

Návod k použití NM-LYSE Lyzovací roztok pro průtokovou cytometrii

Pro lyzovací postupy s biologickými tekutinami (krev, kostní dřeň a další)

REF GAS-003-CE/IVD

NM-LYSE Roztok pro průtokovou cytometrii 30 ml 300 testů

REF GAS-003-1-CE/IVD

NM-LYSE Roztok pro průtokovou cytometrii 100 ml 1 000 testů



IVD

Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro



Nordic Immunological Laboratories BV, Nordic-MUbio, Rangeerweg 5A, 6114 BC Susteren, Nizozemsko

Zamýšlený účel

Zařízení je určeno k přípravě vzorků buněčné suspenze pro průtokovou cytometrickou analýzu. Ošetření krve, aspirátů kostní dřeně a dalších vzorků pomocí tohoto činidla vede současně k hemolýze červených krvinek a fixaci bílých krvinek. Morfologické charakteristiky rozptýlu těchto leukocytů zůstávají nedotčeny. NM-LYSE je vhodný pro analýzu normálních a maligních populací leukocytů získaných z různých lidských biologických vzorků pomocí průtokové cytometrie. NM-LYSE lze použít v automatizovaném i neautomatizovaném prostředí ke studiu suspenzí takových buněčných vzorků.

Tento produkt je určen pouze pro profesionální *in vitro* diagnostické použití.

Obecné informace

NM-LYSE je předem namíchaný, k použití připravený lyzovací roztok určený k lyzování erytrocytů po barvení (monoklonálními) protilátkami plné krve, aspirátů kostní dřeně a dalších. Průtokové cytometrické analýzy s monoklonálními protilátkami byly dlouho omezeny na populace leukocytů, které musely být před barvením a/nebo analýzou odděleny gradientovou centrifugací od erytrocytů. Namísto toho metody barvení celé krve umožňují rychlé a přesné stanovení buněčných subpopulací v neseparovaných biologických vzorcích. To je nejen časově úsporné, ale snižuje to i pravděpodobnost nechtěné ztráty odlišných buněčných populací např. v důsledku běžně používaných postupů diferenční centrifugace. S činidlem NM-LYSE je průtoková cytometrická analýza plné krve stejně snadná a přesná jako analýza separovaných buněčných populací. NM-LYSE lze použít po promytí vzorku nebo bez této přípravy.

NM-LYSE je navržen pro použití se všemi komerčně dostupnými průtokovými cytometry. Vyrovnání a kompenzace by měly být provedeny podle pokynů výrobce

OBSAH

Dodávané materiály

NM-Lyse

Roztok NM-LYSE pro průtokovou cytometrii
patentované složení, obsahuje 4-10 % formaldehydu 1x 30 ml/ 1x 100 ml 300/1 000 testů

Požadované, ale nedodávané materiály

Používejte vhodná bezpečnostní opatření, jako je nošení laboratorního pláště, rukavic, ochranných brýlí atd.

Skleněné nebo plastové zkumavky o objemu 3-5 ml

Pipety

Vortex

Odstředivka

Průtokový cytometr a plášťová tekutina

Vhodně (fluorochromem) konjugované protilátky

Destilovaná voda

Odběr, skladování a manipulace se vzorky

Biologické tekutiny (krev, aspiráty kostní dřeně a další) musí být odebírány za sterilních podmínek. Doporučuje se antikoagulace pomocí EDTA nebo heparinu. Vzorky by měly být až do použití uchovávány při pokojové teplotě. Pro dosažení optimálních výsledků by měly být vzorky zpracovány a analyzovány do 24 hodin. Vzorky s vysokým počtem neživotaschopných buněk mohou způsobit falešné výsledky a v takových případech je třeba stanovit životaschopnost buněk v samostatném vzorku např. pomocí jodid propidia. Se všemi biologickými vzorky je třeba zacházet opatrně. Vždy je považujte za potenciálně infekční. Používejte vhodná bezpečnostní opatření, jako jsou rukavice, laboratorní plášť atd.

Postup barvení a lyzování bez promytí

Lyzovací roztok NM-LYSE pro průtokovou cytometrii je připraven k použití.

- Pro každý vzorek přidejte 50 µl krve, aspirátu kostní dřeně nebo jiných buněčných vzorků s EDTA nebo heparinem do zkumavky o objemu 3-5 ml.
- Přidejte 20 µl konjugátu příslušné (monoklonální) protilátky.
- Inkubujte zkumavku 15 minut při 4 °C nebo při pokojové teplotě ve tmě.
- Přidejte 100 µl NM-LYSE do každé zkumavky a inkubujte 10 minut při pokojové teplotě.
- Přidejte 1 ml destilované vody a promíchejte, inkubujte 5 až 10 minut při pokojové teplotě.
- Analyzujte okamžitě nebo vzorky skladujte při teplotě 2-8 °C ve tmě a analyzujte do 24 hodin.

Postup barvení a lyzování s promytím

- Pro každý vzorek přidejte 50 µl krve, aspirátů kostní dřeně nebo jiných buněčných vzorků s EDTA nebo heparinem do zkumavky o objemu 3-5 ml.
- Přidejte 20 µl konjugátu příslušné (monoklonální) protilátky.
- Inkubujte zkumavku 15 minut při 4 °C nebo při pokojové teplotě ve tmě.
- Přidejte 100 µl NM-LYSE do každé zkumavky a inkubujte 10 minut při pokojové teplotě.
- Přidejte 3-4 ml destilované vody a promíchejte, inkubujte 5 až 10 minut při pokojové teplotě.
- Odstředějte zkumavku 5 minut při 300 g
- Aspirujte supernatant a resuspendujte pelety v 0,3 ml plášťové tekutiny.
- Analyzujte okamžitě nebo vzorky skladujte při teplotě 2-8 °C ve tmě a analyzujte do 24 hodin.

Charakteristiky účinnosti

V řadě publikací (viz vybrané odkazy níže) bylo prokázáno, že NM-LYSE umožňuje úspěšné imunobarvení povrchových buněčných markerů a intracelulárních antigenů v různých typech buněk získaných z periferní krve, kostní dřeně nebo jiných a zároveň ponechává rozptylové charakteristiky těchto typů buněk nedotčené. Výsledkem je, že různé typy buněk a jejich stádