

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. Product is manufactured in accordance with current Good Manufacturing Practices.

Identification of the reagent

Name	CyLyse™ FX
REF No.	AX032552

Product Description

CyLyse™ FX is a lysing solution with a fixative for red blood cell lysis in the preparation of biological samples from human peripheral blood after staining leukocytes with fluorochrome-conjugated antibodies prior to the flow cytometry analysis.

Principle of the procedure

Leukocyte analysis and detection in peripheral blood requires elimination of interfering cells, mainly erythrocytes. Direct blood sample staining followed by red blood cell lysis is a fast and easy method for whole blood flow cytometry analysis.

Storage and shelf life

Unopened product

Store CyLyse™ FX (10x concentrate) at 2-25 °C. Do not freeze. Do not use after the expiration date stated on the label.

After first opening

CyLyse™ FX retains its performance characteristics after having been placed into use for 36 months.

Components

CyLyse™ FX (10x concentrate) is provided as 50 mL of a proprietary buffered solution containing 20-30 % (v/v) diethylene glycol, < 15 % (v/v) formaldehyde and < 5 % (v/v) methanol.

Evidence of deterioration

Avoid contamination of reagents. In case of component deterioration seen as a visible precipitation or discoloration of the reagent or if data obtained show any performance alteration, please contact the Technical Support of your local Sysmex representative.

Any problem that has occurred in relation to the product shall be reported by the user to the manufacturer.

Precaution and warnings

Important information regarding the safe handling, transport, and disposal of this product is contained in the Safety Data Sheet (available at <http://www.sysmex-partec.com/services>).

Always meet the national and international guidelines and regulatory standards for PPE (personal protective equipment).

Warning symbols

	GHS07		GHS08
--	-------	--	-------

Signal word Danger	
Warnings	
H302	Harmful if swallowed.
H315	Causes skin irritation.
H317	May cause an allergic skin reaction.
H319	Causes serious eye irritation.
H335	May cause respiratory irritation.
H341	Suspected of causing genetic defects.
H350	May cause cancer.
H371	May cause damage to organs.
H373	May cause damage to organs through prolonged or repeated exposure.
Precautions	
P201	Obtain special instructions before use.
P260	Do not breathe dust/fume/gas/mist/vapors/spray.
P280	Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P308+P313	IF exposed or concerned: Get medical advice/attention.

Additional required equipment	
Instrument	Flow cytometer equipped with appropriate computer hardware and software. The flow cytometer must be equipped to detect forward scatter (FSC) and side scatter (SSC).
Required laboratory equipment	Vortex mixer, Centrifuge (including rotor system designed for up to 500 g), Material necessary for the collection of whole blood, Disposable test tubes (12 x 75 mm) for staining of samples, Pipettes with disposable tips for 10, 100 and 1000 μL, Adequate personal protective equipment
Required reagents	Fluorochrome-conjugated antibody reagents (e.g. Sysmex CyFlow™ antibody reagents), Phosphate buffered saline (PBS; pH 7.4), Deionized water

Other materials can be required. Refer to the appropriate antibody reagent Instructions for Use (IFU) for more information.

Reagent preparation	
Dilute CyLyse™ FX (10x concentrate) with deionized water at room temperature (1 volume of concentrated solution with 9 volumes of deionized water). Diluted solution is stable for one month when stored at 18-25 °C.	
Disposal	
All disposables, which have been in contact with biohazardous material, must be decontaminated and disposed of according to local legislations and laws. Clean and disinfect contaminated surfaces immediately, use appropriate procedures of decontamination. Always dispose blood samples, assays and accessory fluids after expiration of the maximal storage time.	
Primary sample collection, handling and storage	
WARNING Consider all biological specimens and materials which come in contact with them as biohazardous. Specimens should be handled as potentially infectious and disposed in accordance with federal, state and local regulations.	
Collect whole blood in a sterile tube with K3 or K2 EDTA as anticoagulant. Follow the antibody reagent IFU for sample handling and storage.	
Examination procedure	
Lyse/No-wash procedure	
1. Stain whole blood samples following instructions in the antibody reagent IFU.	
2. Add 500 μL of 10x diluted CyLyse™ FX per 50 μL of specimen and vortex gently.	
3. Incubate for 10-15 minutes at 18-28 °C in the dark.	
4. Analyze sample immediately using flow cytometer or follow instructions in the antibody reagent IFU.	
Lyse/Wash procedure	
1. Stain whole blood samples following instructions in the antibody reagent IFU.	
2. Add 1.0 mL of 10x diluted CyLyse™ FX per 50 μL of specimen and vortex gently.	
3. Incubate for 10-15 minutes at 18-28 °C in the dark.	
4. Centrifuge tubes for 5 minutes at 300 g and remove the supernatant by decanting.	
5. For subsequent analysis on a flow cytometer, resuspend the cell pellet in a sufficient volume of PBS ap-	

propriate for your flow cytometer. For later analysis, follow instructions in the antibody reagent IFU.

