

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit



Scientists Helping Scientists™ | www.stemcell.com

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713

INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM

FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

For processing up to 60 mL bone marrow

REF 100-0748

Positive Selection

Document #10000019127 | Version 01

ENGLISH

For *In Vitro* Diagnostic Use

R Only

Intended Use

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit is an in vitro diagnostic device intended to enrich CD138+ cells from bone marrow collected from patients diagnosed with multiple myeloma. The CD138+ cells are enriched by immunomagnetic positive selection for use in validated downstream assays. The end-user is responsible for validation of this kit for use with the assay. For in vitro diagnostic use by laboratory professionals.

Background

Multiple myeloma is a hematological malignancy characterized by the accumulation of plasma cell neoplasms in the bone marrow.¹ In the United States, multiple myeloma accounts for 1.8% of all cancers and is typically diagnosed among people aged 65 to 74 years.² Several subtypes of disease have been identified at the genetic and molecular level, and specific chromosomal abnormalities have prognostic implications that enable the risk stratification of patients.²

Consensus recommendations established by US and EU oncology experts and captured in guidelines published by the National Comprehensive Cancer Network (NCCN)², the European Society for Myeloma³, and the European Myeloma Network⁴ recommend cytogenetic analysis of plasma cells obtained from bone marrow specimens by FISH at initial diagnosis and as a follow-up and surveillance method during relapse.²⁻⁴

The frequency of plasma cells in bone marrow from multiple myeloma patients can be highly variable at diagnosis and during relapse. Plasma cells can be isolated from bone marrow by the immunomagnetic positive selection of cells expressing the CD138 (syndecan-1) surface antigen.⁵ The enrichment of plasma cells from bone marrow prior to FISH testing for multiple myeloma has been reported to increase the rate and frequency of genetic abnormalities detected by FISH (Figure 1).⁵⁻⁷

Principle of Operation

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit is designed to be used manually to enrich cells expressing the CD138 surface antigen from fresh human whole bone marrow samples by immunomagnetic positive selection. This kit targets CD138+ cells for positive selection with an antibody recognizing the CD138 surface marker. Desired cells are labeled with antibodies and magnetic particles and separated using a "The Big Easy" EasySep™ magnet. Unwanted cells are poured off, while isolated CD138+ cells remain in the tube.

Component Descriptions

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit consists of the following components listed under Table 1.

Table 1. EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit Components

Component Name	Component #	Quantity	Content
EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail	300-0394	3 x 1 mL*	A combination of monoclonal antibodies in D-PBS with 0.09% rHA. Includes an Fc receptor blocking antibody.
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105	300-0400	3 x 1 mL*	A suspension of magnetic particles in water.

* 1 mL vial of each component can be used for processing up to 20 mL of bone marrow depending on the level of cellularity of the sample (refer to Directions for Use, Step 5 of this document).

D-PBS - Dulbecco's phosphate-buffered saline; rHA - recombinant human albumin



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

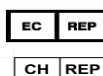
For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free number: 00800 7836 2355

North American toll-free number: +1.800.667.0322

email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH

Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Material Provided

EASYSEPTM RED BLOOD CELL LYSIS BUFFER

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit is provided with EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (Catalog #100-0749), 1 x 20 mL. This buffer is supplied as a 10X concentrate. Prepare 1X lysis buffer at least 1 hour before use by adding 1 part 10X lysis buffer to 9 parts distilled or Type 1* water. Mix gently and completely before use.

Refer to the EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (Catalog #100-0749) Product Information Sheet (PIS; Document #10000017274), available at www.stemcell.com/0749. Contact the toll free number provided in the Technical Assistance section of this document to request a paper copy of this PIS free of charge.

*Type I water refers to ultrapure water suitable for use in analytical procedures. It is defined by the American Society for Testing and Materials (ASTM) as having a resistivity of $> 18 \text{ M}\Omega\text{-cm}$, a conductivity of $< 0.056 \mu\text{S/cm}$, and $< 50 \text{ ppb}$ of total organic carbons (TOC).

Quality Control

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit is manufactured in compliance with 21 CFR Part 820 and ISO 13485. For additional quality information, refer to www.stemcell.com/compliance.

Storage and Stability

Table 2. Storage and Stability

Component Name	Component #	Storage
EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail	300-0394	2 - 8°C
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105	300-0400	2 - 8°C
EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate	100-0749	room temperature (RT; 15 - 25°C)

Components may be shipped at RT but should be stored as indicated above. Do not freeze. All components are stable until use-by date on the label.

NOTE: EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (1X) can be stored at 2 - 8°C for up to 3 months. Do not exceed the expiry date (use-by date) of the original 10X buffer.

Accessories Required but Not Provided

Materials listed in Table 3 are accessories to EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. These materials are not provided with the kit and can be purchased separately.

Table 3. Accessories Required but Not Provided

Component Name	Component #	Quantity	Storage	Shelf Life	Description
"The Big Easy" EasySep™ Magnet	18001	1	Store at 15 - 25°C.	Not applicable	A magnet for column-free immunomagnetic separation.
EasySep™ Buffer	100-0780	1 x 1 L	Store at 2 - 8°C.	Stable until expiry date (EXP) on label.	Cell separation buffer.

"THE BIG EASY" EASYSEPTM MAGNET

"The Big Easy" EasySep™ Magnet generates a high gradient magnetic field for cell separation and is designed for use with EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. "The Big Easy" EasySep™ Magnet is designed to hold a standard 14 mL (17 x 95 mm) polystyrene round-bottom tube.

EASYSEPTM BUFFER

Refer to the EasySep™ Buffer (Catalog #100-0780) PIS (Document #10000016106), available at www.stemcell.com/0780. Contact the toll-free number provided in the Technical Assistance section of this document to request a paper copy of this PIS free of charge.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Materials Needed but Not Provided

Materials listed below are general purpose laboratory items that are required but not provided.

- Dulbecco's phosphate-buffered saline (without Ca++ and Mg++; e.g. Catalog #37350)
- DNase I solution (e.g. Catalog #07900)
- 70 µm strainer (e.g. Catalog #27216)
- 14 mL (17 x 95 mm) polystyrene round-bottom tube (e.g. Catalog #38008)
- 50 mL conical tube (e.g. Catalog #38010)

Limitations

1. FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE
2. The use of the device is intended for the enrichment of CD138+ cells from patients that are known to have or may have a cancer diagnosis.
3. The performance characteristics of this device have not been established for general downstream diagnostic assays. End users need to validate use with any subsequent tests and specimen collection devices.
4. The standalone device is not intended for cell enumeration. The device is intended only for enriching CD138+ cells in specimens so that the enriched specimens can then be used in further processing/analysis using additional independent methods, such as FISH.
5. The standalone device is not intended for diagnostic, prognostic, or monitoring use with CD138+ cells, including as an aid in any disease management and/or treatment decisions. Results from the standalone device do not provide information to the patient regarding their current state of health. The standalone device does not diagnose any health conditions and is not a substitute for visits to a doctor or other healthcare professional.
6. Resuspend the bone marrow specimen based on specimen volume or cellularity levels as per the instructions provided in Sample Preparation.
7. Follow all protocol steps listed in Directions for Use. Improper execution of protocol may lead to variable and/or poor results.
8. A low CD138+ (< 3%) starting frequency may lead to variability in purity of enriched CD138+ cells. End users may assess the purity of CD138+ cells after enrichment by either immunophenotyping using flow cytometry or morphological assessment by microscopy.
9. Bone marrow stability may be compromised after 48 hours from collection.
10. The number of CD138+ plasma cells isolated from bone marrow by immunomagnetic selection may be reduced in patients undergoing or following treatment for multiple myeloma.
11. If no abnormal FISH patterns are observed when multiple FISH probes are used, seek technical assistance by contacting techsupport@stemcell.com.

Warnings and Precautions

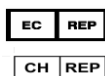
1. Important information regarding the safe handling, transport, and disposal of these products is contained in the Safety Data Sheets (SDS).
NOTE: SDS for the reagents provided in the kit are available at www.stemcell.com.
2. This product should be handled by trained personnel observing good laboratory practices. Once this product is added to human cells, treat the suspension as potentially biohazardous. Handling of reagents and disposal of wastes should observe all local, state, or national regulations.
3. This product is a potential irritant to eyes, respiratory system, and skin. This product may also be harmful if ingested. Avoid exposure through skin, eye contact, inhalation, and ingestion.
4. CAUTION: EasySep™ Magnet generates a strong magnetic field. Keep away from pacemakers, magnets, computer disks, watches, and other objects that respond to magnetic fields.
5. Ensure that vials are capped properly during storage. Proper handling and storage of kit components is essential to ensure the labeled shelf life and performance of the kit. CD138+ cell enrichment may be adversely affected by kit components stored outside of the recommended storage conditions.
6. Do not use the product if packaging container's integrity has been compromised upon arrival or if there are any signs of contamination, drying, leaks, or any other evidence of deterioration. Unused product may be disposed of according to standard laboratory procedures for non-hazardous liquids.
7. Do not use the product beyond the use-by date indicated on its label.
8. Do not freeze EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105. If EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 are clumped or cannot be evenly dispersed, contact techsupport@stemcell.com.
9. Do not vortex EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail.
10. EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit is designed for use with a minimum of 1 mL of fresh bone marrow. Samples should be processed as soon as possible, preferably within 24 hours but no longer than 72 hours after bone marrow aspirate collection. Do not freeze or transport bone marrow in direct contact with cold/ice packs or expose to temperatures above 30°C prior to use. Follow the bone marrow sample preparation instructions provided in Sample Preparation.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Directions for Use

SAMPLE PREPARATION

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit is designed for use with fresh human whole bone marrow. Recommendations for specimen collection can be found in the AGT Cytogenetics Laboratory Manual.⁸ Bone marrow aspirate collections should be performed according to the laboratory's institutional guidelines. At least 1 mL of bone marrow aspirate should be collected in a blood collection tube containing an anticoagulant.

To avoid sample degradation, loss of CD138 from the fragile plasma cells, and to maintain cell viability, the samples should be processed as soon as possible, preferably within 24 hours but no longer than 72 hours after bone marrow aspirate collection. Do not freeze or transport bone marrow in direct contact with cold/ice packs, or expose to temperatures above 30°C prior to use.

Optimal performance of the protocol requires appropriate specimen collection, storage, and transport to the test site.

Follow steps listed below to prepare the sample for cell enrichment:

1. Dilute bone marrow 5- to 10-fold in Dulbecco's phosphate-buffered saline (D-PBS) and mix gently by pipetting up and down.
2. Pre-wet a 70 µm strainer with D-PBS. Filter the sample through the pre-wetted strainer to remove bone fragments, cell aggregates, and debris. Rinse the strainer with D-PBS.
3. Centrifuge the cells at 300 x g for 10 minutes (acceptable range of 250 - 300 x g for 8 - 12 minutes) with the brake off.
4. Using a pipette, carefully remove and discard the plasma, without disturbing the buffy coat/red cell pellet. Do not pour. When working with bone marrow samples that are > 24 hours old, add 50 µL of 1 mg/mL DNase I solution directly to the buffy coat/red blood cell pellet and resuspend. Incubate at room temperature (15 - 25°C) for 15 - 30 minutes prior to performing the cell separation.

NOTE: Store DNase I solution at -20°C. Aliquot DNase I solution into working volumes to avoid repeated freeze-thaw cycles.

Tip: Alternatively, DNase I solution stored at 2 - 8°C can be used for up to 1 week.

5. Resuspend the buffy coat/red blood cell pellet to 1 - 2X the original starting bone marrow sample volume with EasySep™ Buffer (Table 4).
 - If original sample volume was ≥ 2.5 mL, dilute to the original sample volume.
 - If original sample volume was < 2.5 mL, dilute to twice the original sample volume.
 - Alternatively, if the sample is expected to have high cellularity (> 70%) or cellularity is unknown, dilute to twice the original sample volume.

Table 4. EasySep™ Buffer Volumes

Original Sample Volume	Sample Volume After Resuspension with EasySep™ Buffer
1 mL	2 mL
2 mL	4 mL
2.5 mL	2.5 mL
3 mL	3 mL
4 mL	4 mL
4.5 mL	4.5 mL

CELL SEPARATION

6. Prepare EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (referred to as EasySep™ RBC Lysis Buffer) (1X) at least 1 hour before use. EasySep™ RBC Lysis Buffer is supplied as a 10X concentrate.
 - a. Add 1 part EasySep™ RBC Lysis Buffer to 9 parts distilled or Type 1 water.
 - b. Mix gently and completely before use.

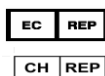
NOTE: If not used immediately, store EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) at 2 - 8°C for up to 3 months. Do not freeze.
 7. Prepare the sample within the volume range of 1 - 4.5 mL and add sample to required tube. If the volume is > 4.5 mL, split the sample between two 14 mL round-bottom tubes.
 8. Add an equal volume of EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) prepared in step 6 to the sample. For example, if the sample volume is 2 mL after resuspension with EasySep™ Buffer (step 5), add 2 mL of EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) to the sample.
 9. Add 25 µL of EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail per 1 mL of diluted sample (step 8). Mix and incubate at room temperature (15 - 25°C) for 3 minutes (up to a maximum of 5 minutes). For example, if diluted sample volume is 4 mL, add 100 µL of EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail to sample.
- NOTE: Do not vortex cocktail.
10. Vortex EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 for at least 30 - 40 seconds. Particles should appear evenly dispersed.
 11. Add 25 µL of EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 per 1 mL of diluted sample. Mix and incubate at room temperature (15 - 25°C) for 3 minutes (up to a maximum of 5 minutes).
 12. Add EasySep™ Buffer to top up the sample to the volume indicated below. Mix by gently pipetting up and down 2 - 3 times.
 - Top up to 5 mL for diluted samples < 2.5 mL



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
 European toll-free number: 00800 7836 2355
 North American toll-free number: +1.800.667.0322
 email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
 Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
 Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
 Version 01

Issue Date 2025-01

- Top up to 10 mL for diluted samples ≥ 2.5 mL
13. Place the tube (without lid) into "The Big Easy" EasySep™ Magnet and incubate at room temperature (15 - 25°C) for 10 minutes (up to a maximum of 11 minutes).
 14. Pick up the magnet and, in one continuous motion, invert the magnet and tube to pour off the supernatant. Remove the tube from the magnet; this tube contains the isolated cells. Discard the supernatant.
NOTE: Leave the magnet and tube inverted for 2 - 3 seconds, then return upright. Do not shake or blot off any drops that may remain hanging from the mouth of the tube.
 15. Add EasySep™ Buffer to top up the sample to the volume indicated below. Mix by gently pipetting up and down 2 - 3 times.
 - Top up to 5 mL for diluted samples < 2.5 mL
 - Top up to 10 mL for diluted samples ≥ 2.5 mL
 16. Place the tube (without the lid) into the magnet and incubate at room temperature (15 - 25°C) for 3 minutes (up to a maximum of 5 minutes).
 17. Pick up the magnet and, in one continuous motion, invert the magnet and tube to pour off the supernatant. Remove the tube from the magnet; this tube contains the isolated cells. Discard the supernatant.
NOTE: Leave the magnet and tube inverted for 2 - 3 seconds, then return upright. Do not shake or blot off any drops that may remain hanging from the mouth of the tube.
 18. Add EasySep™ Buffer to top up the sample to the volume indicated below. Mix by gently pipetting up and down 2 - 3 times.
 - Top up to 5 mL for diluted samples < 2.5 mL
 - Top up to 10 mL for diluted samples ≥ 2.5 mL
 19. Place the tube (without the lid) into the magnet and incubate at room temperature (15 - 25°C) for 3 minutes (up to a maximum of 5 minutes).
 20. Pick up the magnet and, in one continuous motion, invert the magnet and tube to pour off the supernatant. Remove the tube from the magnet; this tube contains the isolated cells. Discard the supernatant.
NOTE: Leave the magnet and tube inverted for 2 - 3 seconds, then return upright. Do not shake or blot off any drops that may remain hanging from the mouth of the tube.
 21. Resuspend cells in desired medium. Be sure to collect cells from the sides of the tube. Enriched cells can be used in further processing/analysis using additional independent methods, such as FISH assay, that have been validated by end users.

Performance Summary

CLINICAL STUDY

A clinical study was conducted using the EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit on 33 clinical bone marrow specimens from multiple myeloma patients at various stages of disease. The clinical specimens were evaluated using a panel of five common FISH probes detecting six genomic abnormalities that included a CCND1/IGH XT probe to detect the t(11;14) translocation, as well as probes to detect chromosome 5 (D5S23) and chromosome 15 polysomy (D15Z4) (single probe kit), MYC breakapart, 13q deletion (D13S319), and TP53 deletion (D17Z1). Of the 33 patients, 32 were positive for at least one FISH probe, and 14 patients had at least one FISH probe that gave an abnormal signal pattern only after EasySep™ CD138 enrichment. CD138 purity, as measured by flow cytometry, was 12.9% (range 0.2% - 82.7%) in unenriched specimens and increased to 79.6% (range 18.5% - 98.6%) in the EasySep™ CD138-enriched specimens.

Fold enrichment for CD138 purity was > 1 and varied based on initial frequency* for all specimens with CD138 frequencies $< 40\%$ prior to enrichment. In this study, fold enrichment was 65.9 (range 29.6 - 91.5) for specimens with initial CD138 frequencies $< 3\%$, 11.9 (range 5.1 - 23.0) for specimens with initial CD138 frequencies between 3 - 15%, and 3.2 (1.6 - 5.3) for specimens with initial CD138 frequencies between 15 - 40% prior to enrichment.

*NOTE: For specimens with CD138 frequencies $> 40\%$, plasma cell enrichment prior to FISH may not be required.⁹

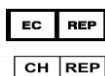
The percentage of abnormal nuclei before (unenriched) and after enrichment increased by the following amounts for each probe: CCND1/IGH (t(11;14)) probe: $15.4 \pm 15.5\%$ to $77.3 \pm 29.5\%$ (n = 14); chromosome 5 (D5S23) probe: $25.0 \pm 19.1\%$ to $72.7 \pm 17.4\%$ (n = 15); chromosome 15 (D15Z4) probe: $20.0 \pm 15.9\%$ to $57.3 \pm 23.6\%$ (n = 16); MYC breakapart probe: $21.2 \pm 21.7\%$ to $50.7 \pm 33.5\%$ (n = 10); 13q deletion (D13S319) probe: $15.5 \pm 16.9\%$ to $81.4 \pm 15.2\%$ (n = 19); TP53 (D17Z1) probe: $22.8 \pm 23.5\%$ to $48.8 \pm 32.9\%$ (n = 5).



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland

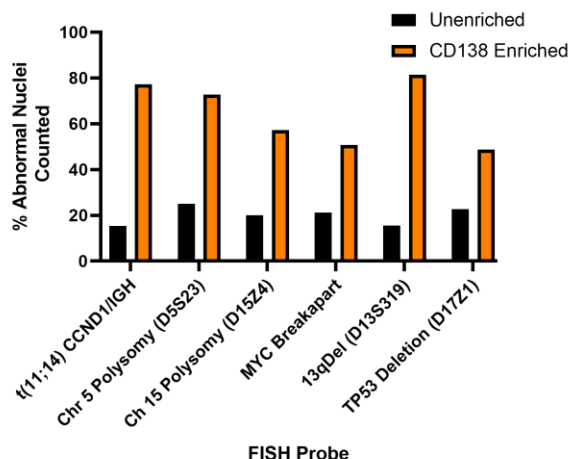


Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Figure 1 shows the percentage of abnormal nuclei detected for each probe was higher following EasySep™ CD138 enrichment compared to the sample before enrichment and was generated using a subset of the complete data set (not shown) where only specimens with an abnormal FISH signal pattern for each probe were included in the analysis.

Figure 1. Percentage of Abnormal Nuclei Counted in Plasma Cells Before (Unenriched) and After Enrichment Using EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit



REPRODUCIBILITY STUDY

Reproducibility with Contrived Samples

A study was performed to demonstrate the reproducibility of the enrichment process across three study sites using three EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection kit lots. Due to challenges with having adequate samples for three sites, the study was performed using contrived samples generated by spiking a multiple myeloma cell line into healthy donor whole blood each day at low (< 3%), medium (3 - 15%), or high (> 15%) initial CD138+ frequencies to create 16 samples, or panel members. More panel members were studied at the low and medium levels (6 versus 4 for the high level) to demonstrate enrichment at the more challenging levels.

Table 5 shows a statistical summary of the overall, site-to-site, lot-to-lot variability, and fold-enrichment from the high, medium, and low CD138+ panel members. Enrichment increased a mean of 85.7 fold in the low CD138+ initial frequency samples, 9.3 fold in the CD138+ medium frequency samples, and 3.8 fold in the high CD138+ initial frequency samples.

Table 5. EasySep™ CD138 Reproducibility Study Variability and Fold Enrichment Summary

CD138+ Initial Frequency	N	Repeatability CV (%)	Between Site CV (%)	Between Lot CV (%)	Reproducibility CV (%)	Fold Enrichment
		Mean (Min. - Max)	Mean (Min. - Max)	Mean (Min. - Max)	Mean (Min. - Max)	Mean (Min. - Max)
High (> 15%)	4	0.7 (0.5 - 0.9)	4.0 (2.8 - 5.9)	0.9 (0.5 - 1.6)	4.0 (2.8 - 6.0)	3.8 (2.6 - 5.5)
Med (3 - 15%)	6	1.6 (0.8 - 3.0)	4.2 (2.1 - 6.8)	2.3 (1.0 - 3.9)	4.5 (2.2 - 7.0)	9.3 (5.0 - 15.4)
Low (< 3%)	6	5.4 (3.5 - 8.9)	9.7 (5.5 - 13.8)	8.6 (4.5 - 14.2)	11.9 (8.2 - 18.3)	85.7 (20.2 - 206.0)

CV - coefficient of variation

Reproducibility with Clinical Specimens

Three lots of the EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit were tested on multiple myeloma patient bone marrow aspirates (BMA) for performance in downstream FISH assays. A total of 9 clinical multiple myeloma BMA were tested, where each specimen was split in half to test enrichment with two different EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit lots. The percentage of abnormal nuclei were analyzed using five FISH probes which detect common multiple myeloma chromosomal abnormalities, including the t(11;14) translocation (CCND1/IGH XT), Chromosomes 5, 9 and 15 aneusomies (D5S23, D5S72, CEP 9, CEP 15) and 13q14 deletion.

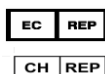
Based on the study results, three BMA gave normal FISH signal patterns for all five probes tested. One BMA was abnormal for the t(11;14) translocation and four BMA had abnormal signal patterns for the 13q deletion. In all nine BMA tested, the percentage of abnormal cells for each probe were very similar between the plasma cells enriched with the two EasySep™ CD138 kit lots. The same normal/abnormal disposition for a given probe was concordant between the pairs of EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit lots. In all cases, normal/abnormal disposition was in agreement indicating that the EasySep™ kit is able to produce reproducible FISH results when used on the intended use specimen.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

PRECISION

A precision study was performed where, on three non-consecutive days, a bone marrow specimen from a healthy donor was spiked with the CD138+ cell line SK-MM-2 at a low (< 3%) and a medium (3 - 15%) initial CD138+ frequency to generate two separate contrived sample panel members. Two operators performed EasySep™ enrichments on each of the study days, with each operator enriching from one of the two panel members. Each operator performed three runs of enrichments in quadruplicate on one panel member using one kit lot.

The unenriched and enriched CD138+ cell purity was determined by flow cytometry analysis for each of the three runs from all panel members. The enriched purity repeatability precision estimates (%CV across four replicates within a run, n = 4 per run, 3 runs per panel member) ranged from 0.81 - 1.56% and 0.17 - 1.41% for low and medium initial CD138+ frequency panel members, respectively, indicating that enriched CD138+ cell purity variability is well-controlled within run.

LIMIT OF DETECTION

Limit of Detection (LoD) with Contrived Samples

The study aimed to determine the lowest initial CD138+ frequency that gives consistent abnormal FISH results in a contrived specimen after CD138+ cell enrichment using the EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. On six non-consecutive days, a whole blood (WB) or bone marrow (BM) sample from a healthy donor was spiked with the CD138+ cell line SK-MM-2 at 20% (acceptable range 26 -14% by flow cytometry) CD138+ initial frequency and then serially diluted by a factor of two with WB or BM to achieve ~20%, 10%, 5%, 2.5%, 1.25%, 0.63%, 0.31%, 0.16%, 0.08%, and 0% (i.e., WB or BM not spiked with SK-MM-2 cells). Each sample was enriched in duplicate using the EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit, and all unenriched and enriched specimens were assessed by flow cytometry and/or had t(11;14) disposition analyzed by FISH.

Results from the EasySep™ CD138 Limit of Detection Study including the unenriched and enriched CD138+ cell purity measured by flow cytometry and the t(11;14) disposition analyzed by FISH were reviewed. All contrived specimens spiked with SK-MM-2 cells, targeting as low as 0.08% initial CD138+ frequency, resulted in abnormal t(11;14) disposition in FISH analysis. The enriched CD138+ purity measured by flow cytometry positively correlated with the percentage of abnormal nuclei observed in downstream FISH analysis. The average enriched CD138+ purity that resulted in abnormal t(11;14) disposition in FISH was 33% CD138+, enriching from specimens with an average unenriched purity of 0.08% CD138+. For 0.00% initial target CD138+ frequency specimens, four out of the six donors resulted in normal t(11;14) disposition in FISH analysis, however one bone marrow and one whole blood donor only had one replicate deemed normal and the other replicate inconclusive due to insufficient number of cells recovered. In conclusion, the EasySep™ CD138 Limit of Detection Study showed the EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit was able to consistently enrich from contrived specimens with initial CD138+ frequency of 0.05% - 25.06% and achieved consistent abnormal FISH patterns. The limit of detection for the EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit was set at 0.05% initial CD138+ frequency.

Confirmation of Limit of Detection (LoD) with Clinical Multiple Myeloma Bone Marrow Specimens

The goal of this study was to verify the LoD at 0.05% initial CD138 frequency, determined in the previous LoD study on contrived specimens in one clinical specimen using two kit lots, having three replicates per kit lot. CD138+ cell enrichment was performed on a clinical specimen produced by spiking a multiple myeloma patient bone marrow aspirate into a healthy donor bone marrow aspirate at 0.05% initial CD138 frequency. The clinical specimen was washed and split into six fractions for EasySep™ CD138 cell enrichments, using two kit lots with three replicates per kit lot. Enriched samples were split into two fractions: one fraction was used for plasma cell purity assessment by flow cytometry and the second fraction was used for FISH.

Plasma cell purity was determined before and after enrichment using two kit lots of the EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit with three replicates per kit lot. The specimen was enriched from 0.05% to a range of 4.1 - 7.4%. Overall enriched purity CV was 19.7%, passing the acceptance criteria of overall CV ≤ 35%. All enriched samples had normal FISH signal patterns for Chromosome 5 and 15 polysomy (D5S23, D15Z4), MYC breakapart, and the CCND1/IGH XT probes; and were abnormal for Chromosome 13q deletion (D13S319) and TP53. The enriched samples' FISH disposition was the same as the undiluted clinical specimen's FISH disposition, with 100% of the replicates being abnormal for Chromosome 13q deletion (D13S319) and TP53.

ANTICOAGULANT INTERFERENCE

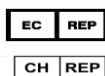
Three fresh clinical multiple myeloma bone marrow specimens were recruited for this study. One specimen was processed at ~20 hours post collection, one specimen was processed at ~24 hours post collection, and the third specimen was processed ~22 hours post collection. Each specimen was split into two fractions. One fraction was treated with PBS (the control), while the other was spiked with 3X excess of sodium heparin. Single replicates of each fraction were then washed and enriched using the EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. CD138 purity was determined by flow cytometry and then compared to determine whether excess heparin caused interference with CD138 enrichment and purity. A second study evaluated a total of 3 clinical specimens prepared by adding multiple myeloma bone marrow mononuclear cells into healthy donor bone marrow aspirates at < 0.2% initial CD138 frequency. Three replicates were tested per specimen per condition (i.e. with/without excess sodium heparin). The enriched purities of sodium heparin spiked specimens were not statistically different from that of the control specimens in each study (onetailed t-test, p=0.1971 and p = 0.2740, respectively). Results indicated that excess sodium heparin was not found to interfere with CD138+ plasma cell enrichment.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Technical Assistance

NOTE: Please re-order using Catalog #100-1133, a kit that comprises the EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit (☐ 100-0748) and the EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (☐ 100-0749).

This PIS is also available in various national languages in electronic format on STEMCELL's website and can be provided in paper copy upon request.

For technical support, contact techsupport@stemcell.com or call toll-free either +1.604.877.0713 (Canada), +1.800.667.0322 (North America), or 00800 7836 2355 (Europe). For more information, visit www.stemcell.com.

Deletions, additions, or changes are indicated by the change bar in the margin.

Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the competent authority of the member state in which the user is established.

Rx For prescription use only	REF Catalog or reference number	LOT Batch code	 Use-by date: YYYY-MM-DD	 Caution, consult accompanying documents	IVD In Vitro Diagnostic Medical Device
 For storage within temperature limits	 Consult Instruction for Use or electronic Instruction for Use	 Do not use if packaging is damaged	UDI Unique device identifier	CE CE Mark	 Manufacturer
EC REP Authorized EC representative in the European Community	CH REP Authorized representative in Switzerland				

Bibliography

- Colander et al. (2022) Multiple Myeloma, Version 3.2022: Featured Updates to the NCCN Guidelines. JNCCN 20(1): 8–19.
- Kumar S et al. (2020) Multiple Myeloma, Version 3.2021. JNCCN 18(12): 1685–717.
- Dimopoulos et al. (2021) Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 32(3): 309–22.
- Caers et al. (2018) European Myeloma Network recommendations on tools for the diagnosis and monitoring of multiple myeloma: what to use and when. Haematologica 103(11): 1772–84.
- Shin SY et al. (2012) Application of an immune-magnetic cell sorting method for CD138-positive plasma cells in FISH analysis of multiple myeloma. Int J Lab Hematol 34(5):541–6.
- Shetty S et al. (2012) Utility of a column-free cell sorting system for separation of plasma cells in multiple myeloma FISH testing in clinical laboratories. Int J Hematol 95(3): 274–81.
- Kishimoto RK et al. (2016) Validation of interphase fluorescence in situ hybridization (iFISH) for multiple myeloma using CD138 positive cells. Rev Bras Hematol Hemoter 38(2): 113–20.
- The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4th ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc; 2017.
- Pozdnyakova O et al. (2009) Interphase FISH in plasma cell dyscrasia: increase in abnormality detection with plasma cell enrichment. Cancer Genetics and Cytogenetics 189:112–7.

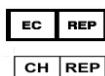
Copyright © 2025 by STEMCELL Technologies Inc. All rights reserved including graphics and images. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, EasySep, and RapidSpheres are trademarks of STEMCELL Technologies Canada Inc. All other trademarks are the property of their respective holders. While STEMCELL has made all reasonable efforts to ensure that the information provided by STEMCELL and its suppliers is correct, it makes no warranties or representations as to the accuracy or completeness of such information.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit

Pour traiter jusqu'à 60 mL de moelle osseuse

REF 100-0748
Sélection Positive

Document #10000019127 | Version 01



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713
INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM
FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

FRANÇAIS

Pour Utilisation Diagnostique in Vitro

R_x seulement
Usage Prévu

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit est un dispositif de diagnostic in vitro destiné à enrichir les cellules CD138+ de la moelle osseuse prélevée chez des patients diagnostiqués avec un myélome multiple. Les cellules CD138+ sont enrichies par sélection immunomagnétique positive pour être utilisées dans des tests validés en aval. L'utilisateur final est responsable de la validation de ce kit pour une utilisation avec le test. Pour une utilisation diagnostique in vitro par les professionnels de laboratoire.

Contexte

Le myélome multiple est une tumeur maligne hématologique caractérisée par l'accumulation de néoplasmes plasmocytaires dans la moelle osseuse.¹ Aux États-Unis, le myélome multiple représente 1,8% de tous les cancers et est généralement diagnostiqué chez les personnes âgées de 65 à 74 ans.² Plusieurs sous-types de la maladie ont été identifiés au niveau génétique et moléculaire, et des anomalies chromosomiques spécifiques ont des implications pronostiques qui permettent la stratification du risque des patients.²

Les recommandations consensuelles établies par des experts en oncologie américains et européens et reprises dans les directives publiées par le National Comprehensive Cancer Network (NCCN)², la Société européenne du myélome³, et le European Myeloma Network⁴ recommandent l'analyse cytogénétique des plasmocytes obtenus à partir d'échantillons de moelle osseuse par hybridation in situ en fluorescence (*fluorescence in situ hybridization*; FISH) lors du diagnostic initial et comme méthode de suivi et de surveillance lors de la rechute.²⁻⁴

La fréquence des plasmocytes dans la moelle osseuse des patients atteints de myélome multiple peut être très variable au moment du diagnostic et pendant la rechute. Les plasmocytes peuvent être isolés de la moelle osseuse par sélection positive immunomagnétique des cellules exprimant l'antigène de surface CD138 (syndécan-1).³ L'enrichissement des plasmocytes de la moelle osseuse avant l'essai FISH pour le myélome multiple a été rapporté comme augmentant le taux et la fréquence des anomalies génétiques détectées par FISH (Figure 1).⁵⁻⁷

Principe de Fonctionnement

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit est conçu pour être utilisé manuellement afin d'enrichir les cellules exprimant l'antigène de surface CD138 à partir d'échantillons frais de moelle osseuse humaine entière par sélection positive immunomagnétique. Ce kit cible les cellules CD138+ pour la sélection positive avec un anticorps reconnaissant le marqueur de surface CD138. Les cellules souhaitées sont marquées avec des anticorps et des particules magnétiques et séparées à l'aide d'un aimant "The Big Easy" EasySep™. Les cellules indésirables sont éliminées, tandis que les cellules CD138+ isolées restent dans le tube.

Descriptions des Composants

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit comprend les composants suivants, énumérés dans le Tableau 1.

Tableau 1. Composants du EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit

Nom du Composant	Composant #	Quantité	Teneur
EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail	300-0394	3 x 1 mL*	Combinaison d'anticorps monoclonaux dans du D-PBS avec 0,09% de rHA. Inclut un anticorps bloquant le récepteur Fc.
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105	300-0400	3 x 1 mL*	Suspension de particules magnétiques dans de l'eau.

* Un flacon de 1 mL de chaque composant peut être utilisé pour traiter jusqu'à 20 mL de moelle osseuse en fonction du niveau de cellularité de l'échantillon (se référer au Mode d'emploi, Étape 5 de ce document).

D-PBS - solution saline de Dulbecco tamponnée au phosphate ; rHA - albumine humaine recombinante



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Matériel Fourni

EASYSEPTM RED BLOOD CELL LYSIS BUFFER

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit est toujours fourni de pair avec EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (Catalog #100-0749), 1 x 20 mL. Ce tampon est fourni en concentré 10X. Préparer le tampon de lyse 1X au moins 1 heure avant l'utilisation en ajoutant 1 partie de tampon de lyse 10X à 9 parties d'eau distillée ou de type 1*. Mélanger doucement et complètement avant utilisation.

Consultez la fiche d'informations sur le produit (*Product Information Sheet*; PIS) EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (Document #10000017274), disponible sur www.stemcell.com/0749. Contactez le numéro gratuit indiqué dans la section Assistance technique du présent document pour demander une copie papier gratuite de cette PIS.

*L'eau de type I est une eau ultra-pure qui peut être utilisée dans les procédures analytiques. Ce produit est défini par l'American Society for Testing and Materials (ASTM) comme ayant une résistivité de > 18 MΩ-cm, une conductivité de < 0,056 µS/cm, et < 50 ppb de carbones organiques totaux (COT).

Contrôle de la Qualité

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit est fabriqué conformément aux normes 21 CFR Part 820 et ISO 13485. Pour davantage d'informations sur la qualité, consulter le site www.stemcell.com/compliance.

Conservation et Stabilité

Tableau 2. Conservation et Stabilité

Nom de la Composante	Composant #	Conservation
EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail	300-0394	2 à 8°C
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105	300-0400	2 à 8°C
EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate	100-0749	température ambiante (15 à 25°C)

Les composants peuvent être expédiés à température ambiante mais doivent être stockés comme indiqué ci-dessus. Ne pas congeler. Tous les composants sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

REMARQUE: EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (1X) peut être conservé entre 2 et 8°C pendant 3 mois maximum. Ne pas dépasser la date de péremption (date limite d'utilisation) de l'original tampon 10X.

Accessoires Nécessaires mais Non Fournis

Les matériaux énumérés dans le Tableau 3 sont des accessoires du EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. Ces matériaux ne sont pas fournis avec le kit et peuvent être achetés séparément.

Tableau 3. Accessoires Nécessaires mais Non Fournis

Nom du Composant	Composant #	Quantité	Conservation	Vie Utile	Description
"The Big Easy" EasySep™ Magnet	18001	1	Conserver à une température comprise entre 15 et 25°C.	Sans objet	Un aimant pour la séparation immunomagnétique sans colonne.
EasySep™ Buffer	100-0780	1 x 1 L	Conserver à une température comprise entre 2 et 8°C.	Stable jusqu'à la date d'expiration (EXP) indiquée sur l'étiquette.	Tampon pour séparation cellulaire.

"THE BIG EASY" EASYSEPTM MAGNET

"The Big Easy" EasySep™ Magnet génère un champ magnétique à gradient élevé pour la séparation des cellules et est conçu pour être utilisé avec le EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. "The Big Easy" EasySep™ Magnet est conçu pour maintenir un tube standard de 14 mL (17 x 95 mm) à fond rond en polystyrène.

EASYSEPTM BUFFER

Consultez la PIS (Document #10000016106) du EasySep™ Buffer (Catalog #100-0780), disponible sur www.stemcell.com/0780. Contactez le numéro vert indiqué dans la section Assistance Technique de ce document pour demander gratuitement une copie papier de cette PIS.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Matériel Nécessaire mais Non Fourni

Les matériaux énumérés ci-dessous sont des articles de laboratoire à usage général qui sont nécessaires mais non fournis.

