Coulter na 800-742-2345 (u SAD-u ili Kanadi) ili se obratite lokalnom predstavniku tvrtke Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans s natrijevim azidom može stvoriti eksplozivne spojeve u metalnim cjevovodima. Pogledajte bilten NIOSH: Explosive Azide Hazard (Opasnost od eksplozije azida) (16. 8. 76.).
Da biste spriječili moguće taloženje komponenata azida, prilikom odlaganja nerazrijeđenog reagensa u otpad odvodne cijevi isperite vodom. Odlaganje natrijeva azida u otpad mora biti u skladu s odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU DIO KOMPLETA:

- Epruvete za uzorke i materijal potreban za uzimanje uzoraka.
- Automatske pipete s jednokratnim nastavcima za 20, 100 i 500 µL.
- Plastične hemolitičke epruvete.
- Reagens za liziranje eritrocita s fazom pranja nakon liziranja. Na primjer: VersaLyse (ref. A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primjer: Otopina za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotipska kontrola PE: reagens IOTest (ref. A07796).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijeva fosfata, 0,145 M natrijeva klorida, pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska miješalica (tip vorteks).
- Citometar toka.

POSTUPAK S REAGENSOM VERSALYSE

Za svaki uzorak koji se analizira može se uz testnu epruvetu dodati jedna kontrolna epruveta u kojoj su stanice pomiješane u prisutnosti izotipskih kontrola (ref. A07796).

1. Dodajte 20 µL konjugiranog antitijela specifičnog za IOTest u svaku testnu epruvetu i, ako je potrebno, 20 µL izotipske kontrole u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µL testnog uzorka u svaku epruvetu. Epruvete polako promiješajte u vorteks-miješalici.
3. Inkubirajte od 15 do 20 min na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C), zaštićeno od svjetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje eritrocita. Pogledajte brošuru VersaLyse (ref. A09777) i po mogućnosti slijedite postupak „uz istovremeno fiksiranje" koji se sastoji od dodavanja 1 mL svježe pripremljene mješavine za fiksiranje i liziranje. Odmah promiješajte u vorteks-miješalici jednu sekundu i inkubirajte 10 min pri sobnoj temperaturi, zaštićeno od svjetlosti.
5. Centrifugirajte 5 min pri 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću 3 mL PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Uklonite supernatant aspiracijom i stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju s pomoću:

- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a plus 0,1 % formaldehida ako se pripravke planira čuvati manje od 24 sati. (PBS s 0,1 % formaldehida možete pripremiti razrjeđivanjem 12,5 µL otopine za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800) pri njezinoj 10X koncentraciji u 1 mL PBS-a).
- 0,5 mL ili 1 mL PBS-a bez formaldehida, ako pripravak treba analizirati u roku od 2 sati.

Napomena: U svakom slučaju pripravke čuvajte zaštićene od svjetlosti na temperaturi između 2 i 8 °C.

OČEKIVANE VRIJEDNOSTI

Nema očekivanih vrijednosti relevantnih za ovaj proizvod.

PERFORMANSE

Podaci o performansama dobivaju se prethodno opisanim postupkom na manje od 24 sata starim uzorcima krvi prethodno prikupljenima u sterilne epruvete uz EDTA sol kao antikoagulans. Analiza se provodi u roku od 2 sata nakon imunobojenja.

SPECIFIČNOST

Neuronski glija antigen 2 (NG2), proteoglikan poznat i kao kondroitin-sulfat proteoglikan 4 ili kondroitin-sulfat proteoglikan povezan s melanomom, membranski je glikoprotein tipa 1 od 250 kDa koji eksprimiraju mnoge stanice središnjeg živčanog sustava (CNS-a) tijekom razvoja i diferencijacije, a važan je za angiogenezu, zacjeljivanje rana i rast tumora Skupina molekula kondroitin-sulfat proteoglikana može biti inhibitor adhezije i migracije stanica (10) te poslužiti kao barijera migraciji stanica u živčanom putu neuralnog grebena. Monoklonsko antitijelo 7.1. prepoznaje molekulu kondroitin-sulfat proteoglikana sa staničnom površinom i molekularnom masom od 200 – 220 kDa, poznatu i kao ljudski homolog štakorskog antigena NG2. Antigen NG2 može se pronaći u populacijama ljudskih glija stanica (11). Ne eksprimira se na normalnim hematopoetskim stanicama.

PRECIZNOST

Postotne pozitivne vrijednosti utvrđene su pomoću pune krvi u koju su dodane pozitivne stanice. Svaki je uzorak obrađen 4 puta, dvaput dnevno tijekom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagensa s monoklonskim antitijelima Anti-NG2-PE. Mjerenja (% pozitivnih vrijednosti) provedena su s pomoću citometra toka Navios. Analiza je provedena na temelju CLSI metode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procjena radnih značajki preciznosti metoda kvantitativnog mjerenja).

Naši kriteriji prihvatljivosti ovise o broju pozitivnih događaja izmjerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivni događaj < 1500, CV < 15 %
- Ako je pozitivni događaj > 1500, CV < 10 %

Puna krv u koju je dodana stanična linija HELA							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrijednost) = 4262							
	Među operatorima	Među citometrima	Unutar lota	Među lotovima	Među obradama	Unutar obrade	Ukupno
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost mjerenja Anti-NG2-PE procijenjena je usporedbom rezultata s referentnim reagensom kao predikatom na skupu uzoraka pune krvi u koje su dodane pozitivne stanice obrađenima na protočnom citometru Navios. Odstupanje između testa i referentnog reagensa utvrđeno je na temelju razlike između rezultata testa. Ako je odstupanje unutar dopuštenog raspona pogreške ili ako p-vrijednost upućuje na to da nema značajne razlike (> 0,05), rezultati testa za dva reagensa smatraju se istovjetnima.

Dobiveni rezultati sažeti su u tablici u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivna ciljna vrijednost	Srednja vrijednost Δ	Kriterij stanica Δ %	p-vrijednost	REZULTATI
Puna krv u koju je dodana stanična linija HELA	0,01	<5	0,978	PASS

GRANICA SLIJEPE PROBE I GRANICA DETEKCIJE

Ispitivanje je izvedeno u skladu s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Procjena sposobnosti otkrivanja za postupke mjerenja u kliničkim laboratorijima). Granica detekcije (LOD) – najniža koncentracija analita koja se može dosljedno otkriti. Dobiveni rezultati sažeti su u sljedećoj tablici:

Positive Target	Granica slijepe probe (stanica/µL)	Granica detekcije (stanica/µL)
HELA Stanična linija	1	3

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti pogrešne rezultate ako citometar nije savršeno poravnat, ako fluorescentna curenja nisu pravilno kompenzirana i ako regije nisu pažljivo pozicionirane.
2. Poželjno je upotrebljavati tehniku liziranja pomoću RBC-a uz korak pranja jer ovaj reagens nije optimiziran za tehnike liziranja „bez pranja”.
3. Točni i ponovljivi rezultati dobivat će se sve dok se postupci izvode u skladu s tehničkom brošurom i u skladu s dobrim laboratorijskim praksama.
4. Konjugirano antitijelo tog reagensa kalibrirano je tako da pruža najbolji omjer specifičnog i nespecifičnog signala. Zato je važno pridržavati se omjera volumena reagensa i volumena uzorka prilikom svakog testiranja.
5. U slučaju hiperleukocitoze razrijedite uzorak u PBS-u da biste dobili vrijednost od približno 5 x 10^9 leukocita/L (12).
6. Pri određenim bolestima, kao što je ozbiljno zatajenje bubrega ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak i nemoguće. U tom se slučaju prije bojenja preporučuje izoliranje jednojezgrenih stanica s pomoću gradijenta gustoće (na primjer, Ficoll) (13).
7. U pacijenata koji primaju terapiju monoklonskim antihumanim antitijelima detekcija određenih ciljanih antigena može biti smanjena ili nepostojeća zbog djelomičnog ili potpunog blokiranja terapijskih antitijela.
8. Rezultate Anti-NG2-PE treba tumačiti u kontekstu ukupne kliničke slike pacijenta, uključujući simptome, anamnezu, podatke iz dodatnih testova i druge odgovarajuće informacije.

Za primjere i reference pogledajte Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizirani logotip te oznake proizvoda i usluga tvrtke Beckman Coulter žigovi su ili registrirani žigovi tvrtke Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim državama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta / korisnika / treću stranu u Europskoj uniji i u državama s identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskim proizvodima za in vitro dijagnostiku): ako tijekom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe dođe do ozbiljnog štetnog događaja, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovu ovlaštenom zastupniku te nadležnom nacionalnom tijelu.

Summary of Safety and Performance (Sažetak podataka o sigurnosti i performansama) potražite u bazi podataka EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

POVIJEST REVIZIJA

REVIZIJA AD:	Datum objave: listopad 2019.

REVIZIJA	**Datum objave**
AW	Svibanj 2022.
Ažuriranja radi usklađivanja s pravilnikom o globalnom označavanju tvrtke Beckman Coulter i u skladu sa zahtjevima uredbe (EU)2017/746 o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima (IVD-R):	
Dodani odjeljci	Broj BSI 2797, Ciljni korisnik, Klinička relevantnost, Koncentracija, Preciznost, Točnost, Granica slijepe probe i granica detekcije, Dodatne informacije, Povijest revizija.
Dodane informacije	Pogledajte odjeljke Ograničenja
Preformuliranje ili tipografska ažuriranja	Pogledajte odjeljke Postupak, Performanse, Ograničenja, Upozorenje i mjere opreza, Pohrana i stabilnost.
Uklonjeni odjeljci	Primjer kliničkih primjena, Reagensi, Unutarlaboratorijska obnovljivost, Linearnost
Ažurirani odjeljci	Namjena, Klasifikacija opasnosti prema GHS-u, Dokaz pogoršanja stanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum objave**
AX	Travanj 2023
Ažurirani odjeljci	Dodati kazaški
Ažurirani odjeljci	Čuvanje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Svibanj 2024
Ažurirani prijevodi	**Klinička relevantnost:**
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Srpanj 2024
Ažurirani odjeljci	Povijest revizija

Pojmovnik simbola

Pojmovnik simbola dostupan je na web-mjestu beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Спецификации
Специфичност	NG2
Клонинг	7,1
Хибридома	SP2/0 x balb/c
Имуноген	Readus cell line
Имуноглобулин	IgG1
Вид	Мишка
Пречистване	Афинитетна хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin (PE)
Моларно съотношение	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ възбуждане	488 nm
Емисионен пик	575 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 mg/mL BSA и 0,1 % NaN_3

IOTest
Конюгирано антитяло
Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20 µL/тест

За *in vitro* диагностика.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Това флуорохром-конюгирано антитяло позволява качествена и неавтоматизирана идентификация с помощта на поточна цитометрия на клетъчни популации, експресиращи NG2 антиген, присъстващ в човешки биологични проби (вижте раздел „Проби“ по-долу).

ПРИНЦИП

Този тест се базира на способността на специфични моноклонални антитела да се свързват с антигенни детерминанти, експресирани от левкоцитите.

Специфично оцветяване на левкоцитите се извършва чрез инкубиране на пробата с реактива IOTest. След това червените кръвни телца се отстраняват чрез лизиране, а левкоцитите, които не се повлияват от този процес, се анализират чрез поточна цитометрия.

Поточният цитометър измерва разсейването на светлината и флуоресценцията на клетките. Това прави възможно разграничаването на популацията, която се изследва, в електронния прозорец, дефиниран на една хистограма, която корелира с ортогоналната дифузия на светлината (странично разсейване) и дифузията на тесноъгълна светлина (предно разсейване). Други хистограми, комбиниращи два от различните параметри на разположение на цитометъра, могат да бъдат използвани като основа в етапа на определяне на област за анализ в зависимост от приложението, избрано от потребителя.

Флуоресценцията на разграничените клетки се анализира, за да се разграничат позитивно оцветените събития от неоцветените такива. Резултатите се изразяват като процент на положителни събития във връзка с всички събития, получени от определянето на областта за анализ.

ПРЕДВИДЕН ПОТРЕБИТЕЛ

Този продукт е предназначен само за лабораторна професионална употреба.

КЛИНИЧНА ЗНАЧИМОСТ

Anti-NG2-PE е антитяло Anti-NG2, използвано за идентифициране и характеризиране чрез поточна цитометрия на клетки, експресиращи NG2 антиген. Този продукт не може и не е предназначен самостоятелно да генерира каквото и да е диагностично заключение.

Когато се използва в комбинация с други маркери, този продукт може да се използва в една или повече от следните функции:

- Като помощно средство при поставяне на диференциална диагноза на хематологично абнормни пациенти, суспектни за хематопоетично новообразуване, и за проследяване на пациенти с известно хематопоетично новообразуване.
- Като помощно средство при създаване на прогноза за пациенти с хематопоетична неоплазма.

Вижте следните справки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

ПРОБИ

Венозна кръв трябва да се взема в стерилни епруветки, съдържащи сол EDTA като антикоагулант.

Пробите трябва да бъдат съхранявани при стайна температура (18–25°C) и не трябва да се разклащат. Пробите трябва да бъдат хомогенизирани чрез внимателно смесване, преди да се вземе пробата за теста.

Пробите трябва да бъдат анализирани в рамките на 24 часа от венопункturата.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Не използвайте реактива след изтичане на срока на годност.
2. Не замразявайте.
3. Оставете на стайна температура (18–25°C) преди употреба.
4. Минимизирайте излагането на светлина.
5. Избягвайте микробно замърсяване на реактивите, в противен случай е възможно да се получат погрешни резултати.
6. С разтворите на антитела, съдържащи натриев азид (NaN_3), трябва да се работи внимателно. Не приемайте вътрешно и избягвайте всякакъв контакт с кожата, лигавицата и очите.

В допълнение, в киселинна среда натриевият азид може да образува потенциално опасната хидразоена киселина. Ако тя трябва да се изхвърли, препоръчва се реактивът да се разреди в голям обем вода, преди да се излее в дренажната система, за да се избегне натрупването на натриев азид в металните тръби и да се предотврати риск от експлозия.

7. Всички кръвни проби трябва да се считат за потенциално заразни и с тях трябва да се борави внимателно (по-специално: носене на защитни ръкавици, облекло и очила).
8. Никога не пипетирайте с уста и избягвайте всякакви контакти между пробите и Вашата кожа, лигавица и очи.
9. Епруветките за кръв и материалите за еднократна употреба, използвани за боравене, трябва да се изхвърлят във временни контейнери, предназначени за изгаряне.
10. Реактивите и отпадъците трябва да бъдат елиминирани в съответствие с местните изисквания.

КЛАСИФИЦИЯ НА ОПАСНОСТИТЕ ПО GHS

Не е класифициран като опасен

SDS Информационният лист за безопасност е наличен на адрес beckmancoulter.com/techdocs

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Този реактив трябва да се съхранява при температури между 2 и 8°C и да бъде защитен от светлина преди и след отваряне на флакона.

Изследване на срок на годност при затворена епруветка и стабилност: 1095 дни.

Стабилност на отворен флакон: реактивът е стабилен за 180 дни.

ДАННИ ЗА ВЛОШАВАНЕ

Всяка промяна във физическия изглед на реактивите може да е признак за влошаване и реактивът не трябва да бъде използван.

За допълнителна информация или при получаване на повреден продукт се свържете с отдела за обслужване на клиенти на Beckman Coulter на тел. 800-742-2345 (САЩ или Канада) или се свържете с местния представител на Beckman Coulter.

СЪДЪРЖАНИЕ

Консервантът натриев азид може да образува експлозивни съединения в метални отводнителни тръбопроводи. Вижте Бюлетина на NIOSH: Explosive Azide Hazard (Бюлетин на Националния институт по безопасност и хигиена на труда: Опасност от експлозия на азид) (16/8/76).
За да избегнете възможно натрупване на азидни съединения, промивайте канализационните тръби с вода след изхвърляне на неразтворен реактив. Изхвърлянето на натриев азид трябва да бъде в съответствие с местните разпоредби.

НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СА ДОСТАВЕНИ С КОМПЛЕКТА:

- Епруветки за проби и материали, необходими за вземане на проби.
- Автоматични пипети с накрайници за еднократна употреба за 20, 100 и 500 µL.
- Пластмасови хемолизни епруветки.
- Реактив за лизис на червени кръвни телца с етап на отмиване след лизис. Например: VersaLyse (Реф. A09777).
- Реактив за левкоцитна фиксация. Например: IOTest 3 фиксиращ разтвор (Реф. A07800).
- Изотипна контрола PE: Реактив IOTest (Реф. № A07796).
- Буфер (PBS: 0,01 M натриев фосфат; 0,145 M натриев хлорид; pH 7,2).
- Центрофугирайте.
- Автоматичен агитатор (тип вортекс).
- Поточен цитометър.

ПРОЦЕДУРА С РЕАКТИВ VERSALYSE

За всяка анализирана проба освен тестовата епруветка може да се добави и една контролна епруветка, в която клетките да са смесени в присъствието на изотипната контрола (Реф. A07796).

1. Добавете 20 µL специфично IOTest конюгирано антитяло във всяка тестова епруветка и, ако е необходимо, 20 µL изотипна контрола във всяка контролна епруветка.
2. Добавете 100 µL от тестовата проба във всяка епруветка. Внимателно разбъркайте във вортекс епруветките.
3. Инкубирайте за 15 до 20 минути при стайна температура (18–25°C), като предпазвате от светлина.
4. След това се изпълнява лизиране на червените кръвни телца. Вижте брошурата на VersaLyse (Реф. A09777) и изпълнете за предпочитане процедурата, наречена „със съпътстващо фиксиране“, която се състои от добавяне на 1 mL от сместа „Фиксиране и лизиране“, приготвена за незабавно приложение. Незабавно завъртете епруветките с вортекс за една секунда и инкубирайте за 10 минути при стайна температура на защитено от светлина място.
5. Центрофугирайте 5 минути при 150 x g при стайна температура.
6. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация.
7. Разтворете отново клетъчната утайка, като използвате 3 mL PBS.
8. Повторете стъпка 5.
9. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация и ресуспендирайте клетъчната утайка с:

- 0,5 mL или 1 mL PBS плюс 0,1 % формалдехид, ако препаратите трябва да бъдат съхранявани по-малко от 24 часа. (Може да се получи 0,1 % формалдехид PBS чрез разреждане на 12,5 µL разтвор за фиксиране IOTest 3 (Реф. A07800) при 10X концентрация в 1 mL PBS).
- 0,5 mL или 1 mL PBS без формалдехид, ако препаратите ще бъдат анализирани в рамките на 2 часа.

Забележка: Във всички случаи съхранявайте препаратите при температури между 2 и 8°C и защитени от светлина.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

За този продукт няма съответна очаквана стойност.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данните за ефективността се получават с помощта на описаната по-горе процедура за кръвни проби до 24 часа, предварително събрани в стерилни епруветки със сол EDTA като антикоагулант. Анализ се извършва в рамките на 2 часа след имунооцветяване.

СПЕЦИФИЧНОСТ

Невроглиален антиген-2 (NG2), протеогликан, известен също като хондроитин сулфат протеогликан 4 или хондроитин сулфат протеогликан, асоцииран с меланом, е мембранен гликопротеин тип 1 с молекулно тегло 250 kDa, експресиран от много клетки на централната нервна система (ЦНС) по време на развитието и диференцирането и играе важна роля при ангиогенезата, зарастването на рани и разрастване на тумори. Молекулите от класа на хондроитин сулфат протеогликан могат да бъдат инхибитори на клетъчната адхезия и миграция (10) и могат да служат като бариери за клетъчната миграция по нервния гребен. Моноклоналното антитяло 7.1 разпознава клетъчно повърхностната молекула на хондроитин сулфат протеогликана с молекулно тегло 200–220 kDa, известна като човешки хомолог на плъшия NG2 антиген. Антигенът NG2 се установява в популациите на човешките глиални клетки (11). Той не се експресира при нормалните хематопоетични клетки.

ТОЧНОСТ

Процентните положителни стойности са определени посредством цялостна кръв, обогатена с положителни клетки. Всяка проба е обработена 4 пъти, два пъти на ден за 1 ден на 2 инструмента, като са използвани 2 партиди реактиви с Anti-NG2-PE моноклонално антитяло. Измерванията (% положителни) са направени на поточен цитометър Navios. Анализът е проведен на основата на CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods. (Метод EP5-A2 на CLSI: Оценка на точността на методите за количествено измерване.)

Нашите критерии за приемливост зависят от броя положителни събития, измерени за всяка популация:

- Ако положителните събития са < 1500, CV < 15 %
- Ако положителните събития са > 1500, CV < 10 %

Цялостна кръв, обогатена с HELA клетъчна линия							
Брой положителни събития (средно) = 4262							
	Между оператори	Между цитометри	Вътрепартидна	Между партиди	Между цикли	В рамките на цикъл	Общо
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
РЕЗУЛТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТ

Точността на Anti-NG2-PE е оценена чрез сравняване на резултатите с референтен реактив като потвърждение върху група от проби от цялостна кръв, обогатени с положителни клетки, обработени на поточен цитометър Navios. Отклонението между тестовия и референтния реактив се определя въз основа на разликата между резултатите от теста. Ако отклонението е в рамките на допустимия обхват на грешка или p-стойността не показва значима разлика (> 0,05), резултатите от теста за двата реактива се считат за еквивалентни.

Получените резултати са обобщени в таблицата, дадена по-долу:

Брой донори = 25				
Положителна цел	Средна Δ	Критерии Δ % клетки	p-стойност	РЕЗУЛТАТИ
Цялостна кръв, обогатена с HELA клетъчна линия	0,01	<5	0,978	PASS

ГРАНИЦА НА СЛЯПА ПРОБА И ГРАНИЦА НА ОТКРИВАНЕ

Проведено е проучване в съответствие с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оценка на възможността за детекция за измервателни процедури в клинични лаборатории). Границата на откриване (LOD) е най-ниската концентрация на аналита, която може да бъде стабилно открита. Получените резултати са обобщени в следващата таблица:

Positive Target	Граница на сляпата проба (клетки/µL)	Граница на откриване (клетки/µL)
HELA Клетъчна линия	1	3

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Поточната цитометрия може да даде неточни резултати, ако цитометърът не е бил идеално приравнен, ако течове на флуоресценция не са били правилно компенсирани или ако регионите не са били внимателно позиционирани.
2. Предпочита се използването на техника за лизиране на червени кръвни клетки със стъпка за промиване, тъй като този реактив не е оптимизиран за техники за лизиране „без промиване“.
3. Ще бъдат получени точни и възпроизводими резултати, при условие, че използваните процедури са в съответствие с техническата листовка и са съвместими с добрите лабораторни практики.
4. Конюгираното антитяло на този реактив е калибрирано, за да се осигури най-доброто съотношение между специфичен сигнал/неспецифичен сигнал. Затова е важно да се придържате към съотношението обем на реактива/обем на пробата във всеки тест.
5. В случай на хиперлевкоцитоза кръвта се разрежда в PBS, така че да се получи стойност приблизително 5 x 10^9 левкоцити/L (12).

6. При определени болестни състояния, например тежка бъбречна недостатъчност или хемоглобинопатии, лизирането на червените кръвни телца може да бъде бавно, непълно или дори невъзможно. В този случай се препоръчва да се изолират мононуклеарни клетки, като се използва градиент на плътността (Ficoll например) преди оцветяване (13).
7. При пациенти, лекувани с терапии с античовешко моноклонално антитяло, отриването на специфични целеви антигени може да бъде занижено или да липсват поради частично или цялостно блокиране от терапевтичното антитяло.
8. Резултатите от Anti-NG2-PE трябва да се интерпретират спрямо общото клинично представяне на пациента, включващо: симптоми, клинична анамнеза, данни от допълнителни тестове и друга съответстваща информация.

Вижте Приложението за примери и справки.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ

Beckman Coulter, стилизираното лого и марките на продуктите и услугите на Beckman Coulter, присъстващи в този документ, са търговски марки или регистрирани търговски марки на Beckman Coulter, Inc. в САЩ и в други държави.

ДОПЪЛНИТЕЛНА ИНФОРМАЦИЯ

За пациенти/потребители/трети лица в Европейския съюз и в страни с идентичен регулаторен режим (Регламент 2017/746/ЕС относно ин витро диагностичните медицински изделия); ако по време на използването на това изделие или в резултат на използването му е настъпил сериозен инцидент, моля, съобщете за това на производителя и/или неговия упълномощен представител и на Вашия национален орган.

Summary of Safety and Performance (Обобщение на безопасността и работата) е налично в базата данни EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ХРОНОЛОГИЯ НА РЕДАКЦИИТЕ

РЕДАКЦИЯ AD:	Дата на издаване: октомври 2019 г.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AW	май 2022 г.
Актуализации с цел съответствие с Глобалната политика за етикетиране на Beckman Coulter и съгласно изискванията на Регламент (ЕС) 2017/746 за медицинските изделия за ин витро диагностика (IVD-R):	
Добавени раздели	Номер 2797 на BSI, Предвиден потребител, Клинична значимост, Концентрация, Прецизност, Точност, Граница на сляпата проба и граница на откриване, Допълнителна информация, Хронология на редакциите.
Добавена информация	Вижте разделите „Ограничения“
Актуализации във формулировките или типографията	Вижте раздели „Процедура“, „Работни характеристики“, „Ограничения“, „Предупреждения и предпазни мерки“, „Съхранение и стабилност“.
Премахнати раздели	Пример за клинични приложения, Реактиви, Вътрешнолабораторна възпроизводимост, Линейност
Актуализирани раздели	Предвидена употреба, Класификация на опасностите по GHS, Признаци за влошаване, Процедура, Приложение.

РЕДАКЦИЯ	**Дата на издаване**
AX	Април 2023
Актуализирани раздели	Добавен е казахски
Актуализирани раздели	Съхранение и стабилност

Редактирана версия	AY
Редактирана дата	Май 2024
Актуализирани преводи	**Клинична значимост:**
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Редактирана версия	AZ
Редактирана дата	Юли 2024
Актуализирани раздели	Предишни редакции

Легенда на символите

Речник на символите е наличен на beckman.com/techdocs (номер на документа B60062)

	規格
專一性	NG2
轉殖	7.1
融合瘤	SP2/0 x balb/c
免疫原	Readus cell line
免疫球蛋白	lgG1
物種	小鼠
純化	親和力層析法
螢光染料	R Phycoerythrin (PE)
莫耳比率	PE/lg： 0.5 - 1.5
λ 激發	488 nm
發射峰	575 nm
緩衝劑	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 及 0.1% NaN_3

IOTest
結合抗體
Anti-NG2-PE

REF B92429 100 次檢測；2 mL, 20 µL/測試

***體外*診斷用。**

預期用途

使用此螢光染料結合的抗體，能夠以流式細胞分析儀器對人體生物檢體中出現的表現 NG2 抗原之細胞群進行非自動化定性鑑別（請參閱下列「檢體」部分）。

原理

本測試的基礎在於特異性單株抗體結合由白血球表現之抗原決定簇的能力。

以 IOTest 試劑與檢體反應，對白血球進行特異性染色。然後以溶解作用去除紅血球，而白血球不受此程序影響，並可透過流式細胞分析儀器進行分析。

流式細胞分析儀器可測量細胞的光漫射和螢光。這樣可以界定直方圖上定義的電子窗口內的目標群體，直方圖可以關聯光的正交漫射（側向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。細胞分析儀器上可用之結合兩個不同參數的其他直方圖，可用於支持圈選階段，這取決於使用者所選的應用。

為了區分陽性染色事件和未染色事件，對劃定細胞的螢光進行了分析。結果表示為陽性事件相對於圈選所得全部事件的百分比。

預期使用者

本產品應當用於實驗室內的專業用途。

臨床相關性

Anti-NG2-PE 是一種 Anti-NG2 抗體，以流式細胞技術使用此抗體庫可辨認表達 NG2 抗原的細胞並鑑別其特徵。不能且不應單獨使用此產品做出任何診斷結論，其並非用於此用途。

本產品搭配其他標誌物使用時，可用於以下一或多個功能：

- 可輔助疑似罹患造血組織腫瘤之血液異常患者的鑑別診斷，並可監測已知罹患造血組織腫瘤的患者。
- 有助於罹患造血組織腫瘤之患者的預後情況。

請參閱下列參考資料：

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

檢體

靜脈血必須使用無菌試管抽取，此無菌試管中含有 EDTA 鹽作為抗凝劑。

檢體應存放在室溫 (18~25°C)，且不得搖晃。取用測試檢體前，應將檢體輕輕攪動，使之均勻化。

檢體必須在靜脈穿刺後 24 小時內進行分析。

警告和預防措施

1. 請勿使用過期試劑。
2. 切勿冷凍。
3. 使用前，請將其恢復至室溫 (18~25°C)。
4. 儘量避免陽光直射。
5. 請避免試劑受到微生物污染，否則可能會出現錯誤結果。
6. 含有疊氮化鈉 (NaN_3) 的抗體溶液應謹慎處理。請勿內服，並避免接觸皮膚、黏膜和眼睛。

   此外，在酸性介質中，疊氮化鈉可形成具有潛在危害的疊氮酸。若需要對其進行處置，建議在試劑倒入排水系統前以大量清水稀釋，避免疊氮化鈉在金屬管道中累積並預防爆炸。
7. 所有血液檢體必須視為具有潛在傳染性，且必須小心處理（務必穿戴防護手套、防護衣和護目鏡）。
8. 切勿用嘴吸液，並避免檢體接觸皮膚、黏膜和眼睛。
9. 用於處理的血液試管和一次性材料應放入焚化專用的特殊容器中處置。
10. 應根據當地要求清除試劑和廢棄物。

GHS 危害分類

未歸類為危險物質

SDS 安全性資料表載於 beckmancoulter.com/techdocs

存儲和穩定性

在打開試劑瓶前後，試劑必須避光保存於 2~8°C。

穩定性研究的封閉式藥瓶有效期限：1095 天。

開瓶後穩定性：試劑穩定性可維持 180 天。

變質的證據

試劑外觀的任何變化表示可能發生變質，因此不應使用該試劑。

如需瞭解其他資訊，或如果收到已損壞的產品，請撥打 800-742-2345（美國或加拿大）聯絡貝克曼庫爾特客戶服務部，或聯絡您當地的貝克曼庫爾特代表。

內容物

疊氮化鈉防腐劑可能會在金屬排水管道中形成爆炸性化合物。請參閱 NIOSH Bulletin： Explosive Azide Hazard（爆炸性疊氮化物危害）(76/8/16)。為防止疊氮化合物可能累積，丟棄未稀釋的試劑後請用水沖洗污水管。必須依照相關當地法規丟棄疊氮化鈉。

試劑盒未提供但卻需要的材料：

- 採樣時需要採樣試管和材料。
- 帶有可吸取 20、100 和 500 µL 一次性吸頭的自動移液器。
- 塑膠溶血試管。
- 用於溶解後洗滌階段的紅血球溶解試劑。舉例：VersaLyse (參考 A09777)。
- 白血球固定試劑。舉例：IOTest 3 固定液 (參考 A07800)。
- 同型品管劑 PE：IOTest 試劑 (參考 A07796)。
- 緩衝劑 (PBS：0.01 M 磷酸鈉；0.145 M 氯化鈉；pH 7.2）。
- 離心機。
- 自動攪拌器（漩渦型）。
- 流式細胞分析儀器。

使用 VERSALYSE 試劑的程序

對於已分析的每項檢體，除使用測試試管外，可再增加一個品管劑試管，以在其中混合細胞與同型品管劑 (參考 A07796)。

1. 向每個測試試管添加 20 µL 特異性 IOTest 結合抗體，如果需要，向每個質控試管添加 20 µL 同型質控品。
2. 向每個試管中添加 100 µL 測試檢體。輕輕漩渦振盪試管。
3. 在室溫 (18~25°C) 下避光反應 15~20 分鐘。
4. 然後將紅血球溶解。請參閱 VersaLyse (參考 A09777) 的手冊，最好按照名為「共伴固定」的程序操作，其包含添加臨時製備的 1 mL「固定加溶解」混合物。立即震盪 1 秒後，在室溫下避光反應 10 分鐘。
5. 在室溫下以 150 x g 離心 5 分鐘。
6. 吸除上清液。
7. 使用 3 mL PBS 重新懸浮細胞團塊。
8. 重複第 5 步。
9. 吸除上清液並按照以下方式重新懸浮細胞團塊：

- 若製劑存放時間不超過 24 小時，則以 0.5 mL 或 1 mL PBS 加 0.1% 甲醛。（可在 1 mL PBS 中稀釋 10X 濃度的 12.5 µL IOTest 3 固定液 (參考 A07800)，得到含有 0.1% 甲醛的 PBS）。
- 若製劑將在 2 小時內分析，使用 0.5 mL 或 1 mL PBS（無甲醛）。

註：在所有情況下，將製劑在 2~8°C 避光保存。

預期值

本產品無相關的預期值。

性能

對於之前採集在無菌試管（含有 EDTA 鹽作為抗凝劑）中短於 24 小時的血液檢體，使用上面描述的程序獲取了性能資料。在免疫染色後的 2 小時內進行分析。

專一性

神經元神經膠質抗原-2 (Ng2) 蛋白多糖（也被稱作硫酸軟骨素蛋白多糖 4，或黑色素瘤相關硫酸軟骨素蛋白多糖）是一種 250 kDa 型膜醣蛋白，在多種中樞神經系統 (CNS) 細胞發育和分化中表達，在血管再生、傷口愈合以及腫瘤生長中有重要作用。硫酸軟骨蛋白多糖類分子可能成為細胞黏著和遷移的抑制劑 (10)，並可成為細胞在神經嵴中遷移的障壁。7.1 單株抗體可識別分子量為 200~220 kDa 的細胞表面硫酸軟骨素蛋白多糖分子，該分子也稱為大鼠 NG2 抗原的人同源物。NG2 抗原於人神經膠質細胞群上發現 (11)。其不於正常造血細胞上表達。

準確度

使用添加了陽性細胞的全血測定陽性百分比。每項檢體皆使用 2 個批次的 Anti-NG2-PE 單株抗體試劑，以 2 台儀器 1 天運行 2 次，共運行了 4 次。使用 Navios 流式細胞分析儀器檢測結果（陽性 %）。根據 CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods（CLSI 方法 EP5-A2：評估定量檢測方法的準確度性能）進行分析。

我們的接受標準視各族群所檢測的陽性事件數量而定：

- 若陽性事件數量 < 1,500，則 CV < 15%
- 若陽性事件數量 > 1,500，則 CV < 10%

添加了 HELA 細胞株的全血							
陽性事件數量（平均值）= 4262							
	各操作者間	各台細胞分析儀器間	批內	批間	各次執行間	各次執行內	總計
CV (%)	1.00	3.03	8.11	0.97	7.83	1.87	8.71
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

準確性

評估 Anti-NG2-PE 準確性的方式，是比較它與參考試劑同時用於添加了陽性細胞的一組全血細胞檢體，在 Navios 流式細胞分析儀器上進行化驗時，其結果有何差異。根據測試結果間的差異，測定了測試與參考試劑之間的偏差。如果此偏倚在允許的誤差範圍內或 P 值並未顯示顯著差異 (> 0.05)，則兩種試劑的測試結果視為相當。

所得結果總結於下表：

捐贈者數量 = 25				
陽性目標	平均值差	細胞標準 Δ %	P 值	結果
添加了 HELA 細胞株的全血	0.01	<5	0.978	PASS

空白檢體的偵測極限與偵測極限

按照 CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures（CLSI EP17-A2，臨床實驗室測定程序的偵測能力評估）開展了一項試驗。偵測極限 (LOD) 是指可始終被偵測出的最低分析物濃度。所得結果總結於下表：

Positive Target	空白檢體的偵測極限（細胞數/µL）	偵測極限（細胞數/µL）
HELA細胞株	1	3

限制條件

1. 流式細胞分析儀器在下列情況下可能產生錯誤結果：細胞分析儀器未正確校正、螢光洩漏未正確補償、相關區域並未仔細定位。
2. 最好採用帶洗滌步驟的 RBC 溶解方法，因該試劑不能在「無洗滌」溶解方法中取得最佳效果。
3. 按照技術手冊採用相關流程並遵循優良實驗室操作規範，便可得到準確且可重複的結果。
4. 此試劑的結合抗體已經過校正，以提供最佳的特異性訊號/非特異性訊號比率。因此，在每次測試中遵守試劑體積/檢體體積比率很重要。
5. 如果白血球過多，請在 PBS 中稀釋血液，使白血球濃度約為 5 x 10^9 顆/L (12)。
6. 在嚴重腎衰竭、血色素病變等特定疾病狀態中，紅血球溶解可能會變得緩慢、不完全，甚至無法溶解。在這種情況下，建議在染色前使用密度梯度（例如聚蔗糖）分離單核球 (13)。
7. 使用抗人單株抗體療法治療患者時，由於治療抗體的部分或完全阻斷，偵測到的特定目標抗原可能會減少或完全偵測不到。
8. Anti-NG2-PE 結果的判讀應結合患者的整體臨床表徵，包括：症狀、臨床病史、其他測試的資料以及其他相關資訊。

請參閱附錄以閱讀舉例和參考文獻。

商標

Beckman Coulter、徽標以及本文述及的貝克曼庫爾特公司產品和服務標記是美國貝克曼庫爾特有限公司在美國和其他國家的商標或註冊商標。

其他資訊

對於患者/使用者/第三方（在歐盟和有相同監管制度（體外診斷醫療裝置法規，2017/746/EU）的國家）；如果在使用中或由於使用而導致嚴重事件，請將情況回報製造商和/或授權代表，以及貴國主管機關。

Summary of Safety and Performance（安全與性能）的摘要請參見 EUDAMED 資料庫：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修訂歷程記錄

修訂版 AD：	發佈日期：2019 年 10 月

修訂	**發行日期**
AW	2022 年 5 月
更新以遵守貝克曼庫爾特公司全球標籤政策以及 IVD-R (EU)2017/746 規定：	
已新增部分	BSI 2797 編號、預期使用者、臨床相關性、濃度、精密度、準確性、空白檢體的偵測極限和偵測極限、其他資訊、修訂記錄。

已新增資訊	請參閱「限制」部分
修辭或印刷更新	請參閱「程序」、「性能」、「限制」、「警告和預防措施」、「存儲和穩定性」等部分。
已移除的部分	臨床應用範例、試劑、實驗室內再現性、線性
已更新部分	預期用途、GHS 危害分類、變質的證據、程序、附錄。

修訂	**發行日期**
AX	4 月 2023
已更新部分	新增哈薩克語
已更新部分	存儲和穩定性

修訂版本	AY
修訂日期	5 月 2024
已更新的譯文	**臨床關聯性：**
已更新部分	修訂歷史

修訂版本	AZ
修訂日期	7 月 2024
已更新部分	修訂歷史

符號釋義

符號術語表請參見網站：beckman.com/techdocs（文件編號 B60062）

	Specificații
Specificitate	NG2
Clonă	7,1
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Readus cell line
Imunoglobulină	IgG1
Specie	Șoarece
Purificare	Cromatografia de afinitate
Fluorocrom	R Phycoerythrin (PE)
Raport molar	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Excitare λ	488 nm
Vârful de emisie	575 nm
Soluție tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA și 0,1% NaN_3

IOTest
Anticorp conjugat
Anti-NG2-PE

REF B92429 100 de teste; 2 ml, 20 µl/test

Pentru utilizare în diagnosticarea *in vitro*.