Limitations

The test is intended for professional and appropriately trained users in laboratories performing flow cytometry analysis. In case of hyperleukocytosis, it is recommended to dilute blood samples with PBS to a concentration of 5 x 10⁶ leukocytes/mL [1, 2, 3]. In certain disease states, such as haemoglobinopathies, lysis of red cells may be slow, incomplete or even impossible. In this case, it is recommended to isolate mononucleated cells using a density gradient (Ficoll, for example) prior to staining [4, 5, 6, 7, 8, 9]. Samples with nucleated red blood cells may show incomplete lysis of red blood cells. This may also occur when assaying blood samples from patients with certain hematologic disorders in which red cells are difficult to lyse, as in myelofibrosis, sickle-cell anemia or thalassemia [4, 5, 7, 10, 11]. The result for the Lyse/No-wash procedure may vary depending on the analysis platform. It is recommended to validate the Lyse/No-wash procedure for your application and flow cytometer. The flow cytometer may produce false results, if the device has not been aligned and maintained appropriately. Data may be incorrectly interpreted, if fluorescent signals were compensated wrongly or if gates were positioned inaccurately. Accurate and reproducible results will be obtained as long as the procedures used are in accordance with the Technical Data Sheet and compatible with good laboratory practices.

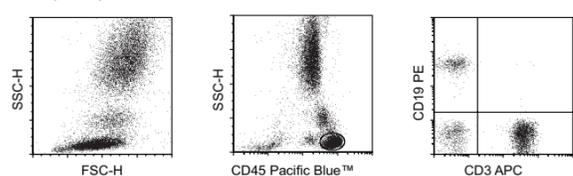
Properly interpreted, if fluorescent signals were compensated wrongly or if gates were positioned inaccurately. Accurate and reproducible results will be obtained as long as the procedures used are in accordance with the Technical Data Sheet and compatible with good laboratory practices.

Literature references

- N. Abramson, B. Melton. Leukocytosis: Basics of Clinical Assessment. American Family Physician, 62 (9): 2053-2060 (2000)
- Kurec. Lipemia and hyperleukocytosis can lead to CBC errors. Medical Laboratory Observer (MLO), 48 (3): 44 (2016)
- L. K. Riley, J. Rupert. Evaluation of Patients with Leukocytosis, American Family Physician, 92 (11): 1004-1011 (2015)
- T. Constantino. Nucleated RBCs—Significance in the Peripheral Blood Film, Laboratory Medicine, Volume 31, Issue 4, 223–229 (2000)
- S. Buoro. Evaluation of nucleated red blood cell count by Sysmex XE-2100 in patients with thalassaemia or sickle cell anaemia and in neonates, Blood Transfus., 13(4): 588-94 (2015)
- F. Booth. Resistance to lysis of erythrocytes containing haemoglobin C—detected in a differential white cell counting system. J Clin Pathol., 36(7): 816–818 (1983)
- Posteraro. The Diagnostic Significance of a Prolonged Erythrocytic Glycerol Lysis Time (GLT50), American Journal of Clinical Pathology, Volume 70, Issue 4, Pages 637–641 (1978)
- E. Genuardi. Ficoll - hypaque separation vs whole blood lysis: Comparison of efficiency and impact on minimal residual disease analysis, Int J Lab Hematol., 40(2):201-208 (2018)
- P. Dagur. Collection, Storage, and Preparation of Human Blood Cells, Curr Protoc Cytom., 73: 5.1.1–5.1.16. (2015)
- S. Buoro. Which clinical significance has automatic detection of very low levels of nucleated red blood cells in the peripheral blood? Ann Transl Med., 4(11): 230 (2016)
- P. Danise. Nucleated red blood cells and soluble transferrin receptor in thalassemia syndromes: relationship with global and ineffective erythropoiesis, Clin Chem Lab Med, 47:1539–42 (2009)

Representative data

The following representative data was obtained using human peripheral whole blood stained with Sysmex Partec CyFlow™ antibody reagents (CD3-APC, CD19-PE and CD45-Pacific Blue™) and treated with CyLyse™ FX. The data was collected on a Sysmex Partec flow cytometer equipped with violet (405 nm), blue (488 nm) and red (638 nm) lasers.