- Solution saline de Dulbecco tamponnée au phosphate (sans Ca++ et Mg++; par exemple, Catalog #37350)
- Solution de DNase I (par exemple, Catalog #07900)
- Tamis de 70 µm (par exemple, Catalog #27216)
- Tube à fond rond en polystyrène de 14 mL (17 x 95 mm) (par exemple, Catalog #38008)
- Tube conique de 50 mL (par exemple, Catalog #38010)

Limites

1. À DES FINS DE DIAGNOSTIQUE IN VITRO
2. L'utilisation de l'appareil est destinée à l'enrichissement de cellules CD138+ provenant de patients dont on sait qu'ils ont ou pourraient avoir un diagnostic de cancer.
3. Les caractéristiques de performance de cet appareil n'ont pas été établies pour les tests de diagnostic généraux en aval. Les utilisateurs finaux doivent valider l'utilisation avec tous les tests ultérieurs et dispositifs de prélèvement d'échantillons.
4. L'appareil autonome n'est pas destiné au dénombrement des cellules. L'appareil est destiné uniquement à l'enrichissement de cellules CD138+ dans des échantillons afin que les échantillons enrichis puissent ensuite être utilisés dans un traitement/analyse ultérieur à l'aide de méthodes indépendantes supplémentaires, telles que FISH.
5. L'appareil autonome n'est pas destiné à une utilisation diagnostique, pronostique ou de surveillance avec des cellules CD138+, y compris pour aider à la prise en charge d'une maladie et/ou à des décisions de traitement. Les résultats de l'appareil autonome ne fournissent pas d'informations au patient concernant son état de santé actuel. L'appareil autonome ne diagnostique aucun problème de santé et ne remplace pas les visites chez un médecin ou un autre professionnel de la santé.
6. Remettre en suspension l'échantillon de moelle osseuse en fonction du volume de l'échantillon ou des niveaux de cellularité, conformément aux instructions fournies dans la section Préparation de l'échantillon.
7. Suivez toutes les étapes du protocole répertoriées dans le mode d'emploi. Une mauvaise exécution du protocole peut conduire à des résultats variables et/ou médiocres.
8. Une faible fréquence de départ de CD138+ (< 3%) peut entraîner une variabilité de la pureté des cellules CD138+ enrichies. Les utilisateurs finaux peuvent évaluer la pureté des cellules CD138+ après enrichissement soit par immunophénotypage par cytométrie en flux, soit par évaluation morphologique par microscopie.
9. La stabilité de la moelle osseuse peut être compromise 48 heures après le prélèvement.
10. Le nombre de plasmocytes CD138+ isolés de la moelle osseuse par sélection immunomagnétique peut être réduit chez les patients subissant ou suivant un traitement contre le myélome multiple.
11. Si aucun modèle FISH anormal n'est observé lorsque plusieurs sondes FISH sont utilisées, demandez une assistance technique en contactant techsupport@stemcell.com.

Mises en Garde et Précautions

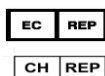
1. Des informations importantes concernant la manipulation, le transport et l'élimination en toute sécurité de ces produits sont contenues dans les fiches de données de sécurité (FDS).
REMARQUE : Les FDS des réactifs fournis dans le kit sont disponibles sur www.stemcell.com.
2. Ce produit doit être manipulé par un personnel qualifié observant les bonnes pratiques de laboratoire. Une fois ce produit ajouté aux cellules humaines, considérez la suspension comme potentiellement biologiquement dangereuse. La manipulation des réactifs et l'élimination des déchets doivent respecter toutes les réglementations locales, nationales ou internationales.
3. Ce produit est un irritant potentiel pour les yeux, le système respiratoire et la peau. Ce produit peut également être nocif en cas d'ingestion. Évitez l'exposition par la peau, les yeux contact, inhalation et ingestion.
4. ATTENTION : EasySep™ Magnet génère un champ magnétique puissant. Tenir à l'écart des stimulateurs cardiaques, des aimants, des disques informatiques, des montres et de tout autre objet réagissant aux champs magnétiques.
5. Assurez-vous que les flacons sont correctement bouchés pendant le stockage. Une manipulation et un stockage appropriés des composants du kit sont essentiels pour garantir la durée de conservation et les performances du kit indiquées sur l'étiquette. L'enrichissement en cellules CD138+ peut être affecté par les composants du kit stockés en dehors des conditions de stockage recommandées.
6. N'utilisez pas le produit si l'intégrité du contenant d'emballage a été compromise à l'arrivée ou s'il y a des signes de contamination, de séchage, de fuites ou tout autre signe de détérioration. Le produit non utilisé peut être éliminé conformément aux procédures de laboratoire standard pour les liquides non dangereux.
7. Ne pas utiliser le produit au-delà de la date limite de consommation indiquée sur son étiquette.
8. Ne pas congeler EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105. Si EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 est aggloméré ou ne peut pas être dispersé uniformément, contactez techsupport@stemcell.com.
9. Ne pas vortexer EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

10. EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit est conçu pour être utilisé avec un minimum de 1 mL de moelle osseuse fraîche. Les échantillons doivent être traités dès que possible, de préférence dans les 24 heures mais pas plus de 72 heures après le prélèvement de la moelle osseuse. Ne pas congeler ni transporter la moelle osseuse en contact direct avec des blocs réfrigérants ou de la glace, ni l'exposer à des températures supérieures à 30 °C avant utilisation. Suivez les instructions de préparation des échantillons de moelle osseuse fournies dans la section Préparation des échantillons.

Mode d'Emploi

PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit™ est conçu pour être utilisé avec de la moelle osseuse humaine entière fraîche. Les recommandations relatives à la collecte d'échantillons figurent dans le manuel de laboratoire de cytogénétique de l'AGT.⁶ Les prélèvements de moelle osseuse doivent être effectués conformément aux directives institutionnelles du laboratoire. Au moins 1 mL d'aspirat de moelle osseuse doit être prélevé dans un tube de prélèvement sanguin contenant un anticoagulant.

Pour éviter la dégradation de l'échantillon, la perte de CD138 des plasmocytes fragiles et pour maintenir la viabilité des cellules, les échantillons doivent être traités dès que possible, de préférence dans les 24 heures mais pas plus de 72 heures après le prélèvement de l'aspirat de moelle osseuse. Ne pas congeler ou transporter la moelle osseuse en contact direct avec des packs de froid/glace, et ne pas l'exposer à des températures supérieures à 30°C avant utilisation.

Pour que le protocole fonctionne de manière optimale, il faut que les échantillons soient correctement prélevés, conservés et transportés jusqu'au site d'essai.

Suivre les étapes ci-dessous pour préparer l'échantillon pour l'enrichissement cellulaire:

- Diluer la moelle osseuse 5 à 10 fois dans une solution saline de Dulbecco tamponnée au phosphate (D-PBS) et mélanger doucement en pipettant de haut en bas.
- Pré-humidifier un tamis de 70 µm avec du D-PBS. Filtrer l'échantillon à travers le tamis préalablement mouillé pour éliminer les fragments d'os, les agrégats cellulaires et les débris. Rincer le tamis avec du D-PBS.
- Centrifuger les cellules à 300 x g pendant 10 minutes (plage acceptable de 250 - 300 x g pendant 8 à 12 minutes), frein désactivé.
- À l'aide d'une pipette, retirer soigneusement le plasma et le jeter, sans perturber la couche leucocytaire/le culot de globules rouges. Ne pas verser. Pour les échantillons de moelle osseuse datant de plus de 24 heures, ajouter 50 µL de solution de DNase I à 1 mg/mL directement à la couche leucocytaire/au culot de globules rouges et remettre en suspension. Incuber à température ambiante (15 à 25°C) pendant 15 à 30 minutes avant de procéder à la séparation cellulaire.
- REMARQUE: Conservez la solution DNase I à -20°C. Aliquoter la solution de DNase I dans les volumes de travail pour éviter les cycles répétés de gel-dégel.
Conseil: Alternativement, la solution de DNase I conservée entre 2 et 8°C peut être utilisée pendant 1 semaine maximum.
- Remettre en suspension la couche leucocytaire/le culot de globules rouges à 1 - 2X le volume initial de l'échantillon de moelle osseuse avec EasySep™ Buffer tampon (Tableau 4).
 - Si le volume original de l'échantillon est ≥ 2,5 mL, diluer au volume original de l'échantillon.
 - Si le volume de l'échantillon original est < 2,5 mL, diluer jusqu'à deux fois le volume de l'échantillon original.
 - Sinon, si l'on s'attend à ce que l'échantillon ait une cellularité élevée (> 70%) ou si la cellularité est inconnue, diluer jusqu'à deux fois le volume de l'échantillon original.

Tableau 4. Volumes pour EasySep™ Buffer

Volume de l'Échantillon Original	Volume de l'Échantillon Après Remise en Suspension Avec le EasySep™ Buffer
1 mL	2 mL
2 mL	4 mL
2,5 mL	2,5 mL
3 mL	3 mL
4 mL	4 mL
4,5 mL	4,5 mL

SÉPARATION CELLULAIRE

- Préparer EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (dénommé EasySep™ RBC Lysis Buffer) (1X) au moins 1 heure avant de l'utiliser. EasySep™ RBC Lysis Buffer est fourni sous forme de concentré 10X.
 - Ajouter 1 partie de EasySep™ RBC Lysis Buffer à 9 parties d'eau distillée ou de type 1.
 - Mélanger doucement et complètement avant utilisation.

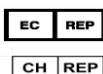
REMARQUE: Si vous ne l'utilisez pas immédiatement, conservez le tampon de EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) entre 2 et 8°C pendant 3 mois maximum. Ne pas congeler.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

7. Préparer l'échantillon dans la fourchette de volume de 1 à 4,5 mL et ajouter l'échantillon au tube à essai prescrit. Si le volume est > 4,5 mL, répartir l'échantillon entre deux tubes à fond rond de 14 mL.
8. Ajouter un volume égal de EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) préparé à l'étape 6 à l'échantillon. Par exemple, si le volume de l'échantillon est de 2 mL après la remise en suspension avec EasySep™ Buffer (étape 5), ajoutez 2 mL de tampon de EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) à l'échantillon.
9. Ajouter 25 µL de EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail par 1 mL d'échantillon dilué (étape 8). Mélanger et incuber à température ambiante (15 à 25°C) pendant 3 minutes (maximum 5 minutes). Par exemple, si le volume de l'échantillon dilué est de 4 mL, ajouter 100 µL de EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail à l'échantillon.
REMARQUE: Ne pas mélanger le cocktail au vortex.
10. Vortexer EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 pendant au moins 30 à 40 secondes. Les particules doivent paraître uniformément dispersées.
11. Ajouter 25 µL de EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 pour 1 mL d'échantillon dilué. Mélanger et incuber à température ambiante (15 à 25°C) pendant 3 minutes (maximum 5 minutes).
12. Ajouter EasySep™ Buffer pour compléter l'échantillon jusqu'au volume indiqué ci-dessous. Mélanger en pipettant doucement de haut en bas 2 à 3 fois.
 - Compléter à 5 mL pour les échantillons dilués < 2,5 mL
 - Compléter à 10 mL pour les échantillons dilués ≥ 2,5 mL
13. Placer le tube (sans couvercle) dans "The Big Easy" EasySep™ Magnet et incuber à température ambiante (15 à 25°C) pendant 10 minutes (maximum 11 minutes).
14. Prendre l'aimant et, d'un mouvement continu, inverser l'aimant et le tube pour verser le surnageant. Retirer le tube de l'aimant: ce tube contient les cellules isolées. Éliminer le surnageant.
REMARQUE: Laisser l'aimant et le tube inversés pendant 2 à 3 secondes, puis les remettre à l'endroit. Ne pas secouer ni faire tomber les gouttes qui pourraient rester accrochées à l'ouverture du tube.
15. Ajouter EasySep™ Buffer pour compléter l'échantillon jusqu'au volume indiqué ci-dessous. Mélanger doucement par pipetage deux ou trois fois.
 - Compléter à 5 mL pour les échantillons dilués < 2,5 mL
 - Compléter à 10 mL pour les échantillons dilués ≥ 2,5 mL
16. Placer le tube (sans le couvercle) dans l'aimant et incuber à température ambiante (15 à 25°C) pendant 3 minutes (maximum 5 minutes).
17. Prendre l'aimant et, d'un mouvement continu, inverser l'aimant et le tube pour verser le surnageant. Retirer le tube de l'aimant: ce tube contient les cellules isolées. Éliminer le surnageant.
REMARQUE: Laisser l'aimant et le tube inversés pendant 2 à 3 secondes, puis les remettre à l'endroit. Ne pas secouer ni faire tomber les gouttes qui pourraient rester accrochées à l'ouverture du tube.
18. Ajouter EasySep™ Buffer pour compléter l'échantillon jusqu'au volume indiqué ci-dessous. Mélanger doucement par pipetage deux ou trois fois.
 - Compléter à 5 mL pour les échantillons dilués < 2,5 mL
 - Compléter à 10 mL pour les échantillons dilués ≥ 2,5 mL
19. Placer le tube (sans le couvercle) dans l'aimant et incuber à température ambiante (15 à 25°C) pendant 3 minutes (maximum 5 minutes).
20. Prendre l'aimant et, d'un mouvement continu, inverser l'aimant et le tube pour verser le surnageant. Retirer le tube de l'aimant: ce tube contient les cellules isolées. Éliminer le surnageant.
REMARQUE: Laisser l'aimant et le tube inversés pendant 2 à 3 secondes, puis les remettre à l'endroit. Ne pas secouer ni faire tomber les gouttes qui pourraient rester accrochées à l'ouverture du tube.
21. Remettre les cellules en suspension dans le milieu voulu. Veiller à prélever les cellules sur les parois du tube. Les cellules enrichies peuvent être utilisées pour d'autres traitements/analyses à l'aide de méthodes indépendantes supplémentaires, telles que l'essai FISH, qui ont été validées par les utilisateurs finaux.

Résumé des Résultats

ÉTUDES CLINIQUES

Une étude clinique a été menée à l'aide du EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit sur 33 échantillons cliniques de moelle osseuse provenant de patients atteints de myélome multiple à différents stades de la maladie. Les échantillons cliniques ont été évalués à l'aide d'un panel de cinq sondes FISH courantes détectant six anomalies génomiques, dont une sonde CCND1/IGH XT pour détecter la translocation t(11;14), ainsi que des sondes pour détecter la polysomie du chromosome 5 (D5S23) et du chromosome 15 (D15Z4). (kit de sonde unique), séparation MYC, suppression 13q (D13S319) et suppression TP53 (D17Z1). Sur les 33 patients, 32 étaient positifs pour au moins une sonde FISH, et 14 patients avaient au moins une sonde FISH qui donnait un signal anormal uniquement après enrichissement EasySep™ CD138. La pureté du CD138, mesurée par cytométrie en flux, était de 12,9% (plage de 0,2% à 82,7%) dans les échantillons non enrichis et a augmenté à 79,6% (plage de 18,5% à 98,6%) dans les échantillons enrichis en CD138 EasySep™ (Tableau 5). L'enrichissement pour la pureté du CD138 était > 1 et variait en fonction de la fréquence initiale* pour tous les échantillons avec des fréquences de CD138 < 40% avant l'enrichissement. Dans cette étude, l'enrichissement en plis était de 65,9 (plage 29,6 - 91,5) pour les échantillons avec des fréquences CD138 initiales < 3%, 11,9 (plage 5,1 - 23,0) pour les échantillons avec des fréquences CD138 initiales comprises entre 3 et 15% et 3,2 (1,6 - 5,3) pour les échantillons avec des fréquences CD138 initiales comprises entre 15 et 40% avant enrichissement.

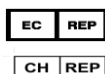
*REMARQUE : Pour les échantillons présentant des fréquences CD138 > 40%, un enrichissement en plasmocytes avant FISH peut ne pas être nécessaire.⁹

Seuls les échantillons présentant un schéma de signal FISH anormal pour chaque sonde ont été inclus dans l'analyse. Le pourcentage de noyaux anormaux avant (non enrichis) et après enrichissement a augmenté dans les proportions suivantes pour chaque sonde: Sonde CCND1/IGH (t(11;14)): 15,4 ± 15,5% à 77,3 ±

STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



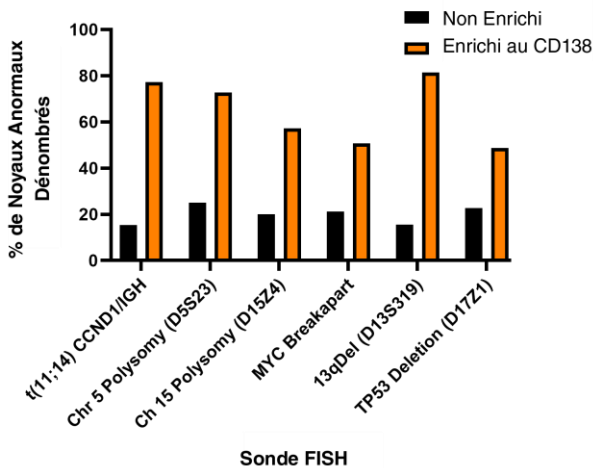
Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

29,5% (n = 14) ; sonde du chromosome 5 (D5S23): 25,0 ± 19,1% à 72,7 ± 17,4% (n = 15) ; sonde du chromosome 15 (D15Z4): 20,0 ± 15,9% à 57,3 ± 23,6% (n = 16) ; sonde séparation des MYC: 21,2 ± 21,7% à 50,7 ± 33,5% (n = 10) ; sonde de délétion du chromosome 13q (D13S319): 15,5 ± 16,9% à 81,4 ± 15,2% (n = 19) ; sonde de délétion du gène TP53 (D17Z1): de 22,8 ± 23,5% à 48,8 ± 32,9% (n = 5).

La figure 1 (la représentation graphique) a été générée à l'aide d'un sous-ensemble de données (non représenté), dans lequel seuls les échantillons présentant un modèle de signal FISH anormal pour chaque sonde ont été inclus dans l'analyse. La Figure 1 montre que le pourcentage de noyaux anormaux détectés pour chaque sonde était plus élevé après l'enrichissement d'EasySep™ CD138 par rapport à l'échantillon avant enrichissement.

Figure 1. Pourcentage de Noyaux Anormaux Dénombés dans les Plasmocytes Avant (Non Enrichis) et Après Enrichissement À L'aide du EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit



ÉTUDE DE REPRODUCTIBILITÉ

Reproductibilité avec des Échantillons Artificiels

Une étude a été réalisée pour démontrer la reproductibilité du processus d'enrichissement sur trois sites d'étude en utilisant trois lots du EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. En raison des difficultés rencontrées pour disposer d'échantillons adéquats pour trois sites, l'étude a été réalisée à l'aide d'échantillons artificiels générés en ajoutant chaque jour une lignée cellulaire de myélome multiple dans du sang total de donneur sain à des températures faibles (< 3%), moyennes (3 - 15%) ou fréquences initiales CD138+ élevées (> 15%) pour créer 16 échantillons ou membres du panel. Un plus grand nombre de membres du panel ont été étudiés aux niveaux faible et moyen (6 contre 4 pour le niveau élevé) afin de démontrer leur enrichissement aux niveaux les plus difficiles.

Le Tableau 5 présente un résumé statistique de la variabilité globale, d'un site à l'autre, d'un lot à l'autre, et de l'enrichissement en plus des membres du panel CD138+ élevé, moyen et faible. L'enrichissement a augmenté en moyenne de 85,7 fois dans les échantillons à basse fréquence initiale CD138+, de 9,3 fois dans les échantillons CD138+ à moyenne fréquence et de 3,8 fois dans les échantillons à haute fréquence initiale CD138+.

Tableau 5. Résumé de la Variabilité et l'Enrichissement de l'Étude de Reproductibilité du CD138 EasySep™

Fréquence Initiale du CD138+	N	CV Répétabilité (%)	CV Entre sites (%)	CV entre lots (%)	CV reproductibilité (%)	Enrichissement des plis
		Moyen (Min - Max)	Moyen (Min - Max)	Moyen (Min - Max)	Moyen (Min - Max)	Moyen (Min - Max)
Élevé (> 15%)	4	0,7 (0,5 - 0,9)	4,0 (2,8 - 5,9)	0,9 (0,5 - 1,6)	4,0 (2,8 - 6,0)	3.8 (2.6 - 5.5)
Moyen (3 - 15%)	6	1,6 (0,8 - 3,0)	4,2 (2,1 - 6,8)	2,3 (1,0 - 3,9)	4,5 (2,2 - 7,0)	9.3 (5.0 - 15.4)
Faible (< 3%)	6	5,4 (3,5 - 8,9)	9,7 (5,5 - 13,8)	8,6 (4,5 - 14,2)	11,9 (8,2 - 18,3)	85.7 (20.2 - 206.0)

CV - coefficient de variation

Reproductibilité avec des échantillons cliniques

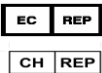
Trois lots du kit de sélection positive EasySep™ CD138 pour moelle osseuse humaine ont été testés sur des aspirations de moelle osseuse (BMA) de patients atteints de myélome multiple pour déterminer leurs performances dans les tests FISH en aval. Au total, 9 myélome multiple BMA cliniques ont été testés, chaque échantillon étant divisé en deux pour tester l'enrichissement avec deux lots différents du kit de sélection positive EasySep™ CD138 pour moelle osseuse humaine. Le pourcentage de noyaux anormaux a été analysé à l'aide de cinq sondes FISH qui détectent les anomalies chromosomiques courantes du multiple myeloma, notamment la translocation t(11;14) (CCND1/IGH XT), les aneusomies des chromosomes 5, 9 et 15 (D5S23, D5S72, CEP 9, CEP 15) et suppression 13q14.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Sur la base des résultats de l'étude, trois BMA ont donné des modèles de signaux FISH normaux pour les cinq sondes testées. Un BMA était anormal pour la translocation t(11;14) et quatre BMA présentaient des modèles de signaux anormaux pour la suppression 13q. Dans les neuf BMA testés, le pourcentage de cellules anormales pour chaque sonde était très similaire entre les plasmocytes enrichis avec les deux lots du kit EasySep™ CD138. La même disposition normale/anormale pour une sonde donnée était concordante entre les paires de lots du kit de sélection positive EasySep™ CD138 pour moelle osseuse humaine. Dans tous les cas, la disposition normale/anormale concordait, indiquant que le kit EasySep™ est capable de produire des résultats FISH reproductibles lorsqu'il est utilisé sur l'échantillon prévu.

PRÉCISION

Une étude de précision a été réalisée dans laquelle, pendant trois jours non consécutifs, un échantillon de moelle osseuse provenant d'un donneur sain a été enrichi avec la lignée cellulaire CD138+ SK-MM-2 à des niveaux faibles (< 3%) et moyens (3 à 15%) fréquence CD138+ initiale pour générer deux membres de panel d'échantillons artificiels distincts. Deux opérateurs ont effectué des enrichissements EasySep™ à chacune des journées d'étude, chaque opérateur enrichissant à partir de l'un des deux membres du panel. Chaque opérateur a effectué trois séries d'enrichissements en quadruple sur un membre du panel en utilisant un lot de kit.

La pureté des cellules CD138+ non enrichies et enrichies a été déterminée par analyse par cytométrie en flux pour chacune des trois analyses de tous les membres du panel. Les estimations de précision de répétabilité de pureté enrichie (%CV sur quatre répétitions au sein d'une analyse, n = 4 par analyse, 3 analyses par membre du panel) allaient de 0,81 à 1,56% et 0,17 à 1,41% pour les membres du panel de fréquences CD138+ initiales faibles et moyennes, respectivement, ce qui indique que la variabilité de la pureté des cellules CD138+ enrichies est bien contrôlée au cours de l'analyse.

LIMITE DE DÉTECTION

Limite de détection (LoD) avec des échantillons artificiels

L'étude visait à déterminer la fréquence CD138+ initiale la plus basse qui donne des résultats FISH anormaux et cohérents dans un échantillon artificiel après enrichissement en cellules CD138+ à l'aide du kit de sélection positive CD138 EasySep™ pour moelle osseuse humaine. Pendant six jours non consécutifs, un échantillon de sang total (WB) ou de moelle osseuse (BM) provenant d'un donneur sain a été enrichi avec la lignée cellulaire CD138+ SK-MM-2 à 20% (plage acceptable de 26 à 14% par cytométrie en flux). Fréquence initiale de CD138+, puis dilué en série par un facteur de deux avec WB ou BM pour atteindre ~20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,63%, 0,31%, 0,16%, 0,08% et 0% (c'est-à-dire, WB ou BM non enrichis avec des cellules SK-MM-2). Chaque échantillon a été enrichi en double à l'aide du kit de sélection positive EasySep™ CD138 pour moelle osseuse humaine, et tous les échantillons non enrichis et enrichis ont été évalués par cytométrie en flux et/ou ont fait l'objet d'une analyse de disposition t(11; 14) par FISH.

Les résultats de l'étude sur la limite de détection EasySep™ CD138, y compris la pureté des cellules CD138+ non enrichies et enrichies mesurée par cytométrie en flux et la disposition t(11; 14) analysée par FISH, ont été examinés. Tous les échantillons artificiels enrichis de cellules SK-MM-2, ciblant une fréquence CD138+ initiale aussi basse que 0,08%, ont entraîné une disposition anormale de t(11;14) dans l'analyse FISH. La pureté enrichie du CD138+ mesurée par cytométrie en flux était positivement corrélée au pourcentage de noyaux anormaux observés dans l'analyse FISH en aval. La pureté moyenne du CD138+ enrichi qui a entraîné une disposition anormale de t(11;14) dans FISH était de 33% de CD138+, enrichissant à partir d'échantillons avec une pureté moyenne non enrichie de 0,08% de CD138+. Pour les échantillons de fréquence cible initiale CD138+ de 0,00%, quatre des six donneurs ont abouti à une disposition t(11;14) normale dans l'analyse FISH, cependant un donneur de moelle osseuse et un donneur de sang total n'ont eu qu'une seule répétition jugée normale et l'autre répétition non concluante en raison d'un nombre insuffisant de cellules récupérées. En conclusion, l'étude sur la limite de détection EasySep™ CD138 a montré que le kit de sélection positive CD138 pour moelle osseuse humaine EasySep™ était capable de s'enrichir de manière constante à partir d'échantillons artificiels avec une fréquence CD138+ initiale de 0,05% à 25,06% et d'obtenir des profils FISH anormaux cohérents. La limite de détection du kit de sélection positive CD138 pour moelle osseuse humaine EasySep™ a été fixée à 0,05% de fréquence CD138+ initiale.

Confirmation de la limite de détection (LoD) avec des échantillons cliniques de moelle osseuse de myélome multiple

Le but de cette étude était de vérifier la LoD à une fréquence initiale de CD138 de 0,05%, déterminée lors de l'étude LoD précédente sur des échantillons artificiels dans un échantillon clinique en utilisant deux lots de kits, avec trois répétitions par lot de kit. L'enrichissement en cellules CD138+ a été réalisé sur un échantillon clinique produit en ajoutant une aspiration de moelle osseuse d'un patient atteint de myélome multiple dans une aspiration de moelle osseuse d'un donneur sain à une fréquence initiale de CD138 de 0,05%. L'échantillon clinique a été lavé et divisé en six fractions pour les enrichissements cellulaires EasySep™ CD138, en utilisant deux lots de kits avec trois répétitions par lot de kit. Les échantillons enrichis ont été divisés en deux fractions : une fraction a été utilisée pour l'évaluation de la pureté des plasmocytes par cytométrie en flux et la seconde fraction a été utilisée pour le FISH.

La pureté des plasmocytes a été déterminée avant et après enrichissement à l'aide de deux lots du kit de sélection positive EasySep™ Human Bone Marrow CD138 avec trois répétitions par lot de kit. L'échantillon a été enrichi de 0,05% jusqu'à une plage de 4,1 à 7,4%. Le CV global de pureté enrichie était de 19,7%, satisfaisant les critères d'acceptation d'un CV global ≤ 35%. Tous les échantillons enrichis présentaient des modèles de signaux FISH normaux pour la polysomie des chromosomes 5 et 15 (D5S23, D15Z4), la rupture de MYC et les sondes CCND1/IGH XT ; et étaient anormaux pour la délétion du chromosome 13q (D13S319) et TP53. La disposition FISH des échantillons enrichis était la même que celle de l'échantillon clinique non dilué, 100% des répétitions étant anormales pour la délétion du chromosome 13q (D13S319) et TP53.

INTERFÉRENCE ANTICOAGULANTE

Trois échantillons cliniques frais de moelle osseuse de myélome multiple ont été recrutés pour cette étude. Un échantillon a été traité environ 20 heures après le prélèvement, un échantillon a été traité environ 24 heures après le prélèvement et le troisième échantillon a été traité environ 22 heures après le prélèvement. Chaque spécimen a été divisé en deux fractions. Une fraction a été traitée avec du PBS (le contrôle), tandis que l'autre a été enrichie avec un excès de 3 fois d'héparine de sodium. Des réplicats uniques de chaque fraction ont ensuite été lavés et enrichis à l'aide du kit de sélection positive EasySep™ Human Bone Marrow CD138. La pureté du CD138 a été déterminée par cytométrie en flux, puis comparée pour déterminer si un excès d'héparine provoquait une interférence avec l'enrichissement et la pureté du CD138. Une deuxième étude a évalué un total de 3 échantillons cliniques préparés en ajoutant des cellules mononucléées de moelle osseuse myélome multiple dans des aspirations de moelle osseuse d'un donneur sain aspiré à une fréquence CD138 initiale < 0,2%. Trois répétitions



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

ont été testées par échantillon et par condition (c'est-à-dire avec/sans excès d'héparine de sodium). Les puretés enrichies des échantillons enrichis en héparine de sodium n'étaient pas statistiquement différentes de celles des échantillons témoins dans chaque étude (test t unilatéral, $p = 0,1971$ et $p = 0,2740$, respectivement). Les résultats ont indiqué qu'un excès d'héparine sodique n'interférait pas avec l'enrichissement en plasmocytes CD138+.

Assistance Technique

REMARQUE: Veuillez commander à nouveau, à l'aide du Catalog #100-1133, un kit comprenant le EasySep™ Human CD138 Positive Selection Kit (☞ 100-0748) et le EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (☞ 100-0749).

La présente PIS est également disponible dans plusieurs langues nationales en format électronique sur le site Web de STEMCELL et peut être fournie en version papier sur demande.

Pour obtenir une assistance technique, prendre contact avec techsupport@stemcell.com ou composer soit le +1.604.877.0713 (Canada), le +1.800.667.0322 (Amérique du Nord), ou le 00800 7836 2355 (Europe). Pour en savoir plus, rendez-vous sur le site www.stemcell.com.

Les suppressions, ajouts et changements sont indiqués par la barre de modification dans la marge.

Tout incident grave survenant en rapport avec le dispositif doit être signalé au fabricant et aux autorités compétentes de l'état membre où réside l'utilisateur.

R Pour usage sur ordonnance uniquement	REF Numéro de catalogue ou de référence	LOT Code de lot	 Date d'expiration: AAAA-MM-JJ	 Attention, consulter les documents joints	IVD Dispositif médical de diagnostic in vitro
 À entreposer dans les limites de température	 Consulter le mode d'emploi ou le mode d'emploi électronique	 Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé	UDI Identifiant unique du dispositif	CE Marquage CE	 Fabricant
EC REP Représentant autorisé de la CE dans la Communauté européenne	CH REP Représentant autorisé en Suisse				

Bibliographie

- Colander et al. (2022) Multiple Myeloma, Version 3.2022: Featured Updates to the NCCN Guidelines. JNCCN 20(1): 8–19.
- Kumar S et al. (2020) Multiple Myeloma, Version 3.2021. JNCCN 18(12): 1685–717.
- Dimopoulos et al. (2021) Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 32(3): 309–22.
- Caers et al. (2018) European Myeloma Network recommendations on tools for the diagnosis and monitoring of multiple myeloma: what to use and when. Haematologica 103(11): 1772–84.
- Shin SY et al. (2012) Application of an immune-magnetic cell sorting method for CD138-positive plasma cells in FISH analysis of multiple myeloma. Int J Lab Hematol 34(5):541–6.
- Shetty S et al. (2012) Utility of a column-free cell sorting system for separation of plasma cells in multiple myeloma FISH testing in clinical laboratories. Int J Hematol 95(3): 274–81.
- Kishimoto RK et al. (2016) Validation of interphase fluorescence in situ hybridization (iFISH) for multiple myeloma using CD138 positive cells. Rev Bras Hematol Hemoter 38(2): 113–20.
- The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4th ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc; 2017.
- Pozdnyakova O et al. (2009) Interphase FISH in plasma cell dyscrasia: increase in abnormality detection with plasma cell enrichment. Cancer Genetics and Cytogenetics 189:112–7.

Copyright © 2025 de STEMCELL Technologies Inc. Tous droits réservés, y compris les graphiques et les images. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, EasySep, et RapidSpheres sont des marques déposées de STEMCELL Technologies Canada Inc. Toutes les autres marques sont la propriété de leurs détenteurs respectifs. STEMCELL a déployé tous les efforts raisonnables pour s'assurer que les renseignements fournis par STEMCELL et ses fournisseurs sont corrects. Toutefois, la société ne donne aucune garantie ni ne fait aucune déclaration concernant l'exactitude ou l'exhaustivité desdits renseignements.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit

Pour traiter jusqu'à 60 mL de moelle osseuse

REF 100-0748

Selección Positiva

Documento #10000019127 | Versión 01



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713

INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM

FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

ESPAÑOL

Para uso diagnóstico in vitro

R solo

Uso Previsto

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit es un dispositivo de diagnóstico in vitro destinado a enriquecer células CD138+ de médula ósea extraídas de pacientes diagnosticados con mieloma múltiple. Las células CD138+ se enriquecen mediante selección inmunomagnética positiva para su uso en ensayos posteriores validados. El usuario final es responsable de la validación de este kit para su uso con el ensayo. Para uso diagnóstico in vitro por profesionales de laboratorio.

Antecedentes

El mieloma múltiple es una malignidad hematológica caracterizada por la acumulación de neoplasias de plasmocitos en la médula ósea.¹ En los Estados Unidos, el mieloma múltiple representa un 1,8% de todos los cánceres y normalmente se diagnostica entre personas de 65 a 74 años.² Se han identificado algunos subtipos de la enfermedad a nivel genético y molecular, y las anomalías cromosómicas específicas tienen implicaciones de pronóstico que permiten la estratificación de riesgos de los pacientes.²

Recomendaciones de consenso establecidas por expertos oncólogos de los Estados Unidos y Europa, y recogidas en directrices publicadas por la Red Integral Nacional de Cáncer (National Comprehensive Cancer Network, NCCN)², la Sociedad Europea para el Mieloma, (European Society for Myeloma)³, y la Red Europea de Mieloma (European Myeloma Network)⁴ recomiendan el análisis citogénico de plasmocitos obtenidos de muestras de médula ósea mediante hibridación in situ fluorescente (*fluorescence in situ hybridization*; FISH) en el diagnóstico inicial y como seguimiento y método de supervisión durante recaídas.²⁻⁴

La frecuencia de plasmocitos en la médula ósea de pacientes con mieloma múltiple puede ser muy variable en el diagnóstico y durante la recaída. Los plasmocitos pueden aislarse de la médula ósea mediante selección positiva inmunomagnética de las células que expresen el antígeno de superficie CD138 (syndecan-1).³ Se ha reportado que el enriquecimiento de los plasmocitos de médula ósea antes de la prueba FISH de mieloma múltiple aumenta la tasa y frecuencia de anomalías genéticas detectadas por la FISH (Figura 1).⁵⁻⁷

Principio de Funcionamiento

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit está diseñado para utilizarse manualmente para enriquecer células que expresen el antígeno de superficie CD138 en muestras frescas de médula ósea humana entera mediante selección positiva inmunomagnética. El kit identifica células CD3+ para selección positiva con un anticuerpo que reconoce el marcador de superficie CD138. Las células deseadas se etiquetan con anticuerpos y partículas magnéticas y se separan usando un imán "The Big Easy" EasySep™. Las células no deseadas se vierten, mientras que las células CD138+ quedan en el tubo.

Descripciones de Componentes

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit consta de los siguientes componentes relacionados en la Tabla 1.

Tabla 1. Componentes del EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit

Nombre del Componente	N.º del Componente	Cantidad	Contenido
EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail	300-0394	3 x 1 mL*	Una combinación de anticuerpos monoclonales en D-PBS con 0,09% rHA. Incluye un anticuerpo bloqueante de receptor Fc.
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105	300-0400	3 x 1 mL*	Suspensión de partículas magnéticas en agua.

* Se puede utilizar un vial de 1 mL de cada componente para procesar hasta 20 mL de médula ósea dependiendo del nivel de celularidad de la muestra (consulte las Instrucciones de uso, Paso 5 de este documento).

D-PBS - Solución salina tamponada con fosfato, de Dulbecco; rHA - albúmina humana recombinante

STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Materiales Suministrados

EASYSEP™ RED BLOOD CELL LYSIS BUFFER

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit siempre se entrega con EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (Catalog #100-0749), 1 x 20 mL. Este tampón se suministra como concentrado 10X. Prepare el tampón de lisis 1X, al menos 1 hora antes del uso, añadiendo 1 parte del tampón de lisis 10X a 9 partes de agua destilada o de tipo 1*. Mezcle suave y completamente antes de usarla.

Remítase a la hoja de información del producto (*product information sheet*; PIS) (Document #10000017274) del EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (Catalog #100-0749), disponible en www.stemcell.com/0749. Llame a la línea gratuita que se ofrece en la sección "Asistencia técnica" de este documento para solicitar, sin coste, una copia impresa de esta ficha de datos del producto.

*El agua tipo I se refiere a agua ultrapura adecuada para uso en procedimientos analíticos. La Sociedad Americana para Pruebas y Materiales (American Society for Testing and Materials, ASTM) la define con una resistividad de > 18 MΩ-cm, una conductividad de < 0,056 µS/cm y < 50 ppb de carbono orgánico total (COT).

Control de Calidad

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit se elabora en conformidad con las normas 21 CFR Part 820 e ISO 13485. Para más información sobre calidad, remítase a www.stemcell.com/compliance.

Almacenamiento y Estabilidad

Tabla 2. Almacenamiento y Estabilidad

Nombre del componente	N.º del componente	Almacenamiento
EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail	300-0394	De 2 a 8°C
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105	300-0400	De 2 a 8°C
EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate	100-0749	temperatura ambiente (de 15 a 25°C)

Los componentes pueden enviarse a temperatura ambiente, pero deben almacenarse como se indica anteriormente. No congele el producto. Todos los componentes son estables hasta la fecha de límite de uso especificada en la etiqueta.

NOTA: EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (1X) puede almacenarse a una temperatura de entre 2 y 8°C durante un máximo de 3 meses. No exceda la fecha de caducidad (fecha límite de uso) del tampón original de 10X.

Accesorios Necesarios pero No Suministrados

Los materiales relacionados en la Tabla 3 son accesorios del EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail. Estos materiales no se proveen con el kit y pueden adquirirse por separado.

Tabla 3. Accesorios Necesarios pero No Suministrados

Nombre del Componente	N.º del Componente	Cantidad	Almacenamiento	Vida útil	Descripción
"The Big Easy" EasySep™ Magnet	18001	1	Almacenar a una temperatura entre 15 y 25°C.	No aplicable	Un imán para la separación inmunomagnética sin columnas.
EasySep™ Buffer	100-0780	1 x 1 L	Almacenar a una temperatura entre 2 y 8°C.	Estable hasta la fecha de vencimiento (EXP) que aparece en la etiqueta.	Tampón de separación celular.

"THE BIG EASY" EASYSEP™ MAGNET

El "The Big Easy" EasySep™ Magnet genera un alto campo magnético de gradiente para la separación celular y está diseñado para usarse con el EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail. El "The Big Easy" EasySep™ Magnet está diseñado para sostener un tubo de poliestireno, de fondo redondo, 14 mL (17 mm x 95 mm).

EASYSEP™ BUFFER

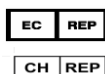
Remítase a la hoja de datos del producto del EasySep™ Buffer (Catalog #100-0780, Document #10000016106), disponibles en www.stemcell.com/0780. Llame a la línea gratuita que se ofrece en la sección "Asistencia técnica" de este documento para solicitar, sin coste, una copia impresa de esta ficha de datos del producto.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Materiales Necesarios pero no Proporcionados

Los materiales relacionados a continuación son artículos de laboratorio de propósitos generales que son necesarios pero no se suministran.