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

Acest anticorp conjugat cu fluorocrom permite identificarea calitativă și non-automată a populațiilor celulare care exprimă antigenul NG2 prezent în probele biologice umane prin citometrie în flux (consultați secțiunea „probe” de mai jos).

PRINCIPIU

Acest test se bazează pe abilitatea anticorpilor monoclonali specifici de a se lega de determinanții antigenici exprimați de leucocite.

Colorarea specifică a leucocitelor este efectuată prin incubarea probei cu reactivul IOTest. Eritrocitele sunt ulterior îndepărtate prin liză, iar leucocitele, care nu sunt afectate de acest proces, sunt analizate prin citometrie în flux.

Citometrul în flux măsoară difuzia luminii și fluorescența celulelor. Acesta face posibilă delimitarea populațiilor de interes în fereastra electronică definită pe o histogramă, care corelează difuzia ortogonală a luminii (Dispersia perpendiculară sau SS – Side Scatter) și difuzia luminii sub un unghi ascuțit (Dispersia pe direcția înainte sau FS – Forward Scatter). Alte histograme care combină doi dintre parametrii diferiți disponibili pe citometru pot fi utilizate ca suporturi în faza de stabilire a porților (gating) în funcție de aplicația aleasă de către utilizator.

Fluorescența celulelor delimitate se analizează pentru distingerea evenimentelor colorate pozitiv de cele necolorate. Rezultatele sunt exprimate ca procentaj de evenimente pozitive în raport cu toate evenimentele obținute de gating.

UTILIZATOR PRECONIZAT

Acest produs este destinat utilizării profesionale în laborator.

RELEVANȚĂ CLINICĂ

Anti-NG2-PE este un anticorp Anti-NG2 utilizat pentru a identifica și caracteriza celulele care exprimă antigenul NG2 prin citometrie în flux. Acest produs în sine nu poate și nu este conceput pentru a genera concluzii cu rol de diagnostic.

Atunci când este utilizat în combinație cu alți markeri, acest produs poate fi utilizat pentru una sau mai multe dintre următoarele funcții:

- Pentru a ajuta la obținerea unui diagnostic diferențial pentru pacienții cu anormalități hematologice suspecți de neoplasm hematopoietic și la monitorizarea pacienților cu neoplasm hematopoietic diagnosticat.
- Pentru a ajuta la obținerea unui prognostic pentru pacienții cu neoplasm hematopoietic.

Consultați următoarele referințe:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

PROBE

Sângele venos trebuie recoltat utilizând eprubete sterile care conțin o sare de EDTA drept anticoagulant.

Se recomandă păstrarea probelor la temperatura camerei (18–25°C). Acestea nu se vor scutura. Se recomandă omogenizarea probelor prin agitare ușoară înainte de recoltarea probei de test.

Proba trebuie analizată în decurs de 24 de ore de la puncția venoasă.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Nu utilizați reactivul după data expirării.
2. Nu congelați.
3. Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei (18–25°C).
4. Reduceți la minimum expunerea la lumină.
5. Evitați contaminarea microbiană a reactivilor. În caz contrar, se pot obține rezultate false.
6. Soluțiile de anticorpi care conțin azidă de sodiu (NaN_3) trebuie manipulate cu atenție. A nu se ingera și a se evita contactul cu pielea, mucoasele și ochii.

   În plus, într-un mediu acid, azida de sodiu poate forma acid hidrazoic, un compus potențial periculos. Dacă este necesară eliminarea reactivului, se recomandă ca acesta să fie diluat într-un volum mare de apă înainte de a fi vărsat în sistemul de canalizare pentru a evita acumularea de azidă de sodiu în conductele metalice și pentru a preveni riscul de explozie.

7. Toate probele de sânge trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie manipulate cu grijă (în special: purtarea de mănuși de protecție, halate și ochelari de protecție).
8. Nu pipetați niciodată cu gura și evitați contactul probelor cu pielea, mucoasele și ochii.
9. Eprubetele pentru sânge și materialele de unică folosință utilizate pentru manipulare trebuie eliminate în recipiente ad-hoc destinate incinerării.
10. Reactivii și deșeurile trebuie eliminați în conformitate cu cerințele locale.

CLASIFICAREA RISCURILOR ÎN SISTEMUL GHS

Nu este clasificat ca periculos

SDS Fișa tehnică de securitate este disponibilă la beckmancoulter.com/techdocs

DEPOZITAREA ȘI STABILITATEA

Înainte și după desigilarea fiolei, acest reactiv trebuie păstrat la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C într-un loc ferit de lumină.

Perioada de valabilitate în fiolă închisă în conformitate cu studiul de stabilitate: 1095 zile.

Stabilitatea fiolei desigilate: reactivul este stabil timp de 180 (de) zile.

DOVADĂ DE DETERIORARE

Orice modificare a aspectului fizic al reactivilor poate indica degradarea. În acest caz, nu se recomandă utilizarea reactivului.

Pentru informații suplimentare sau dacă s-a primit un produs deteriorat, sunați la Serviciul Clienți Beckman Coulter la 800-742-2345 (SUA sau Canada) sau contactați-vă reprezentantul Beckman Coulter local.

CONȚINUT

Azida de sodiu folosită drept conservant poate forma compuși cu risc de explozie în conductele de drenaj metalice. Consultați buletinul informativ al NIOSH: Explosive Azide Hazard (Azidă cu risc de explozie) (08/16/76).
Pentru a evita posibila acumulare de compuși de azidă, spălați cu apă conductele pentru evacuarea deșeurilor după eliminarea reactivului nediluat. Eliminarea azidei de sodiu trebuie realizată în conformitate cu reglementările locale aplicabile.

MATERIALE NECESARE, DAR NEFURNIZATE CU SETUL:

- Eprubete pentru probe și materiale necesare pentru prelevarea probelor.
- Pipete automate cu vârfuri de unică folosință pentru 20, 100 și 500 µl.
- Eprubete din plastic pentru hemoliză.
- Reactiv de liză a eritrocitelor cu faza de spălare după liză. De exemplu: VersaLyse (ref. A09777).
- Reactiv de fixare a leucocitelor. De exemplu: Soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800).
- Ser de control izotipic PE: Reactiv IOTest (ref. A07796).
- Soluție tampon (PBS: 0,01 mol de fosfat de sodiu; 0,145 mol de clorură de sodiu; pH 7,2).
- Centrifugați.
- Agitator automat (tip Vortex).
- Citometru de flux.

PROCEDURA CU REACTIVUL VERSALYSE

Pentru fiecare probă analizată, în afară de eprubeta de testare, poate fi adăugată o eprubetă de ser de control în care celulele sunt amestecate în prezența serurilor de control izotipic (ref. A07796).

1. Adăugați 20 µl de anticorp conjugat IOTest specific în fiecare eprubetă de test și, dacă este necesar, 20 µl de ser de control izotipic în fiecare eprubetă cu ser de control.
2. Adăugați 100 µl de probă de test în fiecare eprubetă. Amestecați cu grijă eprubetele în agitatorul vortex.
3. Incubați timp de 15–20 de minute la temperatura camerei (18–25°C) într-un loc ferit de lumină.
4. Apoi efectuați liza eritrocitelor. Consultați prospectul VersaLyse (ref. A09777) și urmați, de preferat, procedura denumită „cu fixare concomitentă”, care constă în adăugarea a 1 ml de amestec „Fixare și liză” preparat extemporaneu. Amestecați imediat în agitatorul vortex timp de o secundă și incubați timp de 10 minute la temperatura camerei, într-un loc ferit de lumină.
5. Centrifugați timp de 5 minute la 150 x g la temperatura camerei.
6. Îndepărtați supernatantul prin aspirare.
7. Resuspendați peleta de celule utilizând 3 ml de PBS.
8. Repetați pasul 5.
9. Îndepărtați supernatantul prin aspirare și resuspendați peleta de celule utilizând:

- 0,5 ml sau 1 ml de PBS plus 0,1% formaldehidă dacă preparatele trebuie păstrate mai puțin de 24 (de) ore. (O soluție PBS cu 0,1% formaldehidă poate fi obținută prin diluarea unei cantități de 12,5 µl de soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800) la concentrația sa de 10X în 1 ml de PBS).
- 0,5 ml sau 1 ml de PBS fără formaldehidă, dacă preparatele trebuie analizate în decurs de 2 (de) ore.

Observație: În toate cazurile, păstrați preparatele la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C, în locuri ferite de lumină.

VALORI PRECONIZATE

Nu există nicio valoare preconizată relevantă pentru acest produs.

PERFORMANȚĂ

Datele de performanță se obțin folosindu-se procedeul descris mai sus pe probe de sânge cu o vechime mai mică de 24 de ore recoltate anterior în eprubete sterile cu sare EDTA ca anticoagulant. Analiza se efectuează în decurs de 2 ore de la imunocolorare.

SPECIFICITATE

Neuron glia antigen-2 (NG2), proteoglican cunoscut și drept sulfat de condroitină proteoglican 4 sau sulfat de condroitină proteoglican asociat melanomului, este o glicoproteină membranară de tip 1 cu greutatea moleculară de 250 kDa. El este prezent în multe celule din sistemul nervos central în etapele de dezvoltare și diferențiere și joacă un rol important în angiogeneză, în vindecarea rănilor și în creșterea tumorilor. Moleculele din clasa sulfat de condroitină proteoglican pot acționa ca inhibitori pentru aderarea și migrarea celulelor (10) și pot servi ca barieră împotriva migrării celulelor în creasta neurală. Anticorpul monoclonal 7.1 recunoaște o moleculă de sulfat de condroitină proteoglican de la suprafața celulei cu o greutate moleculară de 200–220 kDa, care este recunoscută drept omologul uman al antigenului NG2 de la șoareci. Antigenul NG2 se găsește în populațiile de celule gliale umane (11). El nu este prezent în celule hematopoietice normale.

PRECIZIE

Valorile procentuale pozitive au fost stabilite folosind sânge integral îmbogățit cu celule pozitive. Fiecare probă a fost analizată de 4 ori, de două ori pe zi timp de 1 zi, pe 2 instrumente, folosind 2 loturi de reactivi cu anticorp monoclonal Anti-NG2-PE. Măsurătorile (% pozitive) au fost efectuate pe un citometru în flux Navios. Analiza a fost efectuată în conformitate cu metoda CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluarea performanței de precizie a metodelor de măsurare cantitativă).

Criteriile noastre de acceptare depind de numărul de evenimente pozitive măsurate pentru fiecare populație:

- Dacă evenimentul pozitiv < 1500, CV < 15%
- Dacă evenimentul pozitiv > 1500, CV < 10%

Sânge integral îmbogățit cu HELA linie celulară							
Număr de evenimente pozitive (medie) = 4262							
	Inter-operator	Inter-citometru	Intra-lot	Inter-lot	Inter-ciclu	Intra-testare	Total
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
REZULTATE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACURATEȚE

Acuratețea Anti-NG2-PE a fost evaluată prin compararea rezultatelor cu un reactiv de referință ca predicat pe un set de probe de sânge integral îmbogățite cu celule pozitive și analizate cu un citometru în flux Navios. Eroarea sistematică dintre test și reactivul de referință a fost determinată în funcție de diferența dintre rezultatele testului. Dacă eroarea sistematică se încadrează în intervalul de eroare permis sau dacă valoarea p nu indică o diferență semnificativă (> 0,05), rezultatele testului pentru cei doi reactivi sunt considerate ca fiind echivalente.

Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul de mai jos:

Număr de donatori = 25				
Ținta pozitivă	Medie Δ	Criterii celulă Δ%	Valoarea p	REZULTATE
Sânge integral îmbogățit cu HELA linie celulară	0,01	<5	0,978	PASS

LIMITA DE BLANC ȘI LIMITA DE DETECȚIE

A fost realizat un studiu în conformitate cu documentul CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluarea capacității de detecție în cazul procedurilor de măsurare din laborator). Limita de detecție (LOD) este cea mai redusă concentrație de analit care poate fi detectată în mod constant. Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul următor:

Positive Target	Limită de blanc (celulă/µl)	Limită de detecție (celulă/µl)
HELA Linie celulară	1	3

LIMITĂRI

1. Citometria în flux poate furniza rezultate false dacă citometrul nu a fost aliniat perfect, dacă scurgerile de fluorescență nu au fost compensate corect și dacă regiunile nu au fost poziționate corect.
2. Este de preferat să se utilizeze o tehnică de liză a eritrocitelor (RBC) cu o etapă de spălare, deoarece acest reactiv nu a fost optimizat pentru tehnici de liză „fără spălare”.
3. Se vor obține rezultate corecte și reproductibile dacă procedurile utilizate respectă prospectul tehnic și bunele practici de laborator.
4. Anticorpul conjugat din acest reactiv este calibrat astfel încât să ofere cel mai bun raport semnal specific/semnal nespecific. Prin urmare, este important ca la fiecare test să se respecte raportul volum de reactiv/volum de probă.
5. În cazul unei hiperleucocitoze, diluați sângele în PBS astfel încât să obțineți o valoare de aproximativ 5 x 10^9 leucocite/l (12).
6. În anumite stări patologice, cum ar fi insuficiența renală severă sau hemoglobinopatiile, liza eritrocitelor poate fi lentă, incompletă sau chiar imposibilă. În acest caz, se recomandă izolarea celulelor mononucleare cu ajutorul unui gradient de densitate (de exemplu, Ficoll), înainte de colorare (13).
7. În cazul pacienților tratați cu terapii cu anticorp monoclonal anti-uman, detecția antigenilor specifici țintiți poate fi diminuată sau absentă din cauza blocării parțiale sau complete asigurată de anticorpul terapeutic.
8. Rezultatele Anti-NG2-PE trebuie interpretate în lumina prezentării clinice integrale a pacientului, inclusiv: simptome, istoric clinic, date din teste suplimentare și alte informații corespunzătoare.

Consultați Anexa pentru exemple și referințe.

MĂRCI COMERCIALE

Beckman Coulter, logoul stilizat și mărcile de produse și servicii Beckman Coulter menționate aici sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Beckman Coulter, Inc. în Statele Unite și în alte țări.

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

În cazul unui pacient/utilizator/terț aflat în Uniunea Europeană sau în țări cu un regim de reglementare identic (Regulamentul 2017/746/UE privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro); dacă, în timpul utilizării acestui dispozitiv sau în urma utilizării acestuia, are loc un incident grav, raportați acest incident către producător și/sau reprezentantul său autorizat și către autoritatea națională din țara dvs.

Rezumatul secțiunilor Siguranță și Performanță este disponibil din baza de date EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORICUL REVIZUIRILOR

REVIZIA AD:	Data publicării: Octombrie 2019

REVIZIE	**Data publicării**
AW	Mai 2022
Se actualizează pentru a respecta politica globală de etichetare Beckman Coulter și cerințele regulamentului IVD-R (UE) 2017/746:	
Secțiuni adăugate	Număr BSI 2797, Utilizator propus, Relevanță clinică, Concentrație, Precizie, Acuratețe, Limita de blanc și limita de detecție, Informații suplimentare, Istoric revizuiri.
Informații adăugate	Consultați secțiunile Limitări
Actualizări referitoare la frazare și tipografice	Consultați secțiunile Procedură, Performanță, Limitări, Avertizări și măsuri de precauție, Depozitare și stabilitate.
Secțiuni eliminate	Exemplu de utilizări clinice, Reactivi, Reproductibilitate intralaborator, Liniaritate
Secțiuni actualizate	Utilizare propusă, Clasificarea riscurilor în sistemul GHS, Dovadă de deteriorare, Procedură, Anexă.

REVIZIE	**Data publicării**
AX	Aprilie 2023
Secțiuni actualizate	A fost adăugată limba kazahă
Secțiuni actualizate	Depozitare și stabilitate

Versiunea revizuită	AY
Data revizuirii	Mai 2024
Au fost actualizate traducerile	**Relevanță clinică:**
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Versiunea revizuită	AZ
Data revizuirii	Iulie 2024
Secțiuni actualizate	Istoricul revizuirilor

Cheie simboluri

Glosarul de simboluri este disponibil la beckman.com/techdocs (număr document B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	NG2
Klon	7,1
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Readus cell line
Imunoglobulin	IgG1
Vrsta	Miš
Prečiščevanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	R Phycoerythrin (PE)
Molarno razmerje	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisij	575 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA in 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugirano protitelo Anti-NG2-PE

REF B92429 100 testov; 2 ml, 20 µl/test

Za diagnostično uporabo *in vitro*.

NAMEN UPORABE

To protitelo, konjugirano s fluorokromi, omogoča kvalitativno in neavtomatizirano identifikacijo celičnih populacij, ki izražajo antigen NG2, prisoten v človeških bioloških vzorcih, z uporabo pretočne citometrije (oglejte si poglavje »Vzorci« spodaj).

NAČELO

Ta test temelji na sposobnosti specifičnih monoklonskih protiteles, da se vežejo na antigenske determinante, ki jih izražajo levkociti.

Specifično barvanje levkocitov izvedemo z inkubacijo vzorca z reagentom IOTest. Rdeče krvničke nato odstranimo z lizo, levkocite, na katere ta proces ne vpliva, pa analiziramo s pretočno citometrijo.

Pretočni citometer meri difuzijo svetlobe in fluorescenco celic. Omogoča razmejitev opazovane populacije v elektronskem oknu, opredeljenem v histogramu, ki je povezan z ortogonalno difuzijo svetlobe (stransko sipanje ali SS) in difuzijo svetlobe pri majhnemu kotu (sipanje naprej ali FS). Glede na uporabo, ki jo izbere uporabnik, lahko druge histograme, ki uporabljajo kombinacijo dveh različnih parametrov, ki so na voljo na citometru, uporabimo kot nosilce v fazi uokvirjanja.

Fluorescenco razmejenih celic analiziramo z namenom razlikovanja med pozitivno obarvanimi dogodki in tistimi, ki niso obarvani. Rezultati so izraženi kot odstotek pozitivnih dogodkov glede na vse dogodke, pridobljene z uokviranjem.

PREDVIDENI UPORABNIK

Izdelek je namenjen profesionalni laboratorijski uporabi.

KLINIČNI POMEN

Anti-NG2-PE je protitelo Anti-NG2, ki se uporablja za identifikacijo in karakterizacijo celic, ki izražajo antigen NG2, s pomočjo pretočne citometrije. S samostojnim izdelkom ni mogoče postaviti diagnostičnih zaključkov in ni namenjen taki uporabi.

Če se izdelek uporablja v kombinaciji z drugimi označevalci, se lahko uporablja pri eni ali več naslednjih funkcij:

- Uporablja se kot pripomoček pri diferencialnem diagnosticiranju hematološko neobičajnih bolnikov, pri katerih obstaja sum, da imajo hematopoetsko neoplazmo, in za spremljanje bolnikov z znano hematopoetsko neoplazmo.
- Za pomoč pri napovedi stanja bolnikov s hematopoetsko neoplazmo.

Oglejte si naslednje reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

VZORCI

Pri jemanju venske krvi je treba uporabiti sterilne epruvete, ki vsebujejo sol EDTA kot antikoagulant.

Vzorce je treba hraniti pri sobni temperaturi (18–25 °C) in jih ni dovoljeno pretresati. Vzorce je treba homogenizirati z rahlim stresanjem pred odvzemom testnega vzorca.

Vzorce je treba analizirati v 24 urah po venepunkciji.

OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI

1. Ne uporabljajte reagenta po izteku roka uporabnosti.
2. Ne zamrzujte.
3. Pred uporabo počakajte, da se ogrejejo na sobno temperaturo (18–25 °C).
4. Čim manj izpostavljajte svetlobi.
5. Preprečite mikrobno kontaminacijo reagentov, sicer lahko pride do napačnih rezultatov.
6. Z raztopinami protiteles, ki vsebujejo natrijev azid (NaN_3), je treba ravnati previdno. Ne zaužijte in se izogibajte vsakršnemu stiku s kožo, sluznico in očmi.

   Poleg tega lahko natrijev azid v kislem mediju tvori potencialno nevaren vodikov azid. Če ga je treba odstraniti, je reagent priporočljivo razredčiti z veliko količino vode pred izlivanjem v kanalizacijo, da bi se izognili kopičenju natrijevega azida v kovinskih ceveh in preprečili nevarnost eksplozije.

7. Vse vzorce krvi je treba obravnavati kot potencialno kužne in je treba z njimi ravnati previdno (predvsem je treba nositi zaščitne rokavice, halje in očala).
8. Nikoli ne pipetirajte z usti in se izogibajte vsakršnemu stiku vzorcev s kožo, sluznico in očmi.
9. Epruvete za kri in material za enkratno uporabo je treba odstraniti v zabojnike na licu mesta, namenjene sežigu.
10. Reagente in odpadke je treba odstraniti skladno z lokalnimi predpisi.

KLASIFIKACIJA NEVARNOSTI PO GHS

Ni razvrščeno kot nevarno

SDS Varnostni list je na voljo na povezavi beckmancoulter.com/techdocs

SHRANJEVANJE IN OBSTOJNOST

Ta reagent je treba shranjevati pri temperaturi od 2 do 8 °C in zaščiteno pred svetlobo pred odprtjem vial in po njem.

Rok uporabnosti zaprte viale po študiji stabilnosti: 1095 dni.

Stabilnost odprte stekleničke: reagent je stabilen 180 dni.

DOKAZ O POSLABŠANJU STANJA

Vsaka sprememba fizičnega videza reagentov lahko kaže na poslabšanje stanja in reagenta ni dovoljeno uporabljati.

Za dodatne informacije ali ob prejemu poškodovanega izdelka pokličite službo za pomoč strankam družbe Beckman Coulter na številko 800-742-2345 (ZDA ali Kanada) ali se obrnite na lokalnega predstavnika podjetja Beckman Coulter.

VSEBINA

Konzervans iz natrijevega azida lahko tvori eksplozivne spojine v kovinskih odvodnih ceveh. Oglejte si NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16. 8. 76) (Nevarnost eksplozivnih azidov).
Da bi se izognili morebitnemu kopičenju azidnih spojin, po odstranjevanju nerazredčenega reagenta sperite odtočne cevi z vodo. Odstranjevanje natrijevega azida mora biti skladno z ustreznimi lokalnimi predpisi.

POTREBEN MATERIAL, KI NI PRILOŽEN V KOMPLETU:

- Epruvete za vzorčenje in material, potreben za vzorčenje.
- Samodejne pipete s konicami za enkratno uporabo za 20, 100 in 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizo.
- Reagent za lizo rdečih krvničk z izpiranjem po lizi. Na primer: VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagent za fiksacijo levkocitov. Na primer: fiksirna raztopina IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotipska kontrola PE: Reagent IOTest (Ref. A07796).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijev fosfat; 0,145 M natrijev klorid; pH 7,2).
- Centrifugirajte.
- Samodejni stresalnik (za stresanje).
- Pretočni citometer.

POSTOPEK Z REAGENTOM VERSALYSE

Za vsak analizirani vzorec lahko poleg testne epruvete dodamo še kontrolno epruveto, v kateri so celice pomešane v prisotnosti izotipskih kontrol (Ref. A07796).

1. V vsako testno epruveto dodajte 20 µl konjugiranih protiteles IOTest, po potrebi pa 20 µl izotipske kontrole v vsako kontrolno epruveto.
2. V vsako epruveto dodajte 100 µl testnega vzorca. Epruvete nežno stresajte.
3. Inkubirajte ga 15 do 20 minut pri sobni temperaturi (18–25 °C), zaščitenega pred svetlobo.
4. Nato izvedite lizo rdečih celic. Oglejte si brošuro VersaLyse (Ref. A09777) in po možnosti upoštevajte postopek, imenovan »s hkratno fiksacijo«, po katerem je treba dodati 1 ml mešanice »Fix-and-Lyse«, pripravljene sprotno. Takoj stresajte eno sekundo in inkubirajte 10 minut pri sobni temperaturi, zaščiteno pred svetlobo.
5. Centrifugirajte 5 minut pri 150 x g na sobni temperaturi.
6. Supernatant odstranite z aspiracijo.
7. Celično usedlino znova suspendirajte z uporabo 3 ml PBS.
8. Ponovite 5. korak.
9. Supernatant odstranite z aspiracijo in znova suspendirajte celično usedlino z uporabo:

- 0,5 ml ali 1 ml PBS plus 0,1 % formaldehida, če je pripravke treba hraniti manj kot 24 ur. (0,1-% formaldehid PBS lahko dobimo z redčenjem 12,5 µl fiksirne raztopine IOTest 3 (Ref. A07800) pri njeni 10X koncentraciji v 1 ml PBS).
- 0,5 ml ali 1 ml PBS brez formaldehida, če je pripravke treba analizirati v 2 urah.

Opomba: v vseh primerih pripravke hranite na temperaturi od 2 do 8 °C in zaščitite pred svetlobo.

PRIČAKOVANE VREDNOSTI

Za ta izdelek ni pričakovane vrednosti.

USPEŠNOST

Podatke o zmogljivosti pridobimo z zgoraj opisanim postopkom na vzorcih krvi, starih manj kot 24 ur, ki so bili predhodno zbrani v sterilnih epruvetah s soljo EDTA kot antikoagulantom. Analizo se izvede v 2 urah po imunohistokemičnem barvanju.

SPECIFIČNOST

Antigen nevronske glije-2 (NG2), znan tudi kot proteoglikan hondroitin sulfata 4, ali melanomski hondroitin sulfat proteoglikan je membranski glikoprotein 250 kDa tipa 1, ki ga med razvojem in diferenciacijo izražajo številne celice centralnega živčnega sistema (CŽS) in ima pomembno vlogo pri angiogenezi, celjenju ran in rasti tumorja. Razred molekul hondroitin sulfatnega proteoglikana je lahko zaviralec adhezije in migracije celic (10) ter je lahko kot ovira za migracijo celic v živčni poti kresta. Monoklonsko protitelo 7.1 prepozna molekulo hondroitin sulfatnega proteoglikana na površini celice z molekulsko maso 200–220 kDa, znano kot humani homolog antigena podgane NG2. Antigen NG2 najdemo v človeških glialnih celičnih populacijah (11). Ni izražen na normalnih hematopoetskih celicah.

NATANČNOST

Odstotke pozitivnih vrednosti smo določili z uporabo polne krvi, obogatene s pozitivnimi celicami. Vsak vzorec je bil obravnavan 4-krat, dvakrat dnevno 1 dan na 2 napravah z uporabo 2 serij reagentov z monoklonskimi protitelesi Anti-NG2-PE. Meritve (% pozitivnih) so bile opravljene na pretočnem citometru Navios. Analiza je bila izvedena na podlagi metode CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vrednotenje natančnosti kvantitativnih merilnih metod).

Naša merila sprejemljivosti so odvisna od števila pozitivnih dogodkov, izmerjenih za vsako populacijo:

- Če je pozitiven dogodek < 1.500, je CV < 15 %
- Če je pozitiven dogodek > 1.500, je CV < 10 %

Polna kri, obogatena s HELA celično linijo							
Število pozitivnih dogodkov (povprečje) = 4262							
	Med upravljavci	Med citometri	Znotraj serije	Med serijami	Med postopki	Znotraj postopka	Skupaj
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost Anti-NG2-PE smo ocenili s primerjavo rezultatov z referenčnim reagentom kot reagentom s potrjeno skladnostjo na nizu vzorcev polne krvi, obogatene s pozitivnimi celicami, obdelane na pretočnem citometru Navios. Odstopanje med testnim in referenčnim reagentom je bilo določeno na podlagi razlike med rezultati testa. Če je odstopanje znotraj dovoljenega območja napake ali vrednost p ne kaže pomembne razlike (> 0,05), se rezultati testov za oba reagenta štejejo za enakovredne.

Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Število darovalcev = 25				
Pozitivna tarča	Povprečje Δ	Δ % celičnega kriterija	vrednost p	REZULTATI
Polna kri, obogatena s HELA celično linijo	0,01	<5	0,978	PASS

MEJA SLEPEGA VZORCA IN MEJA ZAZNAVANJA

Študija je bila izvedena skladno z metodo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zmogljivosti zaznavanja za merilne postopke v kliničnih laboratorijih). Meja zaznavanja (LOD) je najnižja koncentracija analita, ki jo je mogoče dosledno zaznati. Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Positive Target	Meja slepega vzorca (celic/µl)	Meja zaznavanja (celic/µl)
HELA Celična linija	1	3

OMEJITVE

1. S pretočno citometrijo lahko pride do napačnih rezultatov, če citometer ni bil točno nameščen, če puščanje fluorescence ni bilo ustrezno izravnano in če območja niso bila natančno pozicionirana.
2. Priporočljivo je uporabiti tehniko liziranja RBC s korakom pranja, saj ta reagent ni optimiziran za tehnike liziranja »brez pranja«.
3. Točne in ponovljive rezultate se bo doseglo, če se bo uporabilo postopke, ki so skladni s priloženim tehničnim listom in z načeli dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugirano protitelo tega reagenta je umerjeno, tako da zagotavlja najboljše razmerje med specifičnim/nespecifičnim signalnim razmerjem. Zato je pomembno, da pri vsakem testu upoštevamo razmerje med količino reagenta/količino vzorca.
5. V primeru hiperlevkocitoze razredčite kri v PBS, da se tako dobi vrednost približno 5 x 10^9 levkocitov/l (12).
6. Pri nekaterih bolezenskih stanjih, kot je huda ledvična odpoved ali hemoglobinopatije, je lahko liza rdečih krvničk počasna, nepopolna ali celo nemogoča. V tem primeru je priporočljivo izolirati mononuklearne celice z uporabo gradienta gostote (na primer Ficoll) pred barvanjem (13).
7. Pri bolnikih, ki se zdravijo s terapijo z antihumanimi monoklonskimi protitelesi, je lahko odkrivanje specifičnih ciljnih antigenov zmanjšano ali pa ga sploh ni zaradi delnega ali popolnega blokiranja s strani terapevtskega protitelesa.
8. Rezultate Anti-NG2-PE je treba razlagati v luči celotne klinične slike bolnika, vključno s: simptomi, anamnezo, podatki dodatnih testov in drugimi ustreznimi podatki.

Primere in reference si oglejte v prilogi.

BLAGOVNE ZNAMKE

Beckman Coulter, stiliziran logotip ter znamke izdelkov in storitev podjetja Beckman Coulter, omenjene v tem dokumentu, so blagovne znamke ali registrirane blagovne znamke podjetja Beckman Coulter, Inc. v Združenih državah Amerike in drugih državah.

DRUGI PODATKI

Za bolnike/uporabnike/tretje osebe v Evropski uniji in v državah z enakim regulativnim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskih pripomočkih za in vitro diagnostiko): če med uporabo tega pripomočka ali kot rezultat njegove uporabe pride do resnega incidenta, o tem poročajte proizvajalcu in/ali njegovemu pooblaščenemu predstavniku in svojemu nacionalnemu organu.

Summary of Safety and Performance (Povzetek o varnosti in zmogljivosti) je na voljo v bazi podatkov EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ZGODOVINA REVIZIJ

REVIDIRANA IZDAJA AD:	Datum izdaje: Oktober 2019

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AW	Maj 2022
Posodobitve za skladnost z globalno politiko označevanja Beckman Coulter in v skladu z zahtevami IVD-R (EU) 2017/746:	
Dodana poglavja	Številka BSI 2797, predvideni uporabnik, klinični pomen, koncentracija, točnost, natančnost, meja slepega vzorca in meja zaznavanja, dodatne informacije, zgodovina revizij.
Dodatne informacije	Oglejte si poglavja Omejitve
Izrazne ali tipografske posodobitve	Oglejte si poglavja Postopek, Zmogljivost, Omejitve, Opozorila in previdnostni ukrepi, Shranjevanje in stabilnost.
Odstranjena poglavja	Primer klinične uporabe, reagenti, ponovljivost znotraj laboratorija, linearnost
Posodobljena poglavja	Predvidena uporaba, Klasifikacija nevarnosti po GHS, Dokaz o poslabšanju stanja, Postopek, Priloga.

REVIZIJA	**Datum izdaje**
AX	April 2023
Posodobljena poglavja	Dodaj kazaščino
Posodobljena poglavja	Shranjevanje in stabilnost

Revidirana različica	AY
Revidiran datum	Maj 2024
Posodobljeni prevodi	**Klinični pomen:**
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Revidirana različica	AZ
Revidiran datum	Julij 2024
Posodobljena poglavja	Zgodovina revizij

Seznam simbolov

Glosar simbolov je na voljo na beckman.com/techdocs (številka dokumenta B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	NG2
Klon	7,1
Hibridom	SP2/0 x balb/c
Imunogen	Readus cell line
Imunoglobulin	IgG1
Vrste	Miš
Prečišćavanje	Afinitetna hromatografija
Fluorohrom	R Phycoerythrin (PE)
Molarni odnos	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	488 nm
Vršna vrednost emisije	575 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA i 0,1% NaN_3

IOTest
Konjugovano antitelo Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 ml, 20 µl/testu

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.

NAMENA

Ovo fluorohromno-konjugovano antitelo omogućava kvalitativnu i neautomatizovanu identifikaciju ćelijskih populacija koje eksprimiraju NG2 antigen prisutnih u humanim biološkim uzorcima pomoću protočne citometrije (pogledati odeljak „Uzorci“ u nastavku).

PRINCIP

Ovaj test se zasniva na sposobnosti određenih monoklonskih antitela da se vežu za antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Specifično bojenje leukocita se obavlja inkubiranjem uzorka sa reagensom IOTest. Eritrociti se zatim uklanjaju liziranjem, a leukociti, na koje ovaj proces ne utiče, analiziraju se protočnom citometrijom.