Manufacturer

Sysmex Partec GmbH Am Flugplatz 13 02828 Görlitz Tel.: +49 3581 8746 0 Fax: +49 3581 8746 70 E-mail: info@sysmex-partec.com www.sysmex-partec.com	Distributed in the U.S.A. by: Sysmex America, Inc. 577 Aptakisic Road Lincolnshire, IL 60069, U.S.A. Tel.: 1-888-879-7639 or 1-847-367-3503 E-mail: FCM_Applications@sysmex.com www.sysmex.com/us
--	---

Symbols

	Reference Number		Batch Code		Concentrated Reagent
--	------------------	--	------------	--	----------------------

	Caution		Temperature Limitation		Use By
--	---------	--	------------------------	--	--------

	Legal Manufacturer
--	--------------------

Revision and date of issue	
Rev.:	001
Rev. Date:	03.06.2019

Réservé à des fins de recherche. Ne doit pas être utilisé à des fins diagnostiques. Le produit est fabriqué conformément aux Bonnes pratiques de fabrication.

Identification du réactif

Nom	CyLyse™ FX
Réf.	AX032552

Description du produit

CyLyse™ FX est une solution de lyse contenant un fixateur pour la lyse des hématies lors de la préparation des échantillons biologiques issus de sang périphérique humain après coloration des leucocytes par des anticorps conjugués à un fluorochrome en vue d'une analyse de cytométrie en flux.

Principe de la méthode d'examen

L'analyse et la détection des leucocytes dans le sang périphérique nécessitent d'éliminer les cellules parasites, essentiellement des érythrocytes. La coloration directe des échantillons de sang suivie de la lyse des hématies constitue une méthode simple et rapide pour l'analyse de cytométrie en flux du sang total.

Entreposage et durée de conservation

Avant ouverture

Entreposer CyLyse™ FX (concentré 10 x) à une température comprise entre 2 et 25 °C. Ne pas congeler. Ne pas utiliser après la date d'expiration indiquée sur l'étiquette.

Après la première ouverture

CyLyse™ FX conserve ses caractéristiques de performance pendant son utilisation pendant 36 mois.

Composants

CyLyse™ FX (concentré 10 x) est fourni sous la forme d'une solution tamponnée de marque de 50 mL contenant 20 à 30 % (v/v) de diéthylène glycol, < 15 % (v/v) de formaldéhyde et < 5 % (v/v) de méthanol.

Signes de détérioration

Prévenir la contamination des réactifs. En cas de détérioration d'un composant se manifestant sous la forme d'une précipitation ou d'une décoloration visible du réactif ou si les données obtenues montrent une quelconque altération des performances, veuillez contacter le service d'assistance technique de votre représentant Sysmex local.

Tout problème survenu en rapport avec le produit doit être signalé au fabricant par l'utilisateur.

Précautions et avertissements

D'importantes informations relatives à la manipulation, au transport et à l'élimination en toute sécurité du présent produit sont disponibles dans la fiche de données de sécurité (disponible sur <http://www.sysmex-partec.com/services>).

Respecter systématiquement les recommandations nationales et internationales et les normes réglementaires en matière d'EPI (équipement de protection individuelle).

Symboles d'avertissement

	GHS07		GHS08
--	-------	--	-------

Mention d'avertissement Danger	
Mentions de danger	
H302	Nocif en cas d'ingestion.
H315	Provoque une irritation cutanée.
H317	Peut provoquer une allergie cutanée.
H319	Provoque une sévère irritation des yeux.
H335	Peut irriter les voies respiratoires.
H341	Susceptible d'induire des anomalies génétiques.
H350	Peut provoquer le cancer.
H371	Risque présumé d'effets graves pour les organes.
H373	Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée.

Conseils de prudence	
P201	Se procurer les instructions spéciales avant utilisation.
P260	Ne pas respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.
P280	Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.
P308 + P313	EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : consulter un médecin.

Équipement requis supplémentaire

Exigences à l'égard de l'instrument : Cytomètre en flux équipé du matériel et du logiciel informatiques appropriés. Le cytomètre en flux doit disposer de l'équipement nécessaire pour détecter la diffusion vers l'avant (FSC) et la diffusion latérale (SSC).