- La solución salina tamponada con fosfato, de Dulbecco (sin Ca++ ni Mg++, p. ej. Catalog #37350)
- Solución DNase I (p. ej. Catalog #07900)
- Filtro de 70 µm (p.ej. Catalog #27216)
- Tubo de poliestireno, de fondo redondo, 14 mL (17 mm x 95 mm) (p. ej. Catalog #38008)
- Tubo cónico de 50 mL (p. ej. Catalog #38010)

Limitaciones

1. PARA USO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO
2. El uso del dispositivo está destinado al enriquecimiento de células CD138+ de pacientes que se sabe que tienen o pueden tener un diagnóstico de cáncer.
3. Las características de rendimiento de este dispositivo no se han establecido para ensayos de diagnóstico posteriores generales. Los usuarios finales deben validar el uso con cualquier prueba y dispositivo de recolección de muestras posteriores.
4. El dispositivo independiente no está diseñado para la enumeración de células. El dispositivo está diseñado únicamente para enriquecer células CD138+ en muestras, de modo que las muestras enriquecidas puedan luego usarse en procesamiento/análisis posteriores utilizando métodos independientes adicionales, como FISH.
5. El dispositivo independiente no está diseñado para uso de diagnóstico, pronóstico o monitoreo con células CD138+, ni siquiera como ayuda en el manejo de enfermedades y/o decisiones de tratamiento. Los resultados del dispositivo independiente no proporcionan información al paciente sobre su estado de salud actual. El dispositivo independiente no diagnostica ninguna condición de salud y no sustituye las visitas a un médico u otro profesional de la salud.
6. Resuspender la muestra de médula ósea según el volumen de la muestra o los niveles de celularidad según las instrucciones proporcionadas en Preparación de muestras.
7. Siga todos los pasos del protocolo enumerados en Instrucciones de uso. La ejecución inadecuada del protocolo puede dar lugar a resultados variables y/o deficientes.
8. Una frecuencia inicial baja de CD138+ (< 3%) puede provocar variabilidad en la pureza de las células CD138+ enriquecidas. Los usuarios finales pueden evaluar la pureza de las células CD138+ después del enriquecimiento mediante inmunofenotipado mediante citometría de flujo o evaluación morfológica mediante microscopía.
9. La estabilidad de la médula ósea puede verse comprometida después de 48 horas desde la recolección.
10. El número de células plasmáticas CD138+ aisladas de la médula ósea mediante selección inmunomagnética puede reducirse en pacientes sometidos o después de un tratamiento para el mieloma múltiple.
11. Si no se observan patrones FISH anormales cuando se utilizan varias sondas FISH, busque asistencia técnica comunicándose con techsupport@stemcell.com.

Advertencias y Precauciones

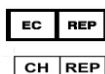
1. Las Hojas de datos de seguridad (SDS) contienen información importante sobre el manejo, transporte y eliminación seguros de estos productos.
NOTA: Las SDS de los reactivos proporcionados en el kit están disponibles en www.stemcell.com.
2. Este producto debe ser manipulado por personal capacitado que observe buenas prácticas de laboratorio. Una vez que se agrega este producto a las células humanas, trate la suspensión como potencialmente biopeligrosa. La manipulación de reactivos y la eliminación de desechos deben observar todas las regulaciones locales, estatales o nacionales.
3. Este producto es un irritante potencial para los ojos, el sistema respiratorio y la piel. Este producto también puede ser perjudicial si se ingiere. Evite la exposición a través de la piel, los ojos contacto, inhalación e ingestión.
4. PRECAUCIÓN: EasySep™ Magnet genera un fuerte campo magnético. Manténgase alejado de marcapasos, imanes, discos de computadora, relojes y otros objetos que respondan a campos magnéticos.
5. Asegúrese de que los viales estén tapados correctamente durante el almacenamiento. El manejo y almacenamiento adecuados de los componentes del kit es esencial para garantizar la vida útil y el rendimiento del kit indicados en la etiqueta. El enriquecimiento de células CD138+ puede verse afectado negativamente si los componentes del kit se almacenan fuera de las condiciones de almacenamiento recomendadas.
6. No utilice el producto si la integridad del envase del embalaje se ha visto comprometida a su llegada o si hay signos de contaminación, secado, fugas o cualquier otra evidencia de deterioro. El producto no utilizado puede eliminarse según los procedimientos de laboratorio estándar para líquidos no peligrosos.
7. No utilizar el producto más allá de la fecha de caducidad indicada en su etiqueta.
8. No congele EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105. Si EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 está agrupado o no se puede dispersar uniformemente, comuníquese con techsupport@stemcell.com.
9. No agite con el agitador EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail.
10. El EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit está diseñado para usarse con un mínimo de 1 mL de médula ósea fresca. Las muestras deben procesarse lo antes posible, preferiblemente dentro de las 24 horas pero no más de 72 horas después de la recolección del aspirado de médula



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

ósea. No congele ni transporte la médula ósea en contacto directo con bolsas frías/hielo ni la exponga a temperaturas superiores a 30 °C antes de su uso. Siga las instrucciones de preparación de muestras de médula ósea que se proporcionan en Preparación de La muestra.

Instrucciones de Uso

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

El EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail está previsto para usarse con médula ósea humana fresca. Las recomendaciones sobre la recolección de la muestra pueden consultarse en el "Manual de laboratorio de citogenética AGT".⁶ Las recolecciones de aspirado de médula ósea deben hacerse en conformidad con las directrices institucionales del laboratorio. Se debe recolectar, al menos, 1 mL de aspirado de médula ósea en un tubo de recolección de sangre que contenga anticoagulante.

Para evitar la degradación de la muestra, la pérdida de CD138 de los plasmocitos frágiles, y mantener la viabilidad celular, las muestras deben procesarse lo antes posible, preferiblemente dentro de 24 horas, pero no después de 72 horas de haberse recolectado el aspirado de médula ósea. No congele ni transporte la médula ósea en contacto directo con bolsas frías o de hielo, ni la exponga a temperaturas superiores a 30°C antes de usarla.

Una ejecución óptima del protocolo requiere una recolección, almacenamiento y transportación adecuados de la muestra al sitio de prueba.

Siga los pasos relacionados a continuación para preparar la muestra para el enriquecimiento celular:

1. Diluya médula ósea 5 a 10 veces en la solución salina tamponada con fosfato, de Dulbecco (D-PBS) y mézclela suavemente pipeteando de arriba a abajo.
2. Humedezca previamente un filtro 70 µm con D-PBS. Filtre la muestra a través del filtro prehumedecido para eliminar los fragmentos óseos, agregados celulares y desechos. Enjuague el filtro con D-PBS.
3. Centrifugue las células a 300 x g, durante 10 minutos (rango aceptable de 250 a 300 x g, durante 8 a 12 minutos) con el freno quitado.
4. Con una pipeta, retire cuidadosamente el plasma y deséchelo, sin perturbar la capa leucocitaria/pellet de eritrocitos. No la vierta. Al trabajar con muestras de médula ósea de más de 24 horas, añada 50 µL de la solución DNase I de 1 mg/mL directamente a la capa leucocitaria/pellet de eritrocitos y vuelva a suspenderla. Incube a temperatura ambiente (de 15 a 25 °C) durante 15 minutos antes de efectuar la separación celular.

NOTA: Guarde la solución de DNase I a -20 °C. Alicuota la solución de DNase I en volúmenes de trabajo para evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación.

Consejo: Como alternativa, la solución de DNase I almacenada a entre 2 y 8 °C se puede utilizar durante un máximo de 1 semana.

5. Vuelva a suspender la capa leucocitaria/pellet de eritrocitos a razón de 1 a 2 veces el volumen de la muestra de médula ósea inicial original con EasySep™ Buffer (Tabla 4).
 - Si el volumen de la muestra original fue $\geq 2,5$ mL, diluya al volumen original de la muestra.
 - Si el volumen de la muestra original fue $< 2,5$ mL, diluya al doble del volumen original de la muestra.
 - Como alternativa, si se espera que la muestra tenga una alta celularidad ($> 70\%$) o se desconoce la celularidad, diluya a dos veces el volumen original de la muestra.

Tabla 4. Volúmenes de EasySep™ Buffer

Volumen Original de la Muestra	Volumen de la Muestra Después de la Resuspensión con EasySep™ Buffer
1 mL	2 mL
2 mL	4 mL
2,5 mL	2,5 mL
3 mL	3 mL
4 mL	4 mL
4,5 mL	4,5 mL

SEPARACIÓN CELULAR

6. Prepare EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (denominado EasySep™ RBC Lysis Buffer) (1X) al menos 1 hora antes de su uso. EasySep™ RBC Lysis Buffer se entrega como un concentrado 10X.
 - a. Añada 1 parte de EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) a 9 partes de agua destilada o de Tipo 1.
 - b. Mezcle suave y completamente antes de usarla.

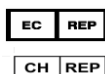
NOTA: Si no se usa inmediatamente el EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X), almacénalo a una temperatura de 2°C a 8°C durante un máximo de 3 meses. No lo congele.
7. Prepare la muestra dentro del rango de volumen de 1 mL a 4,5 mL y añada la muestra al tubo que corresponda. Si el volumen es $> 4,5$ mL, divida la muestra en dos tubos de base redonda de 14 mL.
8. Añada a la muestra un volumen igual del EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) preparado en el paso 6. Por ejemplo, si el volumen de la muestra es de 2 mL después de la resuspensión con el EasySep™ Buffer (paso 5), añada 2 mL de EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) a la muestra.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

9. Añada 25 µL de cóctel de selección positiva EasySep™ para selección positiva de CD138 de médula ósea humana por 1 mL de muestra diluida (paso 8). Mezcle e incube a temperatura ambiente (de 15 a 25 °C) por 3 minutos (hasta un máximo de 5 minutos). Por ejemplo, si el volumen de muestra diluida es 4 mL, añada 100 µL de cóctel de selección positiva EasySep™ para selección positiva de CD138 de médula ósea humana a la muestra.
NOTA: No mezcle el cóctel.
10. Mezcle las EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 de 30 a 40 segundos como mínimo. Las partículas deben verse uniformemente dispersas.
11. Añada 25 µL de EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 por 1 mL de muestra diluida. Mezcle e incube a temperatura ambiente (de 15 a 25 °C) por 3 minutos (hasta un máximo de 5 minutos).
12. Añada el EasySep™ Buffer para rellenar la muestra al volumen indicado a continuación. Mezcle pipeteando suavemente de arriba a abajo 2 o 3 veces.
 - Para muestras diluidas < 2,5 mL, rellene hasta 5 mL
 - Para muestras diluidas ≥ 2,5 mL, rellene hasta 10 mL
13. Coloque el tubo (sin tapa) dentro del imán "The Big Easy" e incube a temperatura ambiente (de 15 a 25 °C) por 10 minutos (hasta un máximo de 11 minutos).
14. Tome el imán y, con un movimiento continuo, invierta el imán y el tubo para verter el sobrenadante. Retire el tubo del imán; este tubo contiene las células aisladas. Deseche el sobrenadante.
NOTA: Deje el imán y el tubo invertidos de 2 a 3 segundos, luego vuelva ponerlos hacia arriba. No sacuda ni seque las gotas que queden colgando de la boca del tubo.
15. Añada el EasySep™ Buffer para rellenar la muestra al volumen indicado a continuación. Mezcle pipeteando suavemente de arriba a abajo 2 o 3 veces.
 - Para muestras diluidas < 2,5 mL, rellene hasta 5 mL
 - Para muestras diluidas ≥ 2,5 mL, rellene hasta 10 mL
16. Coloque el tubo (sin tapa) dentro del imán e incube a temperatura ambiente (de 15 a 25 °C) por 3 minutos (hasta un máximo de 5 minutos).
17. Tome el imán y, con un movimiento continuo, invierta el imán y el tubo para verter el sobrenadante. Retire el tubo del imán; este tubo contiene las células aisladas. Deseche el sobrenadante.
NOTA: Deje el imán y el tubo invertidos de 2 a 3 segundos, luego vuelva ponerlos hacia arriba. No sacuda ni seque las gotas que queden colgando de la boca del tubo.
18. Añada el EasySep™ Buffer para rellenar la muestra al volumen indicado a continuación. Mezcle pipeteando suavemente de arriba a abajo 2 o 3 veces.
 - Para muestras diluidas < 2,5 mL, rellene hasta 5 mL
 - Para muestras diluidas ≥ 2,5 mL, rellene hasta 10 mL
19. Coloque el tubo (sin tapa) dentro del imán e incube a temperatura ambiente (de 15 a 25 °C) por 3 minutos (hasta un máximo de 5 minutos).
20. Tome el imán y, con un movimiento continuo, invierta el imán y el tubo para verter el sobrenadante. Retire el tubo del imán; este tubo contiene las células aisladas. Deseche el sobrenadante.
NOTA: Deje el imán y el tubo invertidos de 2 a 3 segundos, luego vuelva ponerlos hacia arriba. No sacuda ni seque las gotas que queden colgando de la boca del tubo.
21. Vuelva a suspender las células en el medio deseado. Asegúrese de recoger las células de las paredes del tubo. Las células enriquecidas pueden usarse en otros procesos/análisis donde se empleen otros métodos independientes, como el ensayo FISH, que hayan sido validados por los usuarios finales.

Resumen de Rendimiento

ESTUDIOS CLÍNICOS

Se realizó un estudio clínico utilizando el EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit en 33 muestras clínicas de médula ósea de pacientes con mieloma múltiple en diversas etapas de la enfermedad. Las muestras clínicas se evaluaron utilizando un panel de cinco sondas FISH comunes que detectan seis anomalías genómicas que incluían una sonda CCND1/IGH XT para detectar la translocación t(11;14), así como sondas para detectar la polisomía del cromosoma 5 (D5S23) y del cromosoma 15 (D15Z4). (kit de sonda única), separación de MYC, eliminación de 13q (D13S319) y eliminación de TP53 (D17Z1). De los 33 pacientes, 32 dieron positivo en al menos una sonda FISH y 14 pacientes tuvieron al menos una sonda FISH que dio un patrón de señal anormal solo después del enriquecimiento con EasySep™ CD138. La pureza de CD138, medida por citometría de flujo, fue del 12,9% (rango 0,2% - 82,7%) en las muestras no enriquecidas y aumentó al 79,6% (rango 18,5% - 98,6%) en las muestras enriquecidas con EasySep™ CD138 (Tabla 5). El enriquecimiento en veces para la pureza de CD138 fue > 1 y varió según la frecuencia inicial* para todas las muestras con frecuencias de CD138 < 40% antes del enriquecimiento. En este estudio, el enriquecimiento fue de 65,9 (rango 29,6 - 91,5) para muestras con frecuencias iniciales de CD138 < 3%, 11,9 (rango 5,1 - 23,0) para muestras con frecuencias iniciales de CD138 entre 3 - 15% y 3,2 (1,6 - 5,3) para muestras con frecuencias iniciales de CD138 entre 15 y 40% antes del enriquecimiento.

*NOTA: En muestras con frecuencias de CD138 > 40%, el enriquecimiento de plasmocitos antes de la FISH podría no ser necesario.⁹

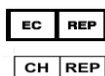
Solo se incluyeron en el análisis muestras con un patrón de señal FISH anormal por cada sonda. El porcentaje de núcleos anormales antes (no enriquecida) y después del enriquecimiento aumentó en las cantidades siguientes por cada sonda: Sonda CCND1/IGH (t(11;14)): 15,4% ± 15,5% a 77,3% ± 29,5% (n = 14); sonda de cromosoma 5 (D5S23): 25,0% ± 19,1% a 72,7% ± 17,4% (n = 15); sonda de cromosoma 15 (D15Z4): 20,0% ± 15,9% a 57,3% ± 23,6% (n = 16); sonda de separación de MYC: 21,2% ± 21,7% a 50,7% ± 33,5% (n = 10); sonda de delección 13q (D13S319): 15,5% ± 16,9% a 81,4 ± 15,2% (n = 19); sonda de TP53 (D17Z1): 22,8% ± 23,5% a 48,8% ± 32,9% (n = 5).



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland

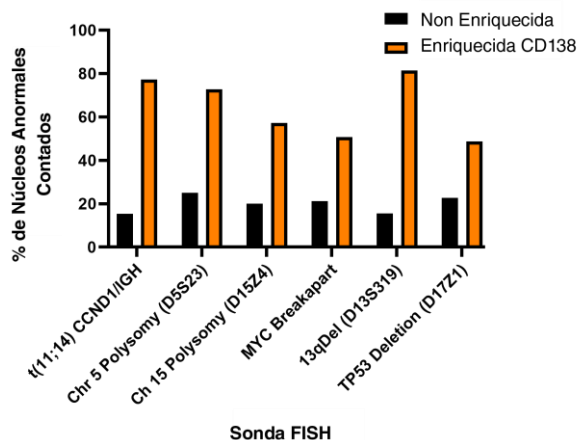


Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

La Figura 1 (la representación gráfica) se generó utilizando un subconjunto de datos (no mostrado), donde solo se incluyeron en el análisis muestras con un patrón de señal FISH anormal para cada sonda. La Figura 1 muestra que el porcentaje de núcleos anormales detectados para cada sonda fue mayor después del enriquecimiento con EasySep™ CD138 en comparación con la muestra antes del enriquecimiento.

Figura 1. Porcentaje de Núcleos Anormales Contados en Plasmocitos Antes (No Enriquecida) y Después del Enriquecimiento con el EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail



ESTUDIO DE REPRODUCIBILIDAD

Reproducibilidad con muestras artificiales

Se realizó un estudio para demostrar la reproducibilidad del proceso de enriquecimiento en tres sitios de estudio utilizando tres lotes del EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. Debido a los desafíos de tener muestras adecuadas para tres sitios, el estudio se realizó utilizando muestras artificiales generadas agregando una línea celular de mieloma múltiple a sangre completa de un donante sano cada día en 3 frecuencias iniciales de CD138+, categorizadas según eventos de citometría de flujo (baja, media, y alto representa < 3%, 3 - 15%, y > 15%, respectivamente) para crear 16 miembros del panel. Se estudió a más miembros del panel en los niveles bajo y medio (6 versus 4 para el nivel alto) para demostrar el enriquecimiento en los niveles más desafiantes.

La Tabla 5 muestra un resumen estadístico de la variabilidad general, de sitio a sitio, de lote a lote y del enriquecimiento de los miembros del panel de CD138+ alto, medio y bajo. El enriquecimiento aumentó una media de 85,7 veces en las muestras de frecuencia inicial de CD138+ baja, 9,3 veces en las muestras de frecuencia media de CD138+ y 3,8 veces en las muestras de frecuencia inicial de CD138+ alta.

Tabla 5. Resumen de Variabilidad y Enriquecimiento de Pliegues del Estudio de Reproducibilidad EasySep™ CD138

Frecuencia inicial CD138+	N	Repetibilidad CV (%)	Entre sitios CV (%)	Entre lotes CV (%)	Reproducibilidad CV (%)	Enriquecimiento plegado
		Media (Mín. - Máx.)	Media (Mín. - Máx.)	Media (Mín. - Máx.)	Media (Mín. - Máx.)	Media (Mín. - Máx.)
Alta (> 15%)	4	0,7 (0,5 - 0,9)	4,0 (2,8 - 5,9)	0,9 (0,5 - 1,6)	4,0 (2,8 - 6,0)	3.8 (2.6 - 5.5)
Med (3% - 15%)	6	1,6 (0,8 - 3,0)	4,2 (2,1 - 6,8)	2,3 (1,0 - 3,9)	4,5 (2,2 - 7,0)	9.3 (5.0 - 15.4)
Baja (< 3%)	6	5,4 (3,5 - 8,9)	9,7 (5,5 - 13,8)	8,6 (4,5 - 14,2)	11,9 (8,2 - 18,3)	85.7 (20.2 - 206.0)

CV - coeficiente de variación

Reproducibilidad con muestras clínicas

Se probaron tres lotes del kit de selección positiva CD138 de médula ósea humana EasySep™ en aspirados de médula ósea (BMA) de pacientes con mieloma múltiple para determinar su rendimiento en ensayos FISH posteriores. Se analizaron un total de 9 mieloma múltiple BMA clínicos, donde cada muestra se dividió por la mitad para probar el enriquecimiento con dos lotes diferentes del kit de selección positiva EasySep™ Human Bone Marrow CD138. El porcentaje de núcleos anormales se analizó utilizando cinco sondas FISH que detectan anomalías cromosómicas mieloma múltiple comunes, incluida la translocación t(11;14) (CCND1/IGH XT), aneusomías de los cromosomas 5, 9 y 15 (D5S23, D5S72, CEP 9, CEP 15) y delección 13q14.

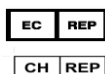
Según los resultados del estudio, tres BMA dieron patrones de señal FISH normales para las cinco sondas analizadas. Un BMA fue anormal para la translocación t(11;14) y cuatro BMA tenían patrones de señal anormales para la delección 13q. En los nueve BMA analizados, el porcentaje de células anormales para cada sonda fue muy similar entre las células plasmáticas enriquecidas con los dos lotes del kit EasySep™ CD138. La misma disposición normal/anormal para una sonda determinada fue concordante entre los pares de lotes del kit de selección positiva CD138 de médula ósea humana EasySep™. En todos los casos, la disposición normal/anormal coincidió, lo que indica que el kit EasySep™ puede producir resultados FISH reproducibles cuando se utiliza en la muestra para el uso previsto.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

PRECISIÓN

Se realizó un estudio de precisión en el que, en tres días no consecutivos, se añadió a una muestra de médula ósea de un donante sano la línea celular CD138+ SK-MM-2 en niveles bajos (< 3%) y medios (3 - 15%) frecuencia CD138+ inicial para generar dos miembros de panel de muestra artificiales separados. Dos operadores realizaron enriquecimientos EasySep™ en cada uno de los días de estudio, y cada operador se enriqueció con uno de los dos miembros del panel. Cada operador realizó tres ejecuciones de enriquecimiento por cuadruplicado en un miembro del panel utilizando un lote de kit.

La pureza de las células CD138+ enriquecidas y no enriquecidas se determinó mediante análisis de citometría de flujo para cada una de las tres series de todos los miembros del panel. Las estimaciones de precisión de la repetibilidad de la pureza enriquecida (%CV en cuatro réplicas dentro de una serie, n = 4 por serie, 3 series por miembro del panel) oscilaron entre 0,81 y 1,56% y 0,17 - 1,41% para los miembros del panel de frecuencia inicial CD138+ baja y media, respectivamente, lo que indica que la variabilidad de la pureza de las células CD138+ enriquecidas está bien controlada dentro del experimento.

LÍMITE DE DETECCIÓN

Límite de detección (LoD) con muestras artificiales

El estudio tuvo como objetivo determinar la frecuencia inicial de CD138+ más baja que proporciona resultados FISH anormales consistentes en una muestra artificial después del enriquecimiento de células CD138+ utilizando el kit de selección positiva CD138 de médula ósea humana EasySep™. En seis días no consecutivos, una muestra de sangre entera (WB) o de médula ósea (BM) de un donante sano se añadió con la línea celular CD138+ SK-MM-2 al 20% (rango aceptable 26 -14% por citometría de flujo). CD138+ frecuencia inicial y luego diluido en serie por un factor de dos con WB o BM para lograr ~20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,63%, 0,31%, 0,16%, 0,08% y 0% (es decir, WB o BM no enriquecidos con células SK-MM-2). Cada muestra se enriqueció por duplicado utilizando el kit de selección positiva CD138 de médula ósea humana EasySep™, y todas las muestras enriquecidas y no enriquecidas se evaluaron mediante citometría de flujo y/o se analizó la disposición t(11;14) mediante FISH.

Se revisaron los resultados del estudio de límite de detección de CD138 EasySep™, incluida la pureza de las células CD138+ enriquecidas y no enriquecidas medida mediante citometría de flujo y la disposición t(11;14) analizada mediante FISH. Todas las muestras artificiales enriquecidas con células SK-MM-2, con un objetivo de frecuencia inicial de CD138+ tan baja como 0,08%, dieron como resultado una disposición t(11;14) anormal en el análisis FISH. La pureza de CD138+ enriquecido medida mediante citometría de flujo se correlacionó positivamente con el porcentaje de núcleos anormales observados en el análisis FISH posterior. La pureza promedio de CD138+ enriquecido que resultó en una disposición anormal de t(11;14) en FISH fue del 33% de CD138+, enriqueciéndose a partir de muestras con una pureza promedio no enriquecida del 0,08% de CD138+. Para muestras con una frecuencia objetivo inicial de CD138+ del 0,00%, cuatro de los seis donantes dieron como resultado una disposición t(11;14) normal en el análisis FISH; sin embargo, a un donante de médula ósea y a un donante de sangre completa solo se les dio una réplica considerada normal y la otra réplica no fue concluyente debido a un número insuficiente de células recuperadas. En conclusión, el estudio de límite de detección EasySep™ CD138 mostró que el kit de selección positiva CD138 de médula ósea humana EasySep™ fue capaz de enriquecer consistentemente muestras artificiales con una frecuencia inicial de CD138+ de 0,05% a 25,06% y logró patrones FISH anormales consistentes. El límite de detección para el kit de selección positiva CD138 de médula ósea humana EasySep™ se estableció en una frecuencia inicial de CD138+ del 0,05%.

Confirmación del límite de detección (LoD) con muestras clínicas de médula ósea de mieloma múltiple

El objetivo de este estudio fue verificar el LoD con una frecuencia inicial de CD138 del 0,05%, determinada en el estudio de LoD anterior en muestras artificiales en una muestra clínica utilizando dos lotes de kit, con tres réplicas por lote de kit. El enriquecimiento de células CD138+ se realizó en una muestra clínica producida añadiendo un aspirado de médula ósea de un paciente con mieloma múltiple a un aspirado de médula ósea de un donante sano con una frecuencia inicial de CD138 del 0,05%. La muestra clínica se lavó y se dividió en seis fracciones para el enriquecimiento de células EasySep™ CD138, utilizando dos lotes de kit con tres réplicas por lote de kit. Las muestras enriquecidas se dividieron en dos fracciones: una fracción se usó para evaluar la pureza de las células plasmáticas mediante citometría de flujo y la segunda fracción se usó para FISH.

La pureza de las células plasmáticas se determinó antes y después del enriquecimiento utilizando dos lotes del kit de selección positiva EasySep™ Human Bone Marrow CD138 con tres réplicas por lote del kit. La muestra se enriqueció desde un 0,05% hasta un rango de 4,1 - 7,4%. El CV de pureza enriquecida general fue del 19,7%, superando los criterios de aceptación de CV general ≤ 35%. Todas las muestras enriquecidas tenían patrones de señal FISH normales para la polisomía de los cromosomas 5 y 15 (D5S23, D15Z4), la separación de MYC y las sondas CCND1/IGH XT; y fueron anormales para la delección del cromosoma 13q (D13S319) y TP53. La disposición de FISH de las muestras enriquecidas fue la misma que la disposición de FISH de la muestra clínica sin diluir, y el 100% de las réplicas fueron anormales para la eliminación del cromosoma 13q (D13S319) y TP53.

INTERFERENCIA ANTICOAGULANTE

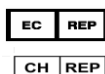
Para este estudio se reclutaron tres muestras clínicas frescas de médula ósea de mieloma múltiple. Una muestra se procesó aproximadamente 20 horas después de la recolección, una muestra se procesó aproximadamente 24 horas después de la recolección y la tercera muestra se procesó aproximadamente 22 horas después de la recolección. Cada muestra se dividió en dos fracciones. Una fracción se trató con PBS (el control), mientras que a la otra se le añadió un exceso de heparina sódica 3 veces mayor. Luego se lavaron y enriquecieron réplicas individuales de cada fracción utilizando el kit de selección positiva CD138 de médula ósea humana EasySep™. La pureza de CD138 se determinó mediante citometría de flujo y luego se comparó para determinar si el exceso de heparina causaba interferencia con el enriquecimiento y la pureza de CD138. Un segundo estudio evaluó un total de 3 muestras clínicas preparadas añadiendo células mononucleares de médula ósea de mieloma múltiple en aspirados de médula ósea de un donante sano aspirados con una frecuencia inicial de CD138 < 0,2%. Se analizaron tres réplicas por muestra y por condición (es decir, con/sin exceso de heparina sódica). Las purezas enriquecidas de las muestras enriquecidas con heparina sódica no fueron estadísticamente diferentes de las de las muestras de control en cada estudio (prueba t unilateral, p = 0,1971 y p = 0,2740, respectivamente). Los resultados indicaron que no se encontró que el exceso de heparina sódica interfiriera con el enriquecimiento de las células plasmáticas CD138+.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Asistencia Técnica

NOTA: Vuelva a realizar el pedido utilizando el Catálogo #100-1133, un kit que incluye el EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit (REF 100-0748) y el EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (REF 100-0749).

Esta PIS también está disponible en varios idiomas en formato electrónico en el sitio web de STEMCELL, y se puede facilitar en formato físico previa petición. Para recibir asistencia técnica, escriba un correo electrónico a techsupport@stemcell.com o llame a la línea telefónica gratuita al (+1) 604 877 0713 (Canadá), al (+1) 800 667 0322 (América del Norte), o al 00800 7836 2355 (Europa). Para obtener más información, visite www.stemcell.com.

Las supresiones, adiciones o cambios están señaladas por la barra de cambios en el margen.

Deberá notificarse al fabricante y a la autoridad competente del estado miembro en el que esté establecido el usuario cualquier incidente grave que se haya producido en relación con el producto.

 Solo para uso con receta	 número de catálogo o referencia	 Código de lote	 Fecha límite de utilización: AAAA-MM-DD	 Atención, consulte la documentación adjunta	 Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
 Para el almacenamiento dentro de los límites de temperatura	 Consulte las instrucciones de uso o las instrucciones de uso electrónicas	 No usar si el envase está dañado	 Identificador único del dispositivo	 Marca CE	 Fabricante
 Representante autorizado de la CE en la Comunidad Europea	 Représentant autorisé en Suiza				

Bibliografía

- Colander et al. (2022) Multiple Myeloma, Version 3.2022: Featured Updates to the NCCN Guidelines. JNCCN 20(1): 8–19.
- Kumar S et al. (2020) Multiple Myeloma, Version 3.2021. JNCCN 18(12): 1685–717.
- Dimopoulos et al. (2021) Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 32(3): 309–22.
- Caers et al. (2018) European Myeloma Network recommendations on tools for the diagnosis and monitoring of multiple myeloma: what to use and when. Haematologica 103(11): 1772–84.
- Shin SY et al. (2012) Application of an immune-magnetic cell sorting method for CD138-positive plasma cells in FISH analysis of multiple myeloma. Int J Lab Hematol 34(5):541–6.
- Shetty S et al. (2012) Utility of a column-free cell sorting system for separation of plasma cells in multiple myeloma FISH testing in clinical laboratories. Int J Hematol 95(3): 274–81.
- Kishimoto RK et al. (2016) Validation of interphase fluorescence in situ hybridization (iFISH) for multiple myeloma using CD138 positive cells. Rev Bras Hematol Hemoter 38(2): 113–20.
- The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4th ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc; 2017.
- Pozdnyakova O et al. (2009) Interphase FISH in plasma cell dyscrasia: increase in abnormality detection with plasma cell enrichment. Cancer Genetics and Cytogenetics 189:112–7.

Copyright © 2025 de STEMCELL Technologies Inc. Todos los derechos reservados incluyendo los gráficos e imágenes. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists y RapidSpheres son marcas comerciales de STEMCELL Technologies Canada Inc. Las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños. Si bien STEMCELL ha hecho todos los esfuerzos razonables para garantizar que la información facilitada por STEMCELL y sus suministradores sea correcta, no hace ninguna afirmación de garantía ni declaración en cuanto a la exactitud o integridad de tal información.

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit

Para processar até 60 mL de medula óssea

REF 100-0748

Seleção Positiva

Documento #10000019127 | Versão 01



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713

INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM

FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

PORTUGUES

Para uso em diagnóstico in vitro

R somente

Uso Intencionado

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit é um dispositivo de diagnóstico in vitro destinado a enriquecer células CD138+ da medula óssea coletadas de pacientes com diagnóstico de mieloma múltiplo. As células CD138+ são enriquecidas por seleção positiva imunomagnética para uso em ensaios validados a jusante. O usuário final é responsável pela validação deste kit para uso com o ensaio. Para uso diagnóstico in vitro por profissionais de laboratório.

Antecedentes

O mieloma múltiplo é uma neoplasia hematológica caracterizada pela acumulação de neoplasias nas células plasma na medula óssea.¹ Nos Estados Unidos, o mieloma múltiplo representa 1,8% de todos os cânceros e é tipicamente diagnosticado em pessoas de 65 a 74 anos de idade.² Foram identificados vários subtipos da doença ao nível genético e molecular e as anormalidades cromossômicas específicas têm implicações de prognóstico que possibilitam a estratificação do risco dos pacientes.²

As recomendações consensuais estabelecidas pelos especialistas oncológicos dos EUA e da UE, recolhidas em diretivas publicadas pela National Comprehensive Cancer Network (NCCN)², a European Society for Myeloma³, e a European Myeloma Network⁴ recomendam a análise citogénica das células plasma obtidas de espécimes de medula óssea por hibridização fluorescente in situ (*fluorescence in situ hybridization*; FISH) no diagnóstico inicial e como método de acompanhamento e vigilância durante a reincidência.²⁻⁴

A frequência de células plasma na medula óssea de pacientes com mieloma múltiplo pode ser altamente variável em diagnóstico e durante a reincidência. As células plasma podem ser isoladas da medula óssea por seleção positiva imunomagnética das células expressando o antígeno de superfície CD138 (sindecina-1).⁵ Foi reportado que o melhoramento das células plasma da medula óssea antes do teste FISH para mieloma múltiplo aumenta a taxa e frequência de anormalidades genéticas detetadas pelo FISH (Figura 1).⁵⁻⁷

Princípio de Operação

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit está concebido para ser usado manualmente para melhorar as células expressando o antígeno de superfície CD138 a partir das amostras frescas da medula óssea humana por meio de seleção positiva imunomagnética. Este kit alveja as células CD138+ para seleção positiva com um anticorpo que reconhece o marcador de superfície CD138. As células desejadas são marcadas com anticorpos e partículas magnéticas e separadas usando um ímã "The Big Easy" EasySep™. As células não necessárias são retiradas, deixando as células CD138+ no tubo.

Descrição dos Componentes

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit consiste dos seguintes componentes listados na Tabela 1.

Tabela 1. Componentes do EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit

Nome do Componente	Componente nº	Quantidade	Conteúdo
EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail	300-0394	3 x 1 mL*	Uma combinação de anticorpos monoclonais em D-PBS com 0,09% rHA. Inclui um recetor Fc de bloqueio de anticorpo.
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105	300-0400	3 x 1 mL*	Uma suspensão de partículas magnéticas em água.

* O frasco de 1 mL de cada componente pode ser usado para processar até 20 mL de medula óssea, dependendo do nível de celularidade da amostra (consulte Instruções de Uso, Etapa 5 deste documento).

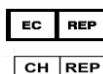
D-PBS - solução tampão de fosfato Dulbecco; rHA - albumina humana recombinante



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Material Fornecido

EASYSEPTM RED BLOOD CELL LYSIS BUFFER

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit é sempre fornecido com o EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (Catálogo #100-0749), 1 x 20 mL. Este tampão é fornecido a uma concentração de 10X. Prepare 1 tampão de Lise pelo menos 1 hora antes da utilização, adicionando 1 parte de tampão de Lise à concentração de 10X, para 9 partes de água destilada ou Tipo 1*. Misture suave e completamente antes do uso.

Consulte a folha de informação de produto (*Product Information Sheet*, PIS; Documento #10000017274) para o EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (Catálogo #100-0749), disponível em www.stemcell.com/0749. Contacte o número da linha gratuita fornecida na secção de Assistência Técnica deste documento para pedir uma cópia impressa gratuita deste PIS.

*A água de Tipo 1 refere-se à água ultrapura adequada para uso em procedimentos analíticos. É definida pela Sociedade Americana de Ensaio e Materiais (American Society for Testing and Materials, ASTM) como tendo uma resistividade de > 18 MΩ-cm, uma condutividade de < 0,056 µS/cm, e < 50 ppb de carbono orgânico total (TOC).

Controlo de Qualidade

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit é fabricado de acordo com 21 CFR Parte 820 e ISO 13485. Para informação adicional de qualidade, consultar www.stemcell.com/compliance.

Armazenagem e Estabilidade

Tabela 2. Armazenagem e Estabilidade

Nome do Componente	Componente nº	Armazenagem
EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail	300-0394	2 - 8°C
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105	300-0400	2 - 8°C
EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate	100-0749	temperatura ambiente (15 - 25°C)

Os componentes podem ser enviados à temperatura ambiente mas devem ser armazenados como indicado atrás. Não congelar. Todos os componentes estão estáveis até à data de validade indicada no rótulo.

NOTA: EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (1X) pode ser armazenado a 2 - 8°C durante até três meses. Não ultrapasse a data de validade (prazo de validade) do tampão 10X original.

Acessórios Requeridos mas Não Fornecidos

Os materiais listados na Tabela 3 são acessórios para o EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. Estes materiais não são fornecidos com o kit e podem ser comprados separadamente.

Tabela 3. Acessórios Requeridos mas Não Fornecidos

Nome do Componente	Componente nº	Quantidade	Armazenamento	Vida Útil	Descrição
"The Big Easy" EasySep™ Magnet	18001	1	Armazenar a 15 - 25°C.	Não aplicável	Um ímã para separação imunomagnética sem colunas.
EasySep™ Buffer	100-0780	1 x 1 L	Armazenar a 2 - 8°C.	Estável até à data de validade (EXP) indicada no rótulo.	Tampão de separação de células.

"THE BIG EASY" EASYSEPTM MAGNET

O "The Big Easy" EasySep™ Magnet gera um alto campo magnético gradiente para a separação de células e é destinado à utilização com o EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. O "The Big Easy" EasySep™ Magnet foi concebido para suportar um tubo padrão de polistireno de fundo redondo de 14 mL (17 x 95 mm).

EASYSEPTM BUFFER

Consultar o PIS (Documento #10000016106) para o EasySep™ Buffer (Catálogo #100-0780), disponível em www.stemcell.com/0780. Contacte o número da linha gratuita fornecido na secção deste documento designada Assistência Técnica para pedir uma cópia impressa gratuita deste PIS.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Materiais Necessários, mas não Fornecidos

Os materiais listados seguidamente são artigos de laboratório para fins gerais que são requeridos mas não são fornecidos.