Protočni citometar meri difuziju svetlosti i fluorescenciju ćelija. On omogućava razgraničenje populacije od interesa u okviru elektronskog prozora definisanog na histogramu, što je u korelaciji sa ortogonalnom difuzijom svetlosti (bočno rasejanje ili SS) i difuzijom uskougaone svetlosti (prednje rasejanje ili FS). Drugi histogrami koji kombinuju dva različita parametra koja postoje na citometru mogu se koristiti kao podrška u fazi regulacije, u zavisnosti od primene koju je korisnik odabrao.

Fluorescencija ograničenih ćelija se analizira kako bi se razlikovali pozitivno obojeni događaji od neobojenih događaja. Rezultati su prikazani kao procenat pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobijene regulacijom.

PREDVIĐENI KORISNIK

Ovaj proizvod je namenjen za upotrebu od strane laboratorijskih stručnjaka.

KLINIČKI ZNAČAJ

Anti-NG2-PE je Anti-NG2 antitelo koje se koristi za identifikaciju i karakterizaciju ćelija koje eksprimiraju NG2 antigen pomoću protočne citometrije. Ovaj proizvod sam po sebi ne može da se koristi za donošenje bilo kog dijagnostičkog zaključka niti je za to namenjen.

Kada se koristi u kombinaciji sa drugim markerima, ovaj proizvod može da se koristi kod jedne ili više od sledećih funkcija:

- Kao pomoć u diferencijalnoj dijagnozi kod hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu i za nadgledanje pacijenata sa poznatom hematopoetskom neoplazmom.
- Kao pomoć u prognozi za pacijente koji imaju hematopoetsku neoplazmu.

Pogledajte sledeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

UZORCI

Uzorci iz venske krvi moraju se uzimati sterilnim epruvetama koje sadrže EDTA so kao antikoagulans.

Uzorke treba čuvati na sobnoj temperaturi (18–25°C) i ne tresti. Uzorke treba pre uzimanja uzorka za testiranje homogenizovati blagim mešanjem.

Uzorci se moraju analizirati u roku od 24 sati od venepunkcije.

UPOZORENJE I MERE OPREZA

1. Ne koristite reagense nakon isteka roka trajanja.
2. Ne zamrzavajte.
3. Pre upotrebe sačekajte da se približi sobnoj temperaturi (18–25°C).
4. Izbegavati izloženost svetlosti.
5. Sprečite mikrobsku kontaminaciju reagenasa ili se mogu javiti netačni rezultati.
6. Rastvorima antitela koji sadrže natrijum azid (NaN_3) treba pažljivo rukovati. Ne uzimajte interno i izbegavajte svaki dodir sa kožom, sluzokožom i očima.

   Pored toga, u kiseloj sredini, natrijum azid može formirati potencijalno opasnu hidrazoinsku kiselinu. Ako je potrebno da se odloži u otpad, preporučuje se da se reagens razblaži u velikoj zapremini vode pre sipanja u sistem kanalizacije kako bi se izbeglo taloženje natrijum azida u metalnim cevima i sprečila opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno infektivnim i njima se mora pažljivo rukovati (posebno: nošenje zaštitnih rukavica, odeće i zaštitnih naočara).
8. Nikada ne pipetirajte ustima i izbegavajte svaki kontakt uzoraka sa kožom, sluzokožom i očima.
9. Epruvete za uzorak krvi i potrošni materijal koji je korišćen za rukovanje treba odložiti u ad hoc kontejnere predviđene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad treba ukloniti prema lokalnim zahtevima.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno

SDS Dokument „Bezbednosni list“ dostupan je na internet stranici beckmancoulter.com/techdocs

SKLADIŠTENJE I STABILNOST

Ovaj reagens se mora čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C i zaštićen od svetlosti, pre i posle otvaranja bočice.

Ispitivanje roka trajanja zatvorene bočice u odnosu na stabilnost: 1095 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dan(a).

DOKAZI POGORŠANJA

Bilo koja promena u fizičkom izgledu reagensa može ukazivati na pogoršanje i reagens ne treba koristiti.

Za dodatne informacije ili ako dobijete oštećen proizvod, pozovite korisnički servis kompanije Beckman Coulter na broj 800-742-2345 (SAD ili Kanada) ili pozovite svog lokalnog predstavnika kompanije Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans sa natrijum azidom može formirati eksplozivna jedinjenja u metalnim odvodnim vodovima. Pogledajte „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (16.8.76.) (Bilten Nacionalnog instituta za bezbednost i zdravlje na radu: Opasnost od eksplozivnih azida).
Da biste sprečili moguće taloženje jedinjenja azida, isperite cevi za otpad vodom nakon odlaganja u otpad nerazblaženog reagensa. Odlaganje u otpad natrijum azida mora biti u skladu sa odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI SE NE ISPORUČUJU UZ KOMPLET:

- Epruvete za uzorkovanje i materijal potreban za uzorkovanje.
- Automatske pipete sa nastavcima za jednokratnu upotrebu za 20 100 µl i 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizu.
- Reagens za liziranje eritrocita sa fazom ispiranja nakon liziranja. Na primer: VersaLyse (referentni broj A09777).
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primer: IOTest 3 fiksativni rastvor (referentni broj A07800).
- Izotipska kontrola PE: IOTest reagens (referentni broj A07796).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijum-fosfat; 0,145 M natrijum-hlorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska mešalica (vrtložnog tipa).
- Protočni citometar.

POSTUPAK SA VERSALYSE REAGENSOM

Za svaki analiziran uzorak je pored epruvete za uzorak moguće dodati i jednu kontrolnu epruvetu u kojoj se ćelije mešaju u prisustvu izotipske kontrole (referentni broj A07796).

1. Dodajte 20 µl specifičnog IOTest konjugovanog antitela u svaku epruvetu za uzorak i, ako je to potrebno, 20 µl kontrole izotipa u svaku kontrolnu epruvetu.
2. Dodajte 100 µl uzorka za testiranje u svaku epruvetu za uzorak. Pažljivo izmešajte epruvete u vrtložnoj mešalici.
3. Inkubirajte 15 do 20 minuta na sobnoj temperaturi (18–25°C), zaštićeno od svetlosti.
4. Zatim izvršite liziranje crvenih ćelija. Pogledajte VersaLyse (referentni broj A09777) letak i poželjno pratite postupak pod nazivom „sa istovremenom fiksacijom“, koji se sastoji od dodavanja 1 ml nezavisno pripremljene smeše za fiksiranje i liziranje („Fix-and-Lyse“). Odmah izmešajte u vrtložnoj mešalici jednu sekundu i inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi, zaštićeno od svetlosti.
5. Centrifugirajte 5 minuta na 150 x g na sobnoj temperaturi.
6. Uklonite supernatant aspiracijom.
7. Ponovo suspendujte talog ćelija u 3 ml PBS-a.
8. Ponovite korak 5.
9. Aspiracijom uklonite supernatant i ponovo suspendujte talog ćelija u:

- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a plus 0,1% formaldehida ako će se preparati čuvati kraće od ovog broja sati: 24. (PBS sa 0,1% formaldehida može se dobiti razblaživanjem 12,5 µl IOTest 3 rastvora za fiksiranje (referentni broj A07800) u 10X koncentraciji u 1 ml PBS-a).
- 0,5 ml ili 1 ml PBS-a bez formaldehida ako će se preparati analizirati u roku od ovog broja sati – 2.

Napomena: U svim slučajevima preparate čuvajte na temperaturi između 2°C i 8°C i zaštićene od svetlosti.

OČEKIVANE VREDNOSTI

Ne postoji očekivana vrednost relevantna za ovaj proizvod.

PERFORMANSE

Podaci o delovanju dobijeni su pomoću prethodno opisanog postupka na manje od 24 sata starim uzorcima krvi koji su prethodno prikupljeni sterilnim epruvetama za uzorke sa EDTA solju kao antikoagulansom. Analiza se vrši u roku od 2 sata od imunobojenja.

SPECIFIČNOST

Neuron glia antigen-2 (NG2), proteoglikan takođe poznat kao hondroitin sulfat proteoglikan 4 ili hondroitin sulfat proteoglikan povezan sa melanomom je membranski glikoprotein tipa 1 molekulske težine 250 kDa kojeg eksprimiraju mnoge ćelije centralnog nervnog sistema (CNS) tokom razvoja i diferencijacije i koji ima važne uloge u angiogenezi, zarastanju rana i rastu tumora. Klasa molekula hondroitin sulfat proteoglikana mogu biti inhibitori adhezije i migracije ćelija (10) i mogu poslužiti kao prepreke za migraciju ćelija na putanji neuralnog grebena. 7.1 monoklonalno antitelo prepoznaje molekul hondroitin sulfat proteoglikana na površini ćelije molekulske težine od 200–220 kDa koji je poznat kao ljudski homolog NG2 antigena pacova. NG2 antigen se nalazi u populaciji ljudskih glijalnih ćelija (11). On se ne eksprimira na normalnim hematopoetskim ćelijama.

PRECIZNOST

Procenat pozitivnih vrednosti utvrđen je pomoću pune krvi obogaćene pozitivnim ćelijama. Svaki uzorak je analiziran 4 puta, dva puta dnevno tokom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagenasa monoklonskog antitela Anti-NG2-PE. Merenja (% pozitivnog) su izvršena na Navios protočnom citometru. Analiza je obavljena na osnovu CLSI metoda EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procena preciznosti učinka kvantitativnih metoda merenja).

Naši kriterijumi prihvatljivosti zavise od broja pozitivnih događaja izmerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivan događaj <1.500, CV <15%
- Ako je pozitivan događaj >1.500, CV <10%

Puna krv obogaćena HELA ćelijskom linijom							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrednost) = 4262							
	Između više operatera	Između više citometara	Unutar jednog lota	Između više lotova	Između više analiziranja	Unutar jednog analiziranja	Ukupno
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TAČNOST

Tačnost Anti-NG2-PE testa procenjena je poređenjem rezultata sa referentnim reagensom kao osnovom na kompletu uzoraka pune krvi obogaćene pozitivnim ćelijama analiziranim na Navios protočnom citometru. Odstupanje između testa i referentnog reagensa određeno je na osnovu razlike između rezultata testova. Ako je odstupanje u okviru dozvoljenog opsega greške ili p-vrednost ne ukazuje na značajnu razliku (>0,05), rezultati testova za ova dva reagensa se smatraju ekvivalentnim.

Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli u nastavku:

Broj donora = 25				
Pozitivan cilj	Srednja vrednost Δ	Δ % ćelijskih kriterijuma	p-vrednost	REZULTATI
Puna krv obogaćena HELA ćelijskom linijom	0,01	<5	0,978	PASS

LIMIT SLEPE PROBE I LIMIT DETEKCIJE

Izvršeno je ispitivanje u skladu s protokolom CLSI EP17-A2, „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Procena sposobnosti detekcije za postupke merenja u kliničkoj laboratoriji). Limit detekcije (LoD) je najniža koncentracija analita koja se može dosledno detektovati. Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli:

Positive Target	Limit slepe probe (ćelija/µl)	Limit detekcije (ćelija/µl)
HELA Ćelijska linija	1	3

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti netačne rezultate ako citometar nije pravilno postavljen, ako fluorescentna curenja nisu ispravno kompenzirana ili ako regioni nisu pažljivo postavljeni.
2. Poželjno je koristiti tehniku liziranja RBC sa korakom ispiranja jer ovaj reagens nije optimizovan za tehnike liziranja „bez pranja“.
3. Tačni i ponovljivi rezultati će se dobijati sve dok su korišćeni postupci u skladu sa listom sa tehničkim podacima i postupci kompatibilni sa smernicama dobre laboratorijske prakse.
4. Konjugovano antitelo ovog reagensa je kalibrisano tako da ponudi najbolji odnos specifičnog i nespecifičnog signala. Prema tome, važno je u svakom testu koristiti utvrđeni odnos zapremine reagensa i zapremine uzorka.
5. U slučaju hiperleukocitoze, razredite krv u PBS-u kako biste dobili vrednost od približno 5 x 10^9 leukocita/l (12).
6. U određenim stanjima bolesti, kao što su teška bubrežna insuficijencija ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak nemoguće. U tom slučaju se pre bojenja preporučuje izoliranje mononuklearnih ćelija upotrebom gradijenta gustine (na primer, fikol) (13).
7. Kod pacijenata lečenih terapijama antihumanim monoklonskim antitelima, detekcija specifičnih ciljanih antigena može biti umanjena ili odsutna usled delimične ili potpune blokade od strane terapijskog antitela.
8. Rezultate Anti-NG2-PE testa treba tumačiti u svetlu celokupne kliničke slike pacijenta, uključujući: simptome, kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i druge prikladne informacije.

Za primere i referentne materijale pogledati Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizovani logotip i Beckman Coulter robni i servisni žigovi koji se navode u ovom dokumentu jesu žigovi ili registrovani žigovi kompanije Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim zemljama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta/korisnika/treću stranu u Evropskoj uniji i zemljama sa identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o in vitro dijagnostičkim medicinskim sredstvima); ako je tokom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe došlo do ozbiljnog incidenta, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlašćenom predstavniku i svom nacionalnom organu.

Dokument Summary of Safety and Performance (Sažetak informacija o bezbednosti i učinku) dostupan je u EUDAMED bazi podataka: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORIJA REVIZIJA

REVIZIJA AD:	Datum izdavanja: Oktobar, 2019.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AW	Maj 2022.
Ažurirano radi usklađenosti sa smernicama za globalno obeležavanje kompanije Beckman Coulter u skladu sa zahtevima IVD-R (EU)2017/746:	
Dodati odeljci	BSI 2797 broj, Predviđeni korisnik, Klinički značaj, Koncentracija, Preciznost, Tačnost, Limit slepe probe i limit detekcije, Dodatne informacije, Istorija revizija.
Dodate informacije	Pogledati odeljke Ograničenja
Ažuriranje formulacija ili tipografije	Pogledati odeljke Postupak, Učinak, Ograničenja, Upozorenja i mere opreza, Čuvanje i stabilnost.
Uklonjeni odeljci	Primeri kliničkih primena, Reagensi, Intralaboratorijska reproducibilnost, Linearnost
Dopunjeni odeljci	Namena, GHS klasifikacija opasnosti, Dokaz propadanja, Postupak, Dodatak.

REVIZIJA	**Datum izdavanja**
AX	April 2023
Dopunjeni odeljci	Dodajte kazaški
Dopunjeni odeljci	Skladištenje i stabilnost

Revidirana verzija	AY
Datum revizije	Maj 2024
Ažurirani prevodi	**Klinički značaj:**
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Revidirana verzija	AZ
Datum revizije	Jul 2024
Dopunjeni odeljci	Istorija revizija

Ključ za simbole

Rečnik simbola je dostupan na adresi beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Specifikācijas
Specifika	NG2
Klons	7,1
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunogēns	Readus cell line
Imūnglobulīns	IgG1
Suga	Pele
Attīrīšana	Afinitātes hromatogrāfija
Fluorohroms	R Phycoerythrin (PE)
Molārā attiecība	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ ierosme	488 nm
Izstarojuma lielākā vērtība	575 nm
Buferšķīdums	PBS pH 7,2 ar 2 mg/ml BSA un 0,1 % NaN_3

IOTest
Konjugētā antiviela
Anti-NG2-PE

REF B92429 100 testi; 2 ml, 20 µl uz testu

***In vitro* diagnostikas lietošanai.**

PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

Ar fluorohromu konjugētā antiviela nodrošina tādu šūnu populāciju kvalitatīvo un neautomatizēto noteikšanu, kam ir NG2 antigēna ekspresija un kas ir cilvēka bioloģiskajos paraugos, izmantojot plūsmas citometriju (skatīt tālāk sadaļu „Paraugi").

PRINCIPS

Šī testa pamatā ir specifisku monoklonālu antivielu spēja saistīties ar leikocītu izdalītām antigēnu determinantēm.

Leikocītu specifiskā iekrāsošana tiek veikta, inkubējot paraugu ar IOTest reaģentu. Pēc tam eritrocīti tiek atdalīti lizēšanas procesā, un leikocīti, ko šis process neietekmē, tiek analizēti, izmantojot plūsmas citometriju.

Plūsmas citometrs mēra gaismas difūziju un šūnu fluorescenci. Tādēļ ir iespējama interesējošās populācijas ierobežošana elektroniskajā logā, kas definēts histogrammā, kas korelē ar gaismas ortogonālo difūziju (sānu izkliede jeb SS) un šaurleņķa gaismas difūziju (priekšējā izkliede jeb FS). Kā papildu metodes sinhronizācijas procesā iespējams izmantot citas histogrammas, kurās iespējams kombinēt divus dažādus citometrā pieejamos parametrus atkarībā no lietotāja izvēlētā izmantojuma.

Tiek analizēta atdalīto šūnu fluorescence, lai atšķirtu pozitīvi iekrāsotos notikumus no neiekrāsotajiem. Rezultāti tiek izteikti kā procentuālais lielums no pozitīviem notikumiem attiecībā pret visiem notikumiem, kas iegūti selekcijā.

PAREDZĒTAIS LIETOTĀJS

Šis produkts ir paredzēts profesionālai lietošanai laboratorijā.

KLĪNISKAIS NOZĪMĪGUMS

Anti-NG2-PE ir Anti-NG2 antiviela, ko izmanto, lai ar plūsmas citometriju noteiktu un raksturotu šūnas, kas ekspresē NG2 antigēnu. Ar vienu pašu šo izstrādājumu nevar iegūt nekādu diagnostisku secinājumu, un tas nav tam paredzēts.

Izmantojot kopā ar citiem marķieriem, šo izstrādājumu var lietot vienai vai vairākām tālāk norādītajām funkcijām.

- Lai palīdzētu veikt diferenciāldiagnostiku pacientiem ar hematoloģiskām patoloģijām, kuriem, iespējams, ir asinsrades neoplazma, un lai kontrolētu pacientus ar zināmu asinsrades neoplazmu.
- Lai palīdzētu noteikt prognozi pacientiem ar asinsrades neoplazmu.

Skatiet tālāk sniegtās atsauces.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

PARAUGI

Venozās asinis jāņem, izmantojot sterilas mēģenes, kurās kā antikoagulants ir izmantots EDTA sāls.

Paraugi ir jāuzglabā istabas temperatūrā (18–25 °C), un tos nedrīkst sakratīt. Pirms testa parauga ņemšanas ir jāveic paraugu homogenizācija, viegli saskalojot paraugus.

Paraugu analīze ir jāveic 24 stundu laikā pēc vēnas punkcijas.

BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

1. Neizmantojiet reaģentu pēc derīguma termiņa beigām.
2. Nedrīkst sasaldēt.
3. Pirms izmantošanas ļaujiet tam sasilt līdz istabas temperatūrai (18–25 °C).
4. Minimizējiet ekspozīciju gaismas iedarbībai.
5. Izvairieties no reaģentu bakteriālas kontaminācijas, jo iespējami viltus rezultāti.
6. Strādājot ar antivielu šķīdumiem, kuru sastāvā ir nātrija azīds (NaN_3), jāievēro piesardzība. Neizmantojiet iekšķīgi un nepieļaujiet saskari ar ādu, gļotādu un acīm.

   Turklāt skābā vidē nātrija azīds var radīt potenciāli bīstamo hidrazoīdskābi. Ja to nepieciešams izmest, reaģentu ieteicams šķīdināt lielā daudzumā ūdens un izliet to kanalizācijas sistēmā, lai novērstu nātrija azīda uzkrāšanos metāla caurulēs un novērstu sprādziena risku.
7. Visi asins paraugi ir jāuzskata par potenciāli infekcioziem, un ar tiem jārīkojas, ievērojot piesardzību (respektīvi, jāvalkā aizsargcimdi, aizsargtērpi un brilles).
8. Nekādā gadījumā neizmantojiet muti, lai darbotos ar pipeti. Paraugi nekādā gadījumā nedrīkst saskarties ar ādu, gļotādu un acīm.

9. Darbā izmantotās asiņu mēģenes un vienreizlietojamie materiāli ir jāizmet ad hoc konteineros, kas paredzēti sadedzināšanai.
10. Ir jāveic reaģentu un atkritumu utilizācija atbilstoši vietējām prasībām.

ĶĪMISKO VIELU KLASIFICĒŠANAS UN MARĶĒŠANAS VISPĀRĒJI SASKAŅOTĀS SISTĒMAS BĪSTAMĪBAS KLASIFIKĀCIJA

Nav klasificēts kā bīstams

SDS Drošības datu lapa ir pieejama vietnē beckmancoulter.com/techdocs

GLABĀŠANA UN STABILITĀTE

Reaģents ir jāuzglabā 2–8 °C temperatūrā un jāsargā no gaismas pirms un pēc flakona atvēršanas.

Aizvērta flakona glabāšanas laiks saskaņā ar stabilitātes pētījumu: 1095 dienas.

Atvērta flakona stabilitāte: reaģents ir stabils 180 dienas.

SADALĪŠANĀS PAZĪMES

Jebkuras reaģentu pazīmju izmaiņas var norādīt, ka reaģents sadalās un to nedrīkst izmantot.

Lai iegūtu papildu informāciju vai arī ja saņemtais izstrādājums ir bojāts, zvaniet Beckman Coulter klientu servisam pa tālruni 800-742-2345 (ASV vai Kanāda) vai sazinieties ar vietējo Beckman Coulter pārstāvi.

SATURS

Nātrija azīda konservants var izveidot sprādzienbīstamus savienojumus metāla notekcaurulēs. Skatīt NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (NIOSH biļetens: Azīdu sprādzienbīstamība) (16.8.76.).
Lai nepieļautu iespējamo azīda savienojumu uzkrāšanos, pēc neatšķaidītā reaģenta izmešanas izskalojiet kanalizācijas caurules ar ūdeni. Nātrija azīda izmešana ir jāveic saskaņā ar atbilstošajiem vietējiem noteikumiem.

NEPIECIEŠAMIE MATERIĀLI, KAS NEIETILPST KOMPLEKTĀ

- Paraugu ņemšanai nepieciešamās mēģenes un materiāli.
- Automātiskās pipetes ar vienreizlietojamiem uzgaļiem, kas paredzētas 20, 100 un 500 µl.
- Plastmasas hemolīzes mēģenes.
- Eritrocītu lizēšanas reaģents ar mazgāšanas fāzi pēc lizēšanas. Piemērs: VersaLyse (ats. A09777).
- Leikocītu fiksācijas reaģents. Piemērs: IOTest 3 fiksatīvais šķīdums (ats. A07800).
- Izotipa kontrole PE: IOTest reaģents (ats. A07796).
- Buferšķīdums (PBS: 0,01 M nātrija fosfāta; 0,145 M nātrija hlorīda; pH 7,2).
- Centrifugējiet.
- Automātisks maisītājs (samaisīšanas tipa).
- Plūsmas citometrs.

PROCEDŪRA AR REAĢENTU VERSALYSE

Katram analizētajam paraugam papildus testa mēģenei var izmantot vienu kontroles mēģeni, kurā šūnas tiek sajauktas izotipu kontroles klātbūtnē (ats. A07796).

1. Katrai testa mēģenei pievienojiet 20 µl specifiskas IOTest konjugētas antivielas un, ja nepieciešams, katrai kontroles mēģenei pievienojiet 20 µl izotipa kontroles.
2. Pievienojiet 100 µl testa parauga katrai mēģenei. Saudzīgi samaisiet mēģenes.
3. Inkubējiet 15–20 minūtes istabas temperatūrā (18–25 °C), sargājot no gaismas.
4. Pēc tam veiciet eritrocītu lizēšanu. Skatiet VersaLyse (ats. A09777) lietošanas instrukciju, un ir vēlams izmantot procedūru ar nosaukumu „ar vienlaicīgu fiksāciju", kas tiek veikta, pievienojot 1 ml ekstemporāli izgatavota „Fix-and-Lyse" maisījuma. Nekavējoties samaisiet uz vienu sekundi un inkubējiet mēģeni 10 minūtes istabas temperatūrā, sargājot to no gaismas iedarbības.
5. Centrifugējiet 5 minūtes istabas temperatūrā, izmantojot 150 x g.
6. Aspirējot noņemiet virsējo slāni.
7. Atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu ar 3 ml PBS.
8. Atkārtojiet 5. darbību.
9. Aspirējot noņemiet virsējo slāni un atkārtoti šķaidiet šūnu centrifugātu, izmantojot:

- 0,5 ml vai 1 ml PBS ar 0,1 % formaldehīda, ja preparātus ir paredzēts uzglabāt mazāk nekā 24 stundas. (0,1 % formaldehīda PBS var iegūt, atšķaidot 12,5 µl IOTest 3 fiksācijas šķīduma (ats. A07800) 10X koncentrācijā ar 1 ml PBS).
- 0,5 ml vai 1 ml PBS bez formaldehīda, ja ir paredzēts analizēt sagataves 2 stundu laikā.

Piezīme. Sagatavotos maisījums vienmēr uzglabājiet 2–8 °C temperatūrā un sargājiet no gaismas.

PAREDZAMĀS VĒRTĪBAS

Šim izstrādājumam nav saistītas paredzamās vērtības.

VEIKTSPĒJA

Veiktspējas dati tiek iegūti, izmantojot iepriekš aprakstīto procedūru mazāk nekā 24 stundu veciem asins paraugiem, kas iepriekš paņemti sterilās mēģenēs ar EDTA sāli kā antikoagulantu. Analīze tiek veikta 2 stundu laikā pēc imūnkrāsošanas metodes izmantošanas.

SPECIFIKA

Neirona glijas antigēns-2 (NG2), proteoglikāns, kas zināms arī kā hondroitīna sulfāta proteoglikāns 4 vai ar melanomu saistītais hondroitīna sulfāta proteoglikāns, ir 250 kDa I tipa membrānas glikoproteīns, kuru ekspresē daudzas centrālās nervu sistēmas (CNS) šūnas attīstības un diferenciācijas laikā un kuram ir svarīga loma angioģenēzē, brūču dzīšanā un audzēja attīstībā. Hondroitīna sulfāta proteoglikāna molekulu klase var būt šūnu adhēzijas un migrācijas inhibitori (10) un var kalpot kā šūnu migrācijas barjeras nervu kores vadīšanas ceļā. Monoklonālā antiviela 7.1 atpazīst šūnas virsmas hondroitīna sulfāta proteoglikāna molekulu ar molekulāro svaru 200–220 kDa, kas zināms kā cilvēka homologs žurkas NG2 antigēnam. NG2 antigēns ir atrodams uz cilvēka glijas šūnu populācijām (11). Tas nav ekspresēts uz parastām hematopoētiskām šūnām.

PRECIZITĀTE

Procentuāli pozitīvās vērtības tika noteiktas, izmantojot pilnasinis, kam pievienotas pozitīvas šūnas. Katru paraugu analizēja 4 reizes: divreiz dienā 1 dienu 2 instrumentos, izmantojot 2 partijas Anti-NG2-PE monoklonālu antivielu reaģentu. Mērījumus (% pozitīvs) veica Navios plūsmas citometrā. Analīzi veica, pamatojoties uz CLSI metodi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatīvo mērīšanas metožu precizitātes veiktspējas novērtēšana).

Mūsu pieņemšanas kritēriji ir atkarīgi no katrai populācijai noteikto pozitīvo notikumu skaita.

- Ja pozitīvs notikums < 1500, variācijas koeficients < 15 %
- Ja pozitīvs notikums > 1500, variācijas koeficients < 10 %

Pilnasins, kam pievienota HELA šūnu līnija							
Pozitīvo notikumu skaits (aritmētiskais vidējais) = 4262							
	Starp operatoriem	Starp citometriem	Partijā	Starp partijām	Starp analīzēm	Analīzē	Kopā
Variācijas koeficients (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
REZULTĀTI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRECIZITĀTE

Anti-NG2-PE precizitāte tika novērtēta, rezultātus no pilnasins paraugu kopas, kam pievienotas pozitīvas šūnas un kas analizēti Navios plūsmas citometrā, salīdzinot ar atsauces reaģentu kā predikātu. Novirzi starp testa un atsauces reaģentu noteica, pamatojoties uz testu rezultātu atšķirību. Ja novirze atbilst pieļaujamajam kļūdas diapazonam vai p vērtība neliecina par nozīmīgu atšķirību (> 0,05), tad abu reaģentu testu rezultāti uzskatāmi par līdzvērtīgiem.

Iegūtie rezultāti ir apkopoti nākamajā tabulā.

Donoru skaits = 25				
Pozitīvais mērķis	Aritmētiskais vidējais Δ	Δ % šūnu kritēriji	p vērtība	REZULTĀTI
Pilnasins, kam pievienota HELA šūnu līnija	0,01	<5	0,978	PASS

TUKŠO PARAUGU ROBEŽVĒRTĪBA UN NOTEIKŠANAS ROBEŽVERTĪBA

Pētījums tika veikts saskaņā ar CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klīniskās laboratorijas mērījumu procedūru noteikšanas spēju izvērtējums). Noteikšanas robežvērtība (NR) ir zemākā analīta koncentrācija, ko iespējams konsekventi noteikt. Iegūtie rezultāti ir apkopoti tālāk tabulā.

Positive Target	Tukšo paraugu robežvērtība (šūnas/µl)	Noteikšanas robežvērtība (šūnas/µl)
HELA Šūnu līnija	1	3

IEROBEŽOJUMI

1. Ja citometrs nav novietots precīzi līdzeni, ja nav pareizi kompensētas fluorescences noplūdes un ja reģioni nav uzmanīgi novietoti, plūsmas citometrija var radīt viltus rezultātus.
2. Ir ieteicams izmantot RBC lizēšanas paņēmienu ar mazgāšanas darbību, jo šis reaģents nav optimizēts izmantošanai lizēšanas paņēmienā „bez mazgāšanas".
3. Iegūtie rezultāti ir precīzi un reproducējami, ja visas izmantotās procedūras tiek izpildītas atbilstoši tehniskajai lietošanas instrukcijai un ir saskaņā ar labu laboratorijas praksi.
4. Šī reaģenta konjugētā antiviela ir kalibrēta tā, lai nodrošinātu labāko specifiska signāla/nespecifiska signāla attiecību. Tāpēc ir ļoti svarīgi ievērot reaģenta tilpuma/parauga tilpuma attiecību katrā testā.
5. Hiperleikocitozes gadījumā atšķaidiet asinis ar PBS, lai iegūtā vērtība būtu apmēram 5 x 10^9 leikocīti/l (12).
6. Dažos slimību stāvokļos, piemēram, izteiktas nieru mazspējas vai hemoglobinopātijas gadījumā, eritrocītu lizēšana var būt lēna, nepilnīga vai pat neiespējama. Šajā gadījumā pirms iekrāsošanas ir ieteicams izolēt mononukleārās šūnas, izmantojot blīvuma gradientu (piemēram, Ficoll) (13).
7. Pacientiem, ko ārstē ar anti-cilvēka monoklonālas antivielas līdzekļiem, specifisku mērķa antigēnu noteikšana var būt pasliktināta vai tās var nebūt, jo to daļēji vai pilnībā bloķē terapeitiskā antiviela.
8. Anti-NG2-PE rezultāti jāinterpretē, ņemot vērā pacienta kopējo klīnisko stāvokli, tajā skaitā simptomus, klīnisko vēsturi, papildu testu rādītājus un citu atbilstošu informāciju.

Pielikumā skatiet piemērus un atsauces.

PREČU ZĪMES

Beckman Coulter, stilizētais logotips un Beckman Coulter preču un pakalpojumu zīmes, kas minētas šeit, ir Beckman Coulter, Inc. preču zīmes vai reģistrētas preču zīmes Amerikas Savienotajās Valstīs un citās valstīs.

PAPILDINFORMĀCIJA

Attiecībā uz pacientiem/lietotājiem/trešajām personām Eiropas Savienībā vai valstīs ar identisku regulatīvo režīmu (Regula (ES) 2017/746 par in vitro diagnostikas medicīniskām ierīcēm); ja ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā rodas nopietns negadījums, informējiet par to ražotāju un/vai tā pilnvaroto pārstāvi, kā arī valsts iestādi.

Summary of Safety and Performance (Drošuma un veiktspējas kopsavilkums) ir pieejams EUDAMED datubāzē: ec.europa.eu/tools/eudamed.

PĀRSKATĪŠANAS VĒSTURE

AD VERSIJA:	Laidiena datums: 2019. gada oktobris

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AW	2022. gada maijs
Atjauninājumi atbilst Beckman Coulter vispārējai marķēšanas politikai un IVD-R (ES)2017/746 prasībām:	
Pievienotas iedaļas	BSI 2797 numurs, Paredzētais lietotājs, Klīniskais nozīmīgums, Koncentrācija, Precizitāte, Precizitāte, Tukšo paraugu robežvērtība un noteikšanas robežvērtība, Papildinformācija, Pārskatīšanas vēsture.
Pievienota informācija	Skatīt iedaļas Ierobežojumi.
Formulējuma vai tipogrāfiski atjauninājumi	Skatīt iedaļas Procedūra, Veiktspēja, Ierobežojumi, Brīdinājumi un piesardzības pasākumi, Glabāšana un Stabilitāte.
Izņemtās iedaļas	Klīniskā lietojuma piemērs, reaģenti, reproducējamība laboratorijā, linearitāte.
Atjauninātās sadaļas	Paredzētā lietošana, Ķīmisko vielu klasificēšanas un marķēšanas vispārēji saskaņotās sistēmas bīstamības klasifikācija, Sadalīšanās pazīmes, Procedūra, Pielikums.

PĀRSKATĪJUMS	**Laidiena datums**
AX	Aprīlis 2023
Atjauninātās sadaļas	Pievienot kazahu valodu
Atjauninātās sadaļas	Glabāšana un stabilitāte

Pārskatītā versija	AY
Pārskatītā izdevuma datums	Maijs 2024
Atjauninātie tulkojumi	**Klīniskais nozīmīgums:**
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Pārskatītā versija	AZ
Pārskatītā izdevuma datums	Jūlijs 2024
Atjauninātās sadaļas	Pārskatīšanas vēsture

Simbolu skaidrojumi

Simbolu glosārijs ir pieejams vietnē beckman.com/techdocs (dokumenta numurs B60062)

	Специфікації
Специфічність	NG2
Клон	7,1
Гібридома	SP2/0 x balb/c
Імуноген	Readus cell line
Імуноглобулін	IgG1
Вид	Миша
Очищення	Афінна хроматографія
Флуорохром	R Phycoerythrin (PE)
Молярне співвідношення	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ-збудження	488 нм
Пік випромінювання	575 нм
Буфер	Розчин ФСБ pH 7,2 плюс бичачий сироватковий альбумін (БСА) 2 мг/мл та 0,1% NaN_3

Кон'юговане антитіло IOTest Anti-NG2-PE

REF B92429 100 тестів; 2 мл, 20 мкл/тест

Для діагностики *in vitro*.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Ці антитіла, кон'юговані з флуорохромом, забезпечують якісну та неавтоматизовану ідентифікацію популяцій клітин, що експресують антиген NG2, присутніх у біологічних пробах людини, за допомогою проточної цитометрії (див. розділ «Проби» нижче).

ПРИНЦИП

Цей тест базується на здатності специфічних моноклональних антитіл зв'язуватися з антигенними детермінантами, які експресуються лейкоцитами.

Специфічне забарвлення лейкоцитів здійснюється через інкубацію проби з реагентом IOTest. Еритроцити далі видаляють за допомогою лізису, а лейкоцити, на які не впливає цей процес, досліджують методом проточної цитометрії.

Проточний цитометр вимірює розсіювання світла та флуоресценцію клітин. Це робить можливим розмежування досліджуваної популяції всередині електронного вікна, що визначається на гістограмі, яка співвідносить ортогональне розсіювання світла (бічне розсіювання або Side Scatter — SS) і вузькокутове розсіювання світла (пряме розсіювання або Forward Scatter — FS). Інші гістограми, що поєднують два різні параметри, доступні на цитометрі, можна використовувати для допомоги на етапі гейтингу залежно від програми, вибраної користувачем.

Флуоресценція обмеженої популяції клітин аналізується, щоб розрізнити події з позитивно забарвленими клітинами й незабарвленими. Результати виражаються як відсоток позитивних подій відносно всіх подій, зареєстрованих за допомогою гейтингу.

ПЕРЕДБАЧУВАНИЙ КОРИСТУВАЧ

Цей продукт призначений для професійного використання в лабораторії.

КЛІНІЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ

Anti-NG2-PE — це антитіло Anti-NG2, яке використовується для ідентифікації та характеристики клітин, що експресують антиген NG2, методом проточної цитометрії. Цей виріб за ізольованого використання не може застосовуватись для генерації жодних діагностичних висновків, він не призначений для цього.

Під час використання разом з іншими маркерами цей продукт можна використовувати в одному або декількох з нижченаведених застосувань.

- Як допоміжний засіб під час проведення диференціальної діагностики в пацієнтів з відхиленнями в результатах гематологічних досліджень із підозрою на наявність гематопоетичного новоутворення, а також для моніторингу пацієнтів з відомим гематопоетичним новоутворенням.
- У якості допоміжного засобу при прогнозуванні подальшого перебігу хвороби у пацієнтів з гематопоетичним новоутворенням.

Див. такі посилання:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

ПРОБИ

Венозну кров потрібно брати в стерильні пробірки, що містять ангикоагулянт — сіль ЕДТА.

Проби слід зберігати за кімнатної температури (18–25°C), і їх не слід струшувати. Перш ніж узяти пробу для тестування, проби потрібно гомогенізувати за допомогою обережного перемішування.

Проби потрібно проаналізувати не пізніше ніж через 24 години після венепункції.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.
2. Не заморожуйте.
3. Доведіть до кімнатної температури (18–25°C) перед використанням.
4. Зведіть до мінімуму вплив світла.
5. Уникайте мікробної контамінації реагентів, інакше можуть бути отримані помилкові результати.
6. Розчини антитіл, які містять азид натрію (NaN_3), треба обробляти обережно. Не приймайте внутрішньо й уникайте будь-якого контакту зі шкірою, слизовими оболонками та очима.

   Крім того, у кислому середовищі азид натрію може утворити потенційно небезпечну азотистоводневу кислоту. Якщо його потрібно утилізувати, рекомендується розвести реагент у великій кількості води перед зливанням у водостічну систему, щоб уникнути накопичення азиду натрію на поверхні металевих труб і запобігти небезпеці вибуху.

7. Усі проби крові слід розглядати як потенційно інфекційні та поводитися з ними обережно (зокрема, використовуючи захисні рукавички, халати й окуляри).
8. У жодному разі не піпетуйте ротом та уникайте потрапляння проб на шкіру, слизові оболонки та в очі.
9. Пробірки для крові та одноразові матеріали, які використовуються для оброблення, слід викидати в спеціальні контейнери, вміст яких призначений для спалювання.
10. Реагенти та відходи потрібно утилізувати відповідно до місцевих вимог.

КЛАСИФІКАЦІЯ НЕБЕЗПЕКИ ЗА СИСТЕМОЮ GHS

Не класифікуються як небезпечні

SDS Паспорт безпеки доступний на сторінці beckmancoulter.com/techdocs

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Цей реагент потрібно зберігати за температури від 2 до 8°C у захищеному від світла місці, як до, так і після відкриття флакона.

Термін придатності вмісту закритого флакону відповідно до дослідження стабільності: 1095 день.

Стабільність після відкриття флакона: реагент стабільний 180 діб.

ОЗНАКИ ПСУВАННЯ

Будь-яка зміна зовнішнього вигляду реагентів може вказувати на псування, і реагент не слід використовувати.

Щоб отримати додаткову інформацію або повідомити про отримання пошкодженого продукту, зателефонуйте до Служби обслуговування клієнтів Beckman Coulter за номером 800-742-2345 (США або Канада) чи зверніться до місцевого представника компанії Beckman Coulter.

ЗМІСТ

Консервант азид натрію може утворювати вибухонебезпечні сполуки в металевих зливних трубопроводах. Див. Бюлетень Національного інституту з охорони праці та промислової гігієни (NIOSH) Explosive Azide Hazard (Вибухонебезпечні азиди) (16.8.76).
Щоб уникнути можливого утворення сполук азиду, промийте зливні труби водою відразу після утилізації нерозведеного реагенту. Реагенти, що містять азид натрію, треба утилізувати з дотриманням відповідних місцевих норм.

ПОТРІБНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ У КОМПЛЕКТ

- Пробірки для проб і матеріали, потрібні для забору проб.
- Автоматичні піпетки з одноразовими наконечниками на 20, 100 і 500 мкл.
- Пластикові пробірки для гемолізу.
- Реагент для лізису еритроцитів з етапом промивання після лізису. Наприклад: VersaLyse (Ref. A09777).
- Реагент для фіксації лейкоцитів. Наприклад: розчин для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ізотипічний контроль PE: реагент IOTest (Ref. A07796).
- Буфер (ФСБ: 0,01 моль фосфату натрію; 0,145 моль хлориду натрію; pH 7,2).
- Центрифугування.
- Автоматичний змішувач (типу вортекс).
- Проточний цитометр.

ПРОЦЕДУРА З РЕАГЕНТОМ VERSALYSE

Для кожної аналізованої проби на додачу до тест-пробірки може бути використана одна контрольна пробірка, у якій клітини змішано в присутності ізотипічного контролю (Ref. A07796).

1. Додайте до кожної тестової пробірки 20 мкл специфічних кон'югованих антитіл IOTest, і, якщо потрібно, 20 мкл ізотипічного контролю до кожної контрольної пробірки.
2. Додайте 100 мкл проби для тестування в кожну пробірку. Обережно змішайте вміст пробірок вихровим способом.
3. Витримайте протягом 15–20 хвилин за кімнатної температури (18–25°C) у захищеному від світла місці.
4. Потім виконують лізис еритроцитів. Перегляньте вкладний листок VersaLyse (Ref. A09777) і за можливості дотримуйтеся процедури з одночасною фіксацією, яка полягає в додаванні 1 мл суміші Fix-and-Lyse, приготованої безпосередньо перед використанням. Відразу змішайте вихровим способом упродовж однієї секунди й витримайте протягом 10 хвилин за кімнатної температури в захищеному від світла місці.
5. Центрифугуйте за кімнатної температури протягом 5 хвилин зі швидкістю 150 g.
6. Видаліть надосадову рідину аспіратором.
7. Ресуспендуйте осад клітин у 3 мл ФСБ.
8. Повторіть крок 5.
9. Видаліть надосадову рідину аспіратором і ресуспендуйте осад клітин, використовуючи наведене далі.

- 0,5 мл або 1 мл ФСБ плюс 0,1% формальдегіду, якщо препарати передбачається зберігати менше ніж 24 годин. (Розчин ФСБ, що містить 0,1% формальдегіду, можна отримати за допомогою розведення 12,5 мкл розчину для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800) за його 10-кратної концентрації в 1 мл ФСБ).
- 0,5 мл або 1 мл ФСБ без формальдегіду, якщо препарати будуть аналізувати впродовж наступних 2 годин.

Примітка. У всіх випадках препарати слід зберігати в захищеному від світла місці за температури 2–8°C.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Очікувані значення, значущі для цього продукту, відсутні.

ЕФЕКТИВНІСТЬ

Робочі показники ефективності отримуються з використанням процедури, описаної вище, на пробах крові, які були відібрані в стерильні пробірки із сіллю ЕДТА як антикоагулянтом, а також зберігалися менше ніж 24 години. Аналіз проводиться впродовж 2 годин після імунного фарбування.

СПЕЦИФІЧНІСТЬ

Нейрогліальний антиген-2 (NG2), протеоглікан, відомий також як протеоглікан хондроітин сульфату 4 або пов'язаний з меланомою протеоглікан хондроітин сульфату, являє собою мембранний глікопротеїн типу 1 з масою 250 кДа, який експресується багатьма клітинами центральної нервової системи (ЦНС) під час розвитку та диференціації та відіграє значну роль у ангіогенезі, загоєнні ран та рості пухлин. Молекули класу протеогліканів хондроітин сульфату можуть бути інгібіторами клітинної адгезії та міграції (10) і можуть слугувати бар'єрами для міграції клітин у шляху нервового гребня. Моноклональне антитіло 7.1 розпізнає молекулу протеоглікану хондроітин сульфату клітинної поверхні з молекулярною масою 200–220 кДа, відому як людський гомолог щурячого антигену NG2. Антиген NG2 виявляється у популяціях людських гліальних клітин (11). Він не експресується на нормальних гемопоетичних клітинах.

ПРЕЦИЗІЙНІСТЬ

Процент позитивних значень визначали за допомогою цільної крові з унесенням позитивних клітин. Кожну пробу обробляли 4 рази, двічі на добу впродовж 1 доби на 2 приладах, використовуючи 2 серії реагентів моноклональних антитіл Anti-NG2-PE. Вимірювання (% позитивних значень) виконували на проточному цитометрі Navios. Аналіз проводили на основі методу CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оцінювання прецизійності кількісних методів вимірювання).

Наші критерії прийнятності залежать від кількості позитивних подій, виміряних для кожної популяції.

- Якщо кількість позитивних подій < 1500, КВ < 15%
- Якщо кількість позитивних подій > 1500, КВ < 10%

Цільна кров з додаванням HELA клітинної лінії							
Кількість позитивних подій (середнє значення) = 4262							
	Між операторами	Між цитометрами	У межах однієї серії	Між серіями	Між серіями вимірювань	У межах однієї серії вимірювань	Усього
КВ (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
РЕЗУЛЬТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНІСТЬ

Точність Anti-NG2-PE оцінювали через порівняння результатів з еталонним реагентом як контролем якості для набору проб цільної крові з унесенням позитивних клітин, аналізованих на проточному цитометрі Navios. Систематичну помилку між тестовим та еталонним реагентами визначали на основі різниці між результатами тесту. Якщо систематична помилка знаходиться в межах діапазону допустимої похибки або p-значення вказує на відсутність значущої різниці (> 0,05), тоді результати тесту для двох реагентів вважаються еквівалентними.

Отримані результати підсумовано в таблиці, наведеній нижче.

Кількість донорів = 25				
Цільова позитивна популяція	Середня Δ	Критерії Δ % клітин	p-значення	РЕЗУЛЬТАТИ
Цільна кров з додаванням HELA клітинної лінії	0,01	<5	0,978	PASS

МЕЖА ХОЛОСТОЇ ПРОБИ Й МЕЖА ВИЯВЛЕННЯ

Дослідження проводилося відповідно до рекомендацій CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оцінювання можливості виявлення для методик клінічних лабораторних вимірювань). Межа виявлення (LOD) — це найнижча концентрація аналіту, яку стабільно можна виявити. Отримані результати підсумовано в наведеній нижче таблиці.

Positive Target	Межа холостої проби (клітин/мкл)	Межа виявлення (клітин/мкл)
HELA Клітинна лінія	1	3

ОБМЕЖЕННЯ

1. Результати проточної цитометрії можуть бути помилковими, якщо вказане нижче не було виконано належним чином: вирівняно цитометр, скомпенсовано витік флуоресценції, здійснено позиціонування ділянок.
2. Бажано використовувати метод лізису еритроцитів з етапом промивання, оскільки цей реагент не оптимізовано для методів лізису «без промивання».
3. Буде отримано точні й відтворювані результати, якщо процедури застосовуються відповідно до технічної інструкції, що додається, і стандартів належної лабораторної практики.
4. Кон'юговані антитіла цього реагенту відкалібровано таким чином, щоб забезпечити краще співвідношення специфічного сигналу та неспецифічного сигналу. Тому важливо дотримуватися співвідношення об'єму реагенту та об'єму проби в кожному тесті.
5. У разі гіперлейкоцитозу кров слід розводити у ФСБ так, щоб отримати концентрацію приблизно 5×10^9 лейкоцитів/л (12).
6. У разі деяких захворювань або станів, як-от тяжка ниркова недостатність або гемоглобінопатії, лізис еритроцитів може бути повільним, неповним або навіть неможливим. У цьому разі рекомендується виділяти мононуклеарні клітини за градієнтом щільності (наприклад, з використанням фіколу) перед фарбуванням (13).

7. У пацієнтів, які отримують лікування антилюдськими моноклональними антитілами, виявлення специфічних цільових антигенів може бути зниженим або відсутнім через часткове або повне блокування терапевтичним антитілом.
8. Результати Anti-NG2-PE слід інтерпретувати у світлі загальної клінічної картини пацієнта, включно із симптомами, клінічним анамнезом, даними додаткових тестів та іншою відповідною інформацією.

Див. приклади й посилання в додатку.

ТОРГОВЕЛЬНІ МАРКИ

Beckman Coulter, стилізований логотип, товарні знаки й сервісні марки Beckman Coulter, вказані тут, є торговельними марками або зареєстрованими торговельними марками компанії Beckman Coulter, Inc. у Сполучених Штатах Америки й інших країнах.

ДОДАТКОВА ІНФОРМАЦІЯ

Для пацієнта / користувача / третьої сторони в Європейському Союзі та в країнах з ідентичною системою нормативного регулювання (Регламент 2017/746/ЄС про медичні вироби для діагностики in vitro); якщо під час використання цього пристрою або в результаті його використання стався серйозний інцидент, повідомте про це виробнику й (або) його уповноваженому представнику та місцевому національному органу.

The Summary of Safety and Performance (Огляд безпеки та основних характеристик) доступний у базі даних EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ІСТОРІЯ ЗМІН

РЕДАКЦІЯ AD	Дата випуску: Жовтень 2019 р.

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AW	Травень 2022 р.
Оновлення мають відповідати Глобальній політиці щодо маркування компанії Beckman Coulter і вимогам IVD-R (ЄС)2017/746:	
Додані розділи	«Номер BSI 2797», «Цільовий користувач», «Клінічна значущість», «Концентрація», «Прецизійність», «Точність», «Межа холостої проби й межа виявлення», «Додаткова інформація», «Історія змін».
Додана інформація	Див. розділ «Обмеження»
Оновлення формулювання або типографічні оновлення	Див. розділи «Процедура», «Робочі показники», «Обмеження», «Попередження та застереження», «Зберігання та стабільність».
Видалені розділи	«Приклад клінічного застосування», «Реагенти», «Міжлабораторна відтворюваність», «Лінійність»
Оновлені розділи	«Призначення», «Класифікація небезпек GHS», «Ознаки погіршення характеристик», «Процедура», «Додаток».

РЕДАКЦІЯ	**Дата випуску**
AX	Квітень 2023
Оновлені розділи	Додано казахську мову
Оновлені розділи	Зберігання й стабільність

Переглянута версія	AY
Дата перегляду	Травень 2024
Оновлені переклади	**Клінічна значущість:**
Оновлені розділи	Історія змін

Переглянута версія	AZ
Дата перегляду	Липень 2024
Оновлені розділи	Історія змін

Список символів

Глосарій символів доступний на сайті beckman.com/techdocs (документ № B60062)

	Especificações
Especificidade	NG2
Clone	7,1
Hibridoma	SP2/0 x balb/c
Imunógeno	Readus cell line
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Camundongo
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	R Phycoerythrin (PE)
Razão molar	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ de excitação	488 nm
Pico de emissão	575 nm
Tampão	PBS com pH de 7,2 mais 2 mg/mL de BSA e 0,1% de NaN_3

IOTest

Anticorpo conjugado Anti-NG2-PE

REF B92429 100 testes; 2 mL, 20 µL/teste

Para uso em diagnóstico *in vitro.*

USO PREVISTO

Esse anticorpo conjugado com fluorocromo permite a identificação qualitativa e não automatizada das populações de células que expressam o antígeno NG2 presente em amostras biológicas humanas utilizando a citometria de fluxo (consulte a seção “Amostras” a seguir).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade que os anticorpos monoclonais específicos têm de se ligarem aos determinantes antigênicos expressos por leucócitos.

A coloração específica de leucócitos é realizada incubando-se a amostra com o reagente IOTest. As hemácias são então removidas por lise e os leucócitos, que não são afetados por esse processo, são analisados por citometria de fluxo.

O citômetro de fluxo mede a difusão da luz e a fluorescência das células. Ele possibilita a delimitação da população de interesse na janela eletrônica definida por um histograma, que correlaciona a difusão ortogonal da luz (dispersão lateral ou SS) e a difusão da luz em ângulo estreito (dispersão frontal ou FS). Outros histogramas que combinam dois dos diferentes parâmetros disponíveis no citômetro podem ser utilizados como auxílio no estágio de delimitação, dependendo da aplicação escolhida pelo usuário.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são expressos como uma porcentagem dos eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos pela delimitação.

USUÁRIO PREVISTO

Este produto destina-se ao uso laboratorial profissional.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O Anti-NG2-PE é um anticorpo para Anti-NG2 usado para identificar e caracterizar, por citometria de fluxo, as células que expressam o antígeno NG2. Este produto por si só não pode e não se destina a originar qualquer conclusão diagnóstica.

Quando usado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser usado com uma ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com anormalidades hematológicas com suspeita de terem neoplasia hematopoiética e para monitorar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.
- Para auxiliar no prognóstico de pacientes que possuem neoplasia hematopoiética.

Consulte as referências a seguir:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

AMOSTRAS

Sangue venoso deve ser coletado usando tubos estéreis contendo um sal de EDTA como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas em temperatura ambiente (18-25°C) e não devem ser agitadas. A amostra deve ser homogeneizada por agitação suave antes que a amostra para teste seja retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a coleta.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não use o reagente após o prazo de validade.
2. Não congele.
3. Deixe atingir a temperatura ambiente antes de usar (18-25°C).
4. Minimize a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, pois isso pode gerar falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos contendo azida sódica (NaN_3) devem ser manuseadas com cuidado. Não utilize internamente e evite o contato com a pele, mucosas e olhos.

   Além disso, em um meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazoico potencialmente perigoso. Se precisar descartar essa substância, recomenda-se que o reagente seja diluído em um grande volume de água antes de despejá-lo no sistema de drenagem para evitar o acúmulo de azida sódica nos canos de metal e o risco de explosão.

7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas como potencialmente infecciosas e devem ser manipuladas com cuidado (em particular: uso de luvas, jalecos e óculos de proteção).
8. Nunca coloque a pipeta na boca e evite qualquer contato das amostras com a pele, mucosas e olhos.
9. Os tubos de sangue e o material descartável utilizado para manuseio deve ser descartado em recipientes ad hoc destinados à incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO DO GHS

Não classificado como perigoso

SDS A Folha de dados de segurança está disponível em beckmancoulter.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido entre 2 e 8°C e protegido da luz, antes e depois do frasco ter sido aberto.

Validade do frasco fechado de acordo com o estudo de estabilidade: 1095 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente é estável por 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DETERIORAÇÃO

Qualquer alteração no aspecto físico dos reagentes poderá indicar deterioração e o reagente não deverá ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, entre em contato com o serviço de atendimento ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou entre em contato com o representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em canos de escoamento metálicos. Consulte o Boletim do NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health [Instituto de segurança e saúde ocupacional dos EUA]): Explosive Azide Hazard (Perigos de explosão de azida) (16/8/76).
Para evitar o possível acúmulo de compostos de azida, enxágue os canos de escoamento com água após o descarte do reagente não diluído. O descarte da azida sódica deve ser efetuado de acordo com as normas locais apropriadas.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostra e material necessário para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 20, 100 e 500 µL.
- Tubos plásticos de hemólise.
- Reagente de lise de hemácias com fase de lavagem após a lise. Por exemplo: Reagente VersaLyse (Ref. A09777).
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: Solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controle do isótipo PE: reagente IOTest (Ref. A07796).
- Tampão (PBS: fosfato de sódio a 0,01 M; cloreto de sódio a 0,145 M; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citômetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM O REAGENTE VERSALYSE

Para cada amostra analisada, além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controle no qual as células são misturadas na presença do controle de isótipo (Ref. A07796).

1. Adicione 20 µL de anticorpo conjugado IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 20 µL do controle do isótipo a cada tubo de controle.
2. Adicione 100 µL da amostra de teste a cada tubo. Agite os tubos cuidadosamente em vórtex.
3. Incube durante 15 a 20 minutos em temperatura ambiente (18-25°C), protegido da luz.
4. Em seguida, faça a lise das hemácias. Consulte o folheto da VersaLyse (Ref. A09777) e siga, preferencialmente, o procedimento chamado “with concomitant fixation (com fixação concomitante)”, que consiste em adicionar 1 mL da mistura de fixação e lise preparada extemporaneamente. Agite em vórtex imediatamente durante um segundo e incube durante 10 minutos em temperatura ambiente, protegido da luz.
5. Centrifugue por 5 minutos a 150 x g em temperatura ambiente.
6. Retire o sobrenadante por aspiração.
7. Suspenda novamente o precipitado celular usando 3 mL de PBS.
8. Repita a etapa 5.
9. Retire o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular usando:

- 0,5 mL ou 1 mL de PBS mais 0,1% de formaldeído, se as preparações forem mantidas por um prazo inferior a 24 horas. (É possível obter uma solução PBS com 0,1% de formaldeído diluindo-se 12,5 µL de Solução fixadora IOTest 3 [Ref. A07800] na concentração de 10X em 1 mL de PBS).
- 0,5 mL ou 1 mL de PBS sem formaldeído, se as preparações forem analisadas dentro de 2 horas.

Nota: Em qualquer dos casos, mantenha as preparações entre 2 e 8°C e protegidas da luz.

VALORES ESPERADOS

Não há nenhum valor esperado relevante para este produto.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos usando o procedimento descrito anteriormente em amostras de sangue com menos de 24 horas, coletadas previamente em tubos estéreis com sal de EDTA como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

O antígeno neurônio/glia 2 (NG2), uma proteoglicana também conhecida como proteoglicana de sulfato de condroitina 4 ou como proteoglicana de sulfato de condroitina associada ao melanoma, é uma glicoproteína de membrana do tipo 1 de 250 kDa expressa por muitas células do sistema nervoso central (SNC) durante o desenvolvimento e a diferenciação. Ele exerce funções importantes na angiogênese, na cicatrização de feridas e no crescimento tumoral. A classe de moléculas de proteoglicanas de sulfato de condroitina pode ser inibidora da adesão e migração celular (10) e pode atuar como barreira para a migração celular na via da crista neural. O anticorpo monoclonal 7.1 reconhece uma molécula de proteoglicana de sulfato de condroitina de superfície celular com um peso molecular de 200–220 kDa, que é considerada como a homóloga humana do antígeno NG2 de ratos. O antígeno NG2 é encontrado nas populações de células gliais humanas (11). Ele não é expresso nas células hematopoiéticas normais.

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados usando-se sangue total enriquecido com células positivas. Cada amostra foi processada 4 vezes, duas vezes por dia durante 1 dia em 2 instrumentos, usando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de Anti-NG2-PE. As medições (% de positivos) foram realizadas no citômetro de fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação de desempenho de precisão de métodos de medição quantitativos).

Nossos critérios de aceitação dependem do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Se eventos positivos <1.500, CV <15%
- Se eventos positivos >1.500, CV <10%

Sangue total enriquecido com a linhagem celular HELA							
Número de eventos positivos (média) = 4262							
	Entre operadores	Entre citômetros	Dentro do lote	Entre lotes	Entre processamentos	Dentro do processamento	Total
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do Anti-NG2-PE foi avaliada comparando-se os resultados com um reagente de referência como o predicado em um conjunto de amostras de sangue total enriquecidas com células positivas processadas em um citômetro de fluxo Navios. A tendência entre o reagente de teste e o de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados dos testes. Se a tendência estiver dentro da faixa de erro aceitável ou o valor p não indicar diferenças significativas (>0,05), então os resultados dos testes para os dois reagentes são considerados como equivalentes.

Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Número de doadores = 25				
Alvo positivo	Δ média	Critérios de Δ % de células	valor p	RESULTADOS
Sangue total enriquecido com a linhagem celular HELA	0,01	<5	0,978	PASS

LIMITE DE BRANCO E LIMITE DE DETECÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com a diretriz EP17-A2 do CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de detecção para procedimentos de medição de laboratório clínico). O Limite de detecção (LOD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detectada consistentemente. Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Positive Target	Limite de branco (células/µL)	Limite de detecção (células/µL)
Linhagem celular HELA	1	3

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo pode produzir resultados falsos se o citômetro não for alinhado perfeitamente, se os vazamentos de fluorescência não forem corretamente compensados e se as regiões não forem cuidadosamente posicionadas.
2. É preferível usar uma técnica de lise de RBC com uma etapa de lavagem, já que esse reagente não foi otimizado para técnicas de lise “sem lavagem”.
3. Serão obtidos resultados exatos e reproduzíveis desde que os procedimentos utilizados estejam em conformidade com o folheto técnico e sejam compatíveis com as boas práticas de laboratório.
4. O anticorpo conjugado desse reagente é calibrado para oferecer a melhor razão entre sinal específico e sinal não específico. Por isso, é importante manter a razão entre volume do reagente e volume da amostra em cada teste.
5. No caso de hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5 x 10^9 leucócitos/L (12).
6. Em certos estados da doença, como insuficiência renal grave e hemoglobinopatias, a lise das hemácias pode ser lenta, incompleta ou até mesmo impossível. Nesse caso, recomenda-se isolar as células mononucleadas usando um gradiente de densidade (Ficoll, por exemplo) antes da coloração (13).
7. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a detecção dos antígenos-alvo específicos pode ser diminuída ou não ocorrer devido ao bloqueio parcial ou total pelo anticorpo terapêutico.
8. Os resultados de Anti-NG2-PE devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, histórico clínico, dados de testes adicionais e outras informações apropriadas.

Consulte o anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logotipo estilizado e as marcas dos produtos e serviços da Beckman Coulter mencionados neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registradas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e em outros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/usuário/terceiro na União Europeia e em países com regime regulatório idêntico (Regulamentação 2017/746/UE sobre In vitro Diagnostic Medical Devices [Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro]), se, durante o uso deste dispositivo ou como resultado de seu uso, ocorrer um incidente grave, relate-o ao fabricante e/ou ao seu representante autorizado e à sua autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível no banco de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO AD:	Data de publicação: outubro de 2019

REVISÃO	**Data de publicação**
AW	Maio de 2022
Atualizações para o cumprimento da Global labelling Policy (Política de rotulagem global) da Beckman Coulter e de acordo com os requisitos da IVD-R (UE)2017/746:	
Seções adicionadas	Número BSI 2797, Usuário previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite de branco e limite de detecção, Informações adicionais, Histórico de revisão.
Informações adicionadas	Consulte as seções: Limitações
Atualizações tipográficas ou de fraseado	Consulte as seções Procedimento, Desempenho, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Seções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Seções atualizadas	Uso previsto, Classificação de perigo do GHS, Evidência de deterioração, Procedimento, Anexo.

REVISÃO	**Data de publicação**
AX	Abril 2023
Seções atualizadas	Adicionar cazaque
Seções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Versão revisada	AY
Data da revisão	Maio 2024
Traduções atualizadas	**Relevância clínica:**
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Versão revisada	AZ
Data da revisão	Julho 2024
Seções atualizadas	Histórico de revisão

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (documento número B60062)

	Specificaties
Specificiteit	NG2
Kloon	7,1
Hybridoom	SP2/0 x balb/c
Immunogeen	Readus cell line
Immunoglobuline	IgG1
Soort	Muis
Purificatie	Affiniteit chromatografie
Fluorochroom	R Phycoerythrin (PE)
Molaire verhouding	PE/Ig: 0,5 - 1,5
λ excitatie	488 nm
Emissiepiek	575 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA en 0,1% NaN_3

IOTest
Geconjugeerd antilichaam
Anti-NG2-PE

REF B92429 100 tests; 2 mL, 20 µL/test

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

BEOOGD GEBRUIK

Met dit fluorochroom-geconjugeerde antilichaam kunnen celpopulaties die het NG2-antigeen tot expressie brengen, kwalitatief en niet-geautomatiseerd worden geïdentificeerd in menselijke biologische monsters met behulp van flowcytometrie (zie het gedeelte 'Monsters' hieronder).

PRINCIPE

Deze test is gebaseerd op het vermogen van specifieke monoklonale antilichamen om zich te binden aan de antigene determinanten die tot expressie worden gebracht door leukocyten.

Specifieke kleuring van de leukocyten wordt uitgevoerd door het monster te incuberen met het IOTest -reagens. De rode cellen worden vervolgens via lysering verwijderd en de leukocyten (die ongevoelig zijn voor dit proces) worden geanalyseerd voor middel van flowcytometrie.

De flowcytometer meet de lichtdiffusie en de fluorescentie van cellen. Het maakt de afbakening van de betrokken populatie mogelijk binnen het elektronische venster gedefinieerd op een histogram, wat de orthogonale verspreiding van licht (zijwaartse verstrooiing of ZV) in verband brengt met de verspreiding van smalhoekig licht (voorwaartse verstrooiing of VV). Andere histogrammen die twee van de verschillende beschikbare parameters op de cytometer combineren, kunnen worden gebruikt als ondersteuning bij de gating-fase, afhankelijk van de door de gebruiker gekozen toepassing.

De fluorescentie van de afgeperkte cellen wordt geanalyseerd om de positief-gekleurde gebeurtenissen te onderscheiden van de niet-gekleurde. De resultaten worden uitgedrukt als een percentage van positieve gebeurtenissen ten opzichte van alle gebeurtenissen verzameld door de gating.

BEOOGDE GEBRUIKER

Dit product is bedoeld voor professioneel gebruik in het laboratorium.

KLINISCHE RELEVANTIE

Het Anti-NG2-PE is een Anti-NG2-antilichaam dat wordt gebruikt om cellen die het NG2-antigeen tot expressie brengen te identificeren en te karakteriseren met behulp van flowcytometrie. Op basis van dit product alleen kan geen enkele diagnostische conclusie worden getrokken en het is hier ook niet voor bedoeld.

Bij gebruik in combinatie met andere markers kan dit product worden gebruikt voor een of meer van de volgende functies:

- Ter ondersteuning van de differentiaaldiagnostiek bij patiënten met een hematologische afwijking met verdenking op het hebben van een hematopoiëtisch neoplasma en ter controle van patiënten met een bekend hematopoiëtisch neoplasma.
- Ter ondersteuning van de prognose van patiënten met hematopoiëtisch neoplasma.

Zie de volgende referenties:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

MONSTERS

Veneus bloed moet worden afgenomen met steriele buisjes die EDTA-zout bevatten als anticoagulans.

De monsters moeten op kamertemperatuur (18-25 °C) worden gehouden en mogen niet worden geschud. De monsters moeten gehomogeniseerd worden door licht te schudden voordat het testmonster wordt afgenomen.

De monsters moeten worden geanalyseerd binnen 24 uur van venapunctie.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Gebruik het reagens niet na de uiterste houdbaarheidsdatum.
2. Niet invriezen.
3. Laat het op kamertemperatuur (18-25 °C) komen voor gebruik.
4. Beperk de blootstelling aan licht.
5. Vermijd microbiële verontreiniging van de reagentia, anders kunnen verkeerde resultaten optreden.
6. Antilichaamoplossingen die natriumazide (NaN_3) bevatten moeten voorzichtig gehanteerd worden. Niet innemen en elk contact met huid, slijmvliezen en ogen vermijden.

In een zuur medium kan natriumazide bovendien de potentieel gevaarlijke waterstofazide vormen. Indien verwijdering nodig is, wordt het aanbevolen om het reagens te verdunnen in een groot volume water voordat het in het afvoersysteem wordt gegoten, om de accumulatie van natriumazide in metalen buizen en explosiegevaar te vermijden.

7. Alle bloedmonsters moeten worden beschouwd als mogelijk besmettelijk en moeten voorzichtig worden gehanteerd (met name: veiligheidshandschoenen, -jas en -bril dragen).
8. Pipetteer nooit met de mond en vermijd elk contact van de monster met huid, slijmvliezen en ogen.
9. Bloedbuisjes en wegwerpmateriaal die gebruikt zijn, moeten verwijderd worden in afvalcontainers bestemd voor verbranding.
10. Reagentia en afval moeten verwijderd worden volgens de plaatselijke voorschriften.

GHS GEVARENCLASSIFICATIE

Niet geclassificeerd als gevaarlijk

SDS Het veiligheidsinformatieblad is beschikbaar op beckmancoulter.com/techdocs

OPSLAG EN STABILITEIT

Dit reagens moet tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht worden bewaard, voor- en nadat het buisje wordt geopend.

Houdbaarheidsdatum van ongeopend buisje volgens stabiliteitsstudie: 1095 dagen.

Stabiliteit van geopend buisje: het reagens is stabiel gedurende 180 dagen.

BEWIJS VAN BEDERF

Elke wijziging in de fysieke verschijning van de reagentia kan wijzen op aantasting; het reagens mag dan niet langer gebruikt worden.

Bel voor meer informatie, of als het product beschadigd is, met de klantenservice van Beckman Coulter op 800-742-2345 (VS of Canada) of neem contact op met uw plaatselijke vertegenwoordiger van Beckman Coulter.

INHOUD

Een conserveringsmiddel van natriumazide kan explosieve verbindingen vormen in metalen afvoerleidingen. Zie NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (Explosiegevaar van azide, 16-08-1976).
Om de ophoping van azideverbindingen te vermijden, spoelt u de afvoerbuizen met water na verwijdering van onverdund reagens. Natriumazide moet worden verwijderd volgens de toepasselijke plaatselijke voorschriften.

BENODIGD MATERIAAL DAT NIET IS MEEGELEVERD IN DE KIT:

- Monsterbuisjes en materiaal vereist voor monsterneming.
- Automatische pipetten met wegwerppunten voor 20, 100 en 500 µL.
- Plastic hemolysebuisjes.
- Ontbindingsreagens voor rode cellen met spoelfase na de lysis. Bijvoorbeeld: VersaLyse (ref. A09777).
- Fixatiereagens voor leukocyten. Bijvoorbeeld: IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800).
- Isotypecontrole PE: IOTest-reagens (ref. A07796).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfaat; 0,145 M natriumchloride; pH 7,2).
- Centrifugeer.
- Automatische schudder (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MET VERSALYSE-REAGENS

Voor elk geanalyseerd monster kan, naast het testbuisje, één controlebuisje worden toegevoegd waarin de cellen worden gemengd in aanwezigheid van de isotypecontrole (ref. A07796).

1. Voeg 20 µL specifiek IOTest-geconjugeerd antilichaam toe aan elk testbuisje en, indien nodig, 20 µL isotypecontrole aan elk controlebuisje.
2. Voeg 100 µL van het testmonster toe aan elk buisje. Wervel de buisjes voorzichtig.
3. Incubeer 15 tot 20 minuten op kamertemperatuur (18-25 °C), beschermd tegen licht.
4. Lyseer vervolgens de rode cellen. Raadpleeg de VersaLyse-bijsluiter (ref. A09777) en volg bij voorkeur de procedure genaamd 'met gelijktijdige fixatie', die bestaat uit het toevoegen van 1 mL ‘fixeer-en-lyseer’-oplossing die ex tempore wordt bereid. Wervel onmiddellijk gedurende één seconde en incubeer 10 minuten op kamertemperatuur, beschermd tegen licht.
5. Centrifugeer gedurende 5 minuten bij 150 x g op kamertemperatuur.
6. Verwijder het supernatant door opzuiging.
7. Suspendeer de celpellet opnieuw met 3 mL van PBS.
8. Herhaal stap 5.
9. Verwijder het supernatant door opzuiging en suspendeer de celpellet opnieuw met:

- 0,5 mL of 1 mL PBS plus 0,1% formaldehyde, indien de bereidingen minder dan 24 uur worden bewaard. (Een PBS met 0,1% formaldehyde kan worden verkregen door 12,5 µL IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800) bij de 10X-concentratie te verdunnen in 1 mL PBS).
- 0,5 mL of 1 mL PBS zonder formaldehyde, indien de bereidingen moeten worden geanalyseerd binnen 2 uur.

Opmerking: houd de bereidingen in alle gevallen tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht.

VERWACHTE WAARDEN

Er is geen verwachte waarde die relevant is voor dit product.

PRESTATIES

Prestatiegegevens worden verkregen met de hierboven beschreven procedure op minder dan 24 uur oude bloedmonsters die eerder zijn verzameld in steriele buisjes met EDTA-zout als anticoagulans. De analyse wordt uitgevoerd binnen 2 uur na immunokleuring.