Matériel requis : Mélangeur vortex, Centrifugeuse (y compris système à rotor conçu pour 500 g max.), Matériel nécessaire pour la collecte de sang total, Tubes jetables (12 x 75 mm) pour la coloration d'échantillons, Pipettes avec embouts jetables pour 10, 100 et 1000 μL, Équipement de protection individuelle adéquat

Réactifs requis : Réactifs-anticorps conjugués à un fluorochrome (p. ex. réactifs-anticorps Sysmex CyFlow™), Solution saline tamponnée au phosphate (PBS ; pH 7,4), Eau déionisée

D'autres matériels peuvent être requis. Consulter le manuel d'utilisation (IFU) du réactif-anticorps approprié pour obtenir de plus amples informations.

Préparation du réactif

Diluer CyLyse™ FX (concentré 10 x) dans de l'eau déionisée à température ambiante (1 volume de solution concentrée pour 9 volumes d'eau déionisée). La solution diluée est stable pendant un mois lorsqu'elle est entreposée à une température comprise entre 18 et 25 °C.

Recueil, manipulation et stockage d'échantillons primaires

AVERTISSEMENT Tous les échantillons et substances biologiques entrant en contact avec eux sont considérés comme présentant un risque biologique. Il convient de traiter les échantillons à titre de substances potentiellement infectieuses et de les éliminer conformément aux réglementations nationales et locales.

Recueillir du sang total dans un tube stérile contenant un anticoagulant K3 ou K2 EDTA. Respecter l'IFU du réactif-anticorps pour la manipulation et l'entreposage de l'échantillon.

Mise au rebut

Tout le matériel à usage unique qui a été en contact avec des matières présentant un risque biologique doit être décontaminé et éliminé conformément à la législation locale. Nettoyer et désinfecter immédiatement les surfaces contaminées en appliquant des procédures de décontamination appropriées. Éliminer systématiquement les échantillons de sang, les dosages et les fluides accessoires après expiration de la durée maximale d'entreposage.

Procédure d'examen

Procédure Lyse/No-wash
1. Colorer les échantillons de sang total conformément aux instructions fournies dans l'IFU du réactif-anticorps.

- Ajouter 500 μL de CyLyse™ FX dilué 10 x pour 50 μL d'échantillon et mélanger délicatement au moyen d'un mélangeur vortex.
- Incuber pendant 10 à 15 minutes à une température comprise entre 18 et 28 °C dans l'obscurité.
- Analyser immédiatement l'échantillon au moyen d'un cytomètre en flux ou suivre les instructions fournies dans l'IFU du réactif-anticorps.

Procédure Lyse/Wash

- Colorer les échantillons de sang total conformément aux instructions fournies dans l'IFU du réactif-anticorps.
- Ajouter 1,0 mL de CyLyse™ FX dilué 10 x pour 50 μL d'échantillon et mélanger délicatement au moyen d'un mélangeur vortex.
- Incuber pendant 10 à 15 minutes à une température comprise entre 18 et 28 °C dans l'obscurité.
- Centrifuger les tubes pendant 5 minutes à 300 g et retirer le surnageant par décantation.
- Pour procéder à l'analyse immédiate sur un cytomètre en flux, remettre la pastille cellulaire en suspension dans un volume suffisant de solution de PBS adaptée au cytomètre en flux concerné. Pour une analyse plus tardive, suivre les instructions fournies dans l'IFU du réactif-anticorps.

Limitations

Le test est conçu pour les professionnels et les utilisateurs dûment formés au sein de laboratoires réalisant une analyse de cytométrie en flux. En cas d'hyperleucocytose, il est recommandé de diluer des échantillons de sang avec de la solution de PBS à une concentration de 5 x 10⁶ leucocytes/mL [1, 2, 3]. Dans certains états pathologiques, notamment les hémoglobinopathies, la lyse des hématies peut être lente, incomplète, voire impossible. Dans ce cas, il est recommandé d'isoler les cellules mononucleées au moyen d'un gradient de densité (Ficoll, par exemple) avant de procéder à la coloration [4, 5, 6, 7, 8, 9]. Les échantillons contenant des hématies nucléées peuvent présenter une lyse incomplète des hématies. Cela peut également se produire lors du dosage d'échantillons de sang provenant de patients atteints de certains troubles hématologiques associés à une difficulté de lyse des hématies, notamment la myélofibrose, la drépanocytose ou la thalassémie [4, 5, 7, 10, 11]. Le résultat de la procédure Lyse/No-wash peut varier en fonction de la plateforme d'analyse. Il est recommandé de valider la procédure Lyse/No-wash avec l'application et le cytomètre en flux concernés.