- Solução tampão de fosfato Dulbecco (sem Ca++ e Mg++; por exemplo, Catálogo #37350)
- Solução DNase I (por exemplo, Catálogo #07900)
- Filtro de 70 µm (por exemplo, Catálogo #27216)
- Tubo de polistireno de fundo redondo de 14 mL (17 x 95 mm) (por exemplo, Catálogo #38008)
- Tubo cônico de 50 mL (por exemplo, Catálogo #38010)

Limitações

1. PARA USO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO
2. A utilização do dispositivo destina-se ao enriquecimento de células CD138+ de pacientes que tenham ou possam ter diagnóstico de cancro.
3. As características de desempenho deste dispositivo não foram estabelecidas para ensaios de diagnóstico gerais a jusante. Os usuários finais precisam validar o uso com quaisquer testes e dispositivos de coleta de amostras subsequentes.
4. O dispositivo independente não se destina à enumeração de células. O dispositivo destina-se apenas ao enriquecimento de células CD138+ em amostras, para que as amostras enriquecidas possam então ser utilizadas em processamento/análise adicional utilizando métodos independentes adicionais, como FISH.
5. O dispositivo independente não se destina ao uso de diagnóstico, prognóstico ou monitoramento com células CD138+, inclusive como auxílio no gerenciamento de qualquer doença e/ou decisões de tratamento. Os resultados do dispositivo independente não fornecem informações ao paciente sobre o seu estado de saúde atual. O dispositivo independente não diagnostica quaisquer condições de saúde e não substitui visitas a um médico ou outro profissional de saúde.
6. Ressuspenda a amostra de medula óssea com base no volume da amostra ou nos níveis de celularidade, de acordo com as instruções fornecidas em Preparação da amostra.
7. Siga todas as etapas do protocolo listadas nas Instruções de uso. A execução inadequada do protocolo pode levar a resultados variáveis e/ou ruins.
8. Uma frequência inicial CD138+ baixa (<3%) pode levar à variabilidade na pureza das células CD138+ enriquecidas. Os usuários finais podem avaliar a pureza das células CD138+ após o enriquecimento por imunofenotipagem usando citometria de fluxo ou avaliação morfológica por microscopia.
9. A estabilidade da medula óssea pode ser comprometida após 48 horas da coleta.
10. O número de células plasmáticas CD138+ isoladas da medula óssea por seleção imunomagnética pode ser reduzido em pacientes submetidos ou após tratamento para mieloma múltiplo.
11. Se não forem observados padrões FISH anormais quando múltiplas sondas FISH forem usadas, procure assistência técnica entrando em contato com techsupport@stemcell.com.

Advertências e Precauções

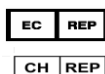
1. Informações importantes sobre o manuseio, transporte e descarte seguros desses produtos estão contidas nas Fichas de Dados de Segurança (SDS).
NOTA: As FDS dos reagentes fornecidos no kit estão disponíveis em www.stemcell.com.
2. Este produto deve ser manuseado por pessoal treinado e observando as boas práticas de laboratório. Assim que este produto for adicionado às células humanas, trate a suspensão como potencialmente perigosa. O manuseamento de reagentes e a eliminação de resíduos devem respeitar todas as regulamentações locais, estaduais ou nacionais.
3. Este produto é potencialmente irritante para os olhos, sistema respiratório e pele. Este produto também pode ser prejudicial se ingerido. Evite a exposição através da pele, olhos contato, inalação e ingestão.
4. CUIDADO: O EasySep™ Magnet gera um forte campo magnético. Mantenha-se afastado de marca-passos, ímãs, discos de computador, relógios e outros objetos que respondam a campos magnéticos.
5. Certifique-se de que os frascos estejam devidamente tampados durante o armazenamento. O manuseio e armazenamento adequados dos componentes do kit são essenciais para garantir a vida útil rotulada e o desempenho do kit. O enriquecimento de células CD138+ pode ser afetado negativamente pelos componentes do kit armazenados fora das condições de armazenamento recomendadas.
6. Não utilize o produto se a integridade da embalagem estiver comprometida na chegada ou se houver sinais de contaminação, ressecamento, vazamentos ou qualquer outra evidência de deterioração. O produto não utilizado pode ser eliminado de acordo com os procedimentos laboratoriais padrão para líquidos não perigosos.
7. Não utilize o produto após o prazo de validade indicado no rótulo.
8. Não congele EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105. Se EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 estiverem aglomerados ou não puderem ser dispersos uniformemente, entre em contato com techsupport@stemcell.com.
9. Não agite o EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail.
10. EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit foi concebido para utilização com um mínimo de 1 mL de medula óssea fresca. As amostras devem ser processadas o mais rápido possível, de preferência dentro de 24 horas, mas não mais de 72 horas após a coleta do aspirado de medula óssea. Não congele nem transporte medula óssea em contato direto com bolsas de frio/gelo ou exponha a temperaturas acima de 30°C antes do uso. Siga as instruções de preparação de amostras de medula óssea fornecidas em Preparação de amostras.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Instruções para Uso

PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit foi concebido para usar com medula óssea humana fresca. As recomendações para a recolha de espécimes podem ser encontradas no Manual de Laboratório de Citogenética da AGT (AGT Cytogenetics Laboratory Manual).⁶ As recolhas de aspirados de medula óssea devem ser efetuadas em conformidade com as diretivas institucionais do laboratório. Deve ser recolhido pelo menos 1 mL de aspirados da medula óssea para um tubo de recolha de sangue contendo um anticoagulante.

Para evitar a degradação da amostra e a perda de CD138 das frágeis células plasma, e para manter a viabilidade das células, as amostras devem ser processadas logo que possível, preferencialmente dentro de 24 horas, mas não mais de 72 horas depois da recolha dos aspirados da medula óssea. Não congele nem transporte a medula óssea em contacto direto com pacotes frios/de gelo nem a exponha a temperaturas acima de 30°C antes da utilização.

O desempenho ótimo do protocolo requer a recolha, armazenagem e o transporte adequados da amostra para o local de teste.

Siga as etapas listadas seguidamente para preparar a amostra para o melhoramento das células:

- Dilua a amostra 5 a 10 vezes na solução tampão de fosfato de Dulbecco (D-PBS) e misture-a suavemente, pipetando para cima e para baixo.
- Pré-humedeça um filtro de 70 µm com a D-PBS. Filtre a amostra pelo filtro previamente humedecido para retirar fragmentos de osso, agregados de células e detritos. Enxague o filtro com D-PBS.
- Centrifugue as células a 300 x g durante 10 minutos (gama aceitável é entre 250 a 300 x g durante 8 a 12 minutos) sem o travão aplicado.
- Usando uma pipeta, remova cuidadosamente e descarte o plasma, sem perturbar a camada leucocitária/o sedimento de glóbulos vermelhos. Não despejar. Quando trabalhar com as amostras de medula óssea que têm mais de 24 horas, adicione 50 µL de 1 mg/mL de solução DNase I diretamente na camada leucocitária/sedimento de glóbulos vermelhos e ressuspensa. Coloque na incubadora à temperatura ambiente (15 a 25°C) durante 15 a 30 minutos antes de efetuar a separação de células.
- NOTA: Armazene a solução DNase I a -20°C. Aliquota da solução DNase I em volumes de trabalho para evitar ciclos repetidos de congelamento e descongelamento.
Sugestão: Alternativamente, a solução DNase I armazenada entre 2 e 8°C pode ser usada por até 1 semana.
- Ressuspensa a camada leucocitária/sedimento de glóbulos vermelhos a 1 - 2 vezes do volume da amostra original inicial de medula óssea com o Tampão EasySep™ (Tabela 4).
 - Se o volume da amostra original era ≥ 2,5 mL, dilua até ao volume da amostra original.
 - Se o volume da amostra original era < 2,5 mL, dilua a duas vezes o volume da amostra original.
 - Em alternativa, se for esperada que a amostra tenha uma alta celularidade (> 70%) ou a celularidade for desconhecida, dilua duas vezes o volume da amostra original.

Tabela 4. Volumes do EasySep™ Buffer

Volume da Amostra Original	Volume da Amostra Após Ressuspensão com o EasySep™ Buffer
1 mL	2 mL
2 mL	4 mL
2,5 mL	2,5 mL
3 mL	3 mL
4 mL	4 mL
4,5 mL	4,5 mL

SEPARAÇÃO DE CÉLULAS

- Prepare o EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (referido como EasySep™ RBC Lysis Buffer) (1X) pelo menos 1 hora antes de usar. O EasySep™ RBC Lysis Buffer é fornecido a uma concentração de 10X.
 - Adicione 1 parte de EasySep™ RBC Lysis Buffer a 9 partes de água destilada ou do Tipo 1.
 - Misture suave e completamente antes do uso.
 NOTA: Se não for usado imediatamente, armazene o EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) a 2 - 8°C durante até três meses. Não congelar.
- Prepare a amostra dentro da gama de volume de 1 - 4,5 mL e adicione a amostra ao tubo requerido. Se o volume for > 4,5 mL, divida a amostra entre dois tubos de fundo redondo de 14 mL.
- Adicione à amostra um volume igual de EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) preparado na etapa 6. Por exemplo, se o volume da amostra é de 2 mL após a ressuspensão com o EasySep™ Buffer (etapa 5), adicione à amostra 2 mL de EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X).
- Adicione 25 µL de EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail para EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit por cada 1 mL de amostra diluída (etapa 8). Misture e coloque na incubadora à temperatura ambiente (15 a 25°C) durante 3 minutos (até um máximo de 5 minutos). Por exemplo, se o volume da amostra é de 4 mL, adicione à amostra 100 µL de EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail.

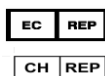
NOTA: Não agitar o cocktail em vórtex.

- Misture em vórtex a EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 durante pelo menos 30 a 40 segundos. As partículas devem estar igualmente dispersas.

 **STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com**

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

11. Adicione 25 µL de EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 por cada 1 mL de amostra diluída. Misture e coloque na incubadora à temperatura ambiente (15 a 25°C) durante 3 minutos (até um máximo de 5 minutos).
12. Adicione o EasySep™ Buffer para que a amostra atinja o volume indicado seguidamente. Misture pipetando para cima e para baixo suavemente 2 a 3 vezes.
 - Encher até 5 mL para amostras diluídas < 2,5 mL
 - Encher até 10 mL para amostras diluídas ≥ 2,5 mL
13. Coloque o tubo (sem tampa) no "The Big Easy" EasySep™ Buffer e na incubadora à temperatura ambiente (15 a 25°C) durante 10 minutos (até um máximo de 11 minutos).
14. Pegue no íman e, num movimento contínuo, inverta o íman e o tubo para despejar o sobrenadante. Retire o tubo do íman; este tubo contém as células isoladas. Descarte o sobrenadante.
 NOTA: Deixe o íman e o tubo invertidos durante 2 a 3 segundos, depois recolque na vertical. Não agite nem enxugue as gotas que possam ficar presas no bocal do tubo.
15. Adicione o EasySep™ Buffer para que a amostra atinja o volume indicado seguidamente. Misture carregando e esvaziando a pipeta 2 - 3 vezes.
 - Encher até 5 mL para amostras diluídas < 2,5 mL
 - Encher até 10 mL para amostras diluídas ≥ 2,5 mL
16. Coloque o tubo (sem tampa) no íman e na incubadora à temperatura ambiente (15 a 25°C) durante 3 minutos (até um máximo de 5 minutos).
17. Pegue no íman e, num movimento contínuo, inverta o íman e o tubo para despejar o sobrenadante. Retire o tubo do íman; este tubo contém as células isoladas. Descarte o sobrenadante.
 NOTA: Deixe o íman e o tubo invertidos durante 2 a 3 segundos, depois recolque na vertical. Não agite nem enxugue as gotas que possam ficar presas no bocal do tubo.
18. Adicione o EasySep™ Buffer para que a amostra atinja o volume indicado seguidamente. Misture carregando e esvaziando a pipeta 2 - 3 vezes.
 - Encher até 5 mL para amostras diluídas < 2,5 mL
 - Encher até 10 mL para amostras diluídas ≥ 2,5 mL
19. Coloque o tubo (sem tampa) no íman e na incubadora à temperatura ambiente (15 a 25°C) durante 3 minutos (até um máximo de 5 minutos).
20. Pegue no íman e, num movimento contínuo, inverta o íman e o tubo para despejar o sobrenadante. Retire o tubo do íman; este tubo contém as células isoladas. Descarte o sobrenadante.
 NOTA: Deixe o íman e o tubo invertidos durante 2 a 3 segundos, depois recolque na vertical. Não agite nem enxugue as gotas que possam ficar presas no bocal do tubo.
21. Ressuspenda as células no meio desejado. Não esqueça de recolher as células nos lados do tubo. As células melhoradas podem ser usadas em processamento/análises posteriores, utilizando métodos independentes adicionais, tais como ensaios FISH, que forem validados pelos utilizadores finais.

Sumário do Desempenho

ESTUDO CLÍNICO

Foi realizado um estudo clínico utilizando o kit de seleção positiva EasySep™ Human Bone Marrow CD138 em 33 amostras clínicas de medula óssea de pacientes com mieloma múltiplo em vários estágios da doença. As amostras clínicas foram avaliadas usando um painel de cinco sondas FISH comuns detectando seis anormalidades genômicas que incluíam uma sonda CCND1/IGH XT para detectar a translocação t(11;14), bem como sondas para detectar a polissomia do cromossoma 5 (D5S23) e do cromossoma 15 (D15Z4). (kit de sonda única), separação MYC, deleção 13q (D13S319) e deleção TP53 (D17Z1). Dos 33 pacientes, 32 foram positivos para pelo menos uma sonda FISH e 14 pacientes tiveram pelo menos uma sonda FISH que apresentou um padrão de sinal anormal somente após o enriquecimento com EasySep™ CD138. A pureza do CD138, medida por citometria de fluxo, foi de 12,9% (intervalo 0,2% - 82,7%) em amostras não enriquecidas e aumentou para 79,6% (intervalo 18,5% - 98,6%) nas amostras enriquecidas com EasySep™ CD138.

O enriquecimento dobrado para pureza de CD138 foi > 1 e variou com base na frequência inicial* para todas as amostras com frequências de CD138 < 40% antes do enriquecimento. Neste estudo, o enriquecimento de vezes foi de 65,9 (intervalo 29,6 - 91,5) para amostras com frequências iniciais de CD138 < 3%, 11,9 (intervalo 5,1 - 23,0) para amostras com frequências iniciais de CD138 entre 3 - 15% e 3,2 (1,6 - 5,3) para amostras com frequências iniciais de CD138 entre 15 e 40% antes do enriquecimento.

*NOTA: Para amostras com frequências CD138 > 40%, o enriquecimento de células plasmáticas antes do FISH pode não ser necessário.⁹

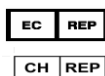
Só foram incluídas na análise as amostras com um padrão anormal de sinal FISH para cada sonda. A percentagem de núcleos anormais antes (não melhorados) e depois do melhoramento aumentou nos seguintes montantes para cada sonda: Sonda CCND1/IGH (t(11;14)): De 15,4 ± 15,5% para 77,3 ± 29,5% (n = 14); sonda de cromossoma 5 (D5S23): De 25,0 ± 19,1% para 72,7 ± 17,4% (n = 15); sonda de cromossoma 15 (D15Z4): De 20,0 ± 15,9% para 57,3 ± 23,6% (n = 16); sonda de separação MYC: De 21,2 ± 21,7% para 50,7 ± 33,5% (n = 10); sonda de deleção de 13q (D13S319): De 15,5 ± 16,9% para 81,4 ± 15,2% (n = 19); sonda TP53 (D17Z1): De 22,8 ± 23,5% para 48,8 ± 32,9% (n = 5).



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
 European toll-free number: 00800 7836 2355
 North American toll-free number: +1.800.667.0322
 email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
 Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
 Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland

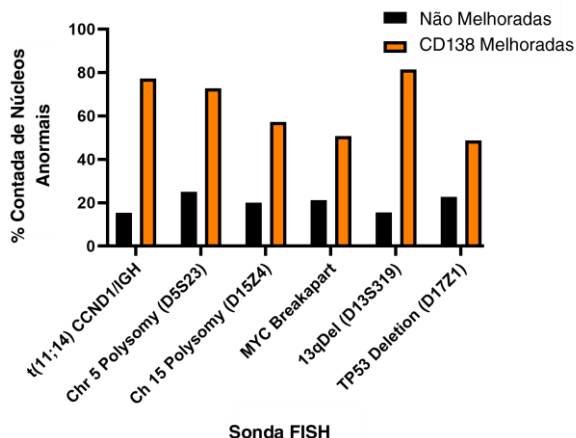


Document #1000019127
 Version 01

Issue Date 2025-01

A Figura 1 mostra que a porcentagem de núcleos anormais detectados para cada sonda foi maior após o enriquecimento com EasySep™ CD138 em comparação com a amostra antes do enriquecimento e foi gerada usando um subconjunto do conjunto de dados completo (não mostrado), onde apenas amostras com um padrão de sinal FISH anormal para cada sonda foi incluída na análise.

Figura 1. Porcentagem de Núcleos Anormais Contados em Células Plasma Antes (Não Melhoradas) e Depois do Melhoramento Usando o EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit



ESTUDO DE REPRODUTIBILIDADE

Reprodutibilidade com amostras inventadas

Foi realizado um estudo para demonstrar a reprodutibilidade do processo de enriquecimento em três locais de estudo usando três lotes de EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. Devido aos desafios de ter amostras adequadas para três locais, o estudo foi realizado usando amostras artificiais geradas pela adição de uma linhagem celular de mieloma múltiplo em sangue total de um doador saudável todos os dias em níveis baixos (<3%), médios (3-15%) ou frequências CD138+ iniciais altas (>15%) para criar 16 amostras ou membros do painel. Mais membros do painel foram estudados nos níveis baixo e médio (6 versus 4 para o nível alto) para demonstrar enriquecimento nos níveis mais desafiadores.

A Tabela 5 mostra um resumo estatístico da variabilidade geral de site para site, de lote para lote e do enriquecimento dobrado dos membros do painel CD138+ alto, médio e baixo. O enriquecimento aumentou em média 85,7 vezes nas amostras de baixa frequência inicial de CD138+, 9,3 vezes nas amostras de média frequência de CD138+ e 3,8 vezes nas amostras de alta frequência inicial de CD138+.

Tabela 5. Resumo de Variabilidade e Enriquecimento de Dobra do Estudo de Reprodutibilidade EasySep™ CD138

Frequência Inicial CD138+	N	Repetibilidade CV (%)	Entre CV de Local (%)	Entre CV de Lote (%)	Reprodutibilidade CV (%)	Enriquecimento de Dobra
		Média (Mín - Máx)	Média (Mín - Máx)	Média (Mín - Máx)	Média (Mín - Máx)	Média (Mín - Máx)
Alta (> 15%)	4	0,7 (0,5 - 0,9)	4,0 (2,8 - 5,9)	0,9 (0,5 - 1,6)	4,0 (2,8 - 6,0)	3.8 (2.6 - 5.5)
Méd (3 - 15%)	6	1,6 (0,8 - 3,0)	4,2 (2,1 - 6,8)	2,3 (1,0 - 3,9)	4,5 (2,2 - 7,0)	9.3 (5.0 - 15.4)
Baixa (< 3%)	6	5,4 (3,5 - 8,9)	9,7 (5,5 - 13,8)	8,6 (4,5 - 14,2)	11,9 (8,2 - 18,3)	85.7 (20.2 - 206.0)

CV - coeficiente de variação

Reprodutibilidade com amostras clínicas

Três lotes do kit de seleção positiva CD138 de medula óssea humana EasySep™ foram testados em aspirados de medula óssea (BMA) de pacientes com mieloma múltiplo para desempenho em ensaios FISH posteriores. Um total de 9 mieloma múltiplo BMA clínicos foram testados, onde cada amostra foi dividida ao meio para testar o enriquecimento com dois lotes diferentes do Kit de Seleção Positiva EasySep™ Human Bone Marrow CD138. A porcentagem de núcleos anormais foi analisada usando cinco sondas FISH que detectam anormalidades cromossômicas comuns de mieloma múltiplo, incluindo a translocação t(11;14) (CCND1/IGH XT), aneusomias dos cromossomos 5, 9 e 15 (D5S23, D5S72, CEP 9, CEP 15) e deleção 13q14.

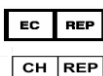
Com base nos resultados do estudo, três BMA forneceram padrões normais de sinal FISH para todas as cinco sondas testadas. Uma BMA foi anormal para a translocação t(11;14) e quatro BMA apresentaram padrões de sinal anormais para a deleção 13q. Em todos os nove BMA testados, a porcentagem de células anormais para cada sonda foi muito semelhante entre as células plasmáticas enriquecidas com os dois lotes do kit EasySep™ CD138. A mesma disposição normal/anormal para uma determinada sonda foi concordante entre os pares de lotes do kit de seleção positiva EasySep™ Human Bone Marrow CD138. Em todos os casos, a disposição normal/anormal esteve de acordo, indicando que o kit EasySep™ é capaz de produzir resultados FISH reproduzíveis quando utilizado na amostra pretendida.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

PRECISÃO

Foi realizado um estudo de precisão onde, em três dias não consecutivos, uma amostra de medula óssea de um doador saudável foi enriquecida com a linhagem celular CD138+ SK-MM-2 em níveis baixos (< 3%) e médios (3 - 15%) frequência CD138+ inicial para gerar dois membros do painel de amostra planejados separados. Dois operadores realizaram enriquecimentos EasySep™ em cada um dos dias de estudo, com cada operador enriquecendo a partir de um dos dois membros do painel. Cada operador realizou três execuções de enriquecimento em quadruplicado em um membro do painel usando um lote de kit.

A pureza das células CD138+ não enriquecidas e enriquecidas foi determinada por análise de citometria de fluxo para cada uma das três execuções de todos os membros do painel. As estimativas de precisão de repetibilidade de pureza enriquecida (%CV em quatro réplicas dentro de uma execução, n = 4 por execução, 3 execuções por membro do painel) variaram de 0,81 a 1,56% e 0,17 - 1,41% para membros do painel de frequência inicial CD138+ baixa e média, respectivamente, indicando que a variabilidade da pureza das células CD138+ enriquecidas é bem controlada durante a execução.

LIMITE DE DETECÇÃO

Limite de detecção (LoD) com amostras inventadas

O estudo teve como objetivo determinar a frequência inicial mais baixa de CD138+ que fornece resultados FISH anormais consistentes em uma amostra artificial após enriquecimento de células CD138+ usando o Kit de Seleção Positiva CD138 de Medula Óssea Humana EasySep™. Em seis dias não consecutivos, uma amostra de sangue total (WB) ou medula óssea (BM) de um doador saudável foi enriquecida com a linha celular CD138+ SK-MM-2 a 20% (intervalo aceitável 26 -14% por citometria de fluxo) Frequência inicial de CD138 + e depois diluída em série por um fator de dois com WB ou BM para atingir ~ 20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,63%, 0,31%, 0,16%, 0,08% e 0% (isto é, WB ou BM não enriquecidos com células SK-MM-2). Cada amostra foi enriquecida em duplicado utilizando o Kit de Seleção Positiva EasySep™ Human Bone Marrow CD138, e todas as amostras não enriquecidas e enriquecidas foram avaliadas por citometria de fluxo e/ou tiveram a disposição t(11;14) analisada por FISH.

Os resultados do estudo de limite de detecção EasySep™ CD138, incluindo a pureza das células CD138+ não enriquecidas e enriquecidas, medida por citometria de fluxo e a disposição t(11;14) analisada por FISH, foram revisados. Todas as amostras inventadas enriquecidas com células SK-MM-2, visando uma frequência CD138+ inicial tão baixa quanto 0,08%, resultaram em disposição t(11;14) anormal na análise FISH. A pureza enriquecida de CD138+ medida por citometria de fluxo correlacionou-se positivamente com a percentagem de núcleos anormais observados na análise FISH a jusante. A pureza média de CD138+ enriquecido que resultou em disposição anormal de t(11;14) em FISH foi de 33% de CD138+, enriquecendo a partir de amostras com uma pureza média não enriquecida de 0,08% de CD138+. Para amostras de frequência CD138+ alvo inicial de 0,00%, quatro dos seis doadores resultaram em disposição t(11;14) normal na análise FISH, no entanto, um doador de medula óssea e um doador de sangue total tiveram apenas uma réplica considerada normal e a outra réplica inconclusiva devido ao número insuficiente de células recuperadas. Em conclusão, o estudo de limite de detecção EasySep™ CD138 mostrou que o kit de seleção positiva CD138 de medula óssea humana EasySep™ foi capaz de enriquecer consistentemente a partir de amostras artificiais com frequência CD138+ inicial de 0,05% - 25,06% e alcançou padrões FISH anormais consistentes. O limite de detecção para o Kit de Seleção Positiva CD138 de Medula Óssea Humana EasySep™ foi definido em 0,05% da frequência CD138+ inicial.

Confirmação do limite de detecção (LoD) com amostras clínicas de medula óssea de mieloma múltiplo

O objetivo deste estudo foi verificar o LoD a 0,05% da frequência CD138 inicial, determinada no estudo anterior do LoD em amostras artificiais numa amostra clínica utilizando dois lotes de kits, com três réplicas por lote de kits. O enriquecimento de células CD138+ foi realizado em uma amostra clínica produzida pela adição de um aspirado de medula óssea de um paciente com mieloma múltiplo em um aspirado de medula óssea de um doador saudável a uma frequência CD138 inicial de 0,05%. A amostra clínica foi lavada e dividida em seis frações para enriquecimento de células EasySep™ CD138, utilizando dois lotes de kits com três réplicas por lote de kits. As amostras enriquecidas foram divididas em duas frações: uma fração foi utilizada para avaliação da pureza das células plasmáticas por citometria de fluxo e a segunda fração foi utilizada para FISH.

A pureza das células plasmáticas foi determinada antes e depois do enriquecimento usando dois lotes de kits do kit de seleção positiva EasySep™ Human Bone Marrow CD138 com três réplicas por lote de kit. A amostra foi enriquecida de 0,05% para uma faixa de 4,1 - 7,4%. O CV geral de pureza enriquecida foi de 19,7%, passando nos critérios de aceitação de CV geral ≤ 35%. Todas as amostras enriquecidas tinham padrões normais de sinal FISH para polissomia dos cromossomos 5 e 15 (D5S23, D15Z4), quebra de MYC e sondas CCND1/IGH XT; e eram anormais para deleção do cromossomo 13q (D13S319) e TP53. A disposição FISH das amostras enriquecidas foi a mesma que a disposição FISH da amostra clínica não diluída, com 100% das réplicas sendo anormais para deleção do cromossomo 13q (D13S319) e TP53.

INTERFERÊNCIA ANTICOAGULANTE

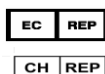
Três amostras clínicas frescas de medula óssea de mieloma múltiplo foram recrutadas para este estudo. Uma amostra foi processada aproximadamente 20 horas após a coleta, uma amostra foi processada aproximadamente 24 horas após a coleta e a terceira amostra foi processada aproximadamente 22 horas após a coleta. Cada amostra foi dividida em duas frações. Uma fração foi tratada com PBS (o controle), enquanto a outra foi enriquecida com excesso de 3X de heparina sódica. Réplicas únicas de cada fração foram então lavadas e enriquecidas usando o Kit de Seleção Positiva EasySep™ Human Bone Marrow CD138. A pureza do CD138 foi determinada por citometria de fluxo e depois comparada para determinar se o excesso de heparina causava interferência no enriquecimento e pureza do CD138. Um segundo estudo avaliou um total de 3 amostras clínicas preparadas adicionando células mononucleares da medula óssea do mieloma múltiplo em aspirados de medula óssea de um doador saudável aspirado com uma frequência basal de CD138 < 0,2%. Foram testadas três réplicas por amostra e por condição (ou seja, com/sem excesso de heparina sódica). As purezas enriquecidas das amostras enriquecidas com heparina sódica não foram estatisticamente diferentes daquelas das amostras de controle em cada estudo (teste t unicaudal, p = 0,1971 e p = 0,2740, respectivamente). Os resultados indicaram que o excesso de heparina sódica não interferiu no enriquecimento de células plasmáticas CD138+.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Assistência Técnica

NOTA: Encomende novamente usando o Catálogo #100-1133, um kit que compreende o EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit (REF 100-0748) e o EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (REF 100-0749).

Esta PIS também está disponível em várias línguas nacionais em formato eletrônico no site na Web da STEMCELL e pode ser fornecida em cópia impressa mediante pedido.

Para apoio técnico, contactar techsupport@stemcell.com ou telefonar gratuitamente para +1.604.877.0713 (Canadá), +1.800.667.0322 (América do Norte), ou 00800 7836 2355 (Europa). Para mais informação, visitar www.stemcell.com.

Exclusões, acréscimos ou alterações são indicados pela barra de alterações na margem.

Todos os incidentes sérios que ocorrerem relacionados com o dispositivo serão reportados ao fabricante e à autoridade competente do estado membro em que o utilizador estiver estabelecido.

 Apenas para uso com receita médica	 Número de catálogo ou de referência	 Código de lote	 Válido até: AAAA-MM-DD	 Cuidado, consultar os documentos acompanhantes	 Dispositivo Médico para Diagnóstico In Vitro
 Para armazenagem dentro dos limites de temperaturas	 Consultar as Instruções de Utilização ou as Instruções de Utilização eletrónicas	 Não utilizar se a embalagem estiver danificada	 Identificador exclusivo do dispositivo	 Marca da UE	 Fabricante
 Representante autorizado da CE na Comunidade Europeia	 Representante autorizado na Suíça				

Bibliografia

- Colander et al. (2022) Multiple Myeloma, Version 3.2022: Featured Updates to the NCCN Guidelines. JNCCN 20(1): 8–19.
- Kumar S et al. (2020) Multiple Myeloma, Version 3.2021. JNCCN 18(12): 1685–717.
- Dimopoulos et al. (2021) Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 32(3): 309–22.
- Caers et al. (2018) European Myeloma Network recommendations on tools for the diagnosis and monitoring of multiple myeloma: what to use and when. Haematologica 103(11): 1772–84.
- Shin SY et al. (2012) Application of an immune-magnetic cell sorting method for CD138-positive plasma cells in FISH analysis of multiple myeloma. Int J Lab Hematol 34(5):541–6.
- Shetty S et al. (2012) Utility of a column-free cell sorting system for separation of plasma cells in multiple myeloma FISH testing in clinical laboratories. Int J Hematol 95(3): 274–81.
- Kishimoto RK et al. (2016) Validation of interphase fluorescence in situ hybridization (iFISH) for multiple myeloma using CD138 positive cells. Rev Bras Hematol Hemoter 38(2): 113–20.
- The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4th ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc; 2017.
- Pozdnyakova O et al. (2009) Interphase FISH in plasma cell dyscrasia: increase in abnormality detection with plasma cell enrichment. Cancer Genetics and Cytogenetics 189:112–7.

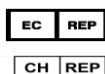
Direitos Autorais © 2025 por STEMCELL Technologies Inc. Todos os direitos reservados, incluindo gráficos e imagens. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, EasySep, e RapidSpheres são marcas comerciais de STEMCELL Technologies Canada Inc. Todas as outras marcas comerciais são propriedade dos seus respetivos titulares. Apesar de a STEMCELL ter feito todos os esforços razoáveis para assegurar que a informação fornecida pela STEMCELL e seus fornecedores está correta, não são dadas quaisquer garantias ou representações quanto à exatidão ou integralidade dessa informação.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit

Per processare fino a 60 mL di midollo osseo

REF 100-0748

Selezione Positiva

Documento #10000019127 | Versione 01



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713

INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM

FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

ITALIANO

Per uso diagnostico in vitro

R solo

Uso Previsto

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit è un dispositivo diagnostico in vitro destinato ad arricchire le cellule CD138+ dal midollo osseo raccolto da pazienti con diagnosi di mieloma multiplo. Le cellule CD138+ vengono arricchite mediante selezione immunomagnetica positiva per l'uso in test a valle convalidati. L'utente finale è responsabile della convalida di questo kit per l'uso con il test. Per uso diagnostico in vitro da parte di professionisti di laboratorio.

Contesto

Il mieloma multiplo è un tumore maligno del sangue caratterizzato dall'accumulo di neoplasie delle plasmacellule nel midollo osseo.¹ Negli Stati Uniti, il mieloma multiplo rappresenta l'1,8% di tutti i tumori ed è tipicamente diagnosticato tra le persone di età compresa tra 65 e 74 anni.² Diversi sottotipi di malattia sono stati identificati a livello genetico e molecolare, e specifiche anomalie cromosomiche hanno implicazioni prognostiche che consentono la stratificazione del rischio dei pazienti.²

Le direttive per il consenso stabilite da esperti di oncologia degli Stati Uniti e dell'UE e raccolte nelle linee guida pubblicate dalla National Comprehensive Cancer Network (NCCN)², dalla European Society for Myeloma³, e dalla European Myeloma Network⁴ raccomandano l'analisi citogenetica delle plasmacellule ottenute da campioni di midollo osseo mediante ibridazione in situ fluorescente (*fluorescence in situ hybridization*; FISH) in sede di diagnosi iniziale e come metodo di follow-up e sorveglianza durante la recidiva.²⁻⁴

La frequenza delle plasmacellule nel midollo osseo di pazienti affetti da mieloma multiplo può essere molto variabile in sede di diagnosi e durante la recidiva. Le plasmacellule possono essere isolate dal midollo osseo mediante selezione immunomagnetica positiva di cellule che esprimono l'antigene di superficie CD138 (syndecan-1).³ In letteratura è stato riportato che l'arricchimento delle plasmacellule ottenute dal midollo osseo prima del test FISH per il mieloma multiplo aumenta la velocità e la frequenza delle anomalie genetiche rilevate tramite FISH (Figura 1).⁵⁻⁷

Principio di Funzionamento

Il EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit umano è previsto per un utilizzo manuale nell'arricchimento delle cellule che esprimono l'antigene di superficie CD138 ottenute da campioni di midollo osseo umano intero fresco mediante selezione immunomagnetica positiva. Questo kit prepara le cellule CD138+ per la selezione positiva tramite un anticorpo che riconosce il marcatore superficiale CD138. Le cellule desiderate vengono etichettate con anticorpi e particelle magnetiche e separate utilizzando un magnete "The Big Easy" EasySep™. Le cellule indesiderate vengono versate via, mentre le cellule CD138+ isolate rimangono nella provetta. Il EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit include volumi di reagenti sufficienti per il trattamento da 30 mL a 60 mL di midollo osseo e dipende dal livello di cellularità dei campioni.

Descrizione dei Componenti

Il EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit è costituito dai seguenti componenti elencati nella Tabella 1.

Tabella 1. Componenti del EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit

Nome del Componente	Componente n.	Quantità	Contenuto
EasySep™ Human Bone Marrow Positive Selection Cocktail	300-0394	3 x 1 mL*	Una combinazione di anticorpi monoclonali in D-PBS con 0,09% di rHA. Comprende un anticorpo che blocca i recettori Fc.
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105	300-0400	3 x 1 mL*	Sospensione di particelle magnetiche in acqua.

* È possibile utilizzare una fiala da 1 mL di ciascun componente per processare fino a 20 mL di midollo osseo a seconda del livello di cellularità del campione (fare riferimento alle Istruzioni per l'uso, Passaggio 5 di questo documento).

D-PBS - soluzione salina tamponata con fosfati di Dulbecco; rHA - albumina umana ricombinante



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Materiale Fornito

EASYSEP™ RED BLOOD CELL LYSIS BUFFER

Il EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit viene sempre fornito accompagnato dal EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (Catalogo #100-0749), 1 x 20 mL. Questo tampone è fornito con concentrato 10X. Preparare il tampone per la lisi 1X almeno 1 ora prima dell'uso aggiungendo 1 parte di tampone per la lisi 10X a 9 parti di acqua distillata o di Tipo 1*. Mescolare delicatamente e completamente prima dell'uso.

Consultare la scheda informativa sul prodotto (*Product Information Sheet*, PIS; Documento #10000017274) del EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (Catalogo #100-0749), disponibile su www.stemcell.com/0749. Contattare il numero verde indicato nella sezione Assistenza Tecnica di questo documento per richiedere gratuitamente una copia cartacea di questa PIS.

*L'acqua di Tipo 1 si riferisce all'acqua ultrapura adatta all'uso nelle procedure analitiche. Viene definita dall'American Society for Testing and Materials (ASTM) come avente una resistività di > 18 MΩ-cm, una conduttività di < 0,056 µS/cm e < 50 ppb di carbonio organico totale (TOC).

Controllo di Qualità

Il EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit è prodotto in conformità ai regolamenti 21 CFR Part 820 e ISO 13485. Per ulteriori informazioni sulla qualità, consultare il sito www.stemcell.com/compliance.

Conservazione e Stabilità

Tabella 2. Conservazione e Stabilità

Nome del componente	Componente n.	Conservazione
EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail	300-0394	2 - 8°C
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105	300-0400	2 - 8°C
EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate	100-0749	temperatura ambiente (15 - 25°C)

I componenti possono essere spediti a temperatura ambiente ma devono essere conservati come sopra indicato. Non congelare. Tutti i componenti sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.

NOTA: Il EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (1X) può essere conservato a 2 - 8°C per un massimo di 3 mesi. Non superare la data di scadenza (data di utilizzo) del tampone 10X originale.

Accessori Richiesti ma Non Inclusi

I materiali elencati nella Tabella 3 sono accessori del EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. Questi materiali non sono inclusi nel kit e possono essere acquistati separatamente.

Tabella 3. Accessori richiesti ma Non inclusi

Nome del Componente	Componente n.	Quantità	Conservazione	Durata di Conservazione	Descrizione
"The Big Easy" EasySep™ Magnet	18001	1	Conservare a 15 - 25°C.	Non applicabile	Magnete per la separazione immunomagnetica senza colonne.
EasySep™ Buffer	100-0780	1 x 1 L	Conservare a 2 - 8°C.	Stabile fino alla data di scadenza (EXP) riportata in etichetta.	Tampone di separazione cellulare.

"THE BIG EASY" EASYSEP™ MAGNET

Il "The Big Easy" EasySep™ Magnet genera un campo magnetico ad alto gradiente per la separazione delle cellule ed è previsto per l'uso con il EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. Il "The Big Easy" EasySep™ Magnet è progettato per contenere una provetta standard a fondo tondo in polistirene da 14 mL (17 x 95 mm).

EASYSEP™ BUFFER

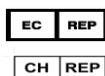
Consultare la scheda informativa prodotto (*Product Information Sheet*; PIS) (Documento #10000016106) del EasySep™ Buffer (Catalogo #100-0780), disponibile su www.stemcell.com/0780. Contattare il numero verde indicato nella sezione Assistenza Tecnica di questo documento per richiedere gratuitamente una copia cartacea di questa PIS.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Materiali Necessari ma non Forniti

I materiali elencati di seguito sono articoli di laboratorio a uso generico richiesti ma non inclusi.

- Soluzione salina tamponata con fosfati di Dulbecco (senza Ca++ e Mg++; per esempio, Catalogo #37350)
- Soluzione DNase I (per esempio, Catalogo #07900)
- Filtro da 70 µm (per esempio, Catalogo #27216)
- Provetta a fondo tondo in polistirene da 14 mL (17 x 95 mm) (per esempio, Catalogo #38008)
- Provetta conica da 50 mL (per esempio, Catalogo #38010)

Limitazioni

1. PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO
2. L'uso del dispositivo è previsto per l'arricchimento di cellule CD138+ da pazienti che hanno o potrebbero avere una diagnosi di cancro.
3. Le caratteristiche prestazionali di questo dispositivo non sono state stabilite per test diagnostici generali a valle. Gli utenti finali devono convalidare l'uso con eventuali test successivi e dispositivi di raccolta dei campioni.
4. Il dispositivo autonomo non è destinato all'enumerazione delle cellule. Il dispositivo è destinato esclusivamente all'arricchimento di cellule CD138+ nei campioni in modo che i campioni arricchiti possano poi essere utilizzati in ulteriori elaborazioni/analisi utilizzando metodi aggiuntivi indipendenti, come la FISH.
5. Il dispositivo autonomo non è destinato all'uso diagnostico, prognostico o di monitoraggio con cellule CD138+, né come ausilio nella gestione della malattia e/o nelle decisioni terapeutiche. I risultati del dispositivo autonomo non forniscono informazioni al paziente riguardo al suo attuale stato di salute. Il dispositivo autonomo non diagnostica alcuna condizione di salute e non sostituisce le visite da un medico o da un altro operatore sanitario.
6. Risospendere il campione di midollo osseo in base al volume del campione o ai livelli di cellularità secondo le istruzioni fornite nella sezione Preparazione del campione.
7. Seguire tutti i passaggi del protocollo elencati nelle Istruzioni per l'uso. L'esecuzione impropria del protocollo può portare a risultati variabili e/o scarsi.
8. Una frequenza iniziale bassa di CD138+ (< 3%) può portare a variabilità nella purezza delle cellule CD138+ arricchite. Gli utenti finali possono valutare la purezza delle cellule CD138+ dopo l'arricchimento mediante immunofenotipizzazione mediante citometria a flusso o valutazione morfologica mediante microscopia.
9. La stabilità del midollo osseo può essere compromessa dopo 48 ore dal prelievo.
10. Il numero di plasmacellule CD138+ isolate dal midollo osseo mediante selezione immunomagnetica può essere ridotto nei pazienti sottoposti o sottoposti a trattamento per il mieloma multiplo.
11. Se non si osservano schemi FISH anomali quando si utilizzano più sonde FISH, richiedere assistenza tecnica contattando techsupport@stemcell.com.