SPECIFICITEIT

Neuron-glia-antigeen-2 (NG2), proteoglycaan, ook aangeduid als chondroïtine-sulfaat-proteoglycaan 4, of melanoom-geassocieerd chondroïtinesulfaat-proteoglycaan is een 250 kDa type-1 membraanglycoproteïne die door veel cellen uit het centraal zenuwstelsel tot expressie wordt gebracht tijdens ontwikkeling en differentiatie en die belangrijke rollen spelen bij angiogenese, wondgenezing en tumorgroei. De moleculen uit de chondroïtinesulfaat-proteoglycaan-klasse kunnen remmers zijn van celadhesie en -migratie (10) en kunnen dienen als barrières tegen celmigratie in de neurale-lijstroute. Het 7,1 monoklonale antilichaam herkent een chondroïtinesulfaat-proteoglycaan-molecuul op het celoppervlak met een moleculair gewicht van 200-220 kDa, bekend als de menselijke homoloog van het rat NG2-antigeen. Het NG2-antigeen wordt aangetroffen in populaties van menselijke gliacellen (11). Het wordt niet tot expressie gebracht op normale hematopoëtische cellen.

PRECISIE

De procentuele positieve waarden werden bepaald met behulp van volbloed verrijkt met positieve cellen. Elk monster werd 4 maal getest, tweemaal per dag gedurende 1 dag op 2 instrumenten, waarbij gebruik werd gemaakt van 2 batches Anti-NG2-PE monoklonale antilichaamreagentia. Metingen (% positief) werden uitgevoerd op de Navios-flowcytometer. Analyse werd uitgevoerd op basis van de CLSI-methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluatie van de precisie van kwantitatieve meetmethoden).

Onze acceptatiecriteria zijn afhankelijk van het aantal positieve gebeurtenissen dat voor elke populatie wordt gemeten:

- In het geval van een positieve gebeurtenis <1500, VC <15%
- In het geval van een positieve gebeurtenis >1500, VC <10%

Volbloed verrijkt met HELA cellijn							
Aantal positieve gebeurtenissen (gemiddelde) = 4262							
	Tussen gebruikers	Tussen cytometers	Van dezelfde batch	Tussen batches	Tussen runs	Tijdens run	Totaal
VC (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
RESULTATEN	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NAUWKEURIGHEID

De nauwkeurigheid van Anti-NG2-PE werd beoordeeld door de resultaten te vergelijken met een referentiereagens als het vergelijkbare hulpmiddel op een reeks volbloedmonsters verrijkt met positieve cellen die op een Navios-flowcytometer werden uitgevoerd. De afwijking tussen test- en referentiereagens werd bepaald op basis van het verschil tussen de testresultaten. Als de afwijking binnen het toegestane foutbereik ligt of de p-waarde geen significant verschil (>0,05) aangeeft, worden de testresultaten voor de twee reagentia als gelijkwaardig beschouwd.

De resultaten worden samengevat in de onderstaande tabel:

Aantal donoren = 25				
Positieve target	Gemiddelde Δ	Δ % Celcriteria	p-waarde	RESULTATEN
Volbloed verrijkt met HELA cellijn	0,01	<5	0,978	PASS

BLANCOLIMIET EN DETECTIELIMIET

Een studie is uitgevoerd in overeenstemming met CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluatie van detectiecapaciteit voor meetprocedures in klinische laboratoria). Het detectielimiet (LOD) is de laagste concentratie analiet die consistent kan worden gedetecteerd. De verkregen resultaten worden samengevat in de volgende tabel:

Positive Target	Blancolimiet (cel/µL)	Detectielimiet (cel/µL)
HELA Cellijn	1	3

BEPERKINGEN

1. Flowcytometrie kan leiden tot verkeerde resultaten indien de cytometer niet perfect is uitgelijnd, indien fluorescentielekken niet juist zijn gecompenseerd en indien de gebieden niet zorgvuldig zijn gepositioneerd.
2. Gebruik bij voorkeur een RBC-lyseertechniek met een wasstap, aangezien dit reagens niet is geoptimaliseerd voor lyseertechnieken zonder wassen.
3. Nauwkeurige en reproduceerbare resultaten worden verkregen zolang de gebruikte procedures in overeenstemming zijn met de technische brochure en compatibel met goede laboratoriumpraktijken.
4. Het geconjugeerde antilichaam van dit reagens wordt gekalibreerd om de beste verhouding van specifiek signaal/niet-specifiek signaal te bieden. Daarom is het belangrijk dat de verhouding van reagensvolume/monstervolume in acht wordt genomen bij elke test.
5. In het geval van een hyperleukocytose verdunt u het bloed in PBS om een waarde van ongeveer 5 x 10^9 leukocyten/L te verkrijgen (12).
6. In sommige stadia van een aandoening, zoals ernstig nierfalen of hemoglobinopathieën, kan de ontbinding van rode cellen traag verlopen, onvolledig of zelfs onmogelijk zijn. In dit geval wordt het aanbevolen om cellen met één kern te isoleren met een dichtheidsgradiënt (bijvoorbeeld Ficoll) voorafgaand aan de kleuring (13).
7. Bij patiënten die worden behandeld met anti-humane monoklonale antilichaamtherapieën kan de detectie van de specifieke doelantigenen verminderd of afwezig zijn als gevolg van een gedeeltelijke of volledige blokkering door het therapeutische antilichaam.

8. De Anti-NG2-PE-resultaten moeten worden geïnterpreteerd in het licht van het totale klinische beeld van de patiënt, met onder meer: symptomen, klinische anamnese, gegevens van aanvullende tests en andere relevante informatie.

Zie de bijlage voor voorbeelden en referenties.

Handelsmerken

Beckman Coulter, het gestileerde logo en de merken van Beckman Coulter-producten en -services in dit document zijn handelsmerken of gedeponeerde handelsmerken van Beckman Coulter, Inc. in de Verenigde Staten en andere landen.

AANVULLENDE INFORMATIE

Voor patiënten/gebruikers/derden in de EU en in landen met soortgelijke regelgeving (Verordening 2017/746/EU inzake in-vitro diagnostische medische apparaten); als er zich tijdens of als gevolg van het gebruik van dit apparaat een ernstig incident voordoet, dient u dit te melden bij de fabrikant en/of diens bevoegde vertegenwoordiger en bij uw nationale autoriteiten.

Het overzicht van de veiligheid en prestaties is beschikbaar in de database EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed

REVISIEGESCHIEDENIS

REVISIE AD:	Uitgiftedatum: Oktober 2019

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AW	Mei 2022
Bijgewerkt om te voldoen aan het wereldwijde etiketteringsbeleid van Beckman Coulter en volgens de vereisten van IVD-R (EU)2017/746:	
Toegevoegde paragrafen	BSI 2797-nummer, Beoogde gebruiker, Klinische relevantie, Concentratie, Precisie, Nauwkeurigheid, Blancolimiet en detectiegrens, Aanvullende informatie, Revisiegeschiedenis.
Toegevoegde informatie	Zie paragraaf Beperkingen
Bijgewerkte formulering of typografie	Zie paragrafen Procedure, Prestaties, Beperkingen, Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen, Opslag en Stabiliteit.
Verwijderde paragrafen	Voorbeeld van klinische toepassingen, Reagentia, Reproduceerbaarheid intra-laboratoria, Lineariteit
Bijgewerkte paragrafen	Beoogd gebruik, GHS-gevarenclassificatie, Bewijs van bederf, Procedure, Bijlage.

HERZIENING	**Uitgiftedatum**
AX	April 2023
Bijgewerkte paragrafen	Toevoegen Kazachs
Bijgewerkte paragrafen	Opslag en stabiliteit

Bijgewerkte versie	AY
Herzieningsdatum	Mei 2024
Bijgewerkte vertalingen	**Klinische relevantie:**
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Bijgewerkte versie	AZ
Herzieningsdatum	Juli 2024
Bijgewerkte paragrafen	Revisiegeschiedenis

Verklaring van symbolen

Overzicht met verklaring van symbolen is beschikbaar op beckman.com/techdocs (documentnummer B60062)

	Thông số kỹ thuật
Độ đặc hiệu	NG2
Dòng vô tính	7,1
Tế bào lai	SP2/0 x balb/c
Chất sinh miễn dịch	Readus cell line
Globulin miễn dịch	IgG1
Các loài	Chuột
Tinh chế	Sắc ký ái lực
Chất nhuộm huỳnh quang	R Phycoerythrin (PE)
Tỷ lệ mol	PE/Ig: 0,5 - 1,5
Kích thích λ	488 nM
Đỉnh phát xạ	575 nM
Dung dịch đệm	PBS pH 7,2 cộng với 2 mg/mL BSA và 0,1% NaN_3

Kháng thể cộng hợp IOTest Anti-NG2-PE

REF B92429 100 xét nghiệm; 2 mL, 20 µL/xét nghiệm

Dùng cho chẩn đoán *in vitro*.

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Kháng thể cộng hợp chất nhuộm huỳnh quang này cho phép xác định theo phương thức định tính và không tự động các quần thể tế bào biểu hiện kháng nguyên NG2 có trong mẫu sinh học của người bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy (xem phần "Mẫu" bên dưới).

NGUYÊN TẮC

Xét nghiệm này dựa trên khả năng liên kết của kháng thể đơn dòng đặc hiệu với yếu tố quyết định kháng nguyên biểu hiện bởi bạch cầu.

Nhuộm đặc hiệu bạch cầu bằng cách ủ mẫu với thuốc thử IOTest. Sau đó, loại bỏ tế bào hồng cầu bằng cách ly giải và tế bào bạch cầu không bị ảnh hưởng bởi quá trình này sẽ được phân tích bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy.

Máy đếm tế bào dòng chảy đo mức khuếch tán ánh sáng và phát huỳnh quang của các tế bào. Điều này giúp phân định được quần thể quan tâm trong cửa sổ điện tử được xác định trên biểu đồ, tương quan với sự khuếch tán trực giao ánh sáng (Tán xạ góc bên hay SS) và khuếch tán ánh sáng góc hẹp (Tán xạ góc thẳng hay FS). Có thể dùng các biểu đồ khác (kết hợp hai trong các thông số có sẵn trên máy đếm tế bào) để hỗ trợ trong giai đoạn khoanh vùng tùy thuộc vào ứng dụng mà người dùng chọn.

Huỳnh quang của các tế bào đã phân định được phân tích để phân biệt các sự kiện nhuộm dương tính với các sự kiện không nhuộm. Kết quả được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm số sự kiện dương tính so với tất cả sự kiện thu được từ việc khoanh vùng.

ĐỐI TƯỢNG SỬ DỤNG

Sản phẩm này chỉ dùng cho mục đích chuyên môn trong phòng xét nghiệm.

TÍNH THÍCH HỢP VỀ LÂM SÀNG

Anti-NG2-PE là một kháng thể Anti-NG2 dùng để xác định và xác định đặc điểm của các tế bào biểu hiện kháng nguyên NG2 bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy. Chỉ riêng sản phẩm này không thể và không nhằm tạo ra bất kỳ kết luận chẩn đoán nào.

Khi kết hợp với các chỉ dấu khác, có thể dùng sản phẩm này trong một hoặc nhiều chức năng sau:

- Để hỗ trợ chẩn đoán phân biệt những bệnh nhân bị bất thường về huyết học nghi ngờ mắc ung thư máu và để theo dõi những bệnh nhân đã được xác định là mắc ung thư máu.
- Để hỗ trợ tiên lượng những bệnh nhân bị ung thư máu.

Xem tài liệu tham khảo sau đây:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

MẪU

Phải lấy mẫu máu tĩnh mạch vào ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA.

Phải bảo quản mẫu ở nhiệt độ phòng (18–25°C) và không lắc mẫu. Phải khuấy nhẹ mẫu trước khi lấy mẫu xét nghiệm để mẫu có trạng thái đồng nhất.

Phải phân tích các mẫu trong vòng 24 giờ sau khi lấy từ tĩnh mạch.

CẢNH BÁO VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG NGỪA

1. Không dùng thuốc thử đã hết hạn sử dụng.
2. Không làm đông lạnh.
3. Để dung dịch trở về nhiệt độ phòng (18–25°C) trước khi sử dụng.
4. Giảm thiểu tiếp xúc với ánh sáng.
5. Tránh làm thuốc thử bị nhiễm khuẩn, nếu không, có thể dẫn đến kết quả sai.
6. Phải xử lý cẩn thận dung dịch kháng thể chứa natri azit (NaN_3). Không được uống và tránh mọi tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.

   Ngoài ra, trong môi trường axit, natri azit có thể tạo thành axit hydrazoic nguy hiểm. Nếu cần phải thải bỏ, bạn nên pha loãng thuốc thử trong nhiều nước trước khi thải vào hệ thống thoát nước để tránh tích tụ natri azide trong ống kim loại và để tránh nguy cơ nổ.
7. Phải coi tất cả mẫu máu là có nguy cơ lây nhiễm và xử lý cẩn thận (cụ thể: đeo găng tay, mặc áo choàng và đeo kính bảo vệ).

8. Tuyệt đối không dùng pipet bằng miệng và tránh để mẫu tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.
9. Phải bỏ ống máu và vật liệu dùng một lần đã dùng để xử lý trong thùng chứa đặc biệt cho mục đích thiêu hủy.
10. Phải thải bỏ thuốc thử và chất thải theo yêu cầu của địa phương.

PHÂN LOẠI MỐI NGUY HIỂM THEO GHS

Không được phân loại là chất nguy hiểm

SDS Phiếu dữ liệu an toàn có sẵn tại beckmancoulter.com/techdocs

BẢO QUẢN VÀ ĐỘ ỔN ĐỊNH

Phải bảo quản thuốc thử này ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng, trước và sau khi mở ống.

Hạn sử dụng của ống khi chưa mở nắp theo nghiên cứu về độ ổn định: 1095 ngày.

Độ ổn định của ống đã mở: thuốc thử ổn định trong 180 ngày.

BẰNG CHỨNG BIẾN CHẤT

Mọi sự biến đổi về vẻ ngoài của thuốc thử có thể là dấu hiệu suy giảm chất lượng và bạn không nên dùng thuốc thử đó.

Để biết thêm thông tin hoặc nếu bạn nhận được sản phẩm bị hỏng, hãy gọi điện cho Dịch vụ khách hàng của Beckman Coulter theo số 8007422345 (Hoa Kỳ hoặc Canada) hoặc liên hệ với Đại diện của Beckman Coulter tại địa phương bạn.

HÀM LƯỢNG

Chất bảo quản natri azit có thể hình thành hợp chất nổ trong ống dẫn bằng kim loại. Xem Thông Báo của Viện quốc gia về an toàn và sức khỏe nghề nghiệp (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Nguy cơ nổ azit) (16/8/76).
Để tránh khả năng tích tụ hợp chất azit, hãy xả sạch các ống thải bằng nước sau khi xử lý vứt bỏ thuốc thử chưa pha loãng. Phải xử lý vứt bỏ natri azit theo đúng quy định sở tại.

VẬT LIỆU CẦN DÙNG (KHÔNG KÈM THEO BỘ THUỐC THỬ):

- Ống lấy mẫu và vật liệu cần dùng để lấy mẫu.
- Pipet tự động có đầu hút dùng một lần để lấy mẫu có thể tích 20, 100 và 500 µL.
- Ống chứa mẫu tan huyết bằng nhựa.
- Thuốc thử ly giải hồng cầu với bước rửa sau khi ly giải. Ví dụ: VersaLyse (Số tham chiếu A09777).
- Thuốc thử cố định Leucocyte. Ví dụ: Dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800).
- Mẫu chứng âm PE: Thuốc thử IOTest (Số tham chiếu: A07796).
- Dung dịch đệm (PBS: 0,01 Mol natri photphat; 0,145 Mol natri clorua; pH 7,2).
- Máy ly tâm.
- Máy trộn tự động (loại khuấy).
- Máy đếm tế bào dòng chảy.

QUY TRÌNH VỚI THUỐC THỬ VERSALYSE

Đối với mỗi mẫu phân tích, ngoài ống xét nghiệm, có thể thêm một ống kiểm chuẩn, trong đó tế bào được trộn với mẫu chứng âm (Số tham chiếu A07796).

1. Thêm 20 µL kháng thể cộng hợp IOTest đặc hiệu vào mỗi ống xét nghiệm và nếu cần, 20 µL mẫu chứng âm vào từng ống kiểm chuẩn.
2. Thêm 100 µL mẫu xét nghiệm vào từng ống. Lắc nhẹ các ống.
3. Ủ trong 15 đến 20 phút ở nhiệt độ phòng (18–25°C), tránh ánh sáng.
4. Sau đó, ly giải hồng cầu. Tham khảo tờ hướng dẫn về VersaLyse (Số tham chiếu A09777) và tốt nhất là làm theo quy trình tên là “có cố định đồng thời”, bao gồm thêm 1 mL hỗn hợp “Cố định và ly giải” được chuẩn bị tùy ứng. Lắc ngay trong một giây và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.
5. Quay ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 150 x g tại nhiệt độ phòng.
6. Hút bỏ dịch nổi.
7. Tái huyền phù viên tế bào bằng 3 mL PBS.
8. Lặp lại bước 5.
9. Hút bỏ dịch nổi và tái huyền phù viên tế bào bằng:

- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS cộng với 0,1% formaldehyde nếu sử dụng chế phẩm trong vòng chưa đến 24 giờ. (Có thể thu được PBS chứa 0,1% formaldehyde bằng cách pha loãng 12,5 µL dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800) ở nồng độ 10X trong 1 mL PBS).
- 0,5 mL hoặc 1 mL PBS không có formaldehyde, nếu phân tích các chế phẩm trong vòng 2 giờ.

Ghi chú: Trong mọi trường hợp, phải bảo quản chế phẩm ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng.

GIÁ TRỊ DỰ KIẾN

Không có giá trị dự kiến liên quan đối với sản phẩm này.

HIỆU SUẤT

Dữ liệu hiệu suất thu được bằng cách sử dụng quy trình mô tả ở trên với các mẫu máu được thu thập dưới 24 giờ trong các ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA. Phân tích trong vòng 2 giờ sau khi nhuộm hóa mô miễn dịch.

ĐỘ ĐẶC HIỆU

Neuron glia antigen-2 (NG2), proteoglycan còn được gọi là chondroitin sulphat proteoglycan 4, hay proteoglycan chondroitin sulfat liên kết với u sắc tố ác tính là glycoprotein màng 250 kDa loại 1 do nhiều tế bào hệ thần kinh trung ương (CNS) biểu hiện trong quá trình phát triển và biệt hóa. Chất này đóng vai trò quan trọng trong quá trình tạo mạch, làm lành vết thương và phát triển khối u. Nhóm proteoglycan chondroitin sulfat của các phân tử có thể là chất ức chế liên kết và di chuyển của tế bào (10), đồng thời có thể đóng vai trò là các rào cản đối với sự di chuyển của tế bào trong con đường mào thần kinh. Kháng thể đơn dòng 7.1 nhận diện phân tử proteoglycan chondroitin sulfat của bề mặt tế bào có trọng lượng phân tử là 200–220 kDa được biết đến là chất đồng đẳng trong cơ thể người của kháng nguyên NG2 trên cơ thể chuột. Kháng nguyên NG2 được tìm thấy trên các quần thể tế bào thần kinh đệm của người (11). Nó không biểu hiện trên các tế bào gốc tạo máu bình thường.

ĐỘ CHỤM

Tỷ lệ phần trăm của các giá trị dương tính được xác định bằng cách sử dụng máu toàn phần pha với tế bào dương tính. Mỗi mẫu được chạy 4 lần, hai lần một ngày trong 1 ngày trên 2 thiết bị sử dụng 2 lô thuốc thử kháng thể đơn dòng Anti-NG2-PE. Các phép đo (% dương tính) được thực hiện trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Phân tích được tiến hành theo phương pháp EP5-A2 của CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Đánh giá hiệu suất độ chụm của phương pháp đo định lượng).

Tiêu chí chấp nhận của chúng tôi phụ thuộc vào số lượng sự kiện dương tính đo được cho mỗi quần thể:

- Nếu sự kiện dương tính <1.500, CV <15%
- Nếu sự kiện dương tính >1.500, CV <10%

Máu toàn phần pha với dòng tế bào HELA							
Số sự kiện dương tính (Giá trị trung bình) = 4262							
	Giữa những người thao tác	Giữa các máy đếm tế bào	Trong lô	Giữa các lô	Giữa các lần chạy	Trong lần chạy	Toàn phần
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
KẾT QUẢ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ĐỘ CHÍNH XÁC

Độ chính xác của Anti-NG2-PE được đánh giá bằng cách so sánh kết quả với thuốc thử tham chiếu để khẳng định trên một tập hợp các mẫu máu toàn phần pha với tế bào dương tính chạy trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Độ lệch giữa xét nghiệm và thuốc thử tham chiếu được xác định dựa trên sự chênh lệch giữa các kết quả xét nghiệm. Nếu độ lệch nằm trong phạm vi sai số cho phép hoặc giá trị p cho thấy không có sự khác biệt đáng kể (> 0,05), thì kết quả xét nghiệm cho hai thuốc thử được coi là tương đương.

Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Số người hiến = 25				
Mục tiêu dương tính	Giá trị trung bình Δ	Tiêu chí tế bào Δ %	giá trị p	KẾT QUẢ
Máu toàn phần pha với dòng tế bào HELA	0,01	<5	0,978	PASS

GIỚI HẠN TRỐNG VÀ GIỚI HẠN PHÁT HIỆN

Một nghiên cứu đã được thực hiện theo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Đánh giá khả năng phát hiện cho các quy trình đo lường trong phòng xét nghiệm lâm sàng). Giới hạn phát hiện (LOD) là nồng độ thấp nhất của chất phân tích có thể phát hiện một cách nhất quán. Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Positive Target	Giới hạn trống (tế bào/µL)	Giới hạn phát hiện (tế bào/µL)
Dòng tế bào HELA	1	3

GIỚI HẠN

1. Phương pháp đếm tế bào dòng chảy có thể cho kết quả sai nếu điều chỉnh máy đếm tế bào không phù hợp, nếu mức bù huỳnh quang rò rỉ không phù hợp và nếu định vị các vùng không cẩn thận.
2. Tốt nhất là sử dụng kỹ thuật ly giải RBC có bước rửa vì thuốc thử này chưa được tối ưu hóa cho các kỹ thuật ly giải "không rửa".
3. Sẽ thu được kết quả chính xác và có thể tái lặp nếu sử dụng quy trình theo tờ hướng dẫn kỹ thuật và phù hợp với biện pháp xét nghiệm hợp lý.
4. Kháng thể cộng hợp của thuốc thử này được hiệu chuẩn để đưa ra tỷ lệ tín hiệu đặc hiệu/tín hiệu không đặc hiệu tốt nhất. Do đó, điều quan trọng là phải tuân thủ tỷ lệ thể tích thuốc thử/thể tích mẫu trong mỗi xét nghiệm.
5. Trong trường hợp tăng bạch cầu, hãy pha loãng máu trong PBS để thu được giá trị xấp xỉ 5 x 10^9 bạch cầu/L (12).
6. Trong một số tình trạng bệnh, chẳng hạn như suy thận nặng hoặc bệnh rối loạn máu, hồng cầu có thể ly giải chậm, ly giải không hoàn toàn, hoặc thậm chí là không thể ly giải. Trong trường hợp này, bạn nên phân lập tế bào đơn nhân bằng phương pháp ly tâm phân lớp theo tỷ trọng (ví dụ: Ficoll) trước khi nhuộm (13).
7. Ở những bệnh nhân được điều trị bằng các liệu pháp kháng thể đơn dòng kháng người, khả năng phát hiện các kháng nguyên mục tiêu đặc hiệu có thể giảm đi hoặc không xảy ra do bị kháng thể điều trị chặn một phần hoặc toàn bộ.
8. Phải diễn giải kết quả Anti-NG2-PE dựa trên toàn bộ các dấu hiệu lâm sàng của bệnh nhân, bao gồm: triệu chứng, tiền sử lâm sàng, dữ liệu từ các xét nghiệm khác và thông tin thích hợp khác.

Xem Phụ lục để biết ví dụ và tài liệu tham khảo.

NHÃN HIỆU

Beckman Coulter, logo cách điệu và các nhãn hiệu sản phẩm cũng như dịch vụ của Beckman Coulter nêu trong tài liệu này là nhãn hiệu hoặc nhãn hiệu đã đăng ký của Beckman Coulter, Inc. ở Hoa Kỳ và các quốc gia khác.

THÔNG TIN BỔ SUNG

Đối với bệnh nhân/người dùng/bên thứ ba tại Liên minh Châu Âu và ở các quốc gia có chế độ quản lý giống nhau (Quy định 2017/746/EU về Thiết bị y tế chẩn đoán In vitro); nếu xảy ra sự cố nghiêm trọng trong quá trình sử dụng thiết bị này hoặc do sử dụng thiết bị này, vui lòng báo cáo cho nhà sản xuất và/hoặc đại diện ủy quyền của nhà sản xuất cũng như cơ quan có thẩm quyền tại quốc gia của bạn.

Summary of Safety and Performance (Tóm tắt về an toàn và hiệu suất) có trong cơ sở dữ liệu EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

LỊCH SỬ SỬA ĐỔI

PHIÊN BẢN AD:	Ngày phát hành: Tháng 10 năm 2019

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AW	Tháng 05 năm 2022
Cập nhật để tuân thủ Chính sách ghi nhãn toàn cầu của Beckman Coulter và theo các yêu cầu IVD-R (EU) 2017/746:	
Bổ sung các phần	Số BSI 2797, Đối tượng sử dụng, Tính thích hợp về lâm sàng, Nồng độ, Độ chụm, Độ chính xác, Giới hạn trống và giới hạn phát hiện, Thông tin bổ sung, Lịch sử sửa đổi.
Bổ sung thông tin	Xem các phần Giới hạn
Cập nhật cách diễn đạt hoặc câu chữ	Xem các phần Quy trình, Hiệu suất, Giới hạn, Cảnh báo và Biện pháp phòng ngừa, Bảo quản và Độ ổn định.
Các phần bị xóa	Ví dụ về các ứng dụng lâm sàng, Thuốc thử, Khả năng tái lập trong phòng xét nghiệm, Độ tuyến tính
Các phần cập nhật	Mục đích sử dụng, Phân loại mối nguy hiểm theo GHS, Bằng chứng biến chất, Quy trình, Phụ lục.

PHIÊN BẢN	**Ngày phát hành**
AX	Tháng 4 2023
Các phần cập nhật	Thêm tiếng Kazakh
Các phần cập nhật	Bảo quản và độ ổn định

Phiên bản sửa đổi	AY
Ngày sửa đổi	Tháng 5 2024
Đã cập nhật bản dịch	**Tính thích hợp về lâm sàng:**
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Phiên bản sửa đổi	AZ
Ngày sửa đổi	Tháng 7 2024
Các phần cập nhật	Lịch sử sửa đổi

Bảng chú giải các ký hiệu

Danh mục thuật ngữ ký hiệu có sẵn tại beckman.com/techdocs (số tài liệu B60062)

	Сипаттамалары
Ерекшелік	NG2
Клон	7,1
Гибридома	SP2/0 x balb/c
Иммуноген	Readus cell line
Иммунды глобулин	IgG1
Түрлері	Тышқан
Тазарту	Үйірлік хроматография
Флуорохром	R Phycoerythrin (PE)
Молярлық қатынасы	PE / Ig: 0,5 - 1,5
λ қозу	488 нм
Эмиссияның жоғарғы шегі	575 нм
Буфер	PBS pH 7,2 + 2 мг / мл BSA және 0,1% NaN_3

Конъюгацияланған
IOTest антиденесі
Anti-NG2-PE

REF B92429 100 сынақ; 2 мл, 20 мкл / сынақ

***In vitro* диагностикасында пайдалануға арналған.**

ПАЙДАЛАНУ МАҚСАТЫ

Бұл флуорохроммен конъюгацияланған антидене адамның биологиялық үлгілерінде NG2 антигеннің болуын көрсететін жасуша популяциясын ағын цитометриясы көмегімен сапалы және автоматтандырылмаған анықтауға мүмкіндік береді (төмендегі «Үлгілер» бөлімін қараңыз).

ҚАҒИДА

Бұл сынақ нақты моноклоналды антиденелердің лейкоциттер айқындайтын антигендік детерминанттармен байланысу қабілетіне негізделген.

Лейкоциттердің арнайы бояуы үлгіні IOTest реагентімен инкубациялау арқылы жүзеге асады. Сол кезде эритроциттер лизис арқылы шығарылады, ал осы процесс әсер етпейтін лейкоциттерге ағын цитометриясы арқылы талдау жасалады.

Ағын цитометрі жарық диффузиясы мен жасушалардың флуоресценттенуін өлшейді. Бұл гистограммада анықталған электронды терезеде қызығушылық популяциясын ажыратуға мүмкіндік береді, ол жарықтың ортогональды диффузиясын (бүйірлік шашырау немесе SS) және тар бұрышты жарықтың диффузиясын (тікелей шашырау немесе FS) байланыстырады. Цитометрде қолжетімді екі түрлі параметрді біріктіретін басқа гистограммаларды пайдаланушы таңдаған қолданбаға байланысты гейтинг кезеңінде тірек ретінде пайдалануға болады.

Оң боялған оқиғаларды боялмаған оқиғалардан ажырату үшін шектеулі жасушалардың флуоресценттенуіне талдау жүргізілді. Оның нәтижесі оң оқиғалардың гейтинг арқылы алынған барлық оқиғаларға қатынасының пайыздық көрсеткіші ретінде көрсетіледі.

МАҚСАТТЫ ПАЙДАЛАНУШЫ

Бұл өнім зертханалық жағдайда кәсіби пайдалануға арналған.

КЛИНИКАЛЫҚ МАҢЫЗЫ

Anti-NG2-PE – ағын цитометриясы арқылы NG2 антигенін экспрессиялайтын жасушаларды сәйкестендіру және сипаттау үшін пайдаланылатын Anti-NG2 антиденесі. Бұл өнімді жалғыз өзін пайдаланып қандай да бір диагностикалық қорытынды жасау мүмкін емес және жасауға арналмаған.

Басқа маркерлермен бірлесіп пайдаланылғанда, бұл өнімді келесі функциялардың біреуінде немесе бірнешеуінде пайдалануға болады:

- Гемопоэтикалық неоплазмаға күдікті гематологиялық аномальды пациенттерді дифференциалды диагностикалауға көмектесу және белгілі гемопоэтикалық неоплазмасы бар пациенттерді бақылау үшін.
- Гемопоэтикалық жаңа ісігі бар пациенттерге болжау жасауға көмектесу.

Келесі анықтамаларды қараңыз:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9

ҮЛГІЛЕР

Көктамыр қанын антикоагулянт ретінде EDTA тұзы бар стерильді түтіктердің көмегімен алу керек.

Үлгілерді бөлме температурасында (18–25°C) сақтау керек және оларды шайқауға болмайды. Үлгілерді сынақ үлгісін алмастан бұрын жеңіл араластыру жолымен гомогендеу керек.

Үлгілерді көк тамырды тескен соң 24 сағат ішінде талдау қажет.

ЕСКЕРТУ ЖӘНЕ САҚТЫҚ ШАРАЛАРЫ

1. Жарамдылық мерзімі өткеннен кейін реагентті қолдануға болмайды.
2. Қатыруға болмайды.
3. Оны пайдаланбас бұрын, температурасының бөлме температурасына (18–25°C) жетуін күтіңіз.
4. Жарық әсерін азайтыңыз.
5. Реагенттердің микробтармен ластануына жол бермеңіз немесе жалған нәтижелер орын алуы мүмкін.
6. Құрамында натрий азиды бар антидене ерітінділермен (NaN_3) жұмыс істегенде абай болу керек. Ішке қабылдамаңыз. Теріге, шырышты қабыққа және көзге тиігізбеңіз.

Оған қоса, қышқылды ортада натрий азиды ықтимал қауіпті азотты сутек қышқылын түзуі мүмкін. Оны жою қажет болған жағдайда реагентті алдымен судың көп мөлшерінде сұйылтып, артынан кәріз жүйесіне төгуге кеңес беріледі. Осылайша, натрий азидының металл құбырларда жиналуын болдырмай, жарылыс қаупінің алдын алуға болады.

7. Қанның барлық үлгілері ықтимал жұқпалы деп есептелуі және сақтықпен өңделуі (атап айтқанда: қорғаныс қолғабын, халат және көзілдірік кию) керек.
8. Ешқашан оны аузыңызға құймаңыз және үлгілерді теріге, шырышты қабыққа және көзге тигізбеңіз.
9. Өңдеу үшін пайдаланылатын қан түтіктері мен бір реттік материалдарды өртеуге арналған арнайы контейнерлерге тастау керек.
10. Реагенттер мен қалдықтар жергілікті талаптарға сәйкес жойылуы тиіс.

GHS ҚАУІПТЕР КЛАССИФИКАЦИЯСЫ

Қауіпті деп жіктелмейді

SDS Қауіпсіздік парағы beckmancoulter.com/techdocs мекенжайы бойынша қолжетімді

САҚТАУ ЖӘНЕ ТҰРАҚТЫЛЫҚ

Құтыны ашпай тұрып және оны ашқаннан кейін, бұл реагентті 2–8°C температурада жарықтан қорғалған жерде сақтау керек.

Тұрақтылық зерттеуіне сәйкес жабық күйіндегі сауыт сөресінің жарамдылық мерзімі: 1095 күндер.

Ашық құтының тұрақтылығы: реагент 180 күн бойы тұрақты болады.

ЗАҚЫМДАЛУ БЕЛГІЛЕРІ

Реагенттердің сыртқы түрінің кез келген өзгерісі олардың зақымдалғандығын көрсетуі мүмкін және реагентті пайдаланбаған жөн.

Қосымша ақпарат алу үшін немесе зақымдалған өнімді алған жағдайда 800-742-2345 (АҚШ немесе Канада) арқылы Beckman Coulter тұтынушыларға қызмет көрсету орталығына қоңырау шалыңыз немесе жергілікті Beckman Coulter компаниясының өкіліне хабарласыңыз.

МАЗМҰНЫ

Натрий азиді консерванты металдан жасалған құбыр желілерінде жарылғыш қосылыстар түзуі мүмкін. NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76) (NIOSH бюллетенін қараңыз: азидтердің жарылу қаупі (16.08.1976)).
Азид қосылыстарының ықтимал түзілуін болдырмау үшін сұйылтылмаған реагентті жойғаннан кейін су құбырларын шайыңыз. Натрий азидін жою тиісті жергілікті ережелерге сәйкес жүзеге асырылуы тиіс.

ҚАЖЕТТІ, БІРАҚ ЖИНАҚПЕН БІРГЕ ЖЕТКІЗІЛМЕГЕН МАТЕРИАЛДАР

- Үлгі алу түтіктері және үлгі алу үшін қажетті материал.
- 20, 100 және 500 мкл ерітінділерге арналған бір реттік ұшы бар автоматты тамызғыштар.
- Эритроциттер гемолизіне арналған пластикалық түтіктер.
- Лизистен кейін жуу әдісі пайдаланылатын эритроцит лизисінің реагенті. Мысалы: VersaLyse (Сілт A09777).
- Лейкоцит фиксация реагенті. Мысалы: IOTest 3 бекіту ерітіндісі (A07800 қараңыз).
- Изотиптік бақылау PE: IOTest реагенті (анық. A07796).
- Буфер (PBS: 0,01 M натрий фосфаты; 0,145 M натрий хлориді; pH 7,2).
- Центрифугалау
- Автоматты араластырғыш (араластырғыш түрі).
- Ағын цитометрі.

VERSALYSE РЕАГЕНТІ КӨМЕГІМЕН ОРЫНДАЛАТЫН ПРОЦЕДУРА

Әрбір талданатын үлгі үшін сынақ түтігіне қосымша, жасушалар изотиптік бақылаудың қатысуымен араласатын бір бақылау түтігін пайдалану ұсынылады (анық. A07796).

1. Әрбір түтікке 20 мкл арнайы конъюгацияланған IOTest антиденесін және, қажет болса, әрбір сынақ түтігіне 20 мкл изотиптік бақылауды қосыңыз.
2. Әр түтікке сынақ үлгісінің 100 мкл қосыңыз. Түтіктерді абайлап араластырыңыз.
3. Жарықтан қорғалған бөлме температурасында (18–25°C) 15–20 минут инкубациялаңыз.
4. Содан соң қызыл жасушалардың лизисін орындаңыз. VersaLyse (анық. A09777) парақшасын қарап, жоспардан тыс дайындалған 1 мл «Бекіту және еріту» қоспасын қосудан тұратын «ілеспе бекітумен» деп аталатын процедураны орындаңыз. Бір секунд дереу араластырыңыз және жарықтан қорғалған бөлме температурасында 10 минут бойы инкубациялаңыз.
5. 150 x г шамасында 5 минут бойы бөлме температурасында центрифугалаңыз.
6. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастаңыз.
7. 3 мл PBS ерітіндісін пайдаланып, жасуша массасын қайта ерітіңіз.
8. 5-қадамды қайталаңыз.
9. Супернатантты аспирация көмегімен алып тастап, жасуша массасын төмендегіні қолдану арқылы қайта ерітіңіз:

- Егер препараттар 24 сағаттан аз сақталатын болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне 0,1% формальдегид қосылады. (0,1% формальдегидті PBS ерітіндісі 12,5 мкл IOTest 3 бекіту ерітіндісін (анық. A07800) 10 еселік концентрациясында 1 мл PBS ерітіндісін сұйылту арқылы алуға болады).
- Егер 2 сағат ішінде талдануы керек болса, 0,5 мл немесе 1 мл PBS ерітіндісіне формальдегид қосылмайды.

Ескертпе: барлық жағдайда препараттарды 2–8°C температурада, күн көзінен алыс жерде сақтау керек.

КҮТІЛЕТІН МӘНДЕР

Бұл өнім үшін тиісті күтілетін мән жоқ.

ӨНІМДІЛІК

Өнімділік жөніндегі деректер 24 сағаттық үлгілерді пайдаланып, жоғарыда сипатталған процедура арқылы алынады. Бұл үлгілер алдын ала антикоагулянт ретінде EDTA тұзы арқылы стерильді түтіктерге жиналады. Талдау иммундық бояудан соң 2 сағат ішінде жасалады.

ЕРЕКШЕЛІГІ

Нейрон глия антиген-2 (NG2), хондроитин сульфаты протеогликан 4 деп те белгілі протеогликан немесе меланомамен байланысты хондроитин сульфаты протеогликан даму және дифференциация кезінде көптеген орталық жүйке жүйесінің (CNS) жасушаларымен экспрессияланатын 250 кДа 1-типті мембраналық гликопротеин болып табылады және ангиогенезде, жараларды емдеуде және ісіктердің өсуінде маңызды рөл атқарады. Хондроитин сульфаты молекулаларының протеогликан класы жасушалардың адгезиясы мен миграциясының (10) ингибиторлары болуы мүмкін және нейрондық білікше жолында жасушалардың миграциясына кедергі болуы мүмкін. 7.1 моноклоналды антидене егеуқұйрықтың NG2 антигенінің адам гомологы ретінде белгілі молекулалық салмағы 200–220 кДа болатын жасуша бетіндегі хондроитин сульфатының протеогликан молекуласын таниды. NG2 антигені адамның глиальды жасушаларының популяцияларында кездеседі (11). Ол қалыпты гемопоэтикалық жасушаларда экспрессияланбайды.

ДӘЛДІК

Оң мәндердің пайызы оң жасушаларды қосу арқылы жаңа алынған қан арқылы анықталды. Әрбір үлгі Anti-NG2-PE моноклоналды антидене реагентінің 2 топтамасы арқылы 2 құралда 1 күн бойы күніне екі мезгіл 4 рет талданды. Өлшемдер (% оң) Navios ағын цитометрінде жүргізілді. Талдау CLSI EP5-A2 әдісі негізінде жүргізілді: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Сандық өлшеу әдістерінің дәлдік өнімділігін бағалау).

Біздің қабылдау критерийлері әрбір популяция үшін өлшенген оң оқиғалардың санына байланысты:

- Оң оқиға болса <1500, CV <15%
- Оң оқиға болса >1500, CV <10%

Жаңа алынған қанHELAжасуша сызығы бар							
Оң оқиғалар саны (Орташа мән) = 4262							
	Аралық оператор	Цитометраралық	Топтама ішілік	Топтама аралық	Жүгіру арасында	Жүгіру ішінде	Жалпы
CV (%)	1,00	3,03	8,11	0,97	7,83	1,87	8,71
НӘТИЖЕЛЕР	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ДҰРЫСТЫҚ

Anti-NG2-PE дұрыстығы Navios ағын цитометрінде өңделген оң жасушаларды қосу арқылы жаңа алынған қан үлгілерінің жинағындағы, предикат ретінде анықтамалық реагентпен нәтижелерді салыстыру арқылы бағаланған. Сынақ пен анықтамалық реагент арасындағы ауытқу сынақ нәтижелері арасындағы айырмашылық негізінде анықталған. Егер қателік рұқсат етілген қате ауқымында болса немесе p мәні айтарлықтай айырмашылықты көрсетпесе (>0,05), онда екі реагенттің сынақ нәтижелері баламалы болып қарастырылады.

Алынған нәтижелер келесі кестеде толық көрсетілген:

Донорлар саны = 25				
Оңтайлы нысана	Орташа мән Δ	Δ % Жасуша критерийлері	p-мәні	НӘТИЖЕЛЕР
Жаңа алынған қанHELAжасуша сызығы бар	0,01	<5	0,978	PASS

БОС СЫНАМА ШЕГІ ЖӘНЕ АНЫҚТАУ ШЕГІ

Зерттеу CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, клиникалық зертханалық өлшеу процедураларын анықтау мүмкіндігін бағалау) нұсқауына сәйкес жүргізілді. Анықтау шегі (LOD) – бұл рет-ретімен анықтауға болатын аналиттің ең төмен концентрациясы. Алынған нәтижелер келесі кестеде жинақталған:

Positive Target	Бос сынама шегі (жасуша/мкл)	Анықтау шегі (жасуша/мкл)
HELA Жасушалық сызық	1	3

ШЕКТЕУЛЕР

1. Цитометр дұрыс бапталмаған, флуоресценттенудің ағып кетуі дұрыс өтелмеген және аймақтар мұқият орналастырмаған жағдайда, ағын цитометриясы қате нәтижелер беруі мүмкін.
2. RBC лизис әдісін жуу қадамымен пайдаланған жөн, себебі бұл реагент «жуусыз» лизис әдістері үшін оңтайландырылмаған.
3. Жүргізілген процедуралар техникалық нұсқау брошюрасына сәйкес және тиісті зертханалық тәжірибемен үйлесімді болған жағдайда ғана дұрыс, әрі жаңғыртылуы мүмкін нәтижелерді алуға болады.
4. Осы реагенттің конъюгацияланған антиденесі арнайы сигнал мен арнайы емес сигналдың ең жақсы қатынасын қамтамасыз ететіндей калибрленген. Сондықтан әрбір сынақты жүргізгенде реагент көлемінің үлгі көлеміне қатынасын сақтау маңызды.
5. гиперлейкоцитоз жағдайында шамамен 5 x 10^9 лейкоцит/л (12) мәнін алу үшін PBS ерітіндісінде қанды сұйылтыңыз.
6. Кейбір жіті бүйрек жеткіліксіздігі немесе гемоглобинопатия сияқты аурулар жағдайында, эритроциттер лизисі баяу, толық емес немесе тіпті мүмкін емес болуы мүмкін. Бұл жағдайда бояудан бұрын тығыздық градиентін (мысалы, Ficoll) пайдаланып мононуклеарлы жасушаларды оқшаулап алу ұсынылады (13).
7. Адамға қарсы моноклоналды антиденелер терапиясымен емделген пациенттерде арнайы мақсатты антигендерді анықтау емдік антиденеңің ішінара немесе толық бұғатталуына байланысты төмендеуі немесе болмауы мүмкін.

8. Нәтижелер Anti-NG2-PE пациенттің жалпы клиникалық деректері тұрғысынан түсіндірілуге тиіс, соның ішінде: симптомдар, клиникалық анамнез, қосымша сынақтардың деректері және басқа тиісті ақпарат.

Мысалдар мен анықтамалар алу үшін қосымшаны қараңыз.

САУДА БЕЛГІЛЕРІ

Beckman Coulter, стильденген логотип, сонымен қатар Beckman Coulter өнім мен қызмет көрсету белгілері — бұл АҚШ және басқа елдердегі Beckman Coulter, Inc. сауда белгілері немесе тіркелген сауда белгілері.

ҚОСЫМША АҚПАРАТ

Еуропалық Одақтағы және бірдей реттеу режимі (зертханалық жағдайдағы медициналық диагностикалық құрылғылар туралы 2017/746/ЕО қаулысы) бар елдердегі пациент/пайдаланушы/үшінші тарап үшін; егер осы құрылғыны пайдалану кезінде немесе оны пайдалану нәтижесінде елеулі оқиға орын алса, өндірушіге және/немесе оның уәкілетті өкіліне және ұлттық органыңызға хабарлаңыз.

Қауіпсіздік пен өнімділік бойынша қорытынды мәліметтер EUDAMED дерекқорында қолжетімді: ec.europa.eu/tools/eudamed.

Өзгерту тарихы

AD ҚАЙТА ҚАРАУ:	Шығарылған күні: Қазан 2019

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AW	Мамыр 2022 ж.
Beckman Coulter ғаламдық таңбалау саясатына және IVD-R (ЕО) 2017/746 талаптарына сәйкес жасалған жаңартулар:	
Қосылған бөлімдер	«BSI 2797 нөмірі», «Мақсатты пайдаланушы», «Клиникалық маңызы», «Концентрациясы», «Анықтық», «Дұрыстық», «Бос сынама шегі және анықтау шегі», «Қосымша ақпарат», «Өзгерту тарихы».
Қосылған ақпарат	«Шектеулер» бөлімінен қараңыз
Фразалар және типографиялық жаңартулар	«Процедура», «Өнімділік», «Шектеулер», «Ескерту және сақтық шаралары» «Сақтау және тұрақтылық» бөлімдерін қараңыз.
Жойылған бөлімдер	«Клиникалық қолдану мысалы», «Реагенттер», «Зертханаішілік жаңғыртылу», «Сызықтық»
Жаңартылған бөлімдер	«Пайдалану мақсаты», «GHS қауіптер классификациясы», «Зақымдалу белгілері», «Процедура», «Қосымша».

РЕДАКЦИЯ	**Шығарылған күні**
AX	Сәуір 2023
Жаңартылған бөлімдер	Қазақ тілін қосу
Жаңартылған бөлімдер	Сақтау және тұрақтылық

Қайта қаралған нұсқасы	AY
Қайта қаралған күні	Мамыр 2024
Жаңартылған аудармалар	**Клиникалық маңызы:**
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Қайта қаралған нұсқасы	AZ
Қайта қаралған күні	Шілде 2024
Жаңартылған бөлімдер	Өзгерту тарихы

Таңбалар пернесі

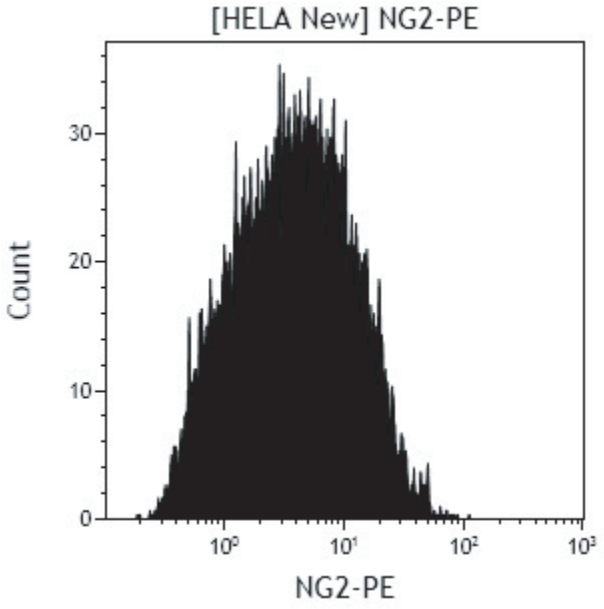
Таңбалар глоссарийі beckman.com/techdocs сайтында (құжат нөмірі: B60062) қолжетімді

APPENDIX

- EXAMPLES

HELA Cell line stained with IOTest Anti-NG2-PE Conjugated Antibody.

Acquisition is performed with a Beckman Coulter Navios flow cytometer equipped with the Navios analysis software.



REFERENCES

1. C. Wuchter, J. Harbott, C. Schoch, S. Schnittger, A. Borkhardt, L. Karawajew, R. Ratei, V. Ruppert, T. Haferlach, U. Creutzig, B. Dörken, W. D. Ludwig, "Detection of acute leukemia cells with mixed lineage leukemia (MLL) gene rearrangements by flow cytometry using monoclonal antibody 7.1.", Leukemia. 14, 1232–1238 (2000).
2. M. Emerenciano, G. Renaud, M. Sant'Ana, C. Barbieri, F. Passetti, M. S. Pombo-de-Oliveira, "Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia, Challenges in the use of NG2 antigen as a marker to predict MLL rearrangements in multi-center studies.", Leuk. Res. 35, 1001–1007 (2011).
3. M. Fenton, T. L. Whiteside, S. Ferrone, M. Boyiadzis, "Chondroitin sulfate proteoglycan-4 (CSPG4)-specific monoclonal antibody 225.28 in detection of acute myeloid leukemia blasts.", Oncol. Res. 22, 117–121 (2015).
4. K. Petrovici, M. Graf, K. Hecht, S. Reif, K. Pfister, H. Schmetzer, "Use of NG2 (7.1) in AML as a tumor marker and its association with a poor prognosis.", Cancer Genomics Proteomics. 7, 173–180 (2010).
5. J. Neudenberger, M. Hotfilder, A. Rosemann, C. Langebrake, D. Reinhardt, R. Pieters, A. Schrauder, M. Schrappe, S. Röttgers, J. Harbott, J. Vormoor, "Lack of expression of the chondroitin sulphate proteoglycan neuron-glial antigen 2 on candidate stem cell populations in paediatric acute myeloid leukaemia/abn(11q23) and acute lymphoblastic leukaemia/t(4;11).", Br. J. Haematol. 133, 337–344 (2006).
6. Theodorakos I, Paterakis G, Papadakis V, Vicha A, Topakas G, Jencova P, Karchilaki E, Taparkou A, Tsagarakis NJ, Polychronopoulou S, "Interference of bone marrow CD56(+) mesenchymal stromal cells in minimal residual disease investigation of neuroblastoma and other CD45(-) /CD56(+) pediatric malignancies using flow cytometry.", Pediatr Blood Cancer. 2019 Aug;66(8):e27799. doi: 10.1002/pbc.27799. Epub 2019 May 7.
7. L. Zen, S. Bicciato, G. Kronnie, G. Basso, "Computational analysis of flow-cytometry antigen expression profiles in childhood acute lymphoblastic leukemia: An MLL/AF4 identification.", Leukemia: official journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, U.K. 17, 1557–65 (2003).
8. N. J. Tsagarakis, S. I. Papadhimitriou, D. Pavlidis, T. Marinakis, I. V. Kostopoulos, E. Stiakaki, S. Polychronopoulou, G. Paterakis, "Flow cytometric predictive scoring systems for common fusions ETV6/RUNX1, BCR/ABL1, TCF3/PBX1 and rearrangements of the KMT2A gene, proposed for the initial cytogenetic approach in cases of B-acute lymphoblastic leukemia.", Int J Lab Hematol. 41, 364–372 (2019).
9. S. Schwartz, H. Rieder, B. Schläger, T. Burmeister, L. Fischer, E. Thiel, "Expression of the human homologue of rat NG2 in adult acute lymphoblastic leukemia: close association with MLL rearrangement and a CD10(-)/CD24(-)/CD65s(+)/CD15(+) B-cell phenotype.", Leukemia. 17, 1589–1595 (2003).
10. Yamaguchi, Y., Ruoslahti, E., Expression of human proteoglycan in Chinese hamster ovary cells inhibits cell proliferation, 1988, Nature, 336, 244-246.
11. Pouly, S., Becher, B., Blain, M., Antel, J.P., Expression of a homologue of rat NG2 on human microglia, 1999, Glia, 3, 259-268.
12. H42-A2 Vol.27 No. 16. P30. Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry; Approved Guideline - Second Edition.
13. Ibrahim FF, Ghannam MM, Ali FM., "Effect of dialysis on erythrocyte membrane of chronically hemodialyzed patients"., 2002. Ren Fail., Nov;24(6):779-90.

IMMUNOTECH SAS 是贝克曼库尔特公司的旗下公司，地址：130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France，电话：+(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda
Alameda Rio Negro, 500, 15 andar, Torre B Alphaville Industrial
CEP 06.454-000 Barueri, São Paulo, Brasil
CNPJ: 42.160.812/0001-44 Telefone: 0800-771-8818

製造販売業者: ベックマン·コールター株式会社
〒135-0063
東京都江東区有明三丁目5 番7号
TOC有明ウエストタワー

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

 IMMUNOTECH SAS A Beckman Coulter Company, 130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France, +(33) 4 91 17 27 27

www.beckman.com

BECKMAN COULTER
MADE IN France

IOTest
Conjugated Antibody
CD31-FITC

	Specifications
Specificity	CD31
Clone	5.6E
Hybridoma	NS1 x balb/c
Immunogen	muscle tissue extract (rhabdomyosarcoma)
Isotype	IgG1
Species	Mouse
Purification	Affinity Chromatography
Fluorochrome	Fluorescein isothiocyanate (FITC)
Molar ratio	FITC / Ig: 4.5 - 6
λ excitation	488 nm
Emission Peak	525 nm
Buffer	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA and 0.1% NaN_3

REF IM1431U Liquid - 2 mL

Analyte Specific Reagent.
Analytical and performance characteristics are not established

REAGENTS
Concentration: See lot specific Certificate of Analysis at www.beckmancoulter.com.

WARNING AND PRECAUTIONS
1. This reagent contains 0.1% sodium azide. Sodium azide under acid conditions yields hydrazoic acid, an extremely toxic compound. Azide compounds should be flushed with running water while being discarded. These precautions are recommended to avoid deposits in metal piping in which explosive conditions can develop. If skin or eye contact occurs, wash excessively with water.
2. Specimens, samples and all material coming in contact with them should be considered potentially infectious and disposed of with proper precautions.
3. Never pipet by mouth and avoid contact of samples with skin and mucous membranes.
4. Do not use antibody beyond the expiration date on the label.
5. Do not expose reagents to strong light during storage or incubation.
6. Avoid microbial contamination of reagents or incorrect results might occur.
7. Use good laboratory practices when handling this reagent.
8. Any change in the physical appearance of the reagents may indicate deterioration and the reagent should not be used.

GHS HAZARD CLASSIFICATION
Not classified as hazardous

SDS	Safety Data Sheet is available at beckman.com/techdocs

STORAGE AND HANDLING CONDITIONS AND STABILITY
This reagent is stable up to the expiration date when stored at 2 – 8°C. Do not freeze.

No reconstitution is necessary. This monoclonal antibody may be used directly from the vial. Bring reagent to 18 – 25°C prior to use.

© 2019 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).
To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

SPECIFICITY

The CD31 antigen, also known as Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule 1 (PECAM-1), is a transmembrane glycoprotein of 130 kDa related to the immunoglobulin superfamily (1). The expression of CD31 on stem cells of the myeloid lineage, on platelets and on endothelial cell junctions (2) is reviewed in litterature 3. CD31 is involved in the migration of leucocytes through the endothelial cell wall, via adhesion to αvβ3 integrin and to CD38 (4, 5).

In addition, CD31 participates in outside-in signaling in leucocytes (6) likely through phosphorylation of its intracytoplasmic tyrosine residues 663 and 686 and subsequent association with tyrosine phosphatases SHP-1 and SHP-2 (7). On platelets, recent studies suggest a comparable mechanism of action for CD31 in activation and aggregation (8, 9). The 5.6E monoclonal antibody has been assigned (as antibody No. P90) to the CD31 cluster of differentiation at the 4th International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens in Vienna, Austria, in 1989 (10) and further described in litterature 8 and 11.

TRADEMARKS

Beckman Coulter, the stylized logo and IOTest are trademarks of Beckman Coulter, Inc., and registered with the USPTO.

ADDITIONAL INFORMATION

For additional information, or if damaged product is received, call Beckman Coulter Customer Service at 800-526-7694 (USA or Canada) or contact your local Beckman Coulter Representative.

Symbols Key

Glossary of Symbols is available at beckman.com/techdocs (document number B60062)

REFERENCES

1. Newman, P.J., Berndt, M.C., Gorski, J., White II, G.C., Lyman, S., Paddock, C., Muller, "PECAM-1 (CD31) cloning and relation to adhesion molecules of the immunoglobulin gene superfamily", 1990, Science, 247, 1219-1222.
2. Muller, W.A., Ratti, C.M., McDonnell, S.L., Cohn, Z.A., "A human endothelial cell-restricted externally disposed plasmalemmal protein enriched in intercellular junctions", 1989, J. Exp. Med., 170, 399-414.
3. DeLisser, H.M., Newman, P.J., Albelda, S.M., "Molecular and functional aspects of PECAM-1/CD31", 1994, Immunol. Today, 15, 490-495
4. Deaglio, S., Morra, M., Mallone, R., Ausiello, C.M., Prager, E., Garbarino, G., Dianzani, U., Stockinger, H., Malavasi, F., "Human CD38 (ADP-ribosyl cyclase) is a counter-receptor of CD31, an Ig superfamily member", 1998, J. Immunol., 160, 395-402
5. Horenstein, A.L., Stockinger, H., Imhof, B.A., Malavasi, F., "CD38 binding to human myeloid cells is mediated by mouse and human CD31", 1998, Biochem. J., 330, 1129-1135.
6. Elias III, C.G., Spellberg, J.P., Karan-Tamir, B., Lin, C-H., Wang, Y-J., McKenna, P.J., Muller, W.A., Zukowski, M.M., Andrew, D.P., "Ligation of CD31/PECAM-1 modulates the function of lymphocytes, monocytes and neutrophils", 1998, Eur. J. Immunol., 28, 1948-1958.
7. Pumphrey, N.J., Taylor, V., Freeman, S., Douglas, M.R., Bradfield, P.F., Young, S.P., Lord, J.M., Wakelam, M.J.O., Bird, I.N., Salmon, M., Buckley, C.D., "Differential association of cytoplasmic signalling molecules SHP-1, SHP-2, SHIP and phospholipase C-γ1 with PECAM-1/CD31", 1999, FEBS Letters, 450, 77-83.
8. Wu, X-W., Lian, E.C-Y., "Binding properties and inhibition of platelet aggregation by a monoclonal antibody to CD31 (PECAM-1)", 1997, Arterioscler Thromb. Vasc. Biol., 17, 3154-3158.
9. Varon, D., Jackson, D.E., Shenkman, B., Dardik, R., Tamarin, I., Savion, N., Newman, P.J., "Platelet / endothelial cell adhesion molecule-1 serves as a costimulatory agonist receptor that modulates integrin-dependent adhesion and aggregation of human platelets", 1998, Blood, 91, 500-507.
10. Von Dem Borne, A.E.G.K., Modderman, P.W., Admiraal, L.G., Nieuwenhuis, H.K., "Platelet antibodies, the overall results", 1989, Leucocyte Typing IV, White Cell Differentiation Antigens. W. Knapp, et al., Eds., Oxford University Press, 951-966.
11. Mutin, M., Dignat-George, F., Sampol, J., "Immunologic phenotype of cultured endothelial cells: quantitative analysis of cell surface molecules", 1997, Tissue Antigens, 50, 449-458.



IMMUNOTECH S.A.S. a Beckman Coulter Company, 130, avenue de Lattre de Tassigny,

BECKMAN COULTER
MADE IN France

IOTest
Conjugated Antibody
CD22-PC5

	Specifications
Specificity	CD22
Clone	SJ10.1H11
Hybridoma	SP2/0 x balb/c
Immunogen	Human NALM1 cell line
Isotype	IgG1
Species	Mouse
Purification	Affinity chromatography
Fluorochrome	R Phycoerythrin-Cyanine 5.1 (PC5)
Molar ratio	PC5 / Ig: 0.5 - 1.5
λ excitation	488 nm
Emission Peak	670 nm
Buffer	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA and 0.1% NaN_3

REF IM3704 Liquid - 1 mL

Analyte Specific Reagent.
Analytical and performance characteristics are not established

REAGENTS
Concentration: See lot specific Certificate of Analysis at www.beckmancoulter.com.

WARNING AND PRECAUTIONS
1. This reagent contains 0.1% sodium azide. Sodium azide under acid conditions yields hydrazoic acid, an extremely toxic compound. Azide compounds should be flushed with running water while being discarded. These precautions are recommended to avoid deposits in metal piping in which explosive conditions can develop. If skin or eye contact occurs, wash excessively with water.
2. Specimens, samples and all material coming in contact with them should be considered potentially infectious and disposed of with proper precautions.
3. Never pipet by mouth and avoid contact of samples with skin and mucous membranes.
4. Do not use antibody beyond the expiration date on the label.
5. Do not expose reagents to strong light during storage or incubation.
6. Avoid microbial contamination of reagents or incorrect results might occur.
7. Use good laboratory practices when handling this reagent.
8. Any change in the physical appearance of the reagents may indicate deterioration and the reagent should not be used.

GHS HAZARD CLASSIFICATION
Not classified as hazardous

SDS	Safety Data Sheet is available at beckman.com/techdocs

STORAGE AND HANDLING CONDITIONS AND STABILITY
This reagent is stable up to the expiration date when stored at 2 – 8°C. Do not freeze.

No reconstitution is necessary. This monoclonal antibody may be used directly from the vial. Bring reagent to 18 – 25°C prior to use.

© 2019 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).

To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

SPECIFICITY

The CD22 is a single chain, type I transmembrane molecule with a molecular weight of 130-140 kDa composed of seven Immunoglobulin-like (Ig- like) domains (1). Because these domains, part of the immunoglobulin superfamily (IgSF), show sialic acid binding protein properties, CD22 is a member of the sialoadhesin family, like CD33 and the myelin-associated glycoprotein (MAG) (2). The N-terminal domain, distal to the membrane, is a V-type Ig domain whereas the other six domains proximal to the membrane are C2-type Ig domains (2).The cytoplasmic domain of CD22 includes six tyrosines that are possible targets for phosphorylation. Some regions of the intracytoplasmic tail present homology to the tyrosine-based activation motifs (ITAM) and some others with the tyrosine-based inhibition motifs (ITIM) (2,3). CD22 appears constitutively associated with the BCR (B Cell antigen Receptor) and this may involve CD22 recognition of mIgM carbohydrate determinants (4,5,6). The CD22 mediates adhesion of B-B lymphocyte interactions, and B cells and erythrocytes or leucocyte interactions (2,5,7,8).

LIMITATIONS

Due to the tandem structure of the fluorochrome, PC5 also emits light at 575 nm. This secondary emission peak varies from lot-to-lot of PC5. Therefore, for multi-color analysis, the compensation matrix should be carefully checked when changing the lot of a PC5 -conjugate.

TRADEMARKS

Beckman Coulter, the stylized logo and IOTest are trademarks of Beckman Coulter, Inc., and registered with the USPTO.

ADDITIONAL INFORMATION

For additional information, or if damaged product is received, call Beckman Coulter Customer Service at 800-526-7694 (USA or Canada) or contact your local Beckman Coulter Representative.

Symbols Key

Glossary of Symbols is available at beckman.com/techdocs (document number B60062)

REFERENCES

1. Kehrl, J., "CD22 workshop Panel report", 1995, Leucocyte Typing V, White Cell Differentiation Antigens. Schlossman, S.F., et al., Eds., Oxford University Press, 523-527.
2. Tedder, T.F., Tuscano, J., Sato,S., Kehrl, J.H., "CD22, A B lymphocyte-specific adhesion molecule that regulates antigen receptor signaling", 1997, Rev. Immunol., 15, 481 -504.
3. Unkeless, J.C., Jin, J., "Inhibitory receptors, ITIM sequences and phosphatases", 1997, Curr. Opin. Immunol., 9, 338-343.
4. Buhl, A.M., Cambier, J.C., "Co-receptor and accessory regulation of B-cell antigen receptor signal transduction", 1997, Immunol. Rev., 160, 127-138.
5. Law, C.L., Sidorenko, S.P., Clark, E.A., "Regulation of lymphocyte activation by the cell-surface molecule CD22", 1994, Immunol. Today, 9, 15, 442-449.
6. Doody, G.M., Dempsey, P.W., Fearon, D.T., "Activation of B lymphocytes : integrating signals from CD19, CD22 and FcgammaRIIb1", 1996, Curr. Opin. Immunol., 8, 378-382.
7. Lynn Wilson.G.,"Genomic structure and chromosomal mapping of the human CD22 gene", 1993, J. Immunol., 11, 150, 5013.
8. Stamenkovic, I., Sgroi, D., Aruffo, A., Sy, M.S., Anderson, T., "The B lymphocyte adhesion molecule CD22 interacts with leukocyte common antigen CD45RO on T cells and alpha2-6 sialyltranferase, CD75, on B cells", 1991, Cell, 66, 1133-1144.

IMMUNOTECH S.A.S. a Beckman Coulter Company, 130, avenue de Lattre de Tassigny,
BP 177, 13276 Marseille cedex 9, France, 33-491 172 727

CD11b-APC, 50t

FIȘĂ TEHNICĂ DE SECURITATE

ID document: A87782-75 Versiunea AH
Data revizuirii (an/lună/zi) 2024/06/28
Data ultimei revizuiri (an/lună/zi) 2023/12/22

SECŢIUNEA 1: Identificarea substanţei/amestecului și a societăţii/întreprinderii

1.1 Identificator de produs

Nume produs CD11b-APC, 50t

Cod de articol A87782

Nume serie IOTest

1.2 Utilizări relevante identificate ale substanţei sau ale amestecului și utilizări contraindicate

Utilizarea produsului Reactivi speciali în funcție de analiți.

1.3 Detalii privind furnizorul fișei cu date de securitate

Producător

IMMUNOTECH S.A.S. a Beckman Coulter Company
130, avenue de Lattre de Tassigny, BP 177
13276 Marseille cedex 9, France
Tèl. (33) 491 172 727

Furnizor

Beckman Coulter, Inc.
250 S. Kraemer Blvd
Brea, CA 92821, SUA
Tel.: 800-854-3633

ROMANIA

Distributor DX:
MEDIST S.A. (Diagnostics)
Str. Ion Urdareanu nr. 34A, Sector 5
Bucuresti – 050688
Romania
Phone No.: +40 21 4115003
Hours available: Monday-Thursday: 08.30-17.30, Friday: 08.30-15.00

Distributor LS:
MEDIST Life Science
Str. Ion Urdareanu, nr. 34, et.3
050688, Bucuresti, Romania
Phone No.: 021 410 30 33
Hours available: Monday-Thursday: 8.30-17.30 and Friday: 8.30-15.00

Distributor Microscan items:
DIAMEDIX IMPEX SA
Fabrica de Glucoza No 15A St, Bucharest, Romania
Phone No.: 0040-21-66.888.69
Hours available: 08:00-16:30

Adresă e-mail SDSNT@beckman.com

1.4 Număr de telefon care poate fi apelat în caz de urgenţă

Număr de telefon (24 de ore) Număr de telefon urgențe Chemtrec SUA 800-424-9300, Internațional (001) 703-527-3887

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 1: Identificarea substanţei/amestecului și a societăţii/întreprinderii (Continuare)

Distribuitor și număr de telefon urgențe

Consultați lista anexată, cod document: 472050, pentru distribuitorul local și numerele de telefon pentru urgențe.

ROMANIA - National Institute for Public Health, Ministry of Health, Str. Dr. Leonte Anastasievici Nr. 1-3, Sector 5 Bucuresti, 050463, Romania, Tel: +40213183606, Email: infotox(at)insp.gov.ro, http://www.insp.gov.ro

SECŢIUNEA 2: Identificarea pericolelor

2.1 Clasificarea substanţei sau a amestecului

Descrierea produsului

Amestec

Albastră; Lichidă; Inodoră

Clasificare conform regulamentului CE nr. 1272/2008 (CLP/GHS)

Neclasificat ca periculos conform Directive CE 1272/2008 (CLP/GHS)

Clasificare conform sistemelor OSHA din SUA (HCS 29 CFR 1910.1200) și GHS al ONU

Neclasificat ca periculos conform sistemelor OSHA HCS 2012 din SUA și GHS al ONU

2.2 Elemente de etichetare

Conform regulamentului CE nr. 1272/2008 (CLP/GHS), sistemelor OSHA din SUA și GHS al ONU

Neclasificat ca periculos conform Regulamentului CE 1272/2008 (CLP/GHS), OSHA SUA și GHS

2.3 Alte pericole

Rezultatele evaluării PBT și vPvB

PBT: Nu este cazul.

vPvB: nu este cazul.

Acest produs conține material(e) de origine animală. Când manipulați acest produs, respectați regulile generale de securitate referitoare la protecție.

Acest produs conține concentrații de azidă de sodiu sub nivelul de pericol, care, în urma contactului repetat cu plumbul și cuprul care se găsește în mod obișnuit în canalizări, poate duce la acumularea de compuși sensibili la șocuri. Azida de sodiu formează compuși cu risc de explozie cu metalele grele.

Consultați Secțiunea 11 Informații toxicologice pentru informații mai detaliate referitoare la sănătate.

SECŢIUNEA 3: Compoziţie/informaţii privind componenţii

3.2 Amestecuri

Componente periculoase:		**Clasa de pericol a componentelor pure**		
Denumire chimică	**Procent de greutate**	**UE 1272/2008 CLP/GHS**	**GHS**	**Observație**

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 3: Compoziţie/informaţii privind componenţii (Continuare)

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8 Nr. EINECS 247-852-1 Nr. index 011-004-00-7	0.1	Acute Tox. Oral 2, H300 Toxicitate acvatică acută 1, H400 Toxicitate acvatică pe termen lung 1, H410 EUH032 Estimări ale toxicității acute (ATE) ATE Orală = 27 mg/kg	Acute Tox. Oral 2, H300 Toxicitate acvatică acută 1, H400 Toxicitate acvatică pe termen lung 1, H410	2, 8

2 – Substanță cu limite de expunere profesională la nivel comunitar
8 – Prezent în concentrații sub valorile limită.

Pentru a afla limitele de expunere profesională disponibile, consultați secțiunea 8
Pentru informații de reglementare suplimentare, consultați secțiunea 15
Consultați secțiunea 16 pentru descrierea clasei de pericol și frazele de pericol

SECŢIUNEA 4: Măsuri de prim ajutor

4.1 Descrierea măsurilor de prim ajutor

Inhalare În cazul inhalării produsului, transportați persoana expusă la aer liber. În cazul în care persoana nu respiră, trebuie începută respirația artificială de către personalul calificat și obținută imediat asistență medicală.

Contact cu ochii Dacă produsul pătrunde în ochi, clătiți ușor cu apă ca măsură de precauție.

Contact cu pielea În caz de contact cu pielea, clătiți cu apă ca măsură de precauție.

Ingerare Dacă produsul este ingerat, clătiți gura cu apă. În caz de iritații sau disconfort, solicitați imediat asistență medicală.

4.2 Cele mai importante simptome și efecte, atât acute, cât și întârziate

Nu au fost identificate simptome sau efecte adverse.

4.3 Indicaţii privind orice fel de asistenţă medicală imediată și tratamentele speciale necesare

Nu este necesară asistență medicală specială și nu se impun tratamente speciale.

SECŢIUNEA 5: Măsuri de combatere a incendiilor

5.1 Mijloace de stingere a incendiilor Pentru incendii mari, utilizați mijloacele de stingere adecvate.
În caz de incendiu, utilizați dioxid de carbon (CO2), pudră chimică uscată, apă sau spumă.

5.2 Pericole speciale cauzate de substanţă sau de amestec

Pericole speciale de incendiu și explozie

Nu au fost identificate riscuri speciale.

Produse de combustie periculoase

Nu se estimează că acest produs va genera produse de combustie care să reprezinte pericole semnificative (o soluție apoasă).

5.3 Recomandări destinate pompierilor

Echipament de protecție În cazul tuturor incendiilor chimice, pompierilor li se recomandă să utilizeze un aparat de protecție respiratorie autonom.

Informații suplimentare Nu sunt disponibile alte informații relevante.

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 6: Măsuri împotriva pierderilor accidentale

6.1 Precauţii personale, echipament de protecţie și proceduri de urgenţă

Măsuri de precauţie personale

Acest produs conține material de origine animală. Respectați regulile generale de securitate referitoare la protecție în timpul procedurilor de curățare.

Purtați mănuși de protecție, îmbrăcăminte de protecție și echipament de protecție a ochilor/feței.

6.2 Precauţii pentru mediul înconjurător

Izolați substanța deversată pentru a împiedica dispersia acesteia.

Nu permiteți ca produsul nediluat să pătrundă în canalizări/apele de suprafață sau subterane.

Aruncați conținutul/recipientul în conformitate cu reglementările locale

6.3 Metode și material pentru izolarea incendiilor și pentru curăţenie

Proceduri în caz de deversări și scurgeri

Ca o măsură de precauție, tratați materialul scurs cu o soluție de înălbitor/apă în proporție de 1:10. Absorbiți lichidul și plasați-l într-un recipient adecvat pentru eliminare. Evitați producerea de aerosoli în timpul curățării. Respectați reglementările aplicabile referitoare la eliminarea deșeurilor.

6.4 Trimiteri către alte secţiuni

Consultați secțiunile 8 și 13.

SECŢIUNEA 7: Manipulare și depozitare

7.1 Precauţii pentru manipularea în condiţii de securitate

Acest produs trebuie manipulat considerându-se că este capabil să transmită boli infecțioase. La utilizarea acestui produs trebuie respectate măsuri de precauție universal valabile.

7.2 Condiţii de depozitare în condiţii de securitate, inclusiv eventuale incompatibilităţi

Pentru a păstra calitatea produsului, depozitați-l conform instrucțiunilor de pe etichetă.

A se depozita într-un loc ferit de soluții acide sau bazice puternice, de oxidanți puternici și de materiale incompatibile (secțiunea 10).

7.3 Utilizare (utilizări) finală (finale) specifică (specifice)

Nu sunt disponibile alte informații relevante.

SECŢIUNEA 8: Controale ale expunerii/protecţia personală

8.1 Parametri de control

Limite de expunere

OSHA SUA

Niciuna stabilită

ACGIH

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	0.29 mg/m3 Plafon (ca azidă de sodiu); 0.11 ppm Plafon (ca vapori de acid hidrazoic)

ACGIH – Indicii de expunere biologică (BEI)

Niciuna stabilită

DFG MAK

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	0.4 mg/m3 Valoare vârf (fracție inhalabilă); 0.2 mg/m3 TWA MAK (fracție inhalabilă)

Irlanda

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	0.1 mg/m3 TWA; 0.3 mg/m3 STEL; Posibilitate de absorbție cutanată

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 8: Controale ale expunerii/protecţia personală (Continuare)

IOELVs

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	Posibilitate de penetrare cutanată importantă; 0.1 mg/m3 TWA; 0.3 mg/m3 STEL
NIOSH	Niciuna stabilită

China

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	0.3 mg/m3 Plafon MAC

Croația

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	Mențiune piele; 0.1 mg/m3 TWA [GVI]; 0.3 mg/m3 STEL [KGVI]
Japonia	Niciuna stabilită

Suedia (AFS 2015:7 și amendamente)

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	0.1 mg/m3 TLV NGV; 0.3 mg/m3 STEL legare Bindande KGV

Turcia

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	0.3 mg/m3 STEL; Mențiune piele; 0.1 mg/m3 TWA

8.2 Controale ale expunerii

Controale tehnice	Nu sunt necesare controale tehnice speciale. A se utiliza cu o ventilație generală corespunzătoare.
Protecția ochilor	Se recomandă utilizarea unor ochelari de protecție pentru a preveni contactul cu ochii. Consultați regulamentul U.S. OSHA 29 CFR 1910.133, standardul european EN166 sau standardele guvernamentale adecvate.
Protecția pielii	Purtați îmbrăcăminte de protecție și mănuși impermeabile, după caz.
Protecție respiratorie	În condiții normale, utilizarea acestui produs nu necesită utilizarea unui echipament de protecție respiratorie.

SECŢIUNEA 9: Proprietăţile fizice și chimice

9.1 Informaţii privind proprietăţile fizice și chimice de bază

Starea fizică	Lichidă	**Densitatea și/sau densitatea relativă**	1.005 @20°C
Culoare	Albastră	**Solubilitate**	
Miros	Inodoră	**Apă**	Miscibilă
pH	7.2	**Organică**	Nedeterminată
Punctul de îngheţare	Nedeterminată	**Coeficientul de partiţie n-octanol/apă (valoarea log)**	Nedeterminată
Punctul de fierbere sau punctul iniţial de fierbere și intervalul de fierbere	Nedeterminată	**Temperatura de autoaprindere**	Nu este cazul

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 9: Proprietăţile fizice și chimice (Continuare)

Punctul de inflamabilitate	Nu este cazul	**Temperatura de descompunere**	Nedeterminată
Inflamabilitatea	Nu este cazul	**Presiunea vaporilor**	Nedeterminată
		Viscozitatea cinematică	Nedeterminată
Limita inferioară și superioară de explozie	Nu este cazul		
Densitatea relativă a vaporilor	Nedeterminată		
Caracteristicile particulei	Nu este cazul		

9.2 Alte informaţii

Informaţii cu privire la clasele de pericol fizic

Nu sunt disponibile alte informații relevante.

Alte caracteristici de siguranţă

Nu sunt disponibile alte informații relevante.

SECŢIUNEA 10: Stabilitate și reactivitate

10.1 Reactivitate

Nu sunt disponibile alte informații relevante.

10.2 Stabilitate chimică

Acest produs este stabil în condițiile de depozitare recomandate.

10.3 Posibilitatea de reacţii periculoase

Azida de sodiu formează compuși cu risc de explozie cu metalele grele. Contactul repetat dintre concentrații mici de azidă cu plumbul și cuprul care se găsesc în mod obișnuit în canalizări, poate duce la acumularea de compuși sensibili la șocuri.

10.4 Condiţii de evitat

Evitați contactul cu materialele incompatibile.

Evitați expunerea la căldură și la lumina directă a soarelui.

10.5 Materiale incompatibile

Metale și compuși metalici

10.6 Produși de descompunere periculoși

Nu se estimează că acest produs va genera produși de descompunere care să reprezinte pericole semnificative (o soluție apoasă).

SECŢIUNEA 11: Informaţii toxicologice

11.1 Informaţii privind clasele de pericol definite în Regulamentul (CE) nr. 1272/2008

Date privind toxicitatea componentelor periculoase

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	LD50 cutanat Iepure 20 mg/kg (NLM_HSDB); LC50 inhalare Șobolan 0.054 - 0.52 mg/l 4 h (praf)(ECHA_API); Oral LD50 Șobolan 27 mg/kg (NZ_CCID)
Căile principale de expunere	Printre căile principale de penetrare se numără inhalarea, ingerarea și contactul cu ochii/pielea. Printre căile prin care pot pătrunde materialele potențial infecțioase se numără înțepăturile la nivelul pielii, contactul cu pielea lezată, contactul cu mucoasele și inhalarea de material sub formă de aerosol.
Toxicitate acută	Neclasificat pe baza datelor disponibile.

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 11: Informaţii toxicologice (Continuare)

Coroziune/iritație cutanată Neclasificat pe baza datelor disponibile.

Lezarea/iritarea gravă a ochilor Neclasificat pe baza datelor disponibile.

Sensibilizare respiratorie sau cutanată Neclasificat pe baza datelor disponibile.

Mutagenicitatea celulelor germinale Neclasificat pe baza datelor disponibile.

Carcinogenicitate Nicio componentă a acestui produs nu este considerată carcinogenă de către ACGIH, IARC, NTP, OSHA sau regulamentul CE 1272/2008.

Toxicitate pentru reproducere Neclasificat pe baza datelor disponibile.

Toxicitatea asupra unui organ țintă specific (STOT) – o singură expunere

Neclasificat pe baza datelor disponibile.

Toxicitatea asupra unui organ țintă specific (STOT) – expunere repetată

Neclasificat pe baza datelor disponibile.

Pericol în caz de inhalare Neclasificat pe baza datelor disponibile.

11.2 Informaţii privind alte pericole

Proprietăţi de perturbator endocrin

Acest produs nu conține substanțe cu proprietăți de perturbare a sistemului endocrin, care pot afecta sănătatea, în conformitate cu Articolul 57(f) din Regulamentul REACH.

Alte informaţii Acest produs conține material(e) de origine animală. Când manipulați acest produs, respectați regulile generale de securitate referitoare la protecție.

SECŢIUNEA 12: Informaţii ecologice

12.1 Toxicitate

Specii de apă dulce

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	LC50 96 h Oncorhynchus mykiss: 0.8 mg/l; LC50 96 h Lepomis macrochirus: 0.7 mg/l; LC50 96 h Pimephales promelas: 5.46 mg/l [curgere]
Microtox / organisme	Nu există informații disponibile.
Purici de apă	Nu există informații disponibile.
Alge de apă dulce	Nu există informații disponibile.

12.2 Persistenţă și degradabilitate Valori nedeterminate pentru acest produs.

12.3 Potenţial de bioacumulare Valori nedeterminate pentru acest produs.

12.4 Mobilitate în sol Valori nedeterminate pentru acest produs.

12.5 Rezultatele evaluărilor PBT și vPvB

Valori nedeterminate pentru acest produs. PBT: nu este cazul, vPvB: nu este cazul.

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 12: Informaţii ecologice (Continuare)

12.6 Proprietăţi de perturbator endocrin

Acest produs nu conține substanțe cu proprietăți de perturbare a sistemului endocrin, care pot afecta mediul, în conformitate cu Articolul 57(f) din Regulamentul REACH.

12.7 Alte efecte adverse

Acest produs conține substanțe periculoase pentru mediu sub nivelul critic. Pentru informații privind componentele, consultați secțiunea 3. Nu permiteți ca produsul nediluat să pătrundă în canalizare/apele de suprafață sau subterane.

SECŢIUNEA 13: Consideraţii privind eliminarea

13.1 Metode de tratare a deșeurilor

Eliminarea deșeurilor

Reziduurile și resturile chimice trebuie manipulate întotdeauna ca deșeuri speciale. Acestea trebuie eliminate în conformitate cu legile antipoluare și de altă natură din țările vizate. Pentru a asigura respectarea legilor, vă recomandăm să luați legătura cu autoritățile (locale) competente și/sau cu o companie autorizată din domeniul eliminării deșeurilor, pentru a obține informațiile necesare.

Azida de sodiu folosită drept conservant poate forma compuși cu risc de explozie în conductele de drenaj metalice. Consultați NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Buletinul NIOSH: Azidă cu risc de explozie) (08/16/1976). Pentru a evita posibila acumulare de compuși de azidă, spălați cu apă conductele pentru evacuarea deșeurilor după eliminarea reactivului nediluat. Eliminarea azidei de sodiu trebuie realizată în conformitate cu reglementările locale aplicabile.

A se elimina ca deșeu periculos din punct de vedere biologic și în conformitate cu legile antipoluare și de altă natură din țările vizate. Pentru a asigura respectarea legilor, vă recomandăm să luați legătura cu autoritățile (locale) competente și/sau cu o companie autorizată din domeniul eliminării deșeurilor, pentru a obține informațiile necesare.

Eliminarea ambalajului

Eliminați deșeurile, produsul neutilizat și ambalajul contaminat în conformitate cu reglementările federale, naționale sau locale. Dacă nu sunteți sigur care sunt cerințele aplicabile, contactați autoritățile pentru a obține informațiile necesare.

Informaţii suplimentare

Catalogul european al deșeurilor recomandat 18.01.07 – alte substanțe chimice decât cele menționate în 18.01.06. A se elimina în conformitate cu reglementările naționale și locale privind deșeurile.

SECŢIUNEA 14: Informaţii referitoare la transport

Transportul acestui produs nu este supus reglementărilor ICAO, IATA DGR, IMDG, US DOT, ADR și RID (Europa) sau TDG (Canada).

14.1 Numărul ONU sau numărul de identificare: Nu este supus reglementărilor pentru transport

14.2 Denumirea corectă ONU pentru expediţie: Nu este supus reglementărilor pentru transport

14.3 Clasa (clasele) de pericol pentru transport: Nu este supus reglementărilor pentru transport

14.4 Grupul de ambalare: Nu este supus reglementărilor pentru transport

14.5 Pericole pentru mediul înconjurător: Nu este supus reglementărilor pentru transport

14.6 Precauţii speciale pentru utilizatori: Niciuna

14.7 Transportul maritim în vrac în conformitate cu instrumentele OMI: Nu este cazul

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 15: Informaţii de reglementare

15.1 Regulamentele/legislaţia din domeniul securităţii, al sănătăţii și al mediului specifice (specifică) pentru substanţa sau amestecul în cauză

Reglementări federale sau la nivel de stat din SUA

SARA 313 (Secțțiunea 313, Titlul III, Cerințe privind raportarea)

Nr. CAS 26628-22-8	Azidă de sodiu	1.0% concentrație minimă

CERCLA (The Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act – Legea completă privind reacția, compensarea și răspunderea în cazul problemelor de mediu) 40 CFR 302.4

Nr. CAS 26628-22-8	Azidă de sodiu

Propunerea 65 a statului California

Substanță chimică cunoscută în statul California ca provocând cancer

Nu figurează nicio componentă.

Substanță chimică cunoscută în statul California ca provocând toxicitate care afectează dezvoltarea

Nu figurează nicio componentă.

Substanță chimică cunoscută în statul California ca provocând toxicitate care afectează funcția reproductivă la bărbat

Nu figurează nicio componentă.

Substanță chimică cunoscută în statul California ca provocând toxicitate care afectează funcția reproductivă la femeie

Nu figurează nicio componentă.

Lista RTK (materiale periculoase) a statului Massachusetts

Nr. CAS 26628-22-8	Azidă de sodiu

Lista RTK (materiale periculoase) a departamentului de sănătate din statul New Jersey

Nr. CAS 26628-22-8	Azidă de sodiu

Lista RTK (materiale periculoase) a statului Pennsylvania

Nr. CAS 26628-22-8	Azidă de sodiu

Reglementări UE

Această fișă SDS (fișă tehnică de securitate) respectă regulamentul CE nr. 1907/2006 (REACH) și amendamentele aduse la acesta.

Regulamentul (UE) 2019/1148 privind comercializarea și utilizarea precursorilor de explozivi – Substanțele care fac obiectul raportării tranzacțiilor suspecte

Nu figurează nicio componentă.

Regulamentul (UE) 2019/1148 privind comercializarea și utilizarea precursorilor de explozivi – Precursorii de explozivi restricționați

Nu figurează nicio componentă.

REACH 1907/2006 CE – Lista substanțelor candidate care prezintă motive de îngrijorare deosebită (SVHC)

Nu figurează nicio componentă.

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 15: Informaţii de reglementare (Continuare)

REACH 1907/2006 CE – Anexa XVII – Restricții privind anumite substanțe periculoase

Nu figurează nicio componentă.

REACH 1907/2006 CE – Anexa XIV – lista cu substanțe supuse autorizării

Nu figurează nicio componentă.

Consultați secțiunea 3

Reglementări UK

Regulamentul REACH al Regatului Unit (cu modificările și completările ulterioare) – Lista cu substanțe supuse autorizării

Consultați secțiunea 3

Canada

Conform criteriilor WHMIS, acest produs nu este considerat material periculos.

China

Catalogul substanțelor chimice periculoase – Substanțele chimice periculoase

Nr. CAS 26628-22-8 Azidă de sodiu

Inventar – China – Inventarul substanțelor chimice existente (IECSC)

Toate componentele sunt menționate sau scutite

Turcia

REACH Turcia – Regulamentul KKDIK – Anexa 17 – Restricții

Nu figurează nicio componentă.

Internațional

Convenția ONU/FAO din Rotterdam – Substanțele chimice care fac obiectul consimțământului prealabil în cunoștință de cauză (PIC)

Nu figurează nicio componentă.

15.2 Evaluarea securităţii chimice

Nu a fost realizată o evaluare a siguranței chimice.

Unele ingrediente periculoase enumerate în Secțiunea 15 sunt sub limitele de prag de 0,1% pentru substanțe cancerigene, mutagene și toxice pentru reproducere și de 1% pentru alte pericole pentru sănătate necesare pentru raportare în Secțiunea 3.

SECŢIUNEA 16: Alte informaţii

Evaluare de securitate Beckman Coulter	**Inflamabilitatea: 0** **Sănătate: 1** **Reactivitate cu apa: 0** **Contact fizic: 1**	Cod 0 = Niciuna 1 = Ușoară 2 = Atenție 3 = Severă

Modificări în urma revizuirii Au fost actualizate secțiunile 3, 8

Versiunea și data publicării/revizuirii documentului

Data revizuirii (an/lună/zi) 2024/06/28
Data ultimei revizuiri (an/lună/zi) 2023/12/22

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 16: Alte informaţii (Continuare)

ID document: A87782-75
Versiunea: AH

Procedura de stabilire a clasei de pericol Acest amestec a fost clasificat utilizând metoda de calcul a pericolelor pentru sănătatea umană și pentru mediu. Pericolele fizice au fost determinate pe baza specificațiilor.

Descrierea clasei de pericol și fraze de pericol din secțiunea 3

Aquatic Acute 1 – Pericol acvatic acut, categoria 1

Acute Tox. Oral 2 – Toxicitate acută orală, categoria 2

Toxicitate acvatică pe termen lung 1 – Pericol pentru mediul acvatic pe termen lung, categoria 1

EUH032 - În contact cu acizi, degajă un gaz foarte toxic.

H300 - Mortal în caz de înghiţire.

H400 - Foarte toxic pentru mediul acvatic.

H410 - Foarte toxic pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung.

Abrevieri și acronime

ACGIH – American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) [Conferința Americană a Igieniștilor Industriali guvernamentali (ACGIH)]

ADR și RID – European Agreement Concerning the International Carriage of Dangerous Goods by Road and Rail (Acordul european privind transportul rutier și feroviar internațional al mărfurilor periculoase)

CLP – Classification, Labeling and Packaging (Clasificarea, etichetarea și ambalarea)

DFGMAK – Republic Germany's maximum exposure limit (Limita maximă de expunere în Germania)

EC50 – Concentrația unei substanțe într-un mediu ambiental așteptată să producă un anumit efect la 50% din organismele de testare

GHS – Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS) [Sistemul global armonizat de clasificare și etichetare a produselor chimice (GHS)]

HCS – Hazard Communication Standard (Standardul de comunicare a pericolelor)

IARC – International Agency for Research on Cancer (Agenția Internațională de Cercetare în Domeniul Cancerului)

IATA DGR – International Air Transport Association Dangerous Goods Regulation (Regulamentul Asociației Internaționale de Transport Aerian privind mărfurile periculoase)

ICAO – International Civil Aviation Organization (Organizația Aviației Civile Internaționale)

IDLH – Immediately Dangerous to Life or Health (Imediat periculos pentru viață sau sănătate)

IMDG – International Maritime Dangerous Goods (Codul maritim internațional pentru mărfuri periculoase)

IMO – International Maritime Organization [Organizația Maritimă Internațională (OMI)]

IOELVs – European Unions' Indicative Occupational Exposure Limit Values (Valori limită orientative de expunere profesională în Uniunea Europeană)

LC50 – Concentrația unei substanțe în apă care provoacă moartea (50% din populația testată) vieții acvatice

LD50 – Doza letală 50%

NIOSH – National Institute for Occupational Safety and Health (Institutului Național pentru Securitatea și Sănătatea în Muncă)

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 16: Alte informaţii (Continuare)

NTP – National Toxicology Program (Programul Național de Toxicologie)

OSHA – Occupational Safety and Health Administration (Organizația pentru Securitate și Sănătate în Muncă)

PBT – Persistent Bioaccumulative and Toxic substances (Substanțe persistente, bioacumulative și toxice)

PEL – Permissible Exposure Limit (Limită de expunere permisibilă)

SARA – Superfund Amendments and Reauthorization Act (Legea conținând amendamentele aduse legii CERCLA)

STEL – Short Term Exposure Limit (Limită de expunere pe termen scurt)

STLV – Short Term Limit Value (Valoare limită pe termen scurt)

STV – Short Term Value (Valoare pe termen scurt)

TDG – Canadian Transportation of Dangerous Goods Regulations (Regulamentul canadian privind transportul de bunuri periculoase)

TLV – Threshold Limit Value (Valoarea prag limită)

TWA – Time Weighted Average (Media ponderată în timp)

UN GHS – United Nations Globally Harmonized System (Sistemul global armonizat al Națiunilor Unite)

US DOT – United States Department of Transportation (Departamentul de Transport al Statelor Unite ale Americii)

US OSHA – United States Occupational Safety and Health Administration (Organizația pentru Securitate și Sănătate în Muncă a Statelor Unite)

vPvB – very Persistent and very Bioaccumulative substances (Substanțe foarte periculoase și foarte bioacumulative)

WHMIS – Workplace Hazardous Material Information System (Sistemul de informare cu privire la substanțele periculoase utilizate la locul de muncă)

Immunotech și mărcile de produse Immunotech menționate aici sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Immunotech SAS. în Statele Unite și în alte țări. Immunotech este o companie Beckman Coulter.

Pentru mai multe informații, contactați reprezentantul dvs. Beckman Coulter, Inc. local.

DEȘI BECKMAN COULTER, INC. CONSIDERĂ CĂ INFORMAȚIILE DIN PREZENTUL DOCUMENT SUNT CORECTE ȘI EXACTE, BECKMAN COULTER, INC. NU OFERĂ NICIO GARANȚIE ȘI NU FACE NICIUN FEL DE DECLARAȚIE CU PRIVIRE LA VALABILITATEA, ACURATEȚEA SAU ACTUALITATEA ACESTORA. BECKMAN COULTER, INC. NU VA FI RĂSPUNZĂTOARE SAU RESPONSABILĂ ÎN VREUN FEL PENTRU UTILIZAREA ACESTOR INFORMAȚII SAU A MATERIALELOR LA CARE SE REFERĂ. ELIMINAREA MATERIALELOR PERICULOASE POATE FI SUPUSĂ LEGILOR SAU REGLEMENTĂRILOR LOCALE.

CD31-FITC

FIȘĂ TEHNICĂ DE SECURITATE

ID document: IM1431U-75 Versiunea AH
Data revizuirii (an/lună/zi) 2024/08/22
Data ultimei revizuiri (an/lună/zi) 2023/12/22

SECŢIUNEA 1: Identificarea substanţei/amestecului și a societăţii/întreprinderii

1.1 Identificator de produs

Nume produs CD31-FITC

Cod de articol IM1431U

Nume serie IOTest

1.2 Utilizări relevante identificate ale substanţei sau ale amestecului și utilizări contraindicate

Utilizarea produsului Reactivi speciali în funcție de analiți.

1.3 Detalii privind furnizorul fișei cu date de securitate

Producător

IMMUNOTECH S.A.S. a Beckman Coulter Company
130, avenue de Lattre de Tassigny, BP 177
13276 Marseille cedex 9, France
Tèl. (33) 491 172 727

Furnizor

Beckman Coulter, Inc.
250 S. Kraemer Blvd
Brea, CA 92821, SUA
Tel.: 800-854-3633

ROMANIA

Distributor DX:
MEDIST S.A. (Diagnostics)
Str. Ion Urdareanu nr. 34A, Sector 5
Bucuresti – 050688
Romania
Phone No.: +40 21 4115003
Hours available: Monday-Thursday: 08.30-17.30, Friday: 08.30-15.00

Distributor LS:
MEDIST Life Science
Str. Ion Urdareanu, nr. 34, et.3
050688, Bucuresti, Romania
Phone No.: 021 410 30 33
Hours available: Monday-Thursday: 8.30-17.30 and Friday: 8.30-15.00

Distributor Microscan items:
DIAMEDIX IMPEX SA
Fabrica de Glucoza No 15A St, Bucharest, Romania
Phone No.: 0040-21-66.888.69
Hours available: 08:00-16:30

Adresă e-mail SDSNT@beckman.com

1.4 Număr de telefon care poate fi apelat în caz de urgenţă

Număr de telefon (24 de ore) Număr de telefon urgențe Chemtrec SUA 800-424-9300, Internațional (001) 703-527-3887

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 1: Identificarea substanţei/amestecului și a societăţii/întreprinderii (Continuare)

Distribuitor și număr de telefon urgențe

Consultați lista anexată, cod document: 472050, pentru distribuitorul local și numerele de telefon pentru urgențe.

ROMANIA - National Institute for Public Health, Ministry of Health, Str. Dr. Leonte Anastasievici Nr. 1-3, Sector 5 Bucuresti, 050463, Romania, Tel: +40213183606, Email: infotox(at)insp.gov.ro, http://www.insp.gov.ro

SECŢIUNEA 2: Identificarea pericolelor

2.1 Clasificarea substanţei sau a amestecului

Descrierea produsului

Amestec

Incolor spre galben deschis; Lichidă; Inodoră

Clasificare conform regulamentului CE nr. 1272/2008 (CLP/GHS)

Neclasificat ca periculos conform Directive CE 1272/2008 (CLP/GHS)

Clasificare conform sistemelor OSHA din SUA (HCS 29 CFR 1910.1200) și GHS al ONU

Neclasificat ca periculos conform sistemelor OSHA HCS 2012 din SUA și GHS al ONU

2.2 Elemente de etichetare

Conform regulamentului CE nr. 1272/2008 (CLP/GHS), sistemelor OSHA din SUA și GHS al ONU

Neclasificat ca periculos conform Regulamentului CE 1272/2008 (CLP/GHS), OSHA SUA și GHS

2.3 Alte pericole

Rezultatele evaluării PBT și vPvB

PBT: Nu este cazul.

vPvB: nu este cazul.

Acest produs conține material(e) de origine animală. Când manipulați acest produs, respectați regulile generale de securitate referitoare la protecție.

Acest produs conține concentrații de azidă de sodiu sub nivelul de pericol, care, în urma contactului repetat cu plumbul și cuprul care se găsește în mod obișnuit în canalizări, poate duce la acumularea de compuși sensibili la șocuri. Azida de sodiu formează compuși cu risc de explozie cu metalele grele.

Consultați Secțiunea 11 Informații toxicologice pentru informații mai detaliate referitoare la sănătate.

SECŢIUNEA 3: Compoziţie/informaţii privind componenţii

3.2 Amestecuri

Componente periculoase:		**Clasa de pericol a componentelor pure**		
Denumire chimică	**Procent de greutate**	**UE 1272/2008 CLP/GHS**	**GHS**	**Observație**

©2024 Beckman Coulter, Inc.

BECKMAN COULTER
CD31-FITC

FIȘĂ TEHNICĂ DE SECURITATE

SECŢIUNEA 3: Compoziţie/informaţii privind componenţii (Continuare)

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8 Nr. EINECS 247-852-1 Nr. index 011-004-00-7	0.1	Acute Tox. Oral 2, H300 Toxicitate acvatică acută 1, H400 Toxicitate acvatică pe termen lung 1, H410 EUH032 Estimări ale toxicității acute (ATE) ATE Orală = 27 mg/kg	Acute Tox. Oral 2, H300 Toxicitate acvatică acută 1, H400 Toxicitate acvatică pe termen lung 1, H410	2, 8

2 – Substanță cu limite de expunere profesională la nivel comunitar
8 – Prezent în concentrații sub valorile limită.

Pentru a afla limitele de expunere profesională disponibile, consultați secțiunea 8
Pentru informații de reglementare suplimentare, consultați secțiunea 15
Consultați secțiunea 16 pentru descrierea clasei de pericol și frazele de pericol

SECŢIUNEA 4: Măsuri de prim ajutor

4.1 Descrierea măsurilor de prim ajutor

Inhalare În cazul inhalării produsului, transportați persoana expusă la aer liber. În cazul în care persoana nu respiră, trebuie începută respirația artificială de către personalul calificat și obținută imediat asistență medicală.

Contact cu ochii Dacă produsul pătrunde în ochi, clătiți ușor cu apă ca măsură de precauție.

Contact cu pielea În caz de contact cu pielea, clătiți cu apă ca măsură de precauție.

Ingerare Dacă produsul este ingerat, clătiți gura cu apă. În caz de iritații sau disconfort, solicitați imediat asistență medicală.

4.2 Cele mai importante simptome și efecte, atât acute, cât și întârziate

Nu au fost identificate simptome sau efecte adverse.

4.3 Indicaţii privind orice fel de asistenţă medicală imediată și tratamentele speciale necesare

Nu este necesară asistență medicală specială și nu se impun tratamente speciale.

SECŢIUNEA 5: Măsuri de combatere a incendiilor

5.1 Mijloace de stingere a incendiilor Pentru incendii mari, utilizați mijloacele de stingere adecvate.
În caz de incendiu, utilizați dioxid de carbon (CO_2), pudră chimică uscată, apă sau spumă.

5.2 Pericole speciale cauzate de substanţă sau de amestec

Pericole speciale de incendiu și explozie

Nu au fost identificate riscuri speciale.

Produse de combustie periculoase

Nu se estimează că acest produs va genera produse de combustie care să reprezinte pericole semnificative (o soluție apoasă).

5.3 Recomandări destinate pompierilor

Echipament de protecție În cazul tuturor incendiilor chimice, pompierilor li se recomandă să utilizeze un aparat de protecție respiratorie autonom.

Informații suplimentare Nu sunt disponibile alte informații relevante.

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 6: Măsuri împotriva pierderilor accidentale

6.1 Precauţii personale, echipament de protecţie și proceduri de urgenţă

Măsuri de precauţie personale

Acest produs conține material de origine animală. Respectați regulile generale de securitate referitoare la protecție în timpul procedurilor de curățare.

Purtați mănuși de protecție, îmbrăcăminte de protecție și echipament de protecție a ochilor/feței.

6.2 Precauţii pentru mediul înconjurător

Izolați substanța deversată pentru a împiedica dispersia acesteia.

Nu permiteți ca produsul nediluat să pătrundă în canalizări/apele de suprafață sau subterane.

Aruncați conținutul/recipientul în conformitate cu reglementările locale

6.3 Metode și material pentru izolarea incendiilor și pentru curăţenie

Proceduri în caz de deversări și scurgeri

Ca o măsură de precauție, tratați materialul scurs cu o soluție de înălbitor/apă în proporție de 1:10. Absorbiți lichidul și plasați-l într-un recipient adecvat pentru eliminare. Evitați producerea de aerosoli în timpul curățării. Respectați reglementările aplicabile referitoare la eliminarea deșeurilor.

6.4 Trimiteri către alte secţiuni

Consultați secțiunile 8 și 13.

SECŢIUNEA 7: Manipulare și depozitare

7.1 Precauţii pentru manipularea în condiţii de securitate

Acest produs trebuie manipulat considerându-se că este capabil să transmită boli infecțioase. La utilizarea acestui produs trebuie respectate măsuri de precauție universal valabile.

7.2 Condiţii de depozitare în condiţii de securitate, inclusiv eventuale incompatibilităţi

A se depozita la o temperatură cuprinsă între 2 și 8°C, conform instrucțiunilor de pe eticheta produsului.

Pentru a păstra calitatea produsului, depozitați-l conform instrucțiunilor de pe etichetă.

A se depozita într-un loc ferit de soluții acide sau bazice puternice, de oxidanți puternici și de materiale incompatibile (secțiunea 10).

7.3 Utilizare (utilizări) finală (finale) specifică (specifice)

Nu sunt disponibile alte informații relevante.

SECŢIUNEA 8: Controale ale expunerii/protecţia personală

8.1 Parametri de control

Limite de expunere

OSHA SUA

Niciuna stabilită

ACGIH

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	0.29 mg/m3 Plafon (ca azidă de sodiu); 0.11 ppm Plafon (ca vapori de acid hidrazoic)

ACGIH – Indicii de expunere biologică (BEI)

Niciuna stabilită

DFG MAK

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	0.4 mg/m3 Valoare vârf (fracție inhalabilă); 0.2 mg/m3 TWA MAK (fracție inhalabilă)

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 8: Controale ale expunerii/protecţia personală (Continuare)

Irlanda

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	0.1 mg/m3 TWA; 0.3 mg/m3 STEL; Posibilitate de absorbție cutanată

IOELVs

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	Posibilitate de penetrare cutanată importantă; 0.1 mg/m3 TWA; 0.3 mg/m3 STEL

NIOSH Niciuna stabilită

China

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	0.3 mg/m3 Plafon MAC

Croația

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	Mențiune piele; 0.1 mg/m3 TWA [GVI]; 0.3 mg/m3 STEL [KGVI]

Japonia Niciuna stabilită

Suedia (AFS 2015:7 și amendamente)

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	0.1 mg/m3 TLV NGV; 0.3 mg/m3 STEL legare Bindande KGV

Turcia

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	0.3 mg/m3 STEL; Mențiune piele; 0.1 mg/m3 TWA

8.2 Controale ale expunerii

Controale tehnice Nu sunt necesare controale tehnice speciale. A se utiliza cu o ventilație generală corespunzătoare.

Protecția ochilor Se recomandă utilizarea unor ochelari de protecție pentru a preveni contactul cu ochii.

Consultați regulamentul U.S. OSHA 29 CFR 1910.133, standardul european EN166 sau standardele guvernamentale adecvate.

Protecția pielii Purtați îmbrăcăminte de protecție și mănuși impermeabile, după caz.

Protecție respiratorie În condiții normale, utilizarea acestui produs nu necesită utilizarea unui echipament de protecție respiratorie.

SECŢIUNEA 9: Proprietăţile fizice și chimice

9.1 Informaţii privind proprietăţile fizice și chimice de bază

Starea fizică	Lichidă	**Densitatea și/sau densitatea relativă**	1.005 @20°C
Culoare	Incolor spre galben deschis	**Solubilitate**	
Miros	Inodoră	**Apă**	Miscibilă
pH	7.25	**Organică**	Nedeterminată
Punctul de îngheţare	Nedeterminată	**Coeficientul de partiţie n-octanol/apă (valoarea log)**	Nedeterminată

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 9: Proprietăţile fizice și chimice (Continuare)

Punctul de fierbere sau punctul iniţial de fierbere și intervalul de fierbere	Nedeterminată	**Temperatura de autoaprindere**	Nu este cazul
Punctul de inflamabilitate	Nu este cazul	**Temperatura de descompunere**	Nedeterminată
Inflamabilitatea	Nu este cazul	**Presiunea vaporilor**	Nedeterminată
		Viscozitatea cinematică	Nedeterminată
Limita inferioară și superioară de explozie	Nu este cazul		
Densitatea relativă a vaporilor	Nedeterminată		
Caracteristicile particulei	Nu este cazul		

9.2 Alte informaţii

Informaţii cu privire la clasele de pericol fizic

Nu sunt disponibile alte informații relevante.

Alte caracteristici de siguranţă

Nu sunt disponibile alte informații relevante.

SECŢIUNEA 10: Stabilitate și reactivitate

10.1 Reactivitate

Nu sunt disponibile alte informații relevante.

10.2 Stabilitate chimică

Acest produs este stabil în condițiile de depozitare recomandate.

10.3 Posibilitatea de reacţii periculoase

Azida de sodiu formează compuși cu risc de explozie cu metalele grele. Contactul repetat dintre concentrații mici de azidă cu plumbul și cuprul care se găsesc în mod obișnuit în canalizări, poate duce la acumularea de compuși sensibili la șocuri.

10.4 Condiţii de evitat

Evitați contactul cu materialele incompatibile.
Evitați expunerea la căldură și la lumina directă a soarelui.

10.5 Materiale incompatibile

Metale și compuși metalici

10.6 Produși de descompunere periculoși

Nu se estimează că acest produs va genera produși de descompunere care să reprezinte pericole semnificative (o soluție apoasă).

SECŢIUNEA 11: Informaţii toxicologice

11.1 Informaţii privind clasele de pericol definite în Regulamentul (CE) nr. 1272/2008

Date privind toxicitatea componentelor periculoase

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	LD50 cutanat Iepure 20 mg/kg (NLM_HSDB); LC50 inhalare Șobolan 0.054 - 0.52 mg/l 4 h (praf)(ECHA_API); Oral LD50 Șobolan 27 mg/kg (NZ_CCID)

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 11: Informaţii toxicologice (Continuare)

Căile principale de expunere	Printre căile principale de penetrare se numără inhalarea, ingerarea și contactul cu ochii/pielea. Printre căile prin care pot pătrunde materialele potențial infecțioase se numără înțepăturile la nivelul pielii, contactul cu pielea lezată, contactul cu mucoasele și inhalarea de material sub formă de aerosol.
Toxicitate acută	Neclasificat pe baza datelor disponibile.
Coroziune/iritație cutanată	Neclasificat pe baza datelor disponibile.
Lezarea/iritarea gravă a ochilor	Neclasificat pe baza datelor disponibile.
Sensibilizare respiratorie sau cutanată	Neclasificat pe baza datelor disponibile.
Mutagenicitatea celulelor germinale	Neclasificat pe baza datelor disponibile.
Carcinogenicitate	Nicio componentă a acestui produs nu este considerată carcinogenă de către ACGIH, IARC, NTP, OSHA sau regulamentul CE 1272/2008.
Toxicitate pentru reproducere	Neclasificat pe baza datelor disponibile.