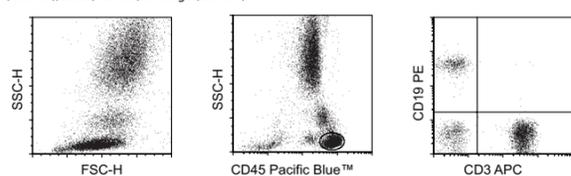
Le cytomètre en flux peut fournir des résultats erronés s'il n'a pas été aligné et entretenu de manière appropriée. Les données peuvent être interprétées de manière incorrecte si les signaux fluorescents ont été compensés de manière erronée ou si les fenêtres (« gates ») ont été positionnées de manière inappropriée. Des résultats exacts et reproductibles seront obtenus à condition que les procédures utilisées soient conformes à la notice technique et compatibles avec les bonnes pratiques de laboratoire.

Bibliographie

- N. Abramson, B. Melton. Leukocytosis: Basics of Clinical Assessment. American Family Physician, 62 (9): 2053-2060 (2000)
- Kurec. Lipemia and hyperleukocytosis can lead to CBC errors. Medical Laboratory Observer (MLO), 48 (3): 44 (2016)
- L. K. Riley, J. Rupert. Evaluation of Patients with Leukocytosis, American Family Physician, 92 (11): 1004-1011 (2015)
- T. Constantino. Nucleated RBCs—Significance in the Peripheral Blood Film, Laboratory Medicine, Volume 31, Issue 4, 223–229 (2000)
- S. Buoro. Evaluation of nucleated red blood cell count by Sysmex XE-2100 in patients with thalassaemia or sickle cell anaemia and in neonates, Blood Transfus., 13(4): 588-94 (2015)
- F. Booth. Resistance to lysis of erythrocytes containing haemoglobin C—detected in a differential white cell counting system. J Clin Pathol., 36(7): 816–818 (1983)
- Posteraro. The Diagnostic Significance of a Prolonged Erythrocytic Glycerol Lysis Time (GLT50), American Journal of Clinical Pathology, Volume 70, Issue 4, Pages 637–641 (1978)
- E. Genuardi. Ficoll - hypaque separation vs whole blood lysis: Comparison of efficiency and impact on minimal residual disease analysis, Int J Lab Hematol., 40(2):201-208 (2018)
- P. Dagur. Collection, Storage, and Preparation of Human Blood Cells, Curr Protoc Cytom., 73: 5.1.1–5.1.16. (2015)
- S. Buoro. Which clinical significance has automatic detection of very low levels of nucleated red blood cells in the peripheral blood? Ann Transl Med., 4(11): 230 (2016)
- P. Danise. Nucleated red blood cells and soluble transferrin receptor in thalassemia syndromes: relationship with global and ineffective erythropoiesis, Clin Chem Lab Med, 47:1539–42 (2009)

Données représentatives

Les données représentatives suivantes ont été obtenues à partir de sang total périphérique humain coloré avec les réactifs-anticorps Sysmex Partec CyFlow™ (CD3-APC, CD19-PE et CD45-Pacific Blue™) et traités avec CyLyse™ FX. Les données ont été collectées sur un cytomètre en flux Sysmex Partec équipé de lasers violet (405 nm), bleu (488 nm) et rouge (638 nm).



Fabricant

Sysmex Partec GmbH Am Flugplatz 13 02828 Görlitz, Allemagne Tel.: +49 3581 8746 0 Fax: +49 3581 8746 70 E-mail: info@sysmex-partec.com www.sysmex-partec.com	Distribué aux USA par : Sysmex America, Inc. 577 Aptakisic Road Lincolnshire, IL 60069, U.S.A. Tel.: 1-888-879-7639 or 1-847-367-3503 E-mail: FCM_Applications@sysmex.com www.sysmex.com/us
---	---

Symboles

	Numéro de référence		Code du lot		Concentrated Reagent
--	---------------------	--	-------------	--	----------------------

	Attention		Limites de température		Utiliser jusqu'au
--	-----------	--	------------------------	--	-------------------

	Fabricant légal
--	-----------------

Date de publication ou de révision

Rev.:	001
Date rév.:	03.06.2019