Avvertenze e precauzioni

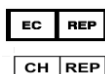
1. Informazioni importanti riguardanti la manipolazione, il trasporto e lo smaltimento in sicurezza di questi prodotti sono contenute nelle Schede di sicurezza (SDS).
NOTA: le schede dati di sicurezza dei reagenti forniti nel kit sono disponibili sul sito www.stemcell.com.
2. Questo prodotto deve essere maneggiato da personale addestrato osservando le buone pratiche di laboratorio. Una volta aggiunto questo prodotto alle cellule umane, trattare la sospensione come potenzialmente pericolosa dal punto di vista biologico. La manipolazione dei reagenti e lo smaltimento dei rifiuti devono rispettare tutte le normative locali, statali o nazionali.
3. Questo prodotto è potenzialmente irritante per gli occhi, il sistema respiratorio e la pelle. Questo prodotto può anche essere dannoso se ingerito. Evitare l'esposizione attraverso la pelle e gli occhi contatto, inalazione e ingestione.
4. ATTENZIONE: il magnete EasySep™ genera un forte campo magnetico. Tenere lontano da pacemaker, magneti, dischi di computer, orologi e altri oggetti che rispondono ai campi magnetici.
5. Assicurarsi che le fiale siano adeguatamente tappate durante la conservazione. La corretta manipolazione e conservazione dei componenti del kit è essenziale per garantire la durata di conservazione e le prestazioni del kit indicate sull'etichetta. L'arricchimento delle cellule CD138+ può essere influenzato negativamente dalla conservazione dei componenti del kit al di fuori delle condizioni di conservazione consigliate.
6. Non utilizzare il prodotto se l'integrità del contenitore dell'imballaggio è stata compromessa al momento dell'arrivo o se sono presenti segni di contaminazione, essiccazione, perdite o qualsiasi altra prova di deterioramento. Il prodotto inutilizzato può essere smaltito secondo le procedure standard di laboratorio per liquidi non pericolosi.
7. Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza indicata sulla sua etichetta.
8. Non congelare EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105. Se EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 sono raggruppati o non possono essere dispersi uniformemente, contattare techsupport@stemcell.com.
9. Non agitare nel vortex il cocktail di selezione positiva CD138 di midollo osseo umano EasySep™.
10. Il kit di selezione positiva EasySep™ Human Bone Marrow CD138 è progettato per l'uso con un minimo di 1 mL di midollo osseo fresco. I campioni devono essere analizzati il prima possibile, preferibilmente entro 24 ore ma non oltre 72 ore dal prelievo dell'aspirato di midollo osseo. Non congelare o trasportare il midollo osseo a diretto contatto con impacchi freddi/ghiacciati né esporre a temperature superiori a 30°C prima dell'uso. Seguire le istruzioni per la preparazione del campione di midollo osseo fornite in Preparazione del campione.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Istruzioni per l'Uso

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Il EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit è previsto per l'uso con midollo osseo intero umano fresco. Le raccomandazioni per la raccolta dei campioni sono disponibili nel Manuale di laboratorio AGT Cytogenetics.⁶ Le raccolte di aspirato del midollo osseo devono essere eseguite secondo le linee guida istituzionali di laboratorio. Almeno 1 mL di aspirato del midollo osseo deve essere raccolto in una provetta per la raccolta del sangue contenente un anticoagulante.

Per evitare la degradazione del campione, la perdita di CD138 dalle fragili plasmacellule e per mantenere la vitalità cellulare, i campioni devono essere trattati il prima possibile, preferibilmente entro 24 ore ma non oltre 72 ore dopo la raccolta dell'aspirato del midollo osseo. Non congelare o trasportare il midollo osseo a diretto contatto con sacchetti del ghiaccio, né esporlo a temperature superiori a 30°C prima dell'uso.

Le prestazioni ottimali del protocollo richiedono la raccolta, la conservazione e il trasporto appropriati dei campioni al sito del test.

Seguire i passaggi elencati di seguito nella preparazione del campione per l'arricchimento cellulare:

1. Diluire il campione da 5 a 10 volte nella soluzione salina tamponata con fosfati di Dulbecco (D-PBS) e miscelare delicatamente pipettando su e giù.
 2. Pre-inumidire un filtro da 70 µm con D-PBS. Filtrare il campione attraverso il filtro pre-inumidito per rimuovere frammenti ossei, aggregati cellulari e detriti. Risciacquare il filtro con D-PBS.
 3. Centrifugare le cellule a 300 x g per 10 minuti (intervallo accettabile di 250 - 300 x g per 8 - 12 minuti) con il freno disattivato.
 4. Usando una pipetta, rimuovere con cura ed eliminare il plasma, senza disturbare lo strato leucocitario-piastrinico (buffy coat)/pellet di globuli rossi. Non versare. Quando si lavora con campioni di midollo osseo di età > 24 ore, aggiungere 50 µL di 1 mg/mL di soluzione di DNase I direttamente al buffy coat/pellet di globuli rossi e risospendere. Incubare a temperatura ambiente (15 - 25°C) per 15 - 30 minuti prima di eseguire la separazione cellulare.
 4. NOTA: conservare la soluzione di DNase I a -20°C. Aliquotare la soluzione di DNase I nei volumi di lavoro per evitare ripetuti cicli di congelamento-scongelo.
- Suggerimento: in alternativa, la soluzione di DNase I conservata a 2 - 8°C può essere utilizzata fino a 1 settimana.
5. Risospendere il buffy coat/pellet di globuli rossi a 1 - 2 volte il volume originale iniziale del campione di midollo osseo con il EasySep™ Buffer (Tabella 4).
 - Se il volume del campione originale era ≥ 2,5 mL, diluire al volume del campione originale.
 - Se il volume del campione originale era < 2,5 mL, diluire al doppio del volume del campione originale.
 - In alternativa, se si prevede che il campione abbia un'elevata cellularità (> 70%) o se la cellularità non è nota, diluire al doppio del volume del campione originale.

Tabella 4. Volumi EasySep™ Buffer

Volume del Campione Originale	Volume del Campione Dopo la Risospensione con EasySep™ Buffer
1 mL	2 mL
2 mL	4 mL
2,5 mL	2,5 mL
3 mL	3 mL
4 mL	4 mL
4,5 mL	4,5 mL

SEPARAZIONE CELLULARE

6. Preparare il EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (indicato come EasySep™ RBC Lysis Buffer) (1X) almeno 1 ora prima dell'uso. Il EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer viene fornito come concentrato 10X.
 - a. Aggiungere 1 parte di EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer a 9 parti di acqua distillata o di Tipo 1.
 - b. Mescolare delicatamente e completamente prima dell'uso.

NOTA: Se non viene utilizzato immediatamente, conservare il EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (1X) a 2 - 8°C per un massimo di 3 mesi. Non congelare.
 7. Preparare il campione in un intervallo di volume compreso tra 1 e 4,5 mL e aggiungerlo alla provetta richiesta. Se il volume è > 4,5 mL, suddividere il campione in due provette a fondo tondo da 14 mL.
 8. Aggiungere al campione un volume uguale di EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (1X) preparato al punto 6. Ad esempio, se il volume del campione è di 2 mL dopo la risospensione con EasySep™ Buffer (fase 5), aggiungere 2 mL di EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (1X) al campione.
 9. Aggiungere 25 µL di EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail per 1 mL di campione diluito (fase 8). Mescolare e incubare a temperatura ambiente (15 - 25°C) per 3 minuti (fino a un massimo di 5 minuti). Ad esempio, se il volume del campione diluito è di 4 mL, aggiungere al campione 100 µL di EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail.
- NOTA: Non agitare con vortex il cocktail.
10. Agitare con vortex EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 per almeno 30 - 40 secondi. Le particelle devono apparire disperse uniformemente.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

11. Aggiungere 25 µL di EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 per 1 mL di campione diluito. Mescolare e incubare a temperatura ambiente (15 - 25°C) per 3 minuti (fino a un massimo di 5 minuti).
12. Aggiungere il EasySep™ Buffer per rabboccare il campione fino al volume indicato di seguito. Mescolare pipettando delicatamente su e giù 2 - 3 volte.
 - Rabboccare fino a 5 mL per campioni diluiti < 2,5 mL
 - Rabboccare fino a 10 mL per campioni diluiti ≥ 2,5 mL
13. Posizionare la provetta (senza coperchio) nel "The Big Easy" EasySep™ Magnet e incubare a temperatura ambiente (15 - 25°C) per 10 minuti (fino a un massimo di 11 minuti).
14. Prendere il magnete e, con un movimento continuo, capovolgere il magnete e la provetta per far fuoriuscire il surnatante. Rimuovere la provetta dal magnete; questa provetta contiene le cellule isolate. Scartare il surnatante.
 NOTA: Lasciare il magnete e la provetta capovolti per 2 - 3 secondi, quindi rimettere in posizione verticale. Non scuotere né asciugare eventuali gocce che restino sull'orlo della provetta.
15. Aggiungere il EasySep™ Buffer per rabboccare il campione fino al volume indicato di seguito. Mescolare pipettando delicatamente su e giù 2 - 3 volte.
 - Rabboccare fino a 5 mL per campioni diluiti < 2,5 mL
 - Rabboccare fino a 10 mL per campioni diluiti ≥ 2,5 mL
16. Posizionare la provetta (senza il coperchio) nel magnete e incubare a temperatura ambiente (15 - 25°C) per 3 minuti (fino a un massimo di 5 minuti).
17. Prendere il magnete e, con un movimento continuo, capovolgere il magnete e la provetta per far fuoriuscire il sopranatante. Rimuovere la provetta dal magnete; questa provetta contiene le cellule isolate. Scartare il sopranatante.
 NOTA: Lasciare il magnete e la provetta capovolti per 2 - 3 secondi, quindi rimettere in posizione verticale. Non scuotere né asciugare eventuali gocce che restino sull'orlo della provetta.
18. Aggiungere il EasySep™ Buffer per rabboccare il campione fino al volume indicato di seguito. Mescolare pipettando delicatamente su e giù 2 - 3 volte.
 - Rabboccare fino a 5 mL per campioni diluiti < 2,5 mL
 - Rabboccare fino a 10 mL per campioni diluiti ≥ 2,5 mL
19. Posizionare la provetta (senza il coperchio) nel magnete e incubare a temperatura ambiente (15 - 25°C) per 3 minuti (fino a un massimo di 5 minuti).
20. Prendere il magnete e, con un movimento continuo, capovolgere il magnete e la provetta per far fuoriuscire il sopranatante. Rimuovere la provetta dal magnete; questa provetta contiene le cellule isolate. Scartare il sopranatante.
 NOTA: Lasciare il magnete e la provetta capovolti per 2 - 3 secondi, quindi rimettere in posizione verticale. Non scuotere né asciugare eventuali gocce che restino sull'orlo della provetta.
21. Risospendere le cellule nel terreno desiderato. Accertarsi di raccogliere le cellule dai lati della provetta. Le cellule arricchite possono essere utilizzate in ulteriori trattamenti/analisi utilizzando metodi indipendenti aggiuntivi, come il test FISH, che sono stati validati dagli utenti finali.

Riepilogo delle Prestazioni

STUDIO CLINICO

È stato condotto uno studio clinico utilizzando il kit di selezione positiva CD138 per midollo osseo umano EasySep™ su 33 campioni clinici di midollo osseo provenienti da pazienti con mieloma multiplo a vari stadi della malattia. I campioni clinici sono stati valutati utilizzando un pannello di cinque sonde FISH comuni che hanno rilevato sei anomalie genomiche che includevano una sonda CCND1/IGH XT per rilevare la traslocazione t(11;14), nonché sonde per rilevare il cromosoma 5 (D5S23) e il cromosoma 15 polisomia (D15Z4) (kit a sonda singola), rottura di MYC, delezione 13q (D13S319) e delezione TP53 (D17Z1). Dei 33 pazienti, 32 erano positivi per almeno una sonda FISH e 14 pazienti avevano almeno una sonda FISH che forniva un modello di segnale anomalo solo dopo l'arricchimento con EasySep™ CD138. La purezza del CD138, misurata mediante citometria a flusso, era del 12,9% (intervallo 0,2% - 82,7%) nei campioni non arricchiti ed è aumentata al 79,6% (intervallo 18,5% - 98,6%) nei campioni arricchiti con EasySep™ CD138.

L'arricchimento per la purezza del CD138 era > 1 e variava in base alla frequenza iniziale* per tutti i campioni con frequenze del CD138 < 40% prima dell'arricchimento. In questo studio, l'arricchimento delle pieghe è stato 65,9 (intervallo 29,6 - 91,5) per campioni con frequenze iniziali di CD138 < 3%, 11,9 (intervallo 5,1 - 23,0) per campioni con frequenze iniziali di CD138 comprese tra 3 - 15% e 3,2 (1,6 - 5,3) per campioni con frequenze iniziali di CD138 comprese tra il 15 e il 40% prima dell'arricchimento.

*NOTA: per i campioni con frequenze CD138 > 40%, potrebbe non essere necessario l'arricchimento delle plasmacellule prima della FISH.⁹

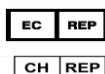
Nell'analisi sono stati inclusi solo i campioni con un pattern di segnale FISH anomalo per ciascuna sonda. La percentuale di nuclei anomali prima (non arricchiti) e dopo l'arricchimento è aumentata delle seguenti quantità per ciascuna sonda: sonda CCND1/IGH (t(11;14)): da 15,4 ± 15,5% a 77,3 ± 29,5% (n = 14); sonda cromosoma 5 (D5S23): da 25,0 ± 19,1% a 72,7 ± 17,4% (n = 15); sonda cromosoma 15 (D15Z4): da 20,0 ± 15,9% a 57,3 ± 23,6% (n = 16); sonda frammentazione MYC: da 21,2 ± 21,7% a 50,7 ± 33,5% (n = 10); sonda delezione 13q (D13S319): da 15,5 ± 16,9% a 81,4 ± 15,2% (n = 19); sonda TP53 (D17Z1): da 22,8 ± 23,5% a 48,8 ± 32,9% (n = 5).



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
 European toll-free number: 00800 7836 2355
 North American toll-free number: +1.800.667.0322
 email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
 Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
 Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland

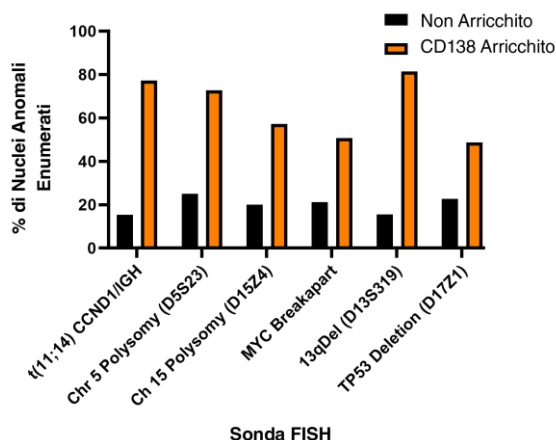


Document #1000019127
 Version 01

Issue Date 2025-01

La Figura 1 mostra che la percentuale di nuclei anomali rilevati per ciascuna sonda era più elevata dopo l'arricchimento con EasySep™ CD138 rispetto al campione prima dell'arricchimento ed è stata generata utilizzando un sottoinsieme del set di dati completo (non mostrato) in cui solo i campioni con un modello di segnale FISH anomalo per ciascuna sonda è stata inclusa nell'analisi.

Figura 1. Percentuale di Nuclei Anomali Contati Nelle Plasmacellule Prima (Non Arricchite) e Dopo L'arricchimento Utilizzando Il EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit



STUDIO DELLA RIPRODUCIBILITA'

Riproducibilità con campioni artificiali

È stato condotto uno studio per dimostrare la riproducibilità del processo di arricchimento in tre siti di studio utilizzando tre lotti di kit di EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. A causa delle difficoltà legate alla disponibilità di campioni adeguati per tre siti, lo studio è stato condotto utilizzando campioni artificiali generati aggiungendo una linea cellulare di mieloma multiplo al sangue intero di donatori sani ogni giorno a livelli bassi (<3%), medi (3-15%) o frequenze CD138+ iniziali elevate (>15%) per creare 16 campioni o membri del pannello. Sono stati studiati più membri del panel ai livelli basso e medio (6 contro 4 per il livello alto) per dimostrare l'arricchimento ai livelli più impegnativi.

La Tabella 5 mostra un riepilogo statistico della variabilità complessiva, da sito a sito, da lotto a lotto e del fold-arricchimento dei membri del pannello CD138+ alto, medio e basso. L'arricchimento ha aumentato una media di 85,7 volte nei campioni con frequenza iniziale CD138+ bassa, 9,3 volte nei campioni con frequenza iniziale CD138+ media e 3,8 volte nei campioni con frequenza iniziale CD138+ alta.

Tabella 5. Riepilogo della Riproducibilità EasySep™ CD138 e della Variabilità dello Studio sull'arricchimento della Piega

Frequenza iniziale CD138+	N	Ripetibilità CV (%)	CV tra siti (%)	CV tra lotti (%)	Riproducibilità CV (%)	Arricchimento delle pieghe
		Media (Min - Max)	Media (Min - Max)	Media (Min - Max)	Media (Min - Max)	Media (Min - Max)
Alta (> 15%)	4	0,7 (0,5 - 0,9)	4,0 (2,8 - 5,9)	0,9 (0,5 - 1,6)	4,0 (2,8 - 6,0)	3.8 (2.6 - 5.5)
Media (3 - 15%)	6	1,6 (0,8 - 3,0)	4,2 (2,1 - 6,8)	2,3 (1,0 - 3,9)	4,5 (2,2 - 7,0)	9.3 (5.0 - 15.4)
Bassa (< 3%)	6	5,4 (3,5 - 8,9)	9,7 (5,5 - 13,8)	8,6 (4,5 - 14,2)	11,9 (8,2 - 18,3)	85.7 (20.2 - 206.0)

CV - coefficiente di variazione

Riproducibilità con campioni clinici

Tre lotti del kit di selezione positiva EasySep™ Human Bone Marrow CD138 sono stati testati su aspirati di midollo osseo (BMA) di pazienti affetti da mieloma multiplo per valutarne le prestazioni nei test FISH a valle. Sono stati testati un totale di 9 BMA clinici per mieloma multiplo, dove ciascun campione è stato diviso a metà per testare l'arricchimento con due diversi lotti del kit di selezione positiva EasySep™ Human Bone Marrow CD138. La percentuale di nuclei anomali è stata analizzata utilizzando cinque sonde FISH che rilevano anomalie cromosomiche comuni del mieloma multiplo, inclusa la traslocazione t(11;14) (CCND1/IGH XT), le aneusomie dei cromosomi 5, 9 e 15 (D5S23, D5S72, CEP 9, CEP 15) e delezione 13q14.

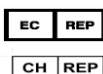
Sulla base dei risultati dello studio, tre BMA hanno fornito modelli di segnali FISH normali per tutte e cinque le sonde testate. Una BMA era anomala per la traslocazione t(11;14) e quattro BMA presentavano schemi di segnale anomali per la delezione 13q. In tutti e nove i BMA analizzati, la percentuale di cellule anomale per ciascuna sonda era molto simile tra le plasmacellule arricchite con i due lotti del kit EasySep™ CD138. La stessa disposizione normale/anomala per una determinata sonda era concordante tra le coppie di lotti del kit di selezione positiva EasySep™ Human Bone Marrow CD138. In tutti i casi, la disposizione normale/anomala era concorde, indicando che il kit EasySep™ è in grado di produrre risultati FISH riproducibili se utilizzato sul campione d'uso previsto.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

PRECISIONE

È stato eseguito uno studio di precisione in cui, in tre giorni non consecutivi, un campione di midollo osseo di un donatore sano è stato arricchito con la linea cellulare CD138+ SK-MM-2 a un livello basso (< 3%) e medio (3 - 15%). La frequenza iniziale CD138+ per generare due membri del pannello campione separati è inventata. Due operatori hanno eseguito gli arricchimenti EasySep™ in ciascuno dei giorni di studio, con ciascun operatore che arricchiva da uno dei due membri del pannello. Ciascun operatore ha eseguito tre serie di arricchimenti in quadruplicato su un membro del pannello utilizzando un lotto di kit.

La purezza delle cellule CD138+ non arricchite e arricchite è stata determinata mediante analisi di citometria a flusso per ciascuna delle tre analisi di tutti i membri del pannello. Le stime di precisione della ripetibilità della purezza arricchita (% CV su quattro replicati all'interno di una corsa, n = 4 per corsa, 3 corse per membro del pannello) variavano da 0,81 a 1,56% e 0,17 - 1,41% rispettivamente per i membri del pannello con frequenza iniziale CD138+ bassa e media, indicando che la variabilità della purezza delle cellule CD138+ arricchite è ben controllata all'interno della corsa.

LIMITE DI RILEVAMENTO

Limite di rilevamento (LoD) con campioni artificiali

Lo studio mirava a determinare la frequenza iniziale più bassa di CD138+ che fornisce risultati FISH anomali coerenti in un campione artificiale dopo l'arricchimento di cellule CD138+ utilizzando il kit di selezione positiva CD138 di midollo osseo umano EasySep™. In sei giorni non consecutivi, un campione di sangue intero (WB) o di midollo osseo (BM) di un donatore sano è stato arricchito con la linea cellulare CD138+ SK-MM-2 al 20% (intervallo accettabile 26-14% mediante citometria a flusso). Frequenza iniziale CD138+ e quindi diluito in serie di un fattore due con WB o BM per ottenere ~20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,63%, 0,31%, 0,16%, 0,08% e 0% (cioè WB o BM non addizionati con cellule SK-MM-2). Ciascun campione è stato arricchito in duplicato utilizzando il kit di selezione positiva EasySep™ Human Bone Marrow CD138 e tutti i campioni arricchiti e non arricchiti sono stati valutati mediante citometria a flusso e/o hanno analizzato la disposizione t(11;14) mediante FISH.

Sono stati esaminati i risultati dello studio sul limite di rilevamento EasySep™ CD138, inclusa la purezza delle cellule CD138+ non arricchite e arricchite misurata mediante citometria a flusso e la disposizione t(11;14) analizzata mediante FISH. Tutti i campioni artificiali addizionati con cellule SK-MM-2, mirate a una frequenza iniziale di CD138+ pari allo 0,08%, hanno prodotto una disposizione anomala di t(11;14) nell'analisi FISH. La purezza arricchita del CD138+ misurata mediante citometria a flusso era correlata positivamente con la percentuale di nuclei anomali osservati nell'analisi FISH a valle. La purezza media di CD138+ arricchito che ha determinato una disposizione anomala di t(11;14) nella FISH è stata del 33% di CD138+, arricchendo da campioni con una purezza media non arricchita di 0,08% di CD138+. Per i campioni con frequenza target iniziale di CD138+ pari allo 0,00%, quattro dei sei donatori hanno prodotto una disposizione t(11;14) normale all'analisi FISH, tuttavia, un donatore di midollo osseo e un donatore di sangue intero avevano solo una replica ritenuta normale e l'altra replica inconcludente a causa di un numero insufficiente di cellule recuperate. In conclusione, lo studio sul limite di rilevamento EasySep™ CD138 ha dimostrato che il kit di selezione positiva CD138 per midollo osseo umano EasySep™ è stato in grado di arricchirsi in modo coerente da campioni artificiali con una frequenza iniziale di CD138+ dello 0,05% - 25,06% e ha ottenuto modelli FISH anomali coerenti. Il limite di rilevamento per il kit di selezione positiva per CD138 di midollo osseo umano EasySep™ è stato fissato allo 0,05% della frequenza iniziale di CD138+.

Conferma del limite di rilevamento (LoD) con campioni clinici di midollo osseo di mieloma multiplo

L'obiettivo di questo studio era verificare il LoD alla frequenza iniziale di CD138 dello 0,05%, determinato nel precedente studio LoD su campioni artificiali in un campione clinico utilizzando due lotti di kit, con tre repliche per lotto di kit. L'arricchimento delle cellule CD138+ è stato eseguito su un campione clinico prodotto aggiungendo l'aspirato di midollo osseo di un paziente affetto da mieloma multiplo a un aspirato di midollo osseo di un donatore sano con una frequenza CD138 iniziale dello 0,05%.

Il campione clinico è stato lavato e suddiviso in sei frazioni per gli arricchimenti cellulari EasySep™ CD138, utilizzando due lotti di kit con tre repliche per lotto di kit. I campioni arricchiti sono stati divisi in due frazioni: una frazione è stata utilizzata per la valutazione della purezza delle plasmacellule mediante citometria a flusso e la seconda frazione è stata utilizzata per la FISH.

La purezza delle plasmacellule è stata determinata prima e dopo l'arricchimento utilizzando due lotti del kit di selezione positiva EasySep™ Human Bone Marrow CD138 con tre replicati per lotto del kit. Il campione è stato arricchito dallo 0,05% a un intervallo compreso tra 4,1 e 7,4%. Il CV complessivo di purezza arricchita è stato del 19,7%, superando i criteri di accettazione del CV complessivo ≤ 35%. Tutti i campioni arricchiti presentavano pattern di segnali FISH normali per la polisomia dei cromosomi 5 e 15 (D5S23, D15Z4), la rottura di MYC e le sonde CCND1/IGH XT; ed erano anormali per la delezione del cromosoma 13q (D13S319) e TP53. La disposizione FISH dei campioni arricchiti era la stessa della disposizione FISH del campione clinico non diluito, con il 100% dei replicati anomali per la delezione del cromosoma 13q (D13S319) e TP53.

INTERFERENZA ANTICOAGULANTE

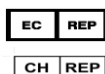
Per questo studio sono stati reclutati tre campioni clinici freschi di midollo osseo di mieloma multiplo. Un campione è stato elaborato circa 20 ore dopo la raccolta, un campione è stato elaborato circa 24 ore dopo la raccolta e il terzo campione è stato elaborato circa 22 ore dopo la raccolta. Ogni campione è stato suddiviso in due frazioni. Una frazione è stata trattata con PBS (il controllo), mentre l'altra è stata arricchita con un eccesso di 3 volte di eparina sodica. Singoli replicati di ciascuna frazione sono stati quindi lavati e arricchiti utilizzando il kit di selezione positiva EasySep™ Human Bone Marrow CD138. La purezza del CD138 è stata determinata mediante citometria a flusso e quindi confrontata per determinare se l'eccesso di eparina causasse un'interferenza con l'arricchimento e la purezza del CD138. Un secondo studio ha valutato un totale di 3 campioni clinici preparati aggiungendo cellule mononucleari di midollo osseo di mieloma multiplo ad aspirati di midollo osseo di donatore sano con una frequenza CD138 iniziale < 0,2%. Sono state analizzate tre repliche per campione e per condizione (ovvero con/senza eparina sodica in eccesso). La purezza arricchita dei campioni arricchiti con eparina sodica non era statisticamente diversa da quella dei campioni di controllo in ciascuno studio (t-test a una coda, p=0,1971 e p = 0,2740, rispettivamente). I risultati hanno indicato che non è stato riscontrato che l'eccesso di eparina sodica interferisca con l'arricchimento delle plasmacellule CD138+.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Assistenza Tecnica

NOTA: Riordinare utilizzando il Catalogo #100-1133, un kit che comprende il EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit (REF 100-0748) e il EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (REF 100-0749).

Questa PIS è disponibile anche in varie lingue in formato elettronico sul sito web di STEMCELL e può essere fornita in copia cartacea su richiesta. Per l'assistenza tecnica, contattare techsupport@stemcell.com o chiamare il numero verde +1.604.877.0713 (Canada), +1.800.667.0322 (Nord America), o 00800 7836 2355 (Europa). Per maggiori informazioni, visitare il sito www.stemcell.com. Eventuali cancellazioni, aggiunte e modifiche sono indicate nella barra delle modifiche a margine.

Qualsiasi incidente rilevante verificatosi in relazione al presente dispositivo dovrà essere riferito al fabbricante e alle autorità competenti dello stato membro in cui ha sede l'utilizzatore.

R Solo per uso su prescrizione	REF Numero di catalogo o di riferimento	LOT Codice lotto	 Data di utilizzo: AAAA-MM-GG	 Attenzione, consultare i documenti in accompagnamento	MD Dispositivo medico diagnostico in vitro
 Da conservare a temperatura controllata	 Consultare le Istruzioni per l'uso o le Istruzioni per l'uso in formato elettronico	 Non utilizzare se l'imballaggio è danneggiato	UDI Identificatore univoco del dispositivo	CE Marchio CE	 Produttore
EC REP Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea	CH REP Rappresentante autorizzato nella Svizzera				

Bibliografia

- Colander et al. (2022) Multiple Myeloma, Version 3.2022: Featured Updates to the NCCN Guidelines. JNCCN 20(1): 8–19.
- Kumar S et al. (2020) Multiple Myeloma, Version 3.2021. JNCCN 18(12): 1685–717.
- Dimopoulos et al. (2021) Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 32(3): 309–22.
- Caers et al. (2018) European Myeloma Network recommendations on tools for the diagnosis and monitoring of multiple myeloma: what to use and when. Haematologica 103(11): 1772–84.
- Shin SY et al. (2012) Application of an immune-magnetic cell sorting method for CD138-positive plasma cells in FISH analysis of multiple myeloma. Int J Lab Hematol 34(5):541–6.
- Shetty S et al. (2012) Utility of a column-free cell sorting system for separation of plasma cells in multiple myeloma FISH testing in clinical laboratories. Int J Hematol 95(3): 274–81.
- Kishimoto RK et al. (2016) Validation of interphase fluorescence in situ hybridization (iFISH) for multiple myeloma using CD138 positive cells. Rev Bras Hematol Hemoter 38(2): 113–20.
- The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4th ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc; 2017.
- Pozdnyakova O et al. (2009) Interphase FISH in plasma cell dyscrasia: increase in abnormality detection with plasma cell enrichment. Cancer Genetics and Cytogenetics 189:112–7.

Copyright © 2025 di STEMCELL Technologies Inc. Tutti i diritti riservati, compresa grafica e immagini. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, EasySep e RapidSpheres sono marchi di STEMCELL Technologies Canada Inc. Tutti gli altri marchi sono di proprietà dei rispettivi titolari. Sebbene STEMCELL abbia compiuto ogni ragionevole sforzo per assicurarsi che le informazioni fornite da STEMCELL e dai suoi fornitori siano corrette, non si danno garanzie né assicurazioni in merito all'accuratezza o completezza di tali informazioni.

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit

Zur Verarbeitung von bis zu 60 mL Knochenmark

REF 100-0748

Positiv udvælgelse

Dokument #10000019127 | Version 01



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713

INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM

FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

DEUTSCH

Zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik

R Nur

Verwendungszweck

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit dient der Anreicherung CD138-positiver Zellen aus menschlichem Vollknochenmark durch immunomagnetische positive Selektion. Dieses Kit ist für die Anwendung vor Tests wie der Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung (*fluorescence in situ hybridization*; FISH) an Knochenmarkaspiraten, die von Patienten mit multiplen Myelom entnommen wurden, bestimmt. Nur zur Anwendung für die In-vitro-Diagnostik durch ausgebildete Laborkräfte bestimmt.

Hintergrund

Multipl. Myelom ist eine maligne Erkrankung des Blutes, die durch eine Anhäufung von Plasmazellen-Neoplasmen im Knochenmark gekennzeichnet ist.¹ In den Vereinigten Staaten macht Multipl. Myelom 1,8% aller Krebsarten aus und wird typischerweise bei Personen zwischen 65 und 74 Jahren diagnostiziert.² Es wurden mehrere Subtypen der Erkrankung auf der genetischen und molekularen Ebene identifiziert, und spezifische Chromosomenanomalien haben prognostische Implikationen, die eine Risikostratifizierung der Patienten ermöglichen.²

Konsensfähige Empfehlungen, die von Onkologieexperten in den USA und der EU etabliert und in vom National Comprehensive Cancer Network (NCCN – umfassendes Krebsnetzwerk der USA)², der European Society for Myeloma (Europäische Myelom-Gesellschaft)³, und dem European Myeloma Network (Europäisches Myelom-Netzwerk)⁴ veröffentlichten Richtlinien festgehalten wurden, befürworten eine zytogenetische Analyse der aus Knochenmarkproben entnommenen Plasmazellen mittels FISH-Test bei der Erstdiagnose und als Nachuntersuchungs- und Überwachungsmethode bei Rezidiven.²⁻⁴

Die Häufigkeit von Plasmazellen im Knochenmark von Patienten mit multiplen Myelom kann bei der Diagnose und bei einem Rezidiv sehr unterschiedlich sein. Plasmazellen können durch immunomagnetische positive Selektion von Zellen, die das Oberflächenantigen CD138 (Syndecan-1) exprimieren, aus Knochenmark isoliert werden.⁵ Die Anreicherung der Plasmazellen aus dem Knochenmark vor dem FISH-Test auf Multipl. Myelom erhöht Berichten zufolge die Menge und Häufigkeit genetischer Anomalien, die anhand des FISH-Tests festgestellt werden (Abbildung 1).⁵⁻⁷

Funktionsprinzip

Das EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit wurde für die manuelle Anwendung zur Anreicherung von Zellen aus frischem, menschlichem Vollknochenmark, die das Oberflächenantigen CD138 exprimieren, durch immunomagnetische positive Selektion entwickelt. Dieses Kit markiert gezielt CD138+ Zellen für positive Selektion mit einem Antikörper, der den Oberflächenmarker CD138 erkennt. Die erwünschten Zellen werden mit Antikörpern und magnetischen Partikeln markiert und mit Hilfe eines "The Big Easy" EasySep™ isoliert. Unerwünschte Zellen werden abgossen, während die isolierten CD138+ Zellen im Röhrchen verbleiben.

Komponentenbeschreibungen

Das EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit enthält die folgenden in Tabelle 1 angeführten Komponenten.

Tabelle 1. Komponenten des EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit

Komponentenname	Komponentennummer	Menge	Inhalt
EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail	300-0394	3 x 1 mL*	Eine Kombination aus monoklonalen Antikörpern in D-PBS mit 0,09% rHA. Enthält einen Fc-Rezeptor-blockierenden Antikörper.
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105	300-0400	3 x 1 mL*	Eine Suspension magnetischer Partikel in Wasser.

* 1-mL-Fläschchen jeder Komponente können je nach Zellularitätsgrad der Probe für die Verarbeitung von bis zu 20 mL Knochenmark verwendet werden (siehe Gebrauchsanweisung, Schritt 5 dieses Dokuments).

D-PBS - Phosphatgepufferte Kochsalzlösung von Dulbecco; rHA - rekombinantes Humanalbumin



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Mitgelieferte Materialien

EASYSEP™ RED BLOOD CELL LYSIS BUFFER

Das EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit wird immer zusammen mit EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (Katalog #100-0749), 1 x 20 mL, geliefert. Dieser Puffer wird als 10-faches Konzentrat geliefert. Bereiten Sie 1-fachen Lysepuffer mindestens 1 Stunde vor der Anwendung zu, indem Sie 1 Teil 10-fachen Lysepuffer zu 9 Teilen destilliertem Wasser oder Typ-1-Wasser hinzugeben. Vor der Anwendung vorsichtig und gründlich mischen.

Nähere Informationen bietet das Produktinformationsblatt (*Product Information Sheet*; PIS) (Dokument #10000017274) für den EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (Katalog #100-0749), verfügbar unter www.stemcell.com/0749. Rufen Sie bitte die gebührenfreie Nummer im Abschnitt "Technische Unterstützung" dieses Dokuments an, um ein kostenloses Papierexemplar dieses Dokuments anzufordern.

*Typ-1-Wasser bedeutet Reinstwasser, das für den Einsatz in analytischen Verfahren geeignet ist. Es wird von der American Society for Testing and Materials (ASTM) als Wasser mit einem Widerstand von > 18 MΩ-cm, einer Leitfähigkeit von < 0,056 µS/cm und < 50 ppb an gesamtem organischen Kohlenstoff (total organic carbons, TOC) definiert.

Qualitätskontrolle

Das EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit wird unter Einhaltung von 21 CFR Teil 820 und ISO 13485 hergestellt. Weitere Informationen zur Qualität sind unter www.stemcell.com/compliance verfügbar.

Aufbewahrung und Stabilität

Tabelle 2. Aufbewahrung und Stabilität

Komponentenname	Komponentennummer	Lagerung
EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail	300-0394	2 - 8 °C
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105	300-0400	2 - 8 °C
EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate	100-0749	Raumtemperatur (RT; 15 - 25°C)

Komponenten können bei RT versandt werden, sollten jedoch nach obigen Angaben gelagert werden. Nicht einfrieren. Alle Komponenten sind bis zum Haltbarkeitsdatum auf dem Etikett stabil.

HINWEIS: EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (1-fach) kann bis zu 3 Monate lang bei 2 - 8 °C gelagert werden. Das Verfallsdatum (Haltbarkeitsdatum) des Original-Puffers (10-fach) darf nicht überschritten werden.

Benötigtes aber Nicht Mitgeliefertes Zubehör

Die in Tabelle 3 angeführten Materialien sind Zubehör für das EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. Diese Materialien werden nicht mit dem Kit geliefert und können separat erworben werden.

Tabelle 3. Benötigtes aber Nicht Mitgeliefertes Zubehör

Komponentenname	Komponentennummer	Menge	Lagerung	Haltbarkeit	Beschreibung
"The Big Easy" EasySep™ Magnet	18001	1	Bei 15 - 25°C lagern.	Nicht zutreffend	Ein Magnet für die säulenfreie immunomagnetische Isolierung.
EasySep™ Buffer	100-0780	1 x 1 L	Bei 2 - 8°C lagern.	Stabil bis zum Verfallsdatum (EXP) auf dem Etikett.	Puffer für Zellseparation.

"THE BIG EASY" EASYSEP™ MAGNET

"The Big Easy" EasySep™ Magnet erzeugt ein hochgradientes Magnetfeld für die Zellseparation und wurde für die Anwendung mit dem EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit entwickelt. "The Big Easy" EasySep™ Magnet ist darauf ausgelegt, ein Standard-Rundboden-Röhrchen aus Polystyrol mit einem Fassungsvermögen von 14 mL (17 x 95 mm) zu halten.

EASYSEP™ BUFFER

Nähere Informationen bietet das PIS (Dokument #10000016106) für den EasySep™ Buffer (Katalog #100-0780), verfügbar unter www.stemcell.com/0780. Rufen Sie bitte die gebührenfreie Nummer im Abschnitt „Technische Unterstützung“ dieses Dokuments an, um ein kostenloses Papierexemplar dieses Dokuments anzufordern.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Benötigte, aber nicht bereitgestellte Materialien

Bei den nachstehend angeführten Materialien handelt es sich um benötigte, aber nicht mitgelieferte Labormaterialien für den allgemeinen Gebrauch.

- Phosphatgepufferte Kochsalzlösung von Dulbecco (ohne Ca++ und Mg++; z. B. Katalog #37350)
- DNase I Lösung (z. B. Katalog #07900)
- 70-µm-Sieb (z. B. Katalog #27216)
- 14 mL (17 x 95 mm) Rundboden-Röhrchen aus Polystyrol (z. B. Katalog #38008)
- 50 mL konisches Röhrchen (z. B. Katalog #38010)

Einschränkungen

1. FÜR DEN IN-VITRO-DIAGNOSTISCHEN ZWECK
2. Die Verwendung des Geräts ist für die Anreicherung von CD138+-Zellen von Patienten bestimmt, bei denen eine Krebsdiagnose bekannt ist oder sein könnte.
3. Die Leistungsmerkmale dieses Geräts wurden nicht für allgemeine nachgeschaltete Diagnosetests ermittelt. Endbenutzer müssen die Verwendung mit allen nachfolgenden Tests und Probenentnahmegegeräten validieren.
4. Das eigenständige Gerät ist nicht für die Zellzählung vorgesehen. Das Gerät ist ausschließlich für die Anreicherung von CD138+-Zellen in Proben bestimmt, damit die angereicherten Proben dann für die weitere Verarbeitung/Analyse mit zusätzlichen unabhängigen Methoden, wie z. B. FISH, verwendet werden können.
5. Das eigenständige Gerät ist nicht für den diagnostischen, prognostischen oder überwachenden Einsatz mit CD138+-Zellen gedacht, auch nicht als Hilfe bei der Behandlung von Krankheiten und/oder Behandlungsentscheidungen. Die Ergebnisse des Standalone-Geräts geben dem Patienten keine Auskunft über seinen aktuellen Gesundheitszustand. Das eigenständige Gerät diagnostiziert keine gesundheitlichen Probleme und ist kein Ersatz für den Besuch eines Arztes oder einer anderen medizinischen Fachkraft.
6. Resuspendieren Sie die Knochenmarkspröbe basierend auf dem Probenvolumen oder dem Zellularitätsgrad gemäß den Anweisungen unter Probenvorbereitung.
7. Befolgen Sie alle in der Gebrauchsanweisung aufgeführten Protokollschritte. Eine unsachgemäße Ausführung des Protokolls kann zu schwankenden und/oder schlechten Ergebnissen führen.
8. Eine niedrige CD138+-Startfrequenz (< 3%) kann zu Schwankungen in der Reinheit angereicherter CD138+-Zellen führen. Endbenutzer können die Reinheit von CD138+-Zellen nach der Anreicherung entweder durch Immunphänotypisierung mittels Durchflusszytometrie oder durch morphologische Beurteilung mittels Mikroskopie beurteilen.
9. Die Stabilität des Knochenmarks kann 48 Stunden nach der Entnahme beeinträchtigt sein.
10. Die Anzahl der durch immunmagnetische Selektion aus dem Knochenmark isolierten CD138+-Plasmazellen kann bei Patienten, die sich einer Behandlung gegen multiples Myelom unterziehen oder danach, verringert sein.
11. Wenn bei Verwendung mehrerer FISH-Sonden keine abnormalen FISH-Muster beobachtet werden, wenden Sie sich an techsupport@stemcell.com, um technische Unterstützung in Anspruch zu nehmen.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

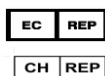
1. Wichtige Informationen zur sicheren Handhabung, zum Transport und zur Entsorgung dieser Produkte sind in den Sicherheitsdatenblättern (SDB) enthalten. HINWEIS: Sicherheitsdatenblätter für die im Kit enthaltenen Reagenzien sind unter www.stemcell.com verfügbar.
2. Dieses Produkt sollte von geschultem Personal unter Einhaltung guter Laborpraktiken gehandhabt werden. Sobald dieses Produkt menschlichen Zellen zugesetzt wird, behandeln Sie die Suspension als potenziell biologisch gefährlich. Bei der Handhabung von Reagenzien und der Entsorgung von Abfällen sollten alle lokalen, staatlichen oder nationalen Vorschriften eingehalten werden.
3. Dieses Produkt kann Augen, Atemwege und Haut reizen. Dieses Produkt kann bei Einnahme auch gesundheitsschädlich sein. Exposition durch Haut und Augen vermeiden Kontakt, Einatmen und Verschlucken.
4. ACHTUNG: EasySep™ Magnet erzeugt ein starkes Magnetfeld. Halten Sie sich von Herzschrittmachern, Magneten, Computerplatten, Uhren und anderen Gegenständen fern, die auf Magnetfelder reagieren.
5. Stellen Sie sicher, dass die Fläschchen während der Lagerung ordnungsgemäß verschlossen sind. Die ordnungsgemäße Handhabung und Lagerung der Kit-Komponenten ist unerlässlich, um die angegebene Haltbarkeit und Leistung des Kits sicherzustellen. Die Anreicherung von CD138+-Zellen kann durch Kit-Komponenten beeinträchtigt werden, die außerhalb der empfohlenen Lagerbedingungen gelagert werden.
6. Verwenden Sie das Produkt nicht, wenn die Unversehrtheit des Verpackungsbehälters bei der Ankunft beeinträchtigt ist oder wenn Anzeichen von Kontamination, Austrocknung, Undichtigkeiten oder andere Anzeichen einer Verschlechterung vorliegen. Nicht verwendetes Produkt kann gemäß den Standardlaborverfahren für ungefährliche Flüssigkeiten entsorgt werden.
7. Verwenden Sie das Produkt nicht über das auf dem Etikett angegebene Verfallsdatum hinaus.
8. Frieren Sie EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 nicht ein. Wenn EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 verklumpt oder nicht gleichmäßig verteilt werden kann, wenden Sie sich an techsupport@stemcell.com.
9. EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail nicht vortexen.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

10. Das EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit ist für die Verwendung mit mindestens 1 mL frischem Knochenmark konzipiert. Die Proben sollten so schnell wie möglich verarbeitet werden, vorzugsweise innerhalb von 24 Stunden, jedoch nicht länger als 72 Stunden nach der Entnahme des Knochenmarks. Frieren Sie Knochenmark nicht ein, transportieren Sie es nicht in direktem Kontakt mit Kälte-/Eisbeuteln und setzen Sie es vor der Verwendung nicht Temperaturen über 30 °C aus. Befolgen Sie die Anweisungen zur Vorbereitung der Knochenmarkspröbe im Abschnitt Probenvorbereitung.

Gebrauchsanleitung

PROBENVORBEREITUNG

Das EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit wurde für die Anwendung mit frischem, menschlichem Vollknochenmark entwickelt. Empfehlungen für die Probenentnahme sind im AGT Cytogenetics Laboratory Manual (AGT-Laborhandbuch für Zytogenetik) zu finden.⁶ Entnahmen von Proben mittels Knochenmarkaspiration sollten gemäß den institutionellen Richtlinien des Labors durchgeführt werden. Es sollte mindestens 1 mL Knochenmarkaspirat in ein Blutentnahmeröhrchen mit einem Antikoagulans gefüllt werden.

Zur Vermeidung von Zersetzung und Verlust von CD138 aus den empfindlichen Plasmazellen und zur Erhaltung der Zellviabilität sollten die Proben sobald wie möglich verarbeitet werden, vorzugsweise innerhalb von 24 Stunden, jedoch nicht mehr als 72 Stunden nach der Entnahme des Knochenmarkaspirats. Das Knochenmark darf vor der Anwendung nicht eingefroren oder in direktem Kontakt mit Cold-Packs/Eisbeuteln transportiert oder Temperaturen über 30 °C ausgesetzt werden.

Für eine optimale Durchführung des Protokolls sind eine angemessene Probenentnahme, Lagerung und Überführung an die Testanlage erforderlich.

Befolgen Sie die nachstehenden Schritte zur Vorbereitung der Probe für die Zellanreicherung:

- Die Probe 5- bis 10-fach in phosphatgepufferter Kochsalzlösung von Dulbecco (D-PBS) verdünnen und durch vorsichtiges Auf- und Abpipettieren vermischen.
- Ein 70-µm-Sieb mit D-PBS anfeuchten. Die Probe durch das angefeuchtete Sieb filtern, um Knochenfragmente, Zellaggregate und Verunreinigungen zu entfernen. Das Sieb mit D-PBS spülen.
- Die Zellen 10 Minuten lang bei 300 x g (akzeptabler Bereich 250 - 300 x g für 8 - 12 Minuten) ohne Bremse zentrifugieren.
- Das Plasma mit einer Pipette vorsichtig entfernen und entsorgen, ohne den Buffy-Coat/das Erythrozytenpellet zu stören. Nicht abgießen. Wenn mit Knochenmarkproben gearbeitet wird, die > 24 Stunden alt sind, 50 µL von 1 mg/mL DNase I Lösung direkt in den Buffy-Coat/das Erythrozytenpellet geben und resuspendieren. Vor dem Durchführen der Zellseparation 15 - 30 Minuten lang bei Raumtemperatur (15 - 25°C) inkubieren.
- HINWEIS: DNase I-Lösung bei -20 °C lagern. Aliquotieren Sie die DNase I-Lösung in Arbeitsvolumina, um wiederholte Einfrier- und Auftauzyklen zu vermeiden.
Tipp: Alternativ kann die bei 2 - 8 °C gelagerte DNase I-Lösung bis zu 1 Woche lang verwendet werden.
- Den Buffy-Coat/das Erythrozytenpellet mit EasySep™ Buffer auf das 1- bis 2-fache des ursprünglichen Knochenmark-Probevolumens resuspendieren (Tabelle 4).
 - Falls das ursprüngliche Probevolumen $\geq 2,5$ mL war, auf das ursprüngliche Probevolumen verdünnen.
 - Falls das ursprüngliche Probevolumen < 2,5 mL war, auf das Zweifache des ursprünglichen Probevolumens verdünnen.
 - Falls zu erwarten ist, dass die Probe einen hohen Zellgehalt (> 70%) hat oder der Zellgehalt unbekannt ist, hilfsweise auf das Zweifache des ursprünglichen Probevolumens verdünnen.

Tabelle 4. EasySep™ Buffer-Volumen

Ursprüngliches Probevolumen	Probevolumen nach Resuspendieren mit EasySep™ Buffer
1 mL	2 mL
2 mL	4 mL
2,5 mL	2,5 mL
3 mL	3 mL
4 mL	4 mL
4,5 mL	4,5 mL

ZELLSEPARATION

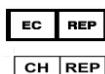
- EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (bezeichnet als EasySep™ RBC Lysis Buffer) (1X) mindestens 1 Stunde vor der Anwendung zubereiten. EasySep™ RBC Lysis Buffer wird als 10-faches Konzentrat geliefert.
 - 1 Teil EasySep™ RBC Lysis Buffer zu 9 Teilen destilliertes Wasser oder Typ-1-Wasser hinzugeben.
 - Vor der Anwendung vorsichtig und gründlich mischen.
 HINWEIS: Wenn er nicht sofort verwendet wird, kann der EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) bis zu 3 Monate lang bei 2 - 8 °C gelagert werden. Nicht einfrieren.
- Probe innerhalb des Volumenbereichs von 1 - 4,5 mL vorbereiten und in das vorgeschriebene Röhrchen geben. Falls das Volumen > 4,5 mL beträgt, ist die Probe auf zwei 14 mL Rundboden-Röhrchen aufzuteilen.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

8. Eine gleiche Menge des in Schritt 6 vorbereiteten EasySep™ RBC Lysis Buffer (1-fach) zu der Probe hinzugeben. Wenn das Probenvolumen zum Beispiel nach dem Resuspendieren mit EasySep™ RBC Lysis Buffer (Schritt 5) 2 mL beträgt, 2 mL EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) zur Probe hinzugeben.
9. 25 µL EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail pro 1 mL verdünnte Probe (Schritt 8) hinzugeben. Mischen und 3 Minuten bei Raumtemperatur (15 - 25°C) lang inkubieren (bis maximal 5 Minuten). Wenn das verdünnte Probenvolumen zum Beispiel 4 mL beträgt, 100 µL EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail zur Probe hinzugeben.
HINWEIS: Cocktail nicht verwirbeln.
10. EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 mindestens 30 - 40 Sekunden lang verwirbeln. Die Teilchen sollten gleichmäßig verteilt erscheinen.
11. 25 µL EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 pro 1 mL verdünnte Probe hinzugeben. Mischen und 3 Minuten bei Raumtemperatur (15 - 25°C) lang inkubieren (bis maximal 5 Minuten).
12. EasySep™ Buffer hinzugeben, um die Probe bis zum unten angegebenen Volumen aufzufüllen. Durch vorsichtiges Auf- und Abpipettieren 2 bis 3 Mal vermischen.
 - Bei verdünnten Proben < 2,5 mL auf 5 mL auffüllen
 - Bei verdünnten Proben ≥ 2,5 mL auf 10 mL auffüllen
13. Das Röhrchen (ohne Verschluss) in den "The Big Easy" EasySep™ Magnet und 10 Minuten bei Raumtemperatur (15 - 25°C) lang inkubieren (bis maximal 11 Minuten).
14. Den Magneten aufheben und mit einer durchgehenden Bewegung den Magneten und das Röhrchen umdrehen und den Überstand abgießen. Das Röhrchen aus dem Magneten entnehmen; dieses Röhrchen enthält die isolierten Zellen. Den Überstand entsorgen.
HINWEIS: Den Magneten und das Röhrchen 2 - 3 Sekunden lang umgedreht halten, dann wieder aufrecht halten. Tröpfchen, die eventuell noch am Rand des Röhrchens hängen, nicht abschütteln oder abwischen.
15. EasySep™ Buffer hinzugeben, um die Probe bis zum unten angegebenen Volumen aufzufüllen. Durch vorsichtiges Auf- und Abpipettieren (2 bis 3 Mal) vermischen.
 - Bei verdünnten Proben < 2,5 mL auf 5 mL auffüllen
 - Bei verdünnten Proben ≥ 2,5 mL auf 10 mL auffüllen
16. Das Röhrchen (ohne Verschluss) in den Magneten geben und 3 Minuten bei Raumtemperatur (15 - 25°C) lang inkubieren (bis maximal 5 Minuten).
17. Den Magneten aufheben und mit einer durchgehenden Bewegung den Magneten und das Röhrchen umdrehen und den Überstand abgießen. Das Röhrchen aus dem Magneten entnehmen; dieses Röhrchen enthält die isolierten Zellen. Den Überstand entsorgen.
HINWEIS: Den Magneten und das Röhrchen 2 - 3 Sekunden lang umgedreht halten, dann wieder aufrecht halten. Tröpfchen, die eventuell noch am Rand des Röhrchens hängen, nicht abschütteln oder abwischen.
18. EasySep™ Buffer hinzugeben, um die Probe bis zum unten angegebenen Volumen aufzufüllen. Durch vorsichtiges Auf- und Abpipettieren (2 bis 3 Mal) vermischen.
 - Bei verdünnten Proben < 2,5 mL auf 5 mL auffüllen
 - Bei verdünnten Proben ≥ 2,5 mL auf 10 mL auffüllen
19. Das Röhrchen (ohne Verschluss) in den Magneten geben und 3 Minuten bei Raumtemperatur (15 - 25°C) lang inkubieren (bis maximal 5 Minuten).
20. Den Magneten aufheben und mit einer durchgehenden Bewegung den Magneten und das Röhrchen umdrehen und den Überstand abgießen. Das Röhrchen aus dem Magneten entnehmen; dieses Röhrchen enthält die isolierten Zellen. Den Überstand entsorgen.
HINWEIS: Den Magneten und das Röhrchen 2 - 3 Sekunden lang umgedreht halten, dann wieder aufrecht halten. Tröpfchen, die eventuell noch am Rand des Röhrchens hängen, nicht abschütteln oder abwischen.
21. Zellen in erwünschtem Medium resuspendieren. Zu beachten: Zellen von den Seiten des Röhrchens entnehmen. Angereicherte Zellen können in weiteren Verarbeitungs-/Analyseverfahren unter Anwendung zusätzlicher unabhängiger, von Endanwendern validierten Methoden wie z. B. dem FISH-Test eingesetzt werden.

Ergebnisüberblick

KLINISCHE STUDIEN

Eine klinische Studie wurde mit dem EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit an 33 klinischen Knochenmarkproben von Patienten mit multiplem Myelom in verschiedenen Krankheitsstadien durchgeführt. Die klinischen Proben wurden mithilfe einer Gruppe von fünf gängigen FISH-Sonden zur Erkennung von sechs genomischen Anomalien bewertet, darunter eine CCND1/IGH XT-Sonde zur Erkennung der t(11;14)-Translokation sowie Sonden zum Nachweis von Chromosom 5 (D5S23) und Chromosom 15-Polysomie (D15Z4). (Einzelsonden-Kit), MYC-Breakpart, 13q-Deletion (D13S319) und TP53-Deletion (D17Z1). Von den 33 Patienten waren 32 positiv für mindestens eine FISH-Sonde, und 14 Patienten hatten mindestens eine FISH-Sonde, die erst nach der EasySep™ CD138-Anreicherung ein abnormales Signalmuster lieferte. Die mittels Durchflusszytometrie gemessene Reinheit von CD138 betrug 12,9% (Bereich 0,2% - 82,7%) in den nicht angereicherten Proben und stieg auf 79,6% (Bereich 18,5% - 98,6%) in den mit EasySep™ CD138 angereicherten Proben (Tabelle 5). Die fache Anreicherung für die CD138-Reinheit betrug > 1 und variierte basierend auf der anfänglichen Häufigkeit* für alle Proben mit CD138-Häufigkeiten < 40% vor der Anreicherung. In dieser Studie betrug die fache Anreicherung 65,9 (Bereich 29,6 - 91,5) für Proben mit anfänglichen CD138-Häufigkeiten < 3%, 11,9 (Bereich 5,1-23,0) für Proben mit anfänglichen CD138-Häufigkeiten zwischen 3 - 15% und 3,2 (1,6 - 5,3) für Proben mit anfänglichen CD138-Frequenzen zwischen 15 und 40% vor der Anreicherung.

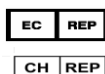
*HINWEIS: Bei Proben mit CH138-Häufigkeiten > 40% ist die Plasmazellen-Anreicherung vor dem FISH-Test möglicherweise nicht erforderlich.⁹



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



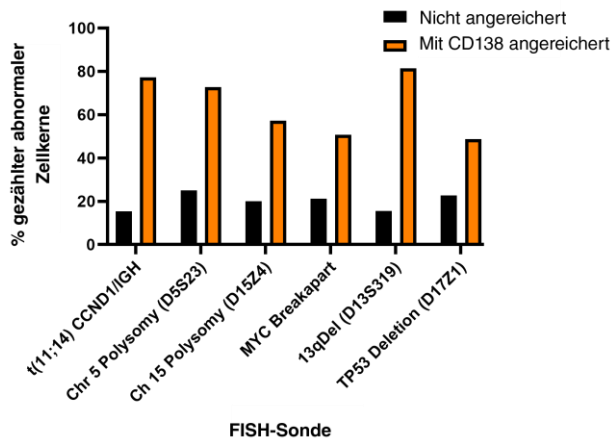
Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Es wurden ausschließlich Proben mit einem abnormalen FISH-Signalmuster für jede Sonde in die Analyse aufgenommen. Der Prozentsatz der abnormalen Zellkerne vor (nicht angereichert) und nach der Anreicherung stieg für jede Sonde um die folgenden Mengen an: CCND1/IGH (t(11;14)) Sonde: 15,4 ± 15,5% auf 77,3 ± 29,5% (n = 14); Chromosom 5 (D5S23) Sonde: 25,0 ± 19,1% auf 72,7 ± 17,4% (n = 15); Chromosom 15 (D15Z4) Sonde: 20,0 ± 15,9% auf 57,3 ± 23,6% (n = 16); MYC Breakapart Sonde: 21,2 ± 21,7% auf 50,7 ± 33,5% (n = 10); 13q Deletion (D13S319) Sonde: 15,5 ± 16,9% auf 81,4 ± 15,2% (n = 19); TP53 (D17Z1) Sonde: 22,8 ± 23,5% auf 48,8 ± 32,9% (n = 5).

Abbildung 1 (die grafische Darstellung) wurde anhand einer Teilmenge der Daten (nicht gezeigt) erstellt, wobei nur Proben mit einem abnormalen FISH-Signalmuster für jede Sonde in die Analyse einbezogen wurden. Die Abbildung 1 zeigt, dass der Prozentsatz der für jede Sonde erkannten abnormalen Kerne nach der Anreicherung mit EasySep CD138 höher war als bei der Probe vor der Anreicherung.

Abbildung 1. Prozentsatz der in Plasmazellen gezählten abnormalen Zellkerne vor (nicht angereichert) und nach der Anreicherung unter Anwendung des EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit



REPRODUZIERBARKEITSSTUDIE

Reproduzierbarkeit mit künstlichen Proben

Es wurde eine Studie durchgeführt, um die Reproduzierbarkeit des Anreicherungsprozesses an drei Studienstandorten unter Verwendung von drei EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit-Chargen zu demonstrieren. Aufgrund der Herausforderung, ausreichend Proben für drei Standorte zu haben, wurde die Studie mit künstlichen Proben durchgeführt, die durch tägliches Dotieren einer Multiple-Myelom-Zelllinie mit Vollblut eines gesunden Spenders bei drei anfänglichen CD138+-Häufigkeiten erzeugt wurden, kategorisiert auf der Grundlage von Durchflusszytometrie-Ereignissen (niedrig, mittel, und hoch, was < 3%, 3 - 15% bzw. > 15% entspricht), um 16 Panelmitglieder zu bilden. Auf den niedrigen und mittleren Ebenen wurden mehr Panelmitglieder untersucht (6 gegenüber 4 für die hohe Ebene), um eine Anreicherung auf den anspruchsvolleren Ebenen zu zeigen.

Tabelle 5 zeigt eine statistische Zusammenfassung der gesamten Variabilität von Standort zu Standort, von Charge zu Charge und der Fold-Anreicherung der Panelmitglieder mit hohem, mittlerem und niedrigem CD138+-Wert. Die Anreicherung erhöhte sich bei den Proben mit niedriger CD138+-Anfangsfrequenz im Mittel um das 85,7-Fache, bei den CD138+-Proben mit mittlerer Frequenz um das 9,3-Fache und bei den Proben mit hoher CD138+-Anfangsfrequenz um das 3,8-Fache.

Tabelle 5. Zusammenfassung der Variabilität und Faltenanreicherung der EasySep™ CD138-Reproduzierbarkeitsstudie

CD138+ anfängliche Häufigkeit	N	Wiederholbarkeit CV (%)	Zwischen Zentren CV (%)	Zwischen Chargen CV (%)	Reproduzierbarkeit CV (%)	Faltenanreicherung
		Durchschnitt (Min - Max)	Durchschnitt (Min - Max)	Durchschnitt (Min - Max)	Durchschnitt (Min - Max)	Durchschnitt (Min - Max)
Hoch (> 15%)	4	0,7 (0,5 - 0,9)	4,0 (2,8 - 5,9)	0,9 (0,5 - 1,6)	4,0 (2,8 - 6,0)	3,8 (2,6 - 5,5)
Mittel (3 - 15%)	6	1,6 (0,8 - 3,0)	4,2 (2,1 - 6,8)	2,3 (1,0 - 3,9)	4,5 (2,2 - 7,0)	9,3 (5,0 - 15,4)
Niedrig (< 3%)	6	5,4 (3,5 - 8,9)	9,7 (5,5 - 13,8)	8,6 (4,5 - 14,2)	11,9 (8,2 - 18,3)	85,7 (20,2 - 206,0)

CV - Variationskoeffizient

Reproduzierbarkeit mit klinischen Proben

Drei Chargen des EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit wurden an Knochenmarkaspiraten (BMA) von Patienten mit multiplem Myelom auf ihre Leistung in nachgeschalteten FISH-Assays getestet. Insgesamt wurden 9 klinische multiplem Myelom-BMA getestet, wobei jede Probe in zwei Hälften geteilt wurde, um die Anreicherung mit zwei verschiedenen Chargen des EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit zu testen. Der Prozentsatz abnormaler Kerne wurde mithilfe von fünf FISH-Sonden analysiert, die häufige multiplem Myelom-Chromosomenanomalien erkennen, einschließlich der t(11;14)-Translokation (CCND1/IGH XT) und der Aneusomien der Chromosomen 5, 9 und 15 (D5S23, D5S72, CEP 9, CEP. 15) und 13q14 Löschung.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #1000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Basierend auf den Studienergebnissen ergaben drei BMA normale FISH-Signalmuster für alle fünf getesteten Sonden. Ein BMA war für die t(11;14)-Translokation abnormal und

Vier BMA wiesen abnormale Signalmuster für die 13q-Deletion auf. Bei allen neun getesteten BMA war der Prozentsatz an abnormalen Zellen für jede Sonde zwischen den mit den beiden EasySep™ CD138-Kit-Chargen angereicherten Plasmazellen sehr ähnlich. Die gleiche normale/abnormale Disposition für eine bestimmte Sonde stimmte zwischen den Chargenpaaren des EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit überein. In allen Fällen stimmte die normale/abnormale Disposition überein, was darauf hindeutet, dass das EasySep™-Kit reproduzierbare FISH-Ergebnisse liefern kann, wenn es an der Probe für den vorgesehenen Verwendungszweck verwendet wird.

PRÄZISION

Es wurde eine Präzisionsstudie durchgeführt, bei der an drei nicht aufeinanderfolgenden Tagen eine Knochenmarkspröbe eines gesunden Spenders mit der CD138+-Zelllinie SK-MM-2 in einer niedrigen Konzentration (< 3%) und einer mittleren Menge (3–15%) versetzt wurde.) anfängliche CD138+-Frequenz, um zwei separate, künstliche Probenpanel-Mitglieder zu erzeugen. Zwei Bediener führten an jedem Studientag EasySep™-Anreicherungen durch, wobei jeder Bediener die Anreicherung von einem der beiden Panelmitglieder durchführte. Jeder Bediener führte drei Anreicherungsäufe in vierfacher Ausfertigung an einem Panelmitglied unter Verwendung einer Kit-Charge durch.

Die Reinheit der nicht angereicherten und angereicherten CD138+-Zellen wurde durch Durchflusszytometrieanalyse für jeden der drei Läufe aller Panelmitglieder bestimmt. Die Schätzungen der Wiederholpräzision der angereicherten Reinheit (% CV über vier Replikate innerhalb eines Laufs, n = 4 pro Lauf, 3 Läufe pro Panelmitglied) lagen zwischen 0,81 und 1,56% bzw. 0,17 und 1,41% für Panelmitglieder mit niedriger bzw. mittlerer anfänglicher CD138+-Häufigkeit. Dies weist darauf hin, dass die Reinheitsvariabilität angereicherter CD138+-Zellen innerhalb des Laufs gut kontrolliert wird.

NACHWEISGRENZE

Nachweisgrenze (LoD) mit künstlichen Proben

Ziel der Studie war es, die niedrigste anfängliche CD138+-Häufigkeit zu bestimmen, die in einer künstlichen Probe nach Anreicherung von CD138+-Zellen mit dem EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit konsistent abnormale FISH-Ergebnisse liefert. An sechs nicht aufeinanderfolgenden Tagen wurde eine Vollblut- (WB) oder Knochenmarkspröbe (BM) eines gesunden Spenders mit 20% der CD138+-Zelllinie SK-MM-2 versetzt (akzeptabler Bereich 26–14% gemäß Durchflusszytometrie). CD138+-Anfangsfrequenz und dann seriell um den Faktor zwei mit WB oder BM verdünnt, um ~20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,63%, 0,31%, 0,16%, 0,08% und 0% zu erreichen (d. h. WB oder BM nicht mit SK-MM-2-Zellen versetzt). Jede Probe wurde mit dem EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit doppelt angereichert, und alle nicht angereicherten und angereicherten Proben wurden mittels Durchflusszytometrie beurteilt und/oder die t(11;14)-Disposition wurde mittels FISH analysiert.

Die Ergebnisse der EasySep™ CD138-Nachweisgrenzestudie, einschließlich der mittels Durchflusszytometrie gemessenen Reinheit nicht angereicherter und angereicherter CD138+-Zellen und der mittels FISH analysierten t(11;14)-Disposition, wurden überprüft. Alle künstlichen Proben, die mit SK-MM-2-Zellen versetzt waren und auf eine anfängliche CD138+-Häufigkeit von nur 0,08% abzielten, führten in der FISH-Analyse zu einer abnormalen t(11;14)-Disposition. Die mittels Durchflusszytometrie gemessene angereicherte CD138+-Reinheit korrelierte positiv mit dem Prozentsatz an abnormalen Kernen, die in der nachgeschalteten FISH-Analyse beobachtet wurden. Die durchschnittliche angereicherte CD138+-Reinheit, die zu einer abnormalen t(11;14)-Disposition in FISH führte, betrug 33% CD138+, angereichert aus Proben mit einer durchschnittlichen nicht angereicherten Reinheit von 0,08% CD138+. Bei Proben mit einer anfänglichen CD138+-Zielhäufigkeit von 0,00% ergaben vier der sechs Spender in der FISH-Analyse eine normale t(11;14)-Disposition, bei einem Knochenmarks- und einem Vollblutspender wurde jedoch nur ein Replikat als normal erachtet und das andere Replikat war nicht eindeutig zu einer unzureichenden Anzahl gewonnener Zellen. Zusammenfassend zeigte die EasySep™ CD138-Nachweisgrenzestudie, dass das EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit in der Lage war, künstliche Proben mit einer anfänglichen CD138+-Häufigkeit von 0,05% bis 25,06% konsistent anzureichern und konsistente abnormale FISH-Muster zu erzielen. Die Nachweisgrenze für das EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit wurde auf 0,05% der anfänglichen CD138+-Häufigkeit eingestellt.

Bestätigung der Nachweisgrenze (LoD) mit klinischen Knochenmarkspröben des Multiplen Myeloms

Das Ziel dieser Studie bestand darin, die LoD bei einer anfänglichen CD138-Häufigkeit von 0,05% zu verifizieren, die in der vorherigen LoD-Studie an künstlichen Proben in einer klinischen Probe unter Verwendung von zwei Kit-Chargen mit drei Replikaten pro Kit-Charge ermittelt wurde. Die Anreicherung von CD138+-Zellen wurde an einer klinischen Probe durchgeführt, die durch Dotieren des Knochenmarkspirats eines Patienten mit multiplen Myelom mit dem Knochenmarkspirat eines gesunden Spenders mit einer anfänglichen CD138-Frequenz von 0,05% hergestellt wurde. Die klinische Probe wurde gewaschen und für die Zellanreicherung mit EasySep™ CD138 in sechs Fraktionen aufgeteilt, wobei zwei Kit-Chargen mit drei Replikaten pro Kit-Charge verwendet wurden. Angereicherte Proben wurden in zwei Fraktionen aufgeteilt: Eine Fraktion wurde für die Reinheitsbewertung der Plasmazellen mittels Durchflusszytometrie verwendet und die zweite Fraktion wurde für FISH verwendet.

Die Reinheit der Plasmazellen wurde vor und nach der Anreicherung unter Verwendung von zwei Kit-Chargen des EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit mit drei Replikaten pro Kit-Charge bestimmt. Die Probe wurde von 0,05% auf einen Bereich von 4,1 bis 7,4% angereichert. Der Gesamt-VK der angereicherten Reinheit betrug 19,7% und erfüllte damit die Akzeptanzkriterien eines Gesamt-VK ≤ 35%. Alle angereicherten Proben wiesen normale FISH-Signalmuster für die Polysomie von Chromosom 5 und 15 (D5S23, D15Z4), MYC-Breakapart und die CCND1/IGH XT-Sonden auf; und waren hinsichtlich der Deletion von Chromosom 13q (D13S319) und TP53 abnormal. Die FISH-Disposition der angereicherten Proben war dieselbe wie die FISH-Disposition der unverdünnten klinischen Probe, wobei 100% der Replikate abnormal für die Deletion von Chromosom 13q (D13S319) und TP53 waren.

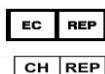
ANTIAGOAGULIERENDE INTERFERENZ

Für diese Studie wurden drei frische klinische Knochenmarkspröben des multiplen Myeloms rekrutiert. Eine Probe wurde ca. 20 Stunden nach der Entnahme verarbeitet, eine Probe wurde ca. 24 Stunden nach der Entnahme verarbeitet und die dritte Probe wurde ca. 22 Stunden nach der Entnahme verarbeitet. Jede Probe wurde in zwei Fraktionen aufgeteilt. Eine Fraktion wurde mit PBS (Kontrolle) behandelt, während die andere mit einem dreifachen Überschuss an Natriumheparin versetzt wurde. Einzelne Replikate jeder Fraktion wurden dann gewaschen und mit dem EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive

STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
Europe toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Selection Kit angereichert. Die Reinheit von CD138 wurde durch Durchflusszytometrie bestimmt und dann verglichen, um festzustellen, ob überschüssiges Heparin die CD138-Anreicherung und -Reinheit beeinträchtigte. Eine zweite Studie wertete insgesamt aus 3 klinische Proben, die durch Zugabe von mononukleären Zellen des multiplen Myelom-Knochenmarks zu Knochenmarkaspiraten gesunder Spender mit einer anfänglichen CD138-Häufigkeit von < 0,2 % hergestellt wurden. Pro Probe und Bedingung wurden drei Wiederholungen getestet (d. h. mit/ohne überschüssiges Natriumheparin). Die angereicherten Reinheiten der mit Natriumheparin versetzten Proben unterschieden sich statistisch gesehen nicht von denen der Kontrollproben in jeder Studie (onetailed t-test, $p = 0,1971$ bzw. $p = 0,2740$). Die Ergebnisse zeigten, dass überschüssiges Natriumheparin die Anreicherung von CD138+Plasmazellen nicht beeinträchtigte.

Technische Unterstützung

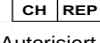
HINWEIS: Bitte bestellen Sie erneut mit Katalog-Nr. 100-1133, einem Kit, das der EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit enthält (REF 100-0748) und der EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (REF 100-0749).

Dieses PIS ist zudem in mehreren Sprachen als elektronisches Format auf der Website von STEMCELL verfügbar und kann auf Wunsch als Papierexemplar bereitgestellt werden.

Falls Sie technische Unterstützung benötigen, kontaktieren Sie techsupport@stemcell.com oder rufen Sie gebührenfrei an: entweder +1.604.877.0713 (Kanada), +1.800.667.0322 (Nordamerika), oder 00800 7836 2355 (Europa). Nähere Informationen erhalten Sie auf www.stemcell.com.

Löschungen, Ergänzungen oder Änderungen werden durch den Änderungsstrich am Rand gekennzeichnet.

Jeder schwerwiegende Vorfall, der sich im Zusammenhang mit dem Gerät ereignet, wird dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedsstaates, in dem der Benutzer seinen Standort hat, gemeldet.

 Nur zur verschreibungspflichtigen Verwendung	 Katalog- oder Bezugsnummer	 Chargencode	 Haltbarkeitsdatum: JJJJ-MM-TT	 Achtung, bitte Begleitunterlagen lesen	 In-Vitro-Diagnostik-Medizinprodukt
 Für die Lagerung innerhalb der Temperaturgrenzen	 Gebrauchsanleitung oder elektronische Gebrauchsanleitung lesen	 Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist	 Eindeutige Gerätekennung	 CE-Kennzeichen	 Hersteller
 Autorisierter EG-Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft	 Autorisiert Vertreter in der Schweiz				

Literaturverzeichnis

- Colander et al. (2022) Multiple Myeloma, Version 3.2022: Featured Updates to the NCCN Guidelines. JNCCN 20(1): 8–19.
- Kumar S et al. (2020) Multiple Myeloma, Version 3.2021. JNCCN 18(12): 1685–717.
- Dimopoulos et al. (2021) Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 32(3): 309–22.
- Caers et al. (2018) European Myeloma Network recommendations on tools for the diagnosis and monitoring of multiple myeloma: what to use and when. Haematologica 103(11): 1772–84.
- Shin SY et al. (2012) Application of an immune-magnetic cell sorting method for CD138-positive plasma cells in FISH analysis of multiple myeloma. Int J Lab Hematol 34(5):541–6.
- Shetty S et al. (2012) Utility of a column-free cell sorting system for separation of plasma cells in multiple myeloma FISH testing in clinical laboratories. Int J Hematol 95(3): 274–81.
- Kishimoto RK et al. (2016) Validation of interphase fluorescence in situ hybridization (iFISH) for multiple myeloma using CD138 positive cells. Rev Bras Hematol Hemoter 38(2): 113–20.
- The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4th ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc; 2017.
- Pozdnyakova O et al. (2009) Interphase FISH in plasma cell dyscrasia: increase in abnormality detection with plasma cell enrichment. Cancer Genetics and Cytogenetics 189:112–7.

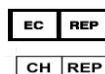
Copyright © 2025 von STEMCELL Technologies Inc. Alle Rechte vorbehalten, einschließlich Grafiken und Abbildungen. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, EasySep und RapidSpheres sind Schutzmarken der STEMCELL Technologies Canada Inc. Alle anderen Handelsmarken sind das Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber. STEMCELL hat sich zwar angemessen bemüht sicherzustellen, dass die von STEMCELL und deren Zulieferern zur Verfügung gestellten Informationen zutreffend sind, leistet jedoch keine Garantien oder Zusicherungen hinsichtlich der Richtigkeit oder Vollständigkeit dieser Informationen.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit



Scientists Helping Scientists™ | www.stemcell.com

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713

INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM

FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

Til behandling af op til 60 mL knoglemarv

REF 100-0748

Positiv udvælgelse

Document #10000019127 | Version 01

DANSK

For *In Vitro* Diagnostic Use

R kun

Tilsigtet brug

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit er diagnostisk, *in vitro* diagnostisk udstyr beregnet til at berige CD138+ knoglemarvsceller indsat fra patienter diagnosticeret med myelomatose. CD138+ cellerne er beriget med immunmagnetisk positiv selektion til brug i validerede nedstrømsassayer. Slutbruger er ansvarlig for valideringen af nedstrømsassayet. Til *in vitro* diagnostisk brug af laboratoriefagpersoner.

Baggrund

Myelomatose er en hæmatologisk malignitet, der er karakteriseret ved akkumulering af plasmacelleneoplasmer i knoglemarven.¹ I USA tegner myelomatose sig for 1,8% af alle kræftformer og diagnosticeres typisk blandt personer i alderen mellem 65 og 74 år.² Flere sygdomsundertyper er blevet identificeret på genetisk og molekylært niveau, og specifikke kromosomale abnormiteter har prognostiske implikationer, der muliggør risikostratificering af patienter.²

Konsensusanbefalinger udarbejdet af amerikanske og europæiske onkologiske eksperter og fanget i retningslinjer offentliggjort af National Comprehensive Cancer Network (NCCN)², European Society for Myeloma³ og European Myeloma Network⁴ anbefaler ved indledende diagnose og som opfølgings- og overvågningsmetode under tilbagefald, cytogenetisk analyse af plasmaceller taget fra knoglemarvsprøver af fluorescens under hybridisering (*fluorescence in situ hybridization*; FISH).²⁻⁴

Hyppigheden af plasmaceller i knoglemarven hos patienter med myelomatose kan variere meget ved diagnosen og under tilbagefald. Plasmaceller kan isoleres fra knoglemarven ved den immunmagnetiske positive selektion af celler, der udtrykker CD138 (syndecan-1) overfladeantigen.³ Det rapporteres at berigelsen af plasmaceller fra knoglemarv før FISH-test for myelomatose øger hastigheden og hyppigheden af genetiske abnormiteter påvist af FISH (Figur 1).⁵⁻⁷

Driftsprincip

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit er designet til at blive brugt manuelt til at berige celler fra friske humane helmarvsprøver ved immunmagnetisk positiv selektion, der udtrykker CD138-overfladeantigenet. Dette kit er målrettet CD138+ celler til positiv selektion med et antistof, der genkender CD138-overflademærket. Ønskede celler mærkes med antistoffer og magnetiske partikler og adskilles ved hjælp af en "The Big Easy" EasySep™-magnet. Uønskede celler hældes af, mens isolerede CD138+ celler forbliver i røret.

Beskrivelse af Komponenterne

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit består af følgende komponenter, der er anført under Tabel 1.

Tabel 1. Komponent i EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit

Komponentnavn	Komponent #	Kvantitet	Indhold
EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail	300-0394	3 x 1 mL*	En kombination af monoclonale antistoffer i D-PBS med 0,09% rHA. Indeholder et FC - receptorblokerende antistof.
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105	300-0400	3 x 1 mL*	En suspension af magnetiske partikler i vand.

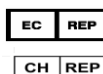
* 1 mL hætteglas med hver komponent kan bruges til behandling af op til 20 mL knoglemarv afhængigt af prøvens celleniveau (se brugsanvisning, trin 5 i dette dokument).
D-PBS - Dulbeccos fosfatbufferede saltvand; rHA - rekombinant humant albumin



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Leveret Materiale

EASYSEP™ RED BLOOD CELL LYSIS BUFFER (LYSISBUFFER TIL RØDE BLODCELLER)

EasySep Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit leveres altid med EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X koncentrat (Katalog #100-0749), 1 x 20 mL. Denne buffer leveres som et 10X koncentrat. Forbered EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) ved at tilføje 1 del EasySep™ RBC Lysisbuffer, 10X koncentrat til 9 dele destilleret eller Type 1-vand. Bland forsigtigt og fuldstændigt før brug.

Se produktdatabladet (dokument #10000017274) til EasySep™ RBC Lysis Buffer, 10X koncentrat (Katalog #100-0749), som findes på www.stemcell.com/0749. Kontakt gratisnummeret i afsnittet Teknisk Assistance i dette dokument for at anmode om en gratis papirkopi af denne.

*Type I-vand henviser til ultrarent vand, der er egnet til brug i analytiske procedurer. Det defineres af American Society for Testing and Materials (ASTM) som at have en modstandsevne på >18 MΩ-cm, en ledningsevne på < 0,056 µS/cm og < 50 ppb af total organisk kulstof (TOC).

Kvalitetskontrol

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit er fremstillet i henhold til 21 CFR del 820 og ISO 13485. For yderligere oplysninger om kvalitet, se www.stemcell.com/compliance.

Opbevaring og Stabilitet

Tabel 2. Opbevaring og stabilitet

Komponentnavn	Komponent #	Opbevaring
EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail	300-0394	2 - 8°C
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105	300-0400	2 - 8°C
EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate	100-0749	stuetemperatur (RT; 15 - 25°C).

Komponenter kan sendes på RT, men skal opbevares som angivet ovenfor. Må ikke fryses. Alle komponenter er stabile indtil sidste anvendelsesdato på mærkaten.

BEMÆRK: EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (1X) kan opbevares ved 2 - 8°C i op til 3 måneder. Overskrid ikke udløbsdatoen (sidste brugsdato) for den originale 10X buffer.

Nødvendige materialer, der ikke medfølger

Materialerne i Tabel 3 er tilbehør til EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. Disse materialer følger ikke med sættet og kan købes separat.

Tabel 3. Nødvendige materialer, der ikke medfølger

Komponentnavn	Komponent #	Kvantitet	Opbevaring	Holdbarhed	Beskrivelse
"The Big Easy" EasySep™ Magnet	18001	1	Opbevares ved 15 - 25°C.	Ikke relevant	En magnet til søjlefri immunmagnetisk separation.
EasySep™ Buffer	100-0780	1 x 1 L	Opbevares ved 2 - 8°C.	Stabil indtil udløbsdatoen (EXP) på etiketten.	Celleseparationsbuffer.

"THE BIG EASY" EASYSEP™ MAGNET

"The Big Easy" EasySep™ Magnet genererer et magnetfelt med høj gradient til celleseparation og er designet til brug med EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. "The Big Easy" EasySep™ Magnet er designet til at holde et standardmæssigt 14 mL (17 x 95 mm) rundbundet rør i polystyren.

EASYSEP™ BUFFER

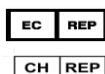
Se EasySep™ Buffer PIS (Katalog #100-0780; Dokument #10000016106), som kan findes på www.stemcell.com/0780. Kontakt gratisnummeret i afsnittet Teknisk Assistance i dette dokument for at anmode om en gratis papirkopi af denne.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Nødvendige materialer, men ikke leveret

Materialer, der er anført nedenfor, er laboratorieartikler til generelle formål, der kræves, men som ikke medfølger.

- Dulbeccos fosfatbufferede saltvand (uden Ca++ og Mg++; f.eks. Katalog #37350)
- DNase I-opløsning (f.eks. Katalog #07900)
- 70 µm si (f.eks. Katalog #27216)
- 14 mL (17 x 95 mm) rundbundet polystyrenrør (f.eks. Katalog #38008)
- 50 mL konisk rør (Katalog #38010)

Begrænsninger

1. TIL IN VITRO DIAGNOSTISK BRUG
2. Udstyret er beregnet til brug til berigelse af CD138+ celler fra patienter, der vides eller kan have en kræftdiagnose.
3. Ydeevneegenskaberne for dette udstyr er ikke fastlagt for generelle nedstrømsdiagnostiske assays. Slutbrugere skal validere brugen med eventuelle efterfølgende tests og udstyr til indsamling af prøver.
4. Den enkeltstående enhed er ikke beregnet til celleoptælling. Udstyret er kun beregnet til berigelse af CD138+ celler i prøver, således at de berigede prøver derefter kan bruges til yderligere behandling/analyse ved hjælp af yderligere uafhængige metoder, såsom FISH.
5. Den enkeltstående enhed er ikke beregnet til diagnostisk, prognostisk eller overvågningsbrug med CD138+ celler, herunder som en hjælp i nogen sygdomshåndtering og/eller behandlingsbeslutninger. Resultaterne fra det enkeltstående udstyr giver ikke patienten oplysninger om deres aktuelle sundhedstilstand. Den selvstændige enhed diagnosticerer ikke nogen sundhedsmæssige forhold og er ikke en erstatning for besøg hos en læge eller andet sundhedspersonale.
6. Resuspender knoglemarvsprøven baseret på prøvevolumen eller cellularitetsniveauer i henhold til instruktionerne i prøveforberedelsen.
7. Følg alle protokoltrin, der er angivet i brugsanvisningen. Forkert udførelse af de enkelte trin i protokollen kan føre til variable og/eller dårlige resultater.
8. En lav startfrekvens for CD138+ (< 3%) kan føre til variation i renheden af berigede CD138+ celler. Slutbrugere kan vurdere renheden af CD138+ celler efter berigelse ved enten immunofænotypning ved hjælp af flowcytometri eller morfologisk vurdering ved mikroskopi.
9. Knoglemarvsstabiliteten kan være kompromitteret efter 48 timer efter indsamling.
10. Antallet af CD138+ plasmaceller, der isoleres fra knoglemarven ved immunmagnetisk selektion, kan reduceres hos patienter, der gennemgår eller har overstået behandling for myelomatose.
11. Hvis der ikke observeres unormale FISH-mønstre, når der anvendes flere FISH-prober, skal du søge teknisk assistance ved at kontakte techsupport@stemcell.com.

Advarsler og Forholdsregler

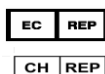
1. Sikkerhedsdatabladet (SDS) indeholder vigtige oplysninger om sikker håndtering, transport og bortskaffelse af dette produkt. BEMÆRK: SDS for de reagenser, der leveres i sættet, er tilgængelige på www.stemcell.com.
2. Dette produkt skal håndteres af uddannet personale, der overholder god laboratoriepraksis. Når dette produkt er tilsat til menneskelige celler, skal suspensionen behandles som potentielt biofarlig. Håndtering og bortskaffelse af affald skal overholde alle lokale, statslige eller nationale regler.
3. Dette produkt har potentiale for at irritere øjne, åndedrætsorganer, og hud. Dette produkt kan også være skadeligt, hvis det indtages. Undgå hudeksponering, øjenkontakt, indånding og indtagelse.
4. ADVARSEL: EasySep™ Magnet genererer et stærkt magnetfelt. Den må derfor ikke komme i kontakt med pacemakere, magneter, computerdiske, ure og andre genstande, der reagerer på magnetfelter.
5. Sørg for, at hætteglas er ordentligt lukket under opbevaring. Korrekt håndtering og opbevaring af sætkomponenter er afgørende for at sikre sættets mærkede holdbarhed og ydeevne. CD138+ celleberigelses holdbarhed og ydeevne kan blive negativt påvirket, hvis produktet opbevares uden for de anbefalede opbevaringsforhold.
6. Brug ikke produktet, hvis emballagebeholderens integritet er kompromitteret ved ankomsten, eller hvis der er tegn på forurening, udtørring, utætheder eller andre tegn på forringelse. Ubrugt produkt kan bortskaffes i henhold til standard laboratorieprocedurer for ikke-farlige væsker.
7. Brug ikke produktet efter den sidste anvendelsesdato, som angivet på mærkaten.
8. Frys ikke EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105. Hvis EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 er klumpet sammen eller ikke kan fordeles jævnt, skal du kontakte techsupport@stemcell.com.
9. Hvirvl ikke EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail.
10. EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit er designet til brug med mindst 1 mL frisk knoglemarv. Prøverne skal behandles så hurtigt som muligt, helst inden for 24 timer, men ikke længere end 72 timer efter indsamling af knoglemarvaspiration. Frys eller transporter ikke knoglemarv i direkte kontakt med kolde/isposer eller udsættes for temperaturer over 30 °C før brug. Følg de instruktioner til forberedelse af knoglemarvsprøver, der findes i Prøveforberedelse.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Brugsanvisning

PRØVEFORBEREDELSE

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit er designet til brug med frisk menneskelig hel knoglemarv. Anbefalinger til prøveindsamling findes i AGT Cytogenetics Laboratory Manual.⁶ Knoglemarvaspirationssamlinger skal udføres i henhold til laboratoriets institutionelle retningslinjer. Mindst 1 mL knoglemarvaspirat skal opsamlles i et blodopsamlingsrør, der indeholder et antikoagulant.

For at undgå nedbrydning af prøverne, tab af CD138 fra de skrøbelige plasmaceller og for at opretholde cellernes levedygtighed skal prøverne behandles så hurtigt som muligt. Helst inden for 24 timer, men ikke længere end 72 timer efter opsamlingen af det aspirerede knoglemarv. Frys eller transporter ikke knoglemarv i direkte kontakt med kolde poser eller isposer og udsæt ikke knoglemarv for temperaturer over 30 °C før brug.

Optimal ydelse af protokollen kræver passende prøveindsamling, opbevaring og transport til teststedet.

Følg nedenstående trin for at forberede prøven til celleberigelse:

- Fortynd prøven 5 til 10 gange i Dulbeccos fosfatbufferede saltvand (D-PBS) og bland forsigtigt ved at pipettere op og ned.
- Væd en 70 µm si med D-PBS på forhånd. Filtrér prøven gennem den forudvædede si for at fjerne knoglefragmenter, celleaggregater og rester. Skyl sien med D-PBS.
- Centrifuger cellerne ved 300 x g i 10 minutter (acceptabelt omfang på 250 - 300 x g i 8 - 12 minutter) med bremsen slukket.
- Brug en pipette til forsigtigt at fjerne og kassere plasmaet uden at forstyrre buffy-belægningen/pillen med røde blodlegemer. Må ikke hældes. Når du arbejder med knoglemarvsprøver, der er > 24 timer gamle, tilsættes 50 µL 1 mg/mL DNase I-opløsning direkte til buffy-belægningen/de røde blodlegemer og resuspenderes. Inkuberes ved stuetemperatur (15 - 25°C) i 15-30 minutter, før celleseparationen udføres.
BEMÆRK: Opbevar DNase I opløsning ved -20°C. Alikvoter DNase I-opløsning i arbejdsvolumener for at undgå gentagne fryse-tø-cykler.
Tip: Alternativt kan DNase I opløsning opbevaret ved 2 - 8°C bruges i op til 1 uge.
- Resuspender buffy-belægningen/de røde blodlegemer til 1 - 2X det oprindelige startknoglemarvsprøvevolumen med EasySep™ Buffer (tabel 4).
 - Hvis det oprindelige prøvevolumen var ≥ 2,5 mL, fortyndes det til det oprindelige prøvevolumen.
 - Hvis det oprindelige prøvevolumen var < 2,5 mL, fortyndes det to gange det oprindelige volumen.
 - Alternativt, hvis prøven forventes at have høj cellularitet (> 70%) eller cellularitet er ukendt, fortyndes det dobbelte af det oprindelige prøvevolumen.

Tabel 4. EasySep™ Buffer-volumener

Oprindelig prøvevolumen	Prøvevolumen efter gensuspension med EasySep-buffer™
1 mL	2 mL
2 mL	4 mL
2,5 mL	2,5 mL
3 mL	3 mL
4 mL	4 mL
4,5 mL	4,5 mL

CELLESEPARATION

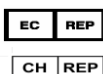
- EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (benævnt EasySep™ RBC Lysis Buffer) (1X) skal klargøres mindst 1 time før brug. EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) leveres som et 10X koncentrat.
 - Tilføj 1 del EasySep™ RBC Lysis Buffer til 9 dele destilleret eller Type 1-vand.
 - Bland forsigtigt og fuldstændigt før brug.
 BEMÆRK: Hvis det ikke bruges med det samme, kan EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) opbevares ved 2 - 8°C i op til 3 måneder. Må ikke fryses.
- Forbered prøven inden for et volumenområde på 1 - 4,5 mL, og tilsæt prøven til det ønskede rør. Hvis volumen er > 4,5 mL, deles prøven mellem to 14 mL rundbundede rør (f.eks. Katalog #38008).
- Tilsæt en tilsvarende mængde EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) til prøven. For eksempel, hvis prøvevolumenet er 2 mL efter gensuspension med EasySep™ Buffer (trin 5), tilsættes 2 mL EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) til prøven.
- Tilsæt 25 µL EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail pr. 1 mL fortyndet prøve (trin 8). Bland og inkuber ved stuetemperatur (15 - 25°C) i 3 minutter (op til maksimalt 5 minutter). For eksempel, hvis prøvevolumenet er 4 mL, tilsættes der 100 µL EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail til prøven.
BEMÆRK: Må ikke hvirvles.
- Hvirvl EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 i mindst 30 - 40 sekunder. Partikler skal forekomme jævnt dispergeret.
- Der tilsættes 25 µL EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 pr. 1 mL fortyndet prøve. Bland og inkubér ved stuetemperatur (15 - 25°C) i 3 minutter (op til maksimalt 5 minutter).
- Tilføj EasySep™ Buffer for at fylde prøven op til den volumen, der er angivet nedenfor. Bland ved forsigtigt at pipettere op og ned 2 - 3 gange.
 - Fyld op til 5 mL til fortyndede prøver < 2,5 mL



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

- Fyld op til 10 mL til fortyndede prøver $\geq 2,5$ mL
- 13. Anbring røret (uden låg) i "The Big Easy" EasySep™ Magneten og inkuber ved stuetemperatur (15 - 25°C) i 10 minutter (op til maksimalt 11 minutter).
- 14. Løft magneten, og vend magneten og røret på hovedet i en kontinuerlig bevægelse for at hælde supernatanten af. Fjern røret fra magneten. Dette rør indeholder de isolerede celler. Supernatanten kasseres.
BEMÆRK: Lad magneten og røret forblive omvendte i 2 - 3 sekunder, og vend dem derefter tilbage lodret. Ryst eller tør ikke dråber, der kan hænge fra rørets munding.
- 15. Tilføj EasySep™ Buffer for at fylde prøven op til den volumen, der er angivet nedenfor. Bland ved forsigtigt at pipettere op og ned 2-3 gange.
 - Fyld op til 5 mL til fortyndede prøver $< 2,5$ mL
 - Fyld op til 10 mL til fortyndede prøver $\geq 2,5$ mL
- 16. Placer røret (uden låg) i magneten og inkuber ved stuetemperatur (15 - 25°C) i 3 minutter (op til maksimalt 5 minutter).
- 17. Tag magneten op, og vend magneten og røret på hovedet i en kontinuerlig bevægelse for at hælde supernatanten af. Fjern røret fra magneten. Dette rør indeholder de isolerede celler. Supernatanten kasseres.
BEMÆRK: Lad magneten og røret forblive omvendt i 2 - 3 sekunder, og vend dem derefter tilbage lodret. Ryst eller tør ikke dråber af, der kan hænge fra rørets munding.
- 18. Tilføj EasySep™ Buffer for at fylde prøven op til den mængde, der er angivet nedenfor. Bland ved forsigtigt at pipettere op og ned 2 - 3 gange.
 - Fyld op til 5 mL til fortyndede prøver $< 2,5$ mL
 - Fyld op til 10 mL til fortyndede prøver $\geq 2,5$ mL
- 19. Placer røret (uden låg) i magneten og inkubér ved stuetemperatur (15 - 25°C) i 3 minutter (op til maksimalt 5 minutter).
- 20. Tag magneten op, og vend magneten og røret på hovedet i en kontinuerlig bevægelse for at hælde supernatanten af. Fjern røret fra magneten. Dette rør indeholder de isolerede celler. Supernatanten kasseres.
BEMÆRK: Lad magneten og røret forblive omvendte i 2-3 sekunder, og vend dem derefter tilbage lodret. Ryst eller tør ikke dråber af, der kan hænge fra rørets munding.
- 21. Gensuspender celler i ønsket medium. Sørg for at samle celler fra siderne af røret. Berigede celler kan anvendes i yderligere behandling/analyse ved hjælp af yderligere uafhængige metoder, såsom FISH-assay, der er blevet valideret af slutbrugere.

Oversigt over Ydeevnen

KLINISKE UNDERSØGELSER

En klinisk undersøgelse blev udført med EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit på 33 kliniske knoglemarvsprøver fra myelomatosepatienter i forskellige stadier af sygdommen. De kliniske prøver blev evalueret ved hjælp af et panel af fem almindelige FISH-prober, der detekterede seks genomiske abnormiteter, der inkluderede en CCND1/IGH XT-probe til at detektere t(11;14)-translokationen, samt prober til at detektere kromosom 5 (D5S23) og kromosom 15-polysomi (D15Z4) (single probe kit), MYC breakapart, 13q deletion (D13S319) og TP53 deletion (D17Z1). Af de 33 patienter var 32 positive for mindst én FISH-sonde, og 14 patienter havde mindst én FISH-sonde, der kun gav et unormalt signalmønster efter EasySep™ CD138-berigelse. CD138-renheden, målt ved flowcytometri, var 12,9% (område 0,2% - 82,7%) i ikke-berigede prøver og steg til 79,6% (interval 18,5% - 98,6%) i EasySep™ CD138-berigede prøver (tabel 5). Foldberigelse for CD138-renhed var > 1 og varierede baseret på initial frekvens* for alle prøver med CD138-frekvenser $< 40\%$ før berigelse. I denne undersøgelse var foldberigelsen 65,9 (interval 29,6 - 91,5) for prøver med initial CD138 frekvenser $< 3\%$, 11,9 (interval 5,1 - 23,0) for prøver med initial CD138 frekvenser mellem 3 - 15% og 3,2 (3,1) for prøver med indledende CD138-frekvenser mellem 15 - 40% før berigelse.

*BEMÆRK: For prøver med CD138-frekvenser $> 40\%$ er plasmacelleberigelse før FISH muligvis ikke påkrævet.⁹

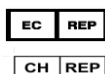
Kun prøver med et unormalt FISH-signalmønster for hver probe blev inkluderet i analysen. Procentdelen af unormale kerner før (ikke beriget) og efter berigelse steg med følgende mængder for hver probe: CCND1/IGH (t(11; 14) probe: $15,4 \pm 15,5\%$ til $77,3 \pm 29,5\%$ (n = 14); kromosom 5 (D5S23) probe: $25,0 \pm 19,1\%$ til $72,7 \pm 17,4\%$ (n = 15); kromosom 15 (D15Z4) probe: $20,0 \pm 15,9\%$ til $57,3 \pm 23,6\%$ (n = 16); MYC breakapart-probe: $21,2 \pm 21,7\%$ til $50,7 \pm 33,5\%$ (n = 10); 13q sletning (D13S319) probe: $15,5 \pm 16,9\%$ til $81,4 \pm 15,2\%$ (n = 19); TP53 (D17Z1) probe: $22,8 \pm 23,5\%$ til $48,8 \pm 32,9\%$ (n = 5).



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland

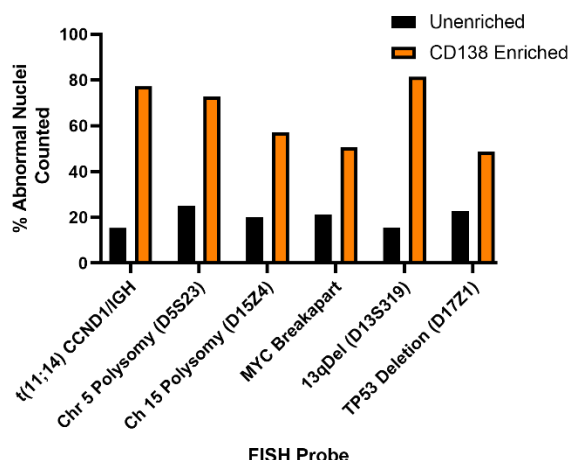


Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Abbildung 1 (die grafische Darstellung) wurde anhand einer Teilmenge der Daten (nicht gezeigt) erstellt, wobei nur Proben mit einem abnormalen FISH-Signalmuster für jede Sonde in die Analyse einbezogen wurden. Figur 1 viser, at procentdelen af unormale kerner detekteret for hver probe var højere efter EasySep CD138 berigelse sammenlignet med prøven før berigelse.

Figur 1. Procentdel af unormale kerner talt i plasmaceller før (ikke berigede) og efter berigelse med EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit



REPRODUCERBARHEDSUNDERSØGELSE

Reproducerbarhed med konstruerede prøver

En undersøgelse blev udført for at demonstrere reproducerbarheden af berigelsesprocessen på tværs af tre undersøgelsessteder ved hjælp af tre EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection kit lots. På grund af udfordringer med at have tilstrækkelige prøver til tre steder, blev undersøgelsen udført ved hjælp af konstruerede prøver genereret ved at spike en multipelt myelomcellelinje ind i rask donor fuldblod hver dag ved 3 indledende CD138+-frekvenser, kategoriseret baseret på flowcytometrihændelser (lav, medium, og høj, der repræsenterer henholdsvis < 3%, 3 - 15% og > 15%) for at skabe 16 panelmedlemmer. Flere panelmedlemmer blev undersøgt på de lave og mellemstore niveauer (6 versus 4 for det høje niveau) for at demonstrere berigelse på de mere udfordrende niveauer.

Tabel 5 viser en statistisk oversigt over den overordnede, sted-til-sted, parti-til-parti variabilitet og fold-berigelse fra høj-, medium- og lav CD138+ panelmedlemmer. Berigelse øgede et gennemsnit på 85,7 gange i prøverne med lav CD138+ startfrekvens, 9,3 gange i prøverne med mellemfrekvens CD138+ og 3,8 gange i de høje CD138+ startfrekvensprøver.

Tabel 5. EasySep™ CD138 Oversigt over variabilitet i reproducerbarhedsundersøgelse

CD138+ startfrekvens	N	Repeterbarhed CV (%)	Mellem webstedets CV (%)	Mellem partiets CV (%)	Reproducerbarhed CV (%)	Fold berigelse
		Gennemsnit (min - maks.)	Gennemsnit (min - maks.)	Gennemsnit (min - maks.)	Gennemsnit (min - maks.)	Gennemsnit (min - maks.)
Høj (> 15%)	4	0,7 (0,5 - 0,9)	4,0 (2,8 - 5,9)	0,9 (0,5 - 1,6)	4,0 (2,8 - 6,0)	3.8 (2.6 - 5.5)
Med. (3 - 15%)	6	1,6 (0,8 - 3,0)	4,2 (2,1 - 6,8)	2,3 (1,0 - 3,9)	4,5 (2,2 - 7,0)	9.3 (5.0 - 15.4)
Lav (< 3%)	6	5,4 (3,5 - 8,9)	9,7 (5,5 - 13,8)	8,6 (4,5 - 14,2)	11,9 (8,2 - 18,3)	85.7 (20.2 - 206.0)

CV - variationskoefficient

Reproducerbarhed med kliniske prøver

Tre lots af EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit blev testet på multipelt myelom patientknoglemarvsaspirater (BMA) for ydeevne i downstream FISH-assays. I alt 9 kliniske multipelt myelom BMA blev testet, hvor hver prøve blev delt i to for at teste berigelse med to forskellige EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit lots. Procentdelen af unormale kerner blev analyseret ved hjælp af fem FISH-prober, som detekterer almindelige multipelt myelom kromosomale abnormiteter, inklusive t(11;14) translokation (CCND1/IGH XT), kromosom 5, 9 og 15 aneusomier (D5S23, D5S72, CEP 9, CEP 15) og 13q14 sletning.

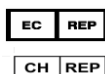
Baseret på undersøgelsesresultaterne gav tre BMA normale FISH-signalmønstre for alle fem testede prober. Én BMA var unormal for t(11;14) translokationen og fire BMA havde unormale signalmønstre for 13q-deletionen. I alle ni testede BMA var procentdelen af unormale celler for hver probe meget ens mellem plasmacellerne beriget med de to EasySep™ CD138 kit-lots. Den samme normale/unormale disposition for en given probe var i overensstemmelse mellem parrene af EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit lots. I alle tilfælde var normal/unormal disposition i overensstemmelse, hvilket indikerer, at EasySep™-sættet er i stand til at producere reproducerbare FISH-resultater, når det bruges på den tilsligtede brugsprøve.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

PRÆCISION

Der blev udført et præcisionsstudie, hvor en knoglemarvsprøve fra en rask donor på tre ikke-på hinanden følgende dage blev tilsat CD138+-cellelinjen SK-MM-2 ved lav (< 3%) og medium (3 - 15%).) indledende CD138+ frekvens for at generere to separate konstruerede prøvepanelmedlemmer. To operatører udførte EasySep™-berigelser på hver af studiedagene, hvor hver operatør berigede fra et af de to panelmedlemmer. Hver operatør udførte tre kørsler af berigelser i firdobbel på ét panelmedlem ved brug af et kitlot.

Den ikke-berigede og berigede CD138+-cellerenshed blev bestemt ved flowcytometrianalyse for hver af de tre kørsler fra alle panelmedlemmer. Præcisionsestimaterne for beriget renhed repeterbarhed (%CV på tværs af fire replikater inden for en kørsel, n = 4 pr. kørsel, 3 kørsler pr. panelmedlem) varierede fra 0,81 - 1,56% og 0,17 - 1,41% for henholdsvis lav og medium initial CD138+ frekvens panelmedlemmer., hvilket indikerer, at variabiliteten i beriget CD138+-cellerenshed er velkontrolleret inden for kørsel.

DETEKTIONSGRÆNSE

Detektionsgrænse (LoD) med konstruerede prøver

Undersøgelsen havde til formål at bestemme den laveste initiale CD138+-frekvens, der giver konsistente unormale FISH-resultater i en konstrueret prøve efter CD138+-celleberigelse ved hjælp af EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. På seks ikke-på hinanden følgende dage blev en prøve af fuldblod (WB) eller knoglemarv (BM) fra en rask donor tilsat CD138+-cellelinjen SK-MM-2 ved 20% (acceptabelt område 26-14% ved flowcytometri) CD138+ startfrekvens og derefter seriefortyndet med en faktor to med WB eller BM for at opnå ~20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,63%, 0,31%, 0,16%, 0,08% og 0% (dvs. WB eller BM ikke tilsat SK-MM-2-celler). Hver prøve blev beriget i duplikat ved hjælp af EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit, og alle ikke-berigede og berigede prøver blev vurderet ved flowcytometri og/eller fik analyseret t(11;14) disposition med FISH.

Resultater fra EasySep™ CD138 Limit of Detection-undersøgelsen, herunder den uberigede og berigede CD138+-cellerenshed målt ved flowcytometri og t(11;14)-dispositionen analyseret af FISH, blev gennemgået. Alle konstruerede prøver tilsat SK-MM-2-celler, målrettet så lavt som 0,08% initial CD138+-frekvens, resulterede i unormal t(11;14) disposition i FISH-analyse. Den berigede CD138+ renhed målt ved flowcytometri korrelerede positivt med procentdelen af unormale kerner observeret i nedstrøms FISH-analyse. Den gennemsnitlige berigede CD138+-renhed, der resulterede i unormal t(11;14)-disposition i FISH, var 33% CD138+, beriget fra prøver med en gennemsnitlig ikke-beriget renhed på 0,08% CD138+. For prøver med 0,00% initial CD138+ frekvens resulterede fire ud af de seks donorer i normal t(11;14) disposition i FISH-analyse, dog havde én knoglemarv og én fuldblodsdonor kun én replikat anset for normal, og den anden replikat var inkonklusiv pga. til utilstrækkeligt antal genvundne celler. Som konklusion viste EasySep™ CD138 detektionsgrænsestudiet EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit var i stand til konsekvent at berige fra konstruerede prøver med en initial CD138+-frekvens på 0,05% - 25,06% og opnåede konsistente unormale FISH-mønstre. Detektionsgrænsen for EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit blev sat til 0,05% initial CD138+ frekvens.

Bekræftelse af detektionsgrænse (LoD) med kliniske myelomatose knoglemarvsprøver

Målet med denne undersøgelse var at verificere LoD ved 0,05% initial CD138-frekvens, bestemt i det tidligere LoD-studie på konstruerede prøver i én klinisk prøve ved brug af to kitlots med tre replikater pr. kitlot. CD138+-celleberigelse blev udført på en klinisk prøve fremstillet ved at tilsætte et knoglemarvaspirat fra multipelt myelompatient til et sundt donorknoglemarvaspirat med en initial CD138-frekvens på 0,05%. Den kliniske prøve blev vasket og opdelt i seks fraktioner til EasySep™ CD138-celleberigelser ved anvendelse af to kitlots med tre replikater pr. kitlot. Berigede prøver blev opdelt i to fraktioner: en fraktion blev brugt til plasmacellerenshedsvurdering ved flowcytometri, og den anden fraktion blev brugt til FISH.

Plasmacellens renhed blev bestemt før og efter berigelse under anvendelse af to kitlots af EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit med tre replikater pr. kitlot. Prøven blev beriget fra 0,05% til et område på 4,1 - 7,4%. Den samlede berigede renheds-CV var 19,7%, hvilket bestod acceptkriterierne på samlet CV ≤ 35%. Alle berigede prøver havde normale FISH-signalmønstre for kromosom 5 og 15 polysomi (D5S23, D15Z4), MYC breakapart og CCND1/IGH XT-proberne; og var unormale for kromosom 13q deletion (D13S319) og TP53. De berigede prøvers FISH-disposition var den samme som den ufortyndede kliniske prøves FISH-disposition, hvor 100% af replikaterne var unormale for kromosom 13q-deletion (D13S319) og TP53.

ANTIAGOAGULANT INTERFERENS

Tre friske kliniske myelomatose knoglemarvsprøver blev rekrutteret til denne undersøgelse. Én prøve blev behandlet ca. 20 timer efter indsamling, én prøve blev behandlet ca. 24 timer efter indsamling, og den tredje prøve blev behandlet ca. 22 timer efter indsamling. Hver prøve blev opdelt i to fraktioner. En fraktion blev behandlet med PBS (kontrollen), mens den anden blev tilsat 3X overskud af natriumheparin. Enkelte replikater af hver fraktion blev derefter vasket og beriget ved hjælp af EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. CD138-renhed blev bestemt ved flowcytometri og derefter sammenlignet for at bestemme, om overskydende heparin forårsagede interferens med CD138-berigelse og -renhed. En anden undersøgelse evaluerede i alt 3 kliniske prøver fremstillet ved at tilføje multipelt myelom-knoglemarvsmononukleære celler i raske donorknoglemarvaspirater ved < 0,2 % initial CD138-frekvens. Tre replikater blev testet pr. prøve pr. tilstand (dvs. med/uden overskydende natriumheparin). Den berigede renhed af prøver med tilsat natriumheparin var ikke statistisk forskellige fra kontrolprøverne i hver undersøgelse (henholdsvis en-tailed t-test, p = 0,1971 og p = 0,2740). Resultater indikerede, at overskydende natriumheparin ikke blev fundet at interferere med CD138+ plasmacelleberigelse.

Teknisk Assistance

BEMÆRK: Genbestil venligst ved hjælp af Catalog #100-1133, et sæt, der omfatter EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit (☎ 100-0748) og EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (☎ 100-0749).

Dette produktdatablad er også tilgængeligt på forskellige sprog i elektronisk format på STEMCELLS hjemmeside og kan efter anmodning også leveres som en trykt udgave.

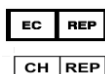
For teknisk support skal du kontakte techsupport@stemcell.com eller ringe gratis til enten +1.604.877.0713 (Canada), +1.800.667.0322 (Nordamerika), eller 00800 7836 2355 (Europa). Besøg www.stemcell.com for mere oplysninger.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Sletninger, tilføjelser eller ændringer er angivet med ændringsbjælken i margenen.

Alle bivirkninger/komplikationer/hændelser, der er opstået i forbindelse med udstyret, skal indberettes til producenten og den kompetente myndighed i den medlemsstat, hvor brugeren befinder sig.

Kun til receptpligtig brug	Katalog- eller referencenummer	Partikode	Sidste anvendelsesdato: ÅÅÅÅ-MM-DD	Advarsel, se medfølgende dokumenter	Må ikke bruges hvis emballagen er beskadiget
Für die Lagerung innerhalb der Temperaturgrenzen	Gebrauchsanleitung oder elektronische Gebrauchsanleitung lesen	Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist	Unik udstyrsidentifikation	CE-mærke	Producent
Bemyndiget EF-repræsentant i Det Europæiske Fællesskab	Autoriseret repræsentant i Schweiz				

Bibliografi

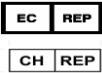
- Colander et al. (2022) Multiple Myeloma, Version 3.2022: Featured Updates to the NCCN Guidelines. JNCCN 20(1): 8–19.
- Kumar S et al. (2020) Multiple Myeloma, Version 3.2021. JNCCN 18(12): 1685–717.
- Dimopoulos et al. (2021) Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 32(3): 309–22.
- Caers et al. (2018) European Myeloma Network recommendations on tools for the diagnosis and monitoring of multiple myeloma: what to use and when. Haematologica 103(11): 1772–84.
- Shin SY et al. (2012) Application of an immune-magnetic cell sorting method for CD138-positive plasma cells in FISH analysis of multiple myeloma. Int J Lab Hematol 34(5):541–6.
- Shetty S et al. (2012) Utility of a column-free cell sorting system for separation of plasma cells in multiple myeloma FISH testing in clinical laboratories. Int J Hematol 95(3): 274–81.
- Kishimoto RK et al. (2016) Validation of interphase fluorescence in situ hybridization (iFISH) for multiple myeloma using CD138 positive cells. Rev Bras Hematol Hemoter 38(2): 113–20.
- The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4th ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc; 2017.
- Pozdnyakova O et al. (2009) Interphase FISH in plasma cell dyscrasia: increase in abnormality detection with plasma cell enrichment. Cancer Genetics and Cytogenetics 189:112–7.

Copyright © 2025 af STEMCELL Technologies Inc. Alle rettigheder forbeholdes inklusive grafik og billeder. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, SepMate og RosetteSep er varemærker tilhørende STEMCELL Technologies Canada Inc. Alle andre varemærker tilhører deres respektive indehavere. Selvom STEMCELL har gjort alle rimelige bestræbelser på at sikre, at oplysningerne fra STEMCELL og dets leverandører er korrekte, giver det ingen garantier eller erklæringer med hensyn til nøjagtigheden eller fuldstændigheden af sådanne oplysninger.

STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
 European toll-free number: 00800 7836 2355
 North American toll-free number: +1.800.667.0322
 email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
 Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
 Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
 Version 01

Issue Date 2025-01

EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit

Pro zpracování až 60 ml kostní dřeně

REF 100-0748

Pozitivní selekce

Dokument č. 10000019127 | Verze 01



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713

INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM

FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

ČEŠTINA

Pro diagnostické použití *in vitro*

Pouze na předpis

Určené použití

Sada EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit je diagnostický prostředek *in vitro* určený k obohacení CD138+ buněk z kostní dřeně odebrané pacientům s diagnostikovaným mnohočetným myelomem. Buňky CD138+ jsou obohaceny imunomagnetickou pozitivní selekcí pro použití ve validovaných následných testech. Za validaci této sady pro použití s testem odpovídá koncový uživatel. Pro diagnostické použití *in vitro* laboratorními odborníky.

Pozadí

Mnohočetný myelom je hematologická malignita charakterizovaná hromaděním nádorových plazmatických buněk v kostní dřeně. Ve Spojených státech představuje mnohočetný myelom 1,8% všech nádorových onemocnění a obvykle je diagnostikován u lidí ve věku 65 až 74 let. Na genetické a molekulární úrovni bylo identifikováno několik podtypů onemocnění a specifické chromozomální abnormality mají prognostický význam, který umožňuje stratifikaci rizika pacientů.

Konsenzuální doporučení stanovená onkologickými odborníky z USA a EU a zachycená v pokynech publikovaných National Comprehensive Cancer Network (NCCN)², European Society for Myeloma³ a the European Myeloma Network⁴ doporučují cytogenetickou analýzu plazmatických buněk získaných ze vzorků kostní dřeně metodou FISH při první diagnóze a jako metodu následného sledování a dohledu během relapsu.²⁻⁴

Četnost plazmatických buněk v kostní dřeně pacientů s mnohočetným myelomem může být při diagnóze a během relapsu velmi variabilní. Plazmatické buňky lze z kostní dřeně izolovat imunomagnetickou pozitivní selekcí buněk exprimujících povrchový antigen CD138 (syndekan-1).⁵ Bylo zjištěno, že obohacení plazmatických buněk z kostní dřeně před vyšetřením FISH na mnohočetný myelom zvyšuje míru a frekvenci genetických abnormalit zjištěných metodou FISH (obrázek 1).⁵⁻⁷

Princip Fungování

Sada EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit je určena k manuálnímu použití pro obohacení buněk exprimujících povrchový antigen CD138 z čerstvých vzorků celé lidské kostní dřeně pomocí imunomagnetické pozitivní selekce. Tato sada se zaměřuje na buňky CD138+ pro pozitivní selekci pomocí protilátky rozpoznávající povrchový marker CD138. Požadované buňky jsou označeny protilátkami a magnetickými částicemi a separovány pomocí magnetu „The Big Easy“ EasySep™. Nežádoucí buňky se vylijí, zatímco izolované buňky CD138+ zůstanou ve zkumavce.