Toxicitatea asupra unui organ țintă specific (STOT) – o singură expunere

Neclasificat pe baza datelor disponibile.

Toxicitatea asupra unui organ țintă specific (STOT) – expunere repetată

Neclasificat pe baza datelor disponibile.

Pericol în caz de inhalare	Neclasificat pe baza datelor disponibile.

11.2 Informaţii privind alte pericole

Proprietăţi de perturbator endocrin

Acest produs nu conține substanțe cu proprietăți de perturbare a sistemului endocrin, care pot afecta sănătatea, în conformitate cu Articolul 57(f) din Regulamentul REACH.

Alte informaţii	Acest produs conține material(e) de origine animală. Când manipulați acest produs, respectați regulile generale de securitate referitoare la protecție.

SECŢIUNEA 12: Informaţii ecologice

12.1 Toxicitate

Specii de apă dulce

Azidă de sodiu Nr. CAS 26628-22-8	LC50 96 h Oncorhynchus mykiss: 0.8 mg/l; LC50 96 h Lepomis macrochirus: 0.7 mg/l; LC50 96 h Pimephales promelas: 5.46 mg/l [curgere]
Microtox / organisme	Nu există informații disponibile.
Purici de apă	Nu există informații disponibile.
Alge de apă dulce	Nu există informații disponibile.
12.2 Persistenţă și degradabilitate	Valori nedeterminate pentru acest produs.
12.3 Potenţial de bioacumulare	Valori nedeterminate pentru acest produs.
12.4 Mobilitate în sol	Valori nedeterminate pentru acest produs.

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 12: Informaţii ecologice (Continuare)

12.5 Rezultatele evaluărilor PBT și vPvB

Valori nedeterminate pentru acest produs. PBT: nu este cazul, vPvB: nu este cazul.

12.6 Proprietăţi de perturbator endocrin

Acest produs nu conține substanțe cu proprietăți de perturbare a sistemului endocrin, care pot afecta mediul, în conformitate cu Articolul 57(f) din Regulamentul REACH.

12.7 Alte efecte adverse

Acest produs conține substanțe periculoase pentru mediu sub nivelul critic. Pentru informații privind componentele, consultați secțiunea 3. Nu permiteți ca produsul nediluat să pătrundă în canalizare/apele de suprafață sau subterane.

SECŢIUNEA 13: Consideraţii privind eliminarea

13.1 Metode de tratare a deșeurilor

Eliminarea deșeurilor

Reziduurile și resturile chimice trebuie manipulate întotdeauna ca deșeuri speciale. Acestea trebuie eliminate în conformitate cu legile antipoluare și de altă natură din țările vizate. Pentru a asigura respectarea legilor, vă recomandăm să luați legătura cu autoritățile (locale) competente și/sau cu o companie autorizată din domeniul eliminării deșeurilor, pentru a obține informațiile necesare.

Azida de sodiu folosită drept conservant poate forma compuși cu risc de explozie în conductele de drenaj metalice. Consultați NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Buletinul NIOSH: Azidă cu risc de explozie) (08/16/1976). Pentru a evita posibila acumulare de compuși de azidă, spălați cu apă conductele pentru evacuarea deșeurilor după eliminarea reactivului nediluat. Eliminarea azidei de sodiu trebuie realizată în conformitate cu reglementările locale aplicabile.

A se elimina ca deșeu periculos din punct de vedere biologic și în conformitate cu legile antipoluare și de altă natură din țările vizate. Pentru a asigura respectarea legilor, vă recomandăm să luați legătura cu autoritățile (locale) competente și/sau cu o companie autorizată din domeniul eliminării deșeurilor, pentru a obține informațiile necesare.

Eliminarea ambalajului

Eliminați deșeurile, produsul neutilizat și ambalajul contaminat în conformitate cu reglementările federale, naționale sau locale. Dacă nu sunteți sigur care sunt cerințele aplicabile, contactați autoritățile pentru a obține informațiile necesare.

Informații suplimentare

Catalogul european al deșeurilor recomandat 18.01.07 – alte substanțe chimice decât cele menționate în 18.01.06. A se elimina în conformitate cu reglementările naționale și locale privind deșeurile.

SECŢIUNEA 14: Informaţii referitoare la transport

Transportul acestui produs nu este supus reglementărilor ICAO, IATA DGR, IMDG, US DOT, ADR și RID (Europa) sau TDG (Canada).

14.1 Numărul ONU sau numărul de identificare: Nu este supus reglementărilor pentru transport

14.2 Denumirea corectă ONU pentru expediţie: Nu este supus reglementărilor pentru transport

14.3 Clasa (clasele) de pericol pentru transport: Nu este supus reglementărilor pentru transport

14.4 Grupul de ambalare: Nu este supus reglementărilor pentru transport

14.5 Pericole pentru mediul înconjurător: Nu este supus reglementărilor pentru transport

14.6 Precauţii speciale pentru utilizatori: Niciuna

14.7 Transportul maritim în vrac în conformitate cu instrumentele OMI: Nu este cazul

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 15: Informaţii de reglementare

15.1 Regulamentele/legislaţia din domeniul securităţii, al sănătăţii și al mediului specifice (specifică) pentru substanţa sau amestecul în cauză

Reglementări federale sau la nivel de stat din SUA

SARA 313 (Secțțiunea 313, Titlul III, Cerințe privind raportarea)

Nr. CAS 26628-22-8	Azidă de sodiu	1.0% concentrație minimă

CERCLA (The Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act – Legea completă privind reacția, compensarea și răspunderea în cazul problemelor de mediu) 40 CFR 302.4

Nr. CAS 26628-22-8	Azidă de sodiu

Propunerea 65 a statului California

Substanță chimică cunoscută în statul California ca provocând cancer

Nu figurează nicio componentă.

Substanță chimică cunoscută în statul California ca provocând toxicitate care afectează dezvoltarea

Nu figurează nicio componentă.

Substanță chimică cunoscută în statul California ca provocând toxicitate care afectează funcția reproductivă la bărbat

Nu figurează nicio componentă.

Substanță chimică cunoscută în statul California ca provocând toxicitate care afectează funcția reproductivă la femeie

Nu figurează nicio componentă.

Lista RTK (materiale periculoase) a statului Massachusetts

Nr. CAS 26628-22-8	Azidă de sodiu

Lista RTK (materiale periculoase) a departamentului de sănătate din statul New Jersey

Nr. CAS 26628-22-8	Azidă de sodiu

Lista RTK (materiale periculoase) a statului Pennsylvania

Nr. CAS 26628-22-8	Azidă de sodiu

Reglementări UE

Această fișă SDS (fișă tehnică de securitate) respectă regulamentul CE nr. 1907/2006 (REACH) și amendamentele aduse la acesta.

Regulamentul (UE) 2019/1148 privind comercializarea și utilizarea precursorilor de explozivi – Substanțele care fac obiectul raportării tranzacțiilor suspecte

Nu figurează nicio componentă.

Regulamentul (UE) 2019/1148 privind comercializarea și utilizarea precursorilor de explozivi – Precursorii de explozivi restricționați

Nu figurează nicio componentă.

REACH 1907/2006 CE – Lista substanțelor candidate care prezintă motive de îngrijorare deosebită (SVHC)

Nu figurează nicio componentă.

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 15: Informaţii de reglementare (Continuare)

REACH 1907/2006 CE – Anexa XVII – Restricţii privind anumite substanţe periculoase

Nu figurează nicio componentă.

REACH 1907/2006 CE – Anexa XIV – lista cu substanţe supuse autorizării

Nu figurează nicio componentă.

Consultați secțiunea 3

Reglementări UK

Regulamentul REACH al Regatului Unit (cu modificările și completările ulterioare) – Lista cu substanțe supuse autorizării

Consultați secțiunea 3

Canada

Conform criteriilor WHMIS, acest produs nu este considerat material periculos.

China

Catalogul substanţelor chimice periculoase – Substanţele chimice periculoase

Nr. CAS 26628-22-8 Azidă de sodiu

Inventar – China – Inventarul substanţelor chimice existente (IECSC)

Toate componentele sunt menționate sau scutite

Turcia

REACH Turcia – Regulamentul KKDIK – Anexa 17 – Restricţii

Nu figurează nicio componentă.

Internațional

Convenția ONU/FAO din Rotterdam – Substanțele chimice care fac obiectul consimțământului prealabil în cunoștință de cauză (PIC)

Nu figurează nicio componentă.

15.2 Evaluarea securităţii chimice

Nu a fost realizată o evaluare a siguranței chimice.

Unele ingrediente periculoase enumerate în Secțiunea 15 sunt sub limitele de prag de 0,1% pentru substanțe cancerigene, mutagene și toxice pentru reproducere și de 1% pentru alte pericole pentru sănătate necesare pentru raportare în Secțiunea 3.

SECŢIUNEA 16: Alte informaţii

Evaluare de securitate Beckman Coulter	**Inflamabilitatea: 0** **Sănătate: 1** **Reactivitate cu apa: 0** **Contact fizic: 1**	Cod 0 = Niciuna 1 = Ușoară 2 = Atenție 3 = Severă

Modificări în urma revizuirii Au fost actualizate secțiunile 3, 8

Versiunea și data publicării/revizuirii documentului

Data revizuirii (an/lună/zi) 2024/08/22
Data ultimei revizuiri (an/lună/zi) 2023/12/22

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 16: Alte informaţii (Continuare)

ID document: IM1431U-75
Versiunea: AH

Procedura de stabilire a clasei de pericol Acest amestec a fost clasificat utilizând metoda de calcul a pericolelor pentru sănătatea umană și pentru mediu. Pericolele fizice au fost determinate pe baza specificațiilor.

Descrierea clasei de pericol și fraze de pericol din secțiunea 3

Aquatic Acute 1 – Pericol acvatic acut, categoria 1

Acute Tox. Oral 2 – Toxicitate acută orală, categoria 2

Toxicitate acvatică pe termen lung 1 – Pericol pentru mediul acvatic pe termen lung, categoria 1

EUH032 - În contact cu acizi, degajă un gaz foarte toxic.

H300 - Mortal în caz de înghiţire.

H400 - Foarte toxic pentru mediul acvatic.

H410 - Foarte toxic pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung.

Abrevieri și acronime

ACGIH – American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) [Conferința Americană a Igieniștilor Industriali guvernamentali (ACGIH)]

ADR și RID – European Agreement Concerning the International Carriage of Dangerous Goods by Road and Rail (Acordul european privind transportul rutier și feroviar internațional al mărfurilor periculoase)

CLP – Classification, Labeling and Packaging (Clasificarea, etichetarea și ambalarea)

DFGMAK – Republic Germany's maximum exposure limit (Limita maximă de expunere în Germania)

EC50 – Concentrația unei substanțe într-un mediu ambiental așteptată să producă un anumit efect la 50% din organismele de testare

GHS – Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS) [Sistemul global armonizat de clasificare și etichetare a produselor chimice (GHS)]

HCS – Hazard Communication Standard (Standardul de comunicare a pericolelor)

IARC – International Agency for Research on Cancer (Agenția Internațională de Cercetare în Domeniul Cancerului)

IATA DGR – International Air Transport Association Dangerous Goods Regulation (Regulamentul Asociației Internaționale de Transport Aerian privind mărfurile periculoase)

ICAO – International Civil Aviation Organization (Organizația Aviației Civile Internaționale)

IDLH – Immediately Dangerous to Life or Health (Imediat periculos pentru viață sau sănătate)

IMDG – International Maritime Dangerous Goods (Codul maritim internațional pentru mărfuri periculoase)

IMO – International Maritime Organization [Organizația Maritimă Internațională (OMI)]

IOELVs – European Unions' Indicative Occupational Exposure Limit Values (Valori limită orientative de expunere profesională în Uniunea Europeană)

LC50 – Concentrația unei substanțe în apă care provoacă moartea (50% din populația testată) vieții acvatice

LD50 – Doza letală 50%

NIOSH – National Institute for Occupational Safety and Health (Institutului Național pentru Securitatea și Sănătatea în Muncă)

©2024 Beckman Coulter, Inc.

SECŢIUNEA 16: Alte informaţii (Continuare)

NTP – National Toxicology Program (Programul Național de Toxicologie)

OSHA – Occupational Safety and Health Administration (Organizația pentru Securitate și Sănătate în Muncă)

PBT – Persistent Bioaccumulative and Toxic substances (Substanțe persistente, bioacumulative și toxice)

PEL – Permissible Exposure Limit (Limită de expunere permisibilă)

SARA – Superfund Amendments and Reauthorization Act (Legea conținând amendamentele aduse legii CERCLA)

STEL – Short Term Exposure Limit (Limită de expunere pe termen scurt)

STLV – Short Term Limit Value (Valoare limită pe termen scurt)

STV – Short Term Value (Valoare pe termen scurt)

TDG – Canadian Transportation of Dangerous Goods Regulations (Regulamentul canadian privind transportul de bunuri periculoase)

TLV – Threshold Limit Value (Valoarea prag limită)

TWA – Time Weighted Average (Media ponderată în timp)

UN GHS – United Nations Globally Harmonized System (Sistemul global armonizat al Națiunilor Unite)

US DOT – United States Department of Transportation (Departamentul de Transport al Statelor Unite ale Americii)

US OSHA – United States Occupational Safety and Health Administration (Organizația pentru Securitate și Sănătate în Muncă a Statelor Unite)

vPvB – very Persistent and very Bioaccumulative substances (Substanțe foarte periculoase și foarte bioacumulative)

WHMIS – Workplace Hazardous Material Information System (Sistemul de informare cu privire la substanțele periculoase utilizate la locul de muncă)

Immunotech și mărcile de produse Immunotech menționate aici sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Immunotech SAS. în Statele Unite și în alte țări. Immunotech este o companie Beckman Coulter.

Pentru mai multe informații, contactați reprezentantul dvs. Beckman Coulter, Inc. local.

DEȘI BECKMAN COULTER, INC. CONSIDERĂ CĂ INFORMAȚIILE DIN PREZENTUL DOCUMENT SUNT CORECTE ȘI EXACTE, BECKMAN COULTER, INC. NU OFERĂ NICIO GARANȚIE ȘI NU FACE NICIUN FEL DE DECLARAȚIE CU PRIVIRE LA VALABILITATEA, ACURATEȚEA SAU ACTUALITATEA ACESTORA. BECKMAN COULTER, INC. NU VA FI RĂSPUNZĂTOARE SAU RESPONSABILĂ ÎN VREUN FEL PENTRU UTILIZAREA ACESTOR INFORMAȚII SAU A MATERIALELOR LA CARE SE REFERĂ. ELIMINAREA MATERIALELOR PERICULOASE POATE FI SUPUSĂ LEGILOR SAU REGLEMENTĂRILOR LOCALE.

SAFETY DATA SHEET

Document ID: IM3704-75 Version AL
Revision Date (year/month/day) 2025/06/07
Last Revision Date (year/month/day) 2024/07/25

Section 1 Identification of the substance/mixture and of the company/undertaking

1.1 Product identifier

Product name CD22-PC5

Part number IM3704

Series name IOTest

1.2 Relevant identified uses of the substance or mixture and uses advised against

Product use Analyte Specific Reagents.

1.3 Details of the supplier of the safety data sheet

Manufacturer

IMMUNOTECH S.A.S. a Beckman Coulter Company
130, avenue de Lattre de Tassigny, BP 177
13276 Marseille cedex 9, France
Tèl. (33) 491 172 727

Supplier

Beckman Coulter, Inc.
250 S. Kraemer Blvd
Brea, CA 92821, U.S.A.
Tel: 800-854-3633

CANADA
Beckman Coulter Canada LP
7075 Financial Drive
Mississauga, ON L5N 6V8
Canada
1-800-463-7828

UNITED KINGDOM
Beckman Coulter (UK) Ltd.
Amersham Place
Little Chalfont
Buckinghamshire
United Kingdom, HP7 9NA
01494 441181

AUSTRALIA
Beckman Coulter Australia Pty Ltd
23-27 Chaplin Drive
Lane Cove NSW 2066
Australia
ABN 81 002 011 672
24 Hour emergency contact phone number:
1800 060 881

NEW ZEALAND
Beckman Coulter NZ
Unit J, 33 Walmsley Road, Otahuhu,
Auckland 1062, New Zealand
Hours available: 08:30 - 17:00

SWITZERLAND
Beckman Coulter Eurocenter SA
22, rue Juste-Olivier, Case Postale 1044,
CH-1260 Nyon 1, Switzerland.
Telephone: +41 (0)22 365 36 11
Monday through Friday, 9:00 am to 7:00pm)

ICELAND / ÍSLAND
Beckman Coulter AB
Ekbacksvägen 28
168 69 Bromma
Sweden
Phone No.: +46 80564 85 900
Hours available: 08.00-16.30

MALTA
DX Distributor:
Cherubino Ltd

©2025 Beckman Coulter, Inc.

Section 1 Identification of the substance/mixture and of the company/undertaking (Continued)

DELF Building, Sliema Road, Gzira,
GZR 1637
Telephone: +356 21343270
Hours available: 08:30 – 17:00

Beckman Coulter Ireland Inc.
Lismeehan
O'Callaghan's Mills
Co. Clare
Ireland
Tel: 353 (0)65 6831100

e-mail address SDSNT@beckman.com

1.4 Emergency telephone number

Telephone number (24H) Chemtrec Emergency Tel No. U.S.A. 800-424-9300, International (001) 703-527-3887

Distributor and emergency phone no.

Refer to attached list, Document ID: 472050, for local distributor and emergency phone numbers.
UNITED STATES - Emergency Phone (24h): Chemtrec (800) 424-9300, International (001) 703-527-3887

CANADA - Poison Centre: 1-844-764-7669; Centre antipoison du Québec: 1-800-463-5060

UNITED KINGDOM - For UK and Scotland: Emergency Call 999

IRELAND - National Poisons Information Centre Phone No.: Members of Public: +353 (01) 809 2166 (8:00 am to 10:00 pm 7 days a week); Healthcare Professionals: +353 (01) 809 2566 (24 hour service)

AUSTRALIA - 24 Hour emergency contact phone number: 1800 060 881

NEW ZEALAND - 24 Hour emergency number: 0800 446 109

Section 2 Hazards identification

2.1 Classification of the substance or mixture

Product description Mixture

Colorless; Liquid; Odorless

Classification according to EC 1272/2008 (CLP/GHS)

Not classified as hazardous per EC 1272/2008 (CLP/GHS)

Classification according to US-OSHA (HCS 29 CFR 1910.1200) and UN GHS

Not classified as hazardous per US-OSHA HCS 2012 and UN GHS

2.2 Label elements **According to EC 1272/2008 (CLP/GHS), US-OSHA and UN GHS**

Not classified as hazardous per EC 1272/2008 (CLP/GHS), US-OSHA and GHS

©2025 Beckman Coulter, Inc.

Section 2 Hazards identification (Continued)

2.3 Other hazards

Results of PBT and vPvB assessment

PBT: Not applicable.

vPvB: Not applicable.

This product contains material(s) of animal origin. Observe general safety guidelines for protection when handling this product.

This product contains concentrations of azide below the hazardous level which with repeated contact with lead and copper commonly found in plumbing drains may result in the build up of shock sensitive compounds. Sodium azide forms explosive compounds with heavy metals.

See Section 11 Toxicological Information for more detailed health information.

Section 3 Composition and information on ingredients

3.2 Mixtures

Hazardous ingredients:		Hazard classification of pure ingredients		
Chemical name	**% by wt.**	**EU 1272/2008 CLP/GHS**	**GHS**	**Note**
Sodium Azide CAS # 26628-22-8 EINECS # 247-852-1 Index # 011-004-00-7	0.1	Acute Tox. Oral 2, H300 Aquatic Acute 1, H400 Aquatic Longterm 1, H410 EUH032 Acute Toxicity Estimates (ATE) ATE Oral = 27 mg/kg	Acute Tox. Oral 2, H300 Aquatic Acute 1, H400 Aquatic Longterm 1, H410	2, 8

2 - Substance with Community workplace exposure limits
8 - Present at concentration below the cut-off limits.

See section 8 for available Occupational exposure limits
See Section 15 for additional regulatory information
See Section 16 for description of hazard class and hazard statements

Section 4 First aid measures

4.1 Description of first aid measures

Inhalation — If product is inhaled, move exposed individual to fresh air. If individual is not breathing, begin artificial respiration by trained personnel and obtain medical attention immediately.

Eye contact — If product enters eyes, rinse eyes gently with water as a precaution.

Skin contact — In case of skin contact, rinse with water as a precaution.

Ingestion — If product is ingested, rinse mouth with water. If irritation or discomfort occurs, obtain medical attention immediately.

4.2 Most important symptoms and effects, both acute and delayed

No adverse symptoms or effects have been identified.

4.3 Indication of any immediate medical attention and special treatment needed

No specific medical attention or treatment required.

©2025 Beckman Coulter, Inc.

Section 5 Firefighting measures

5.1 Extinguishing media

For large fires use extinguishing media suitable for surrounding fire.

In case of fire use carbon dioxide (CO2), dry chemical, water spray or foam.

5.2 Special hazards arising from the substance or mixture

Special fire and explosion hazards

No special hazards determined.

Hazardous combustion products

No combustion products posing significant hazards are expected from this product (an aqueous solution).

5.3 Advice for firefighters

Protective equipment

Self-contained breathing apparatus is recommended for firefighters in all chemical fire situations.

Additional information

No further relevant information available.

Section 6 Accidental release measures

6.1 Personal precautions, protective equipment and emergency procedures

Personal precautions

This product contains a material of animal origin. Observe general safety guidelines for protection during clean up procedures.

Wear protective gloves, protective clothing and eye/face protection.

6.2 Environmental precautions

Contain spill to prevent migration.

Do not allow the undiluted product to enter sewers/surface or ground water.

Dispose of contents/container in accordance with local regulations

6.3 Methods and material for containment and cleaning up

Spill and leak procedures

As a precautionary measure, treat spilled material with a 1:10 bleach/water solution. Absorb liquid and place in container suitable for disposal. Avoid generation of aerosols during clean up. Comply with applicable waste disposal regulations.

6.4 Reference to other sections

Refer sections 8 and 13.

Section 7 Handling and storage

7.1 Precautions for safe handling

This product should be handled as though capable of transmitting infectious diseases. Universal precautions should be followed when using this product.

7.2 Conditions for safe storage, including any incompatibilities

Store at 2 to 8°C, as directed on the product label.

To maintain product quality, store according to the instructions in the product labeling.

Store away from strong acids, strong bases, strong oxidizers and incompatible materials (section 10).

7.3 Specific end uses

No further relevant information available.

©2025 Beckman Coulter, Inc.

Section 8 Exposure controls and personal protection

8.1 Control parameters

Exposure limits

US OSHA None established

ACGIH

Sodium Azide
CAS # 26628-22-8 — 0.29 mg/m3 Ceiling (as Sodium azide); 0.11 ppm Ceiling (as Hydrazoic acid vapor)

ACGIH Biological Exposure Indices (BEI)
None established

DFG MAK

Sodium Azide
CAS # 26628-22-8 — 0.4 mg/m3 Peak (inhalable fraction); 0.2 mg/m3 TWA MAK (inhalable fraction)

Ireland

Sodium Azide
CAS # 26628-22-8 — 0.1 mg/m3 TWA; 0.3 mg/m3 STEL; Potential for cutaneous absorption

IOELVs

Sodium Azide
CAS # 26628-22-8 — Possibility of significant uptake through the skin; 0.1 mg/m3 TWA; 0.3 mg/m3 STEL

NIOSH None established

China

Sodium Azide
CAS # 26628-22-8 — 0.3 mg/m3 Ceiling MAC

Croatia

Sodium Azide
CAS # 26628-22-8 — Skin Notation; 0.1 mg/m3 TWA [GVI]; 0.3 mg/m3 STEL [KGVI]

Japan None established

Sweden (AFS 2015:7 and amendments)

Sodium Azide
CAS # 26628-22-8 — 0.1 mg/m3 TLV NGV; 0.3 mg/m3 Binding STEL Bindande KGV

Turkey

Sodium Azide
CAS # 26628-22-8 — 0.3 mg/m3 STEL; Skin notation; 0.1 mg/m3 TWA

8.2 Exposure controls

Engineering controls No special engineering controls are required. Use with good general ventilation.

Eye protection Safety glasses or chemical goggles should be worn to prevent eye contact.
Refer U.S. OSHA 29 CFR 1910.133, European Standard EN166 or appropriate government standards.

Skin protection Wear protective clothing and impervious gloves, as appropriate.

Respiratory protection Under normal conditions, the use of this product should not require respiratory protection.

©2025 Beckman Coulter, Inc.

Section 9 Physical and chemical properties

9.1 Information on basic physical and chemical properties

Physical state	Liquid	**Density and/or relative density**	1.005 @20°C
Color	Colorless	**Solubility**	
Odor	Odorless	**Water**	Miscible
pH	7.2	**Organic**	Not determined
Freezing point	Not determined	**Partition coefficient n-octanol/water (log value)**	Not determined
Boiling point or initial boiling point and boiling range	Not determined	**Auto-ignition temp.**	Not applicable
Flash point	Not applicable	**Decomposition temperature**	Not determined
Flammability	Not applicable	**Vapor pressure**	Not determined
		Kinematic viscosity	Not determined
Lower and upper explosion limit	Not applicable		
Relative vapor density	Not determined		
Particle characteristics	Not applicable		

9.2 Other information

Information with regard to physical hazard classes

No further relevant information available.

Other safety characteristics

No further relevant information available.

Section 10 Stability and reactivity

10.1 Reactivity No further relevant information available.

10.2 Chemical stability The product is stable in accordance with recommended storage conditions.

10.3 Possibility of hazardous reactions

Sodium azide forms explosive compounds with heavy metals. Repeated contact of low concentrations of azide with lead and copper commonly found in plumbing drains may result in the build up of shock sensitive compounds.

10.4 Conditions to avoid Avoid contact with incompatible materials.
Avoid exposure to heat and direct sunlight.

10.5 Incompatible materials Metals and metallic compounds

©2025 Beckman Coulter, Inc.

Section 10 Stability and reactivity (Continued)

10.6 Hazardous decomposition products

No decomposition products posing significant hazards would be expected from this product (an aqueous solution).

Section 11 Toxicological information

11.1 Information on hazard classes

Toxicity data for hazardous ingredients

Sodium Azide CAS # 26628-22-8	Dermal LD50 Rabbit 20 mg/kg (NLM_HSDB); Inhalation LC50 Rat 0.054 - 0.52 mg/L 4 h (dust)(ECHA_API); Oral LD50 Rat 27 mg/kg (NZ_CCID)

Primary routes of exposure

Common routes of entry include inhalation, ingestion and eye/skin contact. Specific paths of concern for potentially infectious materials are skin puncture, contact with broken skin, contact with mucous membranes and inhalation of aerosolized material.

Acute toxicity

Not classified based on available data.

Skin corrosion/irritation

Not classified based on available data.

Serious eye damage/irritation

Not classified based on available data.

Respiratory or skin sensitisation

Not classified based on available data.

Germ cell mutagenicity

Not classified based on available data.

Carcinogenicity

No ingredients in this product are listed as carcinogens by ACGIH, IARC, NTP, OSHA or 1272/2008 EC regulation.

Reproductive toxicity

Not classified based on available data.

Specific target organ toxicity (STOT) – single exposure

Not classified based on available data.

Specific target organ toxicity (STOT) – repeated exposure

Not classified based on available data.

Aspiration hazard

Not classified based on available data.

11.2 Information on other hazards

Endocrine disrupting properties

This product does not have substance(s) of endocrine disrupting properties for health according to REACH Article 57(f).

Other information

This product contains material(s) of animal origin. Observe general safety guidelines for protection when handling this product.

©2025 Beckman Coulter, Inc.

Section 12 Ecological information

12.1 Toxicity

Fresh water species

Sodium Azide CAS # 26628-22-8	LC50 96 h Oncorhynchus mykiss: 0.8 mg/L; LC50 96 h Lepomis macrochirus: 0.7 mg/L; LC50 96 h Pimephales promelas: 5.46 mg/L [flow-through]
Microtox/organisms	No information available.
Water flea	No information available.
Fresh water algae	No information available.

12.2 Persistence and degradability Not determined for the product.

12.3 Bioaccumulative potential Not determined for the product.

12.4 Mobility in soil Not determined for the product.

12.5 Results of PBT and vPvB assessment

Not determined for the product. PBT: Not applicable, vPvB: Not applicable.

12.6 Endocrine disrupting properties

This product does not have substance(s) of endocrine disrupting properties for environment according to REACH Article 57(f).

12.7 Other adverse effects This product contains environmentally hazardous substance below the cutoff level. Refer section 3 for ingredient information. Do not allow undiluted product to enter sewer/surface or ground water.

Section 13 Disposal considerations

13.1 Waste treatment methods

Product waste disposal

Chemical residues and remains should be routinely handled as special waste. This must be disposed of in compliance with anti-pollution and other laws of the country concerned. To ensure compliance we recommend that you contact the relevant (local) authorities and/or an approved waste-disposal company for information.

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76). To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

Dispose of as potentially biohazardous waste and in compliance with anti-pollution and other laws of the country concerned. To ensure compliance we recommend that you contact the relevant (local) authorities and/or and approved waste-disposal company for information.

Package disposal Dispose of waste product, unused product and contaminated packaging in compliance with federal, state and local regulations. If unsure of the applicable requirements, contact the authorities for information.

Additional information Suggested European waste catalogue 18 01 07 - chemicals other than those mentioned in 18 01 06. Dispose in accordance with national, state and local waste regulations.

©2025 Beckman Coulter, Inc.

Section 14 Transport information

Transportation of this product is not regulated under ICAO, IATA DGR, IMDG, US DOT, European ADR and RID or Canadian TDG.

14.1 UN/ID number: Not regulated for transportation

14.2 UN proper shipping name: Not regulated for transportation

14.3 Transport hazard class(es): Not regulated for transportation

14.4 Packing group: Not regulated for transportation

14.5 Environmental hazards: Not regulated for transportation

14.6 Special precautions for user: None

14.7 Maritime transport in bulk according to IMO instruments: Not applicable

Section 15 Regulatory information

15.1 Safety, health and environmental regulations/legislation specific for the substance or mixture

US Federal and State Regulations

SARA 313 (Section 313, Title III reporting requirements)

CAS # 26628-22-8	Sodium Azide	1.0% de minimis concentration

CERCLA (The Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act) 40 CFR 302.4

CAS # 26628-22-8	Sodium Azide

California Proposition 65

Chemical which is known to the State of California to cause cancer

No ingredients listed.

Chemical which is known to the State of California to cause development toxicity

No ingredients listed.

Chemical which is known to the State of California to cause male reproductive toxicity

No ingredients listed.

Chemical which is known to the State of California to cause female reproductive toxicity

No ingredients listed.

Massachusetts Right To Know (RTK) List

CAS # 26628-22-8	Sodium Azide

New Jersey Dept. of Health Right To Know (RTK) List

CAS # 26628-22-8	Sodium Azide

Pennsylvania Right To Know (RTK) List

CAS # 26628-22-8	Sodium Azide

©2025 Beckman Coulter, Inc.

Section 15 Regulatory information (Continued)

EU Regulations

This SDS complies with EC Regulations 1907/2006 (REACH) and amendments.

Regulation (EU) 2019/1148 on the marketing and use of explosives precursors - Substances Subject to Suspicious Transactions Reporting

No ingredients listed.

Regulation (EU) 2019/1148 on the marketing and use of explosives precursors - Restricted Explosives Precursors

No ingredients listed.

REACH 1907/2006 EC - Candidate List of Substances of Very High Concern (SVHC)

No ingredients listed.

REACH 1907/2006 EC - Annex XVII – Restrictions on Certain Dangerous Substances

No ingredients listed.

REACH 1907/2006 EC - Annex XIV - list of substances subject to authorisation

No ingredients listed.

Refer to Section 3

UK Regulations

UK REACH Regulation (as Amended) - List of substances subject to authorisation

Refer to Section 3

Canada

This product does not meet WHMIS criteria for hazardous materials.

China

Catalog of Hazardous Chemicals - Hazardous Chemicals

CAS # 26628-22-8 Sodium Azide

Inventory - China - Inventory of Existing Chemical Substances (IECSC)

All ingredients are listed or exempted.

Turkey

Türkiye-REACH - KKDIK Regulation - Annex 17 – Restrictions

No ingredients listed.

International

UN/FAO/Rotterdam Convention - Chemicals Subject to Prior Informed Consent (PIC)

No ingredients listed.

15.2 Chemical safety assessment

A Chemical Safety Assessment has not been carried out.

Some hazardous ingredients listed in Section 15 are below the cutoff limits of 0.1% for carcinogen, mutagen and reproductive toxin and 1% for other health hazards required for reporting in Section 3.

©2025 Beckman Coulter, Inc.

Section 16 Other information

Beckman Coulter safety rating	**Flammability: 0** **Health: 1** **Reactivity with water: 0** **Physical contact: 1**	Code 0=None 1=Slight 2=Caution 3=Severe

Revision changes

Update supplier addresses in Section 1.3

Document version and issue/revision date

Revision Date (year/month/day) 2025/06/07
Last Revision Date (year/month/day) 2024/07/25
Document ID: IM3704-75
Version: AL

Hazard Classification Procedure

This mixture was classified using the calculation method for human health and environmental hazards. Physical hazards were determined based on the specification.

Description of hazard class and hazard statements from Section 3

Aquatic Acute 1 - Aquatic Hazard Acute, Category 1
Acute Tox. Oral 2 - Acute Toxicity Oral, Category 2
Aquatic Longterm 1 - Aquatic Hazard Long term, Category 1
EUH032 - Contact with acids liberates very toxic gas.
H300 - Fatal if swallowed.
H400 - Very toxic to aquatic life.
H410 - Very toxic to aquatic life with long lasting effects.

Abbreviations and acronyms

ACGIH - American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH)
ADR and RID - European Agreement Concerning the International Carriage of Dangerous Goods by Road and Rail
CLP - Classification, Labeling and Packaging
DFGMAK - Republic Germany's maximum exposure limit
EC50 - Concentration of a substance in an environmental medium expected to produce a certain effect in 50% of test organisms
GHS - Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS)
HCS - Hazard Communication Standard
IARC - International Agency for Research on Cancer
IATA DGR - International Air Transport Association Dangerous Goods Regulation
ICAO - International Civil Aviation Organization
IDLH - Immediately Dangerous to Life or Health
IMDG - International Maritime Dangerous Goods
IMO - International Maritime Organization
IOELVs - European Unions' Indicative Occupational Exposure Limit Values
LC50 - Concentration of a substance in water causing death (50% of the tested population) to aquatic life
LD50 - Lethal Dose 50%

©2025 Beckman Coulter, Inc.

Section 16 Other information (Continued)

NIOSH - National Institute for Occupational Safety and Health
NTP - National Toxicology Program
OSHA - Occupational Safety and Health Administration
PBT - Persistent Bioaccumulative and Toxic substances
PEL - Permissible Exposure Limit
SARA - Superfund Amendments and Reauthorization Act
STEL – Short Term Exposure Limit
STLV - Short Term Limit Value
STV - Short Term Value
TDG - Canadian Transportation of Dangerous Goods Regulations
TLV - Threshold Limit Value
TWA – Time Weighted Average
UN GHS - United Nations Globally Harmonized System
US DOT - United States Department of Transportation
US OSHA - United States Occupational Safety and Health Administration
vPvB - very Persistent and very Bioaccumulative substances
WHMIS - Workplace Hazardous Material Information System

Immunotech and the Immunotech product marks mentioned herein are trademarks or registered trademarks of Immunotech SAS. in the United States and other countries. Immunotech is a Beckman Coulter company.

For further information, please contact your local Beckman Coulter, Inc. representative.

WHILE BECKMAN COULTER, INC. BELIEVES THE INFORMATION CONTAINED HEREIN IS VALID AND ACCURATE, BECKMAN COULTER, INC. MAKES NO WARRANTY OR REPRESENTATION AS TO ITS VALIDITY, ACCURACY, OR CURRENCY. BECKMAN COULTER, INC. SHALL NOT BE LIABLE OR OTHERWISE RESPONSIBLE IN ANY WAY FOR USE OF EITHER THIS INFORMATION OR MATERIALS TO WHICH IT APPLIES. DISPOSAL OF HAZARDOUS MATERIALS MAY BE SUBJECT TO LOCAL LAWS OR REGULATIONS.