Popisy Složek

Sada EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit se skládá z následujících složek uvedených v tabulce 1.

Tabulka 1. Složení sady EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit

Název složky	Složka č.	Množství	Obsah
EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail	300-0394	3 x 1 mL*	Kombinace monoklonálních protilátek v D-PBS s 0,09% rHA. Obsahuje protilátku blokujiící Fc receptor.
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105	300-0400	3 x 1 mL*	Suspenze magnetických částic ve vodě.

* 1mL lahvička s každou složkou může být použita pro zpracování až 20 ml kostní dřeně v závislosti na úrovni buněčnosti vzorku (viz návod k použití, krok 5 tohoto dokumentu).

D-PBS - Dulbeccoův fosfátem pufovaný fyziologický roztok; rHA - rekombinantní lidský albumin



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

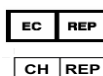
For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free number: 00800 7836 2355

North American toll-free number: +1.800.667.0322

email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH

Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Poskytnutý Materiál

EASYSEP™ RED BLOOD CELL LYSIS BUFFER

Sada EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit je dodávána s EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (katalogové číslo 100-0749), 1 x 20 mL. Tento pufr se dodává jako 10X koncentrát. Připravte si 1X lyzační pufr nejméně 1 hodinu před použitím přidáním 1 dílu 10X lyzačního pufru k 9 dílům destilované vody nebo vody typu 1*. Před použitím jemně a zcela promíchejte.

Viz informační list výrobku (Product Information Sheet, PIS; dokument č. 10000017274) EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (katalogové číslo 100-0749), který je k dispozici na adrese www.stemcell.com/0749. Chcete-li si bezplatně vyžádat papírovou kopii tohoto PIS, kontaktujte bezplatné telefonní číslo uvedené v části Technická pomoc tohoto dokumentu.

*Voda typu I označuje ultračistou vodu vhodnou pro použití v analytických postupech. Americká společnost pro testování a materiály (American Society for Testing and Materials, ASTM) ji definuje jako vodu s rezistivitou > 18 MΩ-cm, vodivostí < 0,056 μS/cm a < 50 ppb celkového organického uhlíku (total organic carbon, TOC).

Kontrola Kvality

Souprava EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit je vyrobena v souladu s 21 CFR oddíl 820 a ISO 13485. Další informace o kvalitě naleznete na www.stemcell.com/compliance.

Skladování a Stabilita

Tabulka 2. Skladování a Stabilita

Název složky	Složka č.	Skladování
EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail	300-0394	2-8°C
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105	300-0400	2-8°C
EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate	100-0749	pokožová teplota (room temperature, RT; 15 - 25°C)

Komponenty mohou být přepravovány při RT, ale měly by být skladovány, jak je uvedeno výše. Nezmrazujte. Všechny složky jsou stabilní do data použitelnosti uvedeného na štítku.

POZNÁMKA: EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (1X) lze skladovat při teplotě 2-8 °C po dobu až 3 měsíců. Nepřekračujte datum použitelnosti (datum spotřeby) původního 10X pufru.

Potřebné Příslušenství, Které Není Součástí Dodávky

Materiály uvedené v Tabulce 3 jsou příslušenstvím sady EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. Tyto materiály nejsou součástí sady a lze je zakoupit samostatně.

Tabulka 3. Potřebné Příslušenství, Které Není Součástí Dodávky

Název složky	Složka č.	Množství	Skladování	Doba použitelnosti	Popis
„The Big Easy“ EasySep™ Magnet	18001	1	Skladujte při teplotě 15 - 25°C.	Nepoužije se	Magnet pro bezkolonovou imunomagnetickou separaci.
EasySep™ Buffer	100-0780	1 x 1 L	Skladujte při teplotě 2 - 8°C.	Stabilní do data expirace (EXP) na etiketě.	Pufr pro separaci buněk.

„THE BIG EASY“ EASYSEP™ MAGNET

„The Big Easy“ EasySep™ Magnet vytváří magnetické pole s vysokým gradientem pro separaci buněk a je určen pro použití se sadou EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. „The Big Easy“ EasySep™ Magnet je navržen tak, aby pojal standardní 14 mL (17 x 95 mm) polystyrenovou zkumavku s kulatým dnem.

EASYSEP™ BUFFER

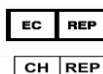
Viz PIS (dokument č. 10000016106) EasySep™ Buffer (katalogové číslo 100-0780), který je k dispozici na adrese www.stemcell.com/0780. Chcete-li si bezplatně vyžádat papírovou kopii tohoto PIS, kontaktujte bezplatné telefonní číslo uvedené v části Technická Pomoc tohoto dokumentu.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Potřebný Materiál, Který Není Součástí Dodávky

Níže uvedené materiály jsou laboratorní předměty pro všeobecné použití, které jsou zapotřebí, ale nejsou součástí dodávky.

- Dulbeccův fosfátem pufovaný fyziologický roztok (bez Ca++ a Mg++; např. katalogové číslo 37350)
- Roztok DNázy I (např. katalogové číslo #07900)
- 70 µm sítko (např. katalogové číslo 27216)
- 14 mL (17 x 95 mm) polystyrenová zkumavka s kulatým dnem (např. katalogové číslo 38008).
- 50 mL kónická zkumavka (např. katalogové číslo 38010)

Omezení

1. PRO DIAGNOSTICKÉ POUŽITÍ IN VITRO
2. Zařízení je určeno k obohacování buněk CD138+ od pacientů, o kterých je známo, že mají nebo mohou mít diagnózu rakoviny.
3. Výkonnostní charakteristiky tohoto zařízení nebyly stanoveny pro obecné navazující diagnostické testy. Koncoví uživatelé musí ověřit použití s případnými následnými testy a zařízeními pro odběr vzorků.
4. Samostatné zařízení není určeno k počítání buněk. Zařízení je určeno pouze k obohacování buněk CD138+ ve vzorcích, aby obohacené vzorky mohly být následně použity k dalšímu zpracování/analýze pomocí dalších nezávislých metod, jako je FISH.
5. Samostatné zařízení není určeno k diagnostickému, prognostickému nebo monitorovacímu použití s buňkami CD138+, včetně použití jako pomůcka při řízení onemocnění a/nebo rozhodování o léčbě. Výsledky ze samotného zařízení neposkytují pacientovi informace o jeho aktuálním zdravotním stavu. Samostatné zařízení nediodagnostikuje žádné zdravotní stavy a nenahrazuje návštěvu lékaře nebo jiného zdravotnického pracovníka.
6. Vzorek kostní dřeně resuspendujte podle objemu vzorku nebo úrovně buněčnosti podle pokynů uvedených v části Příprava vzorku.
7. Dodržujte všechny kroky protokolu uvedené v části Návod k použití. Nesprávné provedení protokolu může vést k proměnlivým a/nebo špatným výsledkům.
8. Nízká počáteční frekvence CD138+ (< 3%) může vést k variabilitě čistoty obohacených buněk CD138+. Koncoví uživatelé mohou po obohacení posoudit čistotu buněk CD138+ buď imunofenotypizací pomocí průtokové cytometrie, nebo morfologickým hodnocením pomocí mikroskopie.
9. Stabilita kostní dřeně může být narušena po 48 hodinách od odběru.
10. Počet plazmatických buněk CD138+ izolovaných z kostní dřeně imunomagnetickou selekcí může být snížen u pacientů podstupujících léčbu mnohočetného myelomu nebo po ní.
11. Pokud při použití více sond FISH nejsou pozorovány abnormální vzorce FISH, vyhledejte technickou pomoc na adrese techsupport@stemcell.com.

Upozornění a Bezpečnostní Opatření

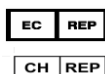
1. Důležité informace týkající se bezpečné manipulace, přepravy a likvidace těchto produktů jsou uvedeny v bezpečnostních listech (Safety Data Sheets, SDS). POZNÁMKA: SDS pro činidla obsažená v soupravě jsou k dispozici na adrese www.stemcell.com.
2. S tímto produktem by měl manipulovat vyškolený personál při dodržování správné laboratorní praxe. Po přidání tohoto produktu k lidským buňkám považujte suspenzi za potenciálně biologicky nebezpečnou. Při manipulaci s činidly a likvidaci odpadů je třeba dodržovat všechny místní, státní nebo národní předpisy.
3. Tento produkt je potenciálně dráždivý pro oči, dýchací systém a pokožku. Tento produkt může být škodlivý i při požití. Zabraňte expozici přes pokožku, oči kontaktu s očima, vdechnutí a požití.
4. UPOZORNĚNÍ: EasySep™ Magnet vytváří silné magnetické pole. Uchovávejte jej mimo dosah kardiostimulátorů, magnetů, počítačových disků, hodinek a dalších předmětů, které reagují na magnetické pole.
5. Zajistěte, aby byly lahvičky během skladování řádně uzavřeny. Správné zacházení a skladování součástí sady je nezbytné pro zajištění označené doby použitelnosti a výkonu sady. Obohacení buněk CD138+ může být nepříznivě ovlivněno komponenty sady skladovanými mimo doporučené skladovací podmínky.
6. Nepoužívejte produkt, pokud byla při příchodu porušena celistvost obalového kontejneru nebo pokud jsou na něm známky kontaminace, vysychání, netěsnosti nebo jiné známky poškození. Nepoužitý výrobek lze zlikvidovat podle standardních laboratorních postupů pro kapaliny, které nejsou nebezpečné.
7. Nepoužívejte produkt po uplynutí data použitelnosti uvedeného na jeho etiketě.
8. Přípravek EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 nezmrazujte. Pokud se přípravek EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 shlukuje nebo jej nelze rovnoměrně rozptýlit, kontaktujte techsupport@stemcell.com.
9. EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail neviřte.
10. EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit je určen k použití s minimálně 1 ml čerstvé kostní dřeně. Vzorky by měly být zpracovány co nejdříve, nejlépe do 24 hodin, ale ne déle než 72 hodin po odběru aspirátu kostní dřeně. Kostní dřeň před použitím nezmrazujte ani nepřepravujte v přímém kontaktu s chladem/ledem a nevystavujte ji teplotám nad 30°C. Postupujte podle pokynů pro přípravu vzorku kostní dřeně uvedených v části Příprava vzorku.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Návod k Použití

PŘÍPRAVA VZORKU

Sada EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit je určena k použití s čerstvou celou lidskou kostní dření. Doporučení pro odběr vzorků naleznete v Příručce cytogenetické laboratoře AGT.⁸ Odběry aspirátu kostní dřeně by měly být prováděny v souladu s institucionálními pokyny laboratoře. Nejméně 1 ml aspirátu kostní dřeně by měl být odebrán do zkumavky na odběr krve obsahující antikoagulant.

Aby se zabránilo degradaci vzorku, ztrátě CD138 z křehkých plazmatických buněk a aby se zachovala životaschopnost buněk, měly by se vzorky zpracovat co nejdříve, nejlépe do 24 hodin, ale ne déle než 72 hodin po odběru aspirátu kostní dřeně. Kostní dřev před použitím nezmrazujte ani nepřepravujte v přímém kontaktu s chladem/ledem, ani ji nevystavujte teplotám nad 30°C.

Optimální provedení protokolu vyžaduje vhodný odběr, skladování a přepravu vzorku na testovací místo.

Při přípravě vzorku k obohacení buněk postupujte podle níže uvedených kroků:

1. Kostní dřev zředte 5 až 10 krát v Dulbeccově fosfátem pufovaném fyziologickém roztoku (D-PBS) a jemně promíchejte pipetováním nahoru a dolů.
2. Předem navlhčete 70 µm sítko D-PBS. Vzorek přefiltrujte přes předem navlhčené sítko, abyste odstranili úlomky kostí, buněčné agregáty a zbytky. Propláchněte sítko D-PBS.
3. Odstředte buňky při 300 x g po dobu 10 minut (přijatelný rozsah 250-300 x g po dobu 8 - 12 minut) s vypnutou brzdou.
4. Pomocí pipety opatrně odstraňte a zlikvidujte plazmu, aniž byste porušili leukocytární vrstvu/peletu červených krvinek. Nevylévejte. Pokud pracujete se vzorky kostní dřeně starými více než 24 hodin, přidejte 50 µL roztoku DNázy I o koncentraci 1 mg/mL přímo do leukocytární vrstvy/pelety červených krvinek a resuspendujte. Před separací buněk inkubujte při pokojové teplotě (15 - 25°C) po dobu 15 - 30 minut.

POZNÁMKA: Roztok DNázy I uchovávejte při -20°C. Roztok DNázy I alikvotujte do pracovních objemů, abyste se vyhnuli opakovaným cyklům zmrazování a rozmrazování.

Tip: Alternativně lze roztok DNázy I uchovávaný při teplotě 2 - 8°C použít až po dobu 1 týdne.

5. Resuspendujte leukocytární vrstvu/peletu červených krvinek na 1 - 2 násobek původního výchozího objemu vzorku kostní dřeně pomocí pufru EasySep™ Buffer (Tabulka 4).
 - Pokud byl původní objem vzorku ≥ 2,5 mL, naředte jej na původní objem vzorku.
 - Pokud byl původní objem vzorku < 2,5 mL, naředte na dvojnásobek původního objemu vzorku.
 - Případně pokud se očekává vysoká buněčnost vzorku (> 70%) nebo pokud není buněčnost známa, naředte vzorek na dvojnásobek původního objemu.

Tabulka 4. Objemy EasySep™ Buffer

Původní objem vzorku	Objem vzorku po resuspenzi s EasySep™ Buffer
1 mL	2 mL
2 mL	4 mL
2,5 mL	2,5 mL
3 mL	3 mL
4 mL	4 mL
4,5 mL	4,5 mL

ODDĚLENÍ BUNĚK

6. Připravte si EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (označovaný jako EasySep™ RBC Lysis Buffer) (1X) nejméně 1 hodinu před použitím. EasySep™ RBC Lysis Buffer se dodává jako 10X koncentrát.
 - a. Přidejte 1 díl EasySep™ RBC Lysis Buffer k 9 dílům destilované vody nebo vody typu 1.
 - b. Před použitím jemně a zcela promíchejte.

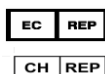
POZNÁMKA: Pokud EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) není použit okamžitě, skladujte jej při teplotě 2-8°C po dobu až 3 měsíců. Nezmrazujte.
 7. Připravte vzorek v rozmezí objemu 1 - 4,5 mL a přidejte vzorek do požadované zkumavky. Pokud je objem > 4,5 ml, rozdělte vzorek do dvou 14 mL zkumavek s kulatým dnem.
 8. Ke vzorku přidejte stejný objem EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X) připraveného v kroku 6. Pokud je například objem vzorku po resuspenzi pomocí EasySep™ Buffer (krok 5) 2 mL, přidejte ke vzorku 2 ml EasySep™ RBC Lysis Buffer (1X).
 9. Přidejte 25 µL EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail na 1 mL naředěného vzorku (krok 8). Promíchejte a inkubujte při pokojové teplotě (15 - 25°C) po 3 minuty (maximálně 5 minut). Pokud je například objem naředěného vzorku 4 mL, přidejte ke vzorku 100 µL EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Cocktail.
- POZNÁMKA:** Koktejl neviřte.
10. Viřte EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 po dobu nejméně 30 - 40 sekund. Částice by měly být rovnoměrně rozptýleny.
 11. Přidejte 25 µL EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50105 na 1 mL naředěného vzorku. Promíchejte a inkubujte při pokojové teplotě (15 - 25°C) po 3 minuty (maximálně 5 minut).



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

12. Přidejte EasySep™ Buffer a doplňte vzorek na níže uvedený objem. Promíchejte jemným pipetováním 2-3krát nahoru a dolů.
 - U naředěných vzorků < 2,5 mL doplňte na 5 mL
 - Doplňte na 10 mL pro zředěné vzorky ≥ 2,5 mL
13. Umístěte zkumavku (bez víčka) do „The Big Easy“ EasySep™ Magnet a inkubujte při pokojové teplotě (15 - 25°C) po 10 minut (maximálně 11 minut).
14. Zvedněte magnet a jedním plynulým pohybem obraťte magnet a zkumavku, abyste vyliili supernatant. Vyjměte zkumavku z magnetu; tato zkumavka obsahuje izolované buňky. Supernatant zlikvidujte.
POZNÁMKA: Magnet a zkumavku nechte 2 - 3 sekundy obrácené, pak je vraťte do svislé polohy. Kapky, které mohou zůstat viset z ústí zkumavky, neotřepávejte ani neotírejte.
15. Přidejte EasySep™ Buffer a doplňte vzorek na níže uvedený objem. Promíchejte jemným pipetováním 2-3krát nahoru a dolů.
 - U naředěných vzorků < 2,5 mL doplňte na 5 mL
 - Doplňte na 10 mL pro zředěné vzorky ≥ 2,5 mL
16. Vložte zkumavku (bez víčka) do magnetu a inkubujte při pokojové teplotě (15 - 25°C) po 3 minuty (maximálně 5 minut).
17. Zvedněte magnet a jedním plynulým pohybem obraťte magnet a zkumavku, abyste vyliili supernatant. Vyjměte zkumavku z magnetu; tato zkumavka obsahuje izolované buňky. Supernatant zlikvidujte.
POZNÁMKA: Magnet a zkumavku nechte 2 - 3 sekundy obrácené, pak je vraťte do svislé polohy. Kapky, které mohou zůstat viset z ústí zkumavky, neotřepávejte ani neotírejte.
18. Přidejte EasySep™ Buffer a doplňte vzorek na níže uvedený objem. Promíchejte jemným pipetováním 2 - 3 krát nahoru a dolů.
 - U naředěných vzorků < 2,5 mL doplňte na 5 mL
 - Doplňte na 10 mL pro zředěné vzorky ≥ 2,5 mL
19. Vložte zkumavku (bez víčka) do magnetu a inkubujte při pokojové teplotě (15 - 25°C) po 3 minuty (maximálně 5 minut).
20. Zvedněte magnet a jedním plynulým pohybem obraťte magnet a zkumavku, abyste vyliili supernatant. Vyjměte zkumavku z magnetu; tato zkumavka obsahuje izolované buňky. Supernatant zlikvidujte.
POZNÁMKA: Magnet a zkumavku nechte 2 - 3 sekundy obrácené, pak je vraťte do svislé polohy. Kapky, které mohou zůstat viset z ústí zkumavky, neotřepávejte ani neotírejte.
21. Resuspendujte buňky v požadovaném médiu. Nezapomeňte odebrat buňky ze stran zkumavky. Obohacené buňky lze použít k dalšímu zpracování/analýze pomocí dalších nezávislých metod, například testu FISH, které byly validovány koncovými uživateli.

Shrnutí Výkonu

KLINICKÁ STUDIE

Byla provedena klinická studie s použitím sady EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit na 33 klinických vzorcích kostní dřeně od pacientů s mnohočetným myelomem v různých stádiích onemocnění. Klinické vzorky byly hodnoceny pomocí panelu pěti běžných sond FISH detekujících šest genomových abnormalit, které zahrnovaly sondu CCND1/IGH XT k detekci translokace t(11;14), jakož i sondy k detekci polysomie chromozomu 5 (D5S23) a chromozomu 15 (D15Z4) (sada s jednou sondou), rozštěpení MYC, delece 13q (D13S319) a delece TP53 (D17Z1). Z 33 pacientů bylo 32 pozitivních alespoň na jednu sondu FISH a 14 pacientů mělo alespoň jednu sondu FISH, která poskytla abnormální signální vzor až po obohacení EasySep™ CD138. Čistota CD138 měřená průtokovou cytometrií byla 12,9% (rozmezí 0,2%-82,7%) u neobohacených vzorků a zvýšila se na 79,6% (rozmezí 18,5%-98,6%) u vzorků obohacených o CD138 pomocí EasySep™.

Násobné obohacení pro čistotu CD138 bylo > 1 a lišilo se na základě počáteční frekvence* u všech vzorků s frekvencí CD138 < 40% před obohacením. V této studii bylo násobné obohacení 65,9 (rozmezí 29,6-91,5) pro vzorky s počáteční frekvencí CD138 < 3%, 11,9 (rozmezí 5,1-23,0) pro vzorky s počáteční frekvencí CD138 mezi 3-15% a 3,2 (1,6-5,3) pro vzorky s počáteční frekvencí CD138 mezi 15-40% před obohacením.

*POZNÁMKA: U vzorků s frekvencí CD138 > 40% nemusí být obohacení plazmatických buněk před FISH nutné.⁹

Shrnutí Výkonu

KLINICKÁ STUDIE

Byla provedena klinická studie s použitím sady EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit na 33 klinických vzorcích kostní dřeně od pacientů s mnohočetným myelomem v různých stádiích onemocnění. Klinické vzorky byly hodnoceny pomocí panelu pěti běžných sond FISH detekujících šest genomových abnormalit, které zahrnovaly sondu CCND1/IGH XT k detekci translokace t(11;14), jakož i sondy k detekci polysomie chromozomu 5 (D5S23) a chromozomu 15 (D15Z4) (sada s jednou sondou), rozštěpení MYC, delece 13q (D13S319) a delece TP53 (D17Z1). Z 33 pacientů bylo 32 pozitivních alespoň na jednu sondu FISH a 14 pacientů mělo alespoň jednu sondu FISH, která poskytla abnormální signální vzor až po obohacení EasySep™ CD138. Čistota CD138 měřená průtokovou cytometrií byla 12,9% (rozmezí 0,2%-82,7%) u neobohacených vzorků a zvýšila se na 79,6% (rozmezí 18,5% - 98,6%) u vzorků obohacených o CD138 pomocí EasySep™.

Násobné obohacení pro čistotu CD138 bylo > 1 a lišilo se na základě počáteční frekvence* u všech vzorků s frekvencí CD138 < 40% před obohacením. V této studii bylo násobné obohacení 65,9 (rozmezí 29,6 - 91,5) pro vzorky s počáteční frekvencí CD138 < 3%, 11,9 (rozmezí 5,1-23,0) pro vzorky s počáteční frekvencí CD138 mezi 3 - 15% a 3,2 (1,6 - 5,3) pro vzorky s počáteční frekvencí CD138 mezi 15 - 40% před obohacením.

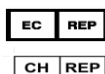
*POZNÁMKA: U vzorků s frekvencí CD138 > 40% nemusí být obohacení plazmatických buněk před FISH nutné.⁹



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



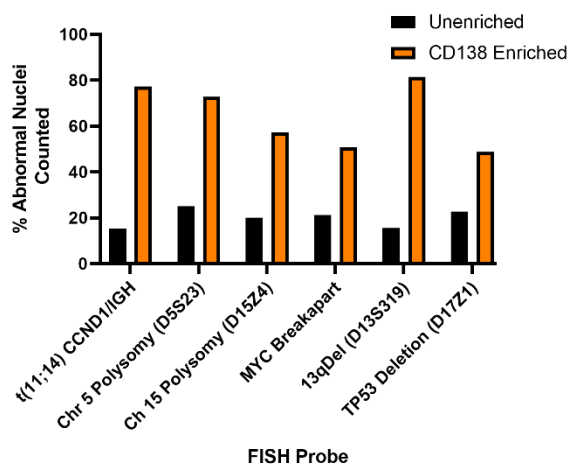
Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Procento abnormálních jader před (neobohacených) a po obohacení se pro každou sondu zvýšilo o následující hodnoty: CCND1/IGH (t(11;14)) sonda: 15,4 ± 15,5% až 77,3 ± 29,5% (n = 14); chromozom 5 (D5S23) sonda: 25,0 ± 19,1% až 72,7 ± 17,4% (n = 15); chromozom 15 (D15Z4) sonda: 20,0 ± 15,9% až 57,3 ± 23,6% (n = 16); sonda pro rozštěpení MYC: 21,2 ± 21,7% až 50,7 ± 33,5% (n = 10); delece 13q (D13S319) sonda: 15,5 ± 16,9% až 81,4 ± 15,2% (n = 19); sonda TP53 (D17Z1): 22,8 ± 23,5% až 48,8 ± 32,9% (n = 5).

Obrázek 1 ukazuje, že procento abnormálních jader detekovaných pro každou sondu bylo vyšší po obohacení EasySep™ CD138 ve srovnání se vzorkem před obohacením a bylo vytvořeno pomocí podskupiny kompletního souboru dat (není uvedeno), kde byly do analýzy zahrnuty pouze vzorky s abnormálním vzorcem signálu FISH pro každou sondu.

Obrázek 1. Procento Abnormálních Jader V Plazmatických Buňkách Před (Neobohacených) A Po Obohacení Pomocí Sady EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit



STUDIE REPRODUKOVATELNOSTI

Reprodukovatelnost s Umělými Vzorky

Byla provedena studie, která měla prokázat reprodukovatelnost procesu obohacování na třech studijních pracovištích s použitím tří šarží sady EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection. Vzhledem k problémům s dostatečným množstvím vzorků pro tři pracoviště byla studie provedena s použitím umělých vzorků vytvořených každodenním přidáním buněčné linie mnohočetného myelomu do plné krve zdravého dárce s nízkou (< 3%), střední (3 - 15%) nebo vysokou (> 15%) počáteční frekvencí CD138+, aby bylo vytvořeno 16 vzorků nebo členů panelu. Při nízké a střední úrovni bylo studováno více členů panelu (6 oproti 4 při vysoké úrovni), aby se prokázalo obohacení při náročnějších úrovních.

V tabulce 5 je uveden statistický přehled celkové variability, variability mezi jednotlivými místy, šaržemi a obohacení v násobcích u členů panelu s vysokou, střední a nízkou frekvencí CD138+. Obohacení se zvýšilo v průměru 85,7krát u vzorků s nízkou počáteční frekvencí CD138+, 9,3krát u vzorků se střední frekvencí CD138+ a 3,8krát u vzorků s vysokou počáteční frekvencí CD138+.

Tabulka 5. Studie Reprodukovatelnosti Easysep™ CD138 Shrnutí Variability A Násobného Obohacení

Počáteční frekvence CD138+	N	CV opakovatelnosti (%)	CV mezi pracovišti (%)	CV mezi šaržemi (%)	CV reprodukovatelnosti (%)	Násobné obohacení
		Průměr (min. - max.)	Průměr (min. - max.)	Průměr (min. - max.)	Průměr (min. - max.)	Průměr (min. - max.)
Vysoké (> 15%)	4	0,7 (0,5 - 0,9)	4,0 (2,8 - 5,9)	0,9 (0,5 - 1,6)	4,0 (2,8 - 6,0)	3,8 (2,6 - 5,5)
Stř (3-15%)	6	1,6 (0,8 - 3,0)	4,2 (2,1 - 6,8)	2,3 (1,0 - 3,9)	4,5 (2,2 - 7,0)	9,3 (5,0 - 15,4)
Nízké (< 3%)	6	5,4 (3,5 - 8,9)	9,7 (5,5 - 13,8)	8,6 (4,5 - 14,2)	11,9 (8,2 - 18,3)	85,7 (20,2 - 206,0)

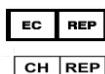
CV – variační koeficient



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #10000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

Reprodukovatelnost s Klinickými Vzorky

Tři šarže sady EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit byly testovány na aspirátech kostní dřeně pacientů s mnohočetným myelomem (BMA) z hlediska účinnosti v následných testech FISH. Bylo testováno celkem 9 klinických mnohočetných myelomů BMA, kde každý vzorek byl rozdělen na polovinu, aby se otestovalo obohacení dvěma různými šaržemi sady EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. Procento abnormálních jader bylo analyzováno pomocí pěti sond FISH, které detekují běžné chromozomální abnormality mnohočetného myelomu, včetně translokace t(11;14) (CCND1/IGH XT), aneusomií chromozomů 5, 9 a 15 (D5S23, D5S72, CEP 9, CEP 15) a delecí 13q14.

Na základě výsledků studie tři BMA poskytly normální obrazce signálu FISH pro všech pět testovaných sond. Jeden BMA byl abnormální pro translokaci t(11;14) a čtyři BMA měly abnormální signály pro delecii 13q. Ve všech devíti testovaných BMA bylo procento abnormálních buněk pro každou sondu velmi podobné mezi plazmatickými buňkami obohacenými o dvě šarže sady EasySep™ CD138. Stejná normální/abnormální dispozice pro danou sondu byla shodná mezi páry šarží EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Kit Positive Selection Kit. Ve všech případech byla normální/abnormální dispozice ve shodě, což naznačuje, že sada EasySep™ je schopna produkovat reprodukovatelné výsledky FISH při použití na vzorku pro zamýšlené použití.

PŘESNOST

Byla provedena studie přesnosti, kdy ve třech dnech nejdoucích po sobě byl vzorek kostní dřeně od zdravého dárce obohacen buněčnou linií CD138+ SK-MM-2 při nízké (< 3%) a střední (3-15%) počáteční frekvenci CD138+ pro generování dvou samostatných umělých členů panelu vzorků. Dva operátoři prováděli obohacování EasySep™ v každém ze dnů studie, přičemž každý operátor obohacoval od jednoho ze dvou členů panelu. Každý operátor provedl tři běhy obohacení ve čtyřech provedeních na jednom členu panelu s použitím jedné šarže sady.

Čistota neobohacených a obohacených buněk CD138+ byla stanovena analýzou průtokovou cytometrií pro každý ze tří běhů od všech členů panelu. Odhady přesnosti opakovatelnosti obohacené čistoty (% CV ve čtyřech replikátech v rámci cyklu, n = 4 na běh, 3 běhy na členu panelu) se pohybovaly v rozmezí 0,81-1,56% a 0,17 - 1,41% pro členy panelu s nízkou a střední počáteční frekvencí CD138+, v tomto pořadí, což ukazuje, že variabilita čistoty obohacených buněk CD138+ je během běhu dobře kontrolována.

LIMIT DETEKCE

Limit Detekce (Limit Of Detection, Lod) s Umělými Vzorky

Cílem studie bylo určit nejnižší počáteční frekvenci CD138+, která poskytuje konzistentní abnormální výsledky FISH v uměle vytvořeném vzorku po obohacení buněk CD138+ pomocí EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. Šest po sobě jdoucích dnů byl vzorek plné krve (WB) nebo kostní dřeně (BM) od zdravého dárce obohacen o 20% CD138+ buněčné linie SK-MM-2 (přijatelné rozmezí 26-14% průtokovou cytometrií) Počáteční frekvence CD138+ a poté sériově zředěná faktorem dva pomocí WB nebo BM pro dosažení ~20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,63%, 0,31%, 0,16%, 0,08% a 0% (tj. WB nebo BM, které nejsou obohaceny buňkami SK-MM-2). Každý vzorek byl obohacen v duplikátech pomocí EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit a všechny neobohacené a obohacené vzorky byly hodnoceny průtokovou cytometrií a/nebo měly dispozice t(11;14) analyzovanou pomocí FISH.

Byly přezkoumány výsledky ze studie EasySep™ CD138 Limit of Detection, včetně čistoty neobohacených a obohacených buněk CD138+ měřených průtokovou cytometrií a dispozice t(11;14) analyzované pomocí FISH. Všechny uměle vytvořené vzorky s přidavkem buněk SK-MM-2, cílených na počáteční frekvenci CD138+ pouze 0,08%, vedly k abnormální dispozici t(11;14) v analýze FISH. Obohacená čistota CD138+ měřená průtokovou cytometrií pozitivně korelovala s procentem abnormálních jader pozorovaných v následné analýze FISH. Průměrná čistota obohaceného CD138+, která vedla k abnormální dispozici t(11;14) ve FISH, byla 33% CD138+, obohacená ze vzorků s průměrnou neobohacenou čistotou 0,08% CD138+. U vzorků s počáteční cílovou frekvencí CD138+ 0,00% vedly čtyři ze šesti dárců k normální dispozici t(11;14) v analýze FISH, avšak u jednoho dárce kostní dřeně a jednoho dárce plné krve byl pouze jeden replikát považován za normální a druhý replikát neprůkazný kvůli k nedostatečnému počtu získaných buněk. Závěrem, studie EasySep™ CD138 Limit of Detection ukázala, že EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit dokázala konzistentně obohacovat uměle vytvořené vzorky s počáteční frekvencí CD138+ 0,05% - 25,06% a dosáhla konzistentních abnormálních vzorů FISH. Limit detekce pro sadu EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit byl nastaven na 0,05% počáteční frekvence CD138+.

Potvrzení Limitu Detekce (Lod) Se Vzorky Kostní Dřeně z Klinického Mnohočetného Myelomu

Cílem této studie bylo ověřit LoD při 0,05% počáteční frekvenci CD138, stanovené v předchozí studii LoD na umělých vzorcích v jednom klinickém vzorku za použití dvou šarží sady, které mají tři replikáty na šarži sady. Obohacení buněk CD138+ bylo provedeno na klinickém vzorku vyrobeném přidáním aspirátu kostní dřeně pacienta s mnohočetným myelomem do aspirátu kostní dřeně zdravého dárce při počáteční frekvenci CD138 0,05%. Klinický vzorek byl promyt a rozdělen do šesti frakcí pro obohacení buněk EasySep™ CD138 pomocí dvou šarží sady se třemi replikáty na šarži sady. Obohacené vzorky byly rozděleny do dvou frakcí: jedna frakce byla použita pro hodnocení čistoty plazmatických buněk průtokovou cytometrií a druhá frakce byla použita pro FISH.

Čistota plazmatických buněk byla stanovena před a po obohacení pomocí dvou šarží sady EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit se třemi replikáty na šarži sady. Vzorek byl obohacen z 0,05% na rozsah 4,1-7,4%. Celková obohacená čistota CV byla 19,7%, čímž splnila kritéria přijatelnosti celkové CV ≤ 35%. Všechny obohacené vzorky měly normální signály FISH pro polysomii chromozomu 5 a 15 (D5S23, D15Z4), rozštěpení MYC a sondy CCND1/IGH XT; a byly abnormální pro delecii chromozomu 13q (D13S319) a TP53. Dispozice FISH obohacených vzorků byla stejná jako dispozice FISH neředitelného klinického vzorku, přičemž 100% replikátů bylo abnormálních pro delecii chromozomu 13q (D13S319) a TP53.

ANTIKOAGULANTNÍ RUŠENÍ

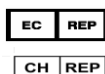
Pro tuto studii byly získány tři čerstvé vzorky kostní dřeně klinického mnohočetného myelomu. Jeden vzorek byl zpracován ~20 hodin po odběru, jeden vzorek byl zpracován ~24 hodin po odběru a třetí vzorek byl zpracován ~22 hodin po odběru. Každý vzorek byl rozdělen na dvě frakce. Jedna frakce byla ošetřena PBS (kontrola), zatímco druhá byla obohacena 3x přebytkem heparinu sodného. Jednotlivé replikáty každé frakce byly poté promyty a obohaceny pomocí EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit. Čistota CD138 byla stanovena průtokovou cytometrií a poté porovnána, aby se určilo, zda nadbytek heparinu



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #1000019127
Version 01

Issue Date 2025-01

způsobil interferenci s obohacením a čistotou CD138. Druhá studie hodnotila celkem 3 klinické vzorky připravené přidáním mononukleárních buněk kostní dřeně mnohočetného myelomu do aspirátů kostní dřeně zdravého dárce s počáteční frekvencí CD138 < 0,2 %. Byly testovány tři replikáty na vzorek a podmínky (tj. s/bez přebytku heparinu sodného). Obohacené čistoty vzorků obohacených heparinem sodným se statisticky nelišily od čistoty kontrolních vzorků v každé studii (jednostranný t-test, $p = 0,1971$ a $p = 0,2740$, v daném pořadí). Výsledky ukázaly, že nebylo zjištěno, že by nadbytek heparinu sodného interferoval s obohacením plazmatických buněk CD138+.

Technická Pomoc

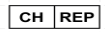
POZNÁMKA: Objednejte si prosím znovu pomocí katalogu č. 100-1133, soupravy, která obsahuje EasySep™ Human Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit (REF 100-0748) a EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate (REF 100-0749).

Tento informační list výrobku je také k dispozici v různých národních jazycích v elektronické podobě na webových stránkách společnosti STEMCELL a může být na vyžádání poskytnut v papírové kopii.

Pro technickou podporu kontaktujte techsupport@stemcell.com nebo zavolejte na bezplatné číslo +1 604 877 0713 (Kanada), +1 800 667 0322 (Severní Amerika) nebo 00800 7836 2355 (Evropa). Pro více informací navštivte www.stemcell.com.

Odstranění, přidání nebo změny jsou označeny pruhem změn na okraji.

Jakákoli závažná událost, která se vyskytla v souvislosti s prostředkem, musí být oznámena výrobcí a příslušnému orgánu členského státu, ve kterém uživatel sídlí.

 Pouze na předpis	 Katalogové nebo referenční číslo	 Kód šarže	 Datum spotřeby: RRRR-MM-DD	 Pozor, prostudujte si průvodní dokumenty	 Diagnostický lékařský přístroj in vitro
 Pro skladování v rámci teplotních limitů	 Přečtěte si návod k použití nebo elektronický návod k použití	 Nepoužívejte, pokud je obal poškozen	 Jedinečný identifikátor zařízení	 Značka CE	 Výrobce
 Autorizovaný zástupce ES v Evropském společenství	 Autorizovaný zástupce ve Švýcarsku				

Bibliografieeichnis

- Colander et al. (2022) Multiple Myeloma, Version 3.2022: Featured Updates to the NCCN Guidelines. JNCCN 20(1): 8–19.
- Kumar S et al. (2020) Multiple Myeloma, Version 3.2021. JNCCN 18(12): 1685–717.
- Dimopoulos et al. (2021) Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 32(3): 309–22.
- Caers et al. (2018) European Myeloma Network recommendations on tools for the diagnosis and monitoring of multiple myeloma: what to use and when. Haematologica 103(11): 1772–84.
- Shin SY et al. (2012) Application of an immune-magnetic cell sorting method for CD138-positive plasma cells in FISH analysis of multiple myeloma. Int J Lab Hematol 34(5):541–6.
- Shetty S et al. (2012) Utility of a column-free cell sorting system for separation of plasma cells in multiple myeloma FISH testing in clinical laboratories. Int J Hematol 95(3): 274–81.
- Kishimoto RK et al. (2016) Validation of interphase fluorescence in situ hybridization (iFISH) for multiple myeloma using CD138 positive cells. Rev Bras Hematol Hemoter 38(2): 113–20.
- The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 4th ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc; 2017.
- Pozdnyakova O et al. (2009) Interphase FISH in plasma cell dyscrasia: increase in abnormality detection with plasma cell enrichment. Cancer Genetics and Cytogenetics 189:112–7.

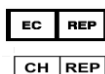
Copyright © 2025 by STEMCELL Technologies Inc. Všechna práva včetně grafiky a obrázků vyhrazena. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, EasySep a RapidSpheres jsou ochranné známky společnosti STEMCELL Technologies Canada Inc. Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků. Přestože společnost STEMCELL vynaložila veškeré přiměřené úsilí, aby zajistila, že informace poskytnuté společností STEMCELL a jejími dodavateli jsou správné, neposkytuje žádné záruky ani prohlášení ohledně přesnosti nebo úplnosti těchto informací.



STEMCELL Technologies Canada Inc. | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free number: 00800 7836 2355
North American toll-free number: +1.800.667.0322
email: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41 30175 Hannover • Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau • Switzerland



Document #1000019127
Version 01

Issue Date 2025-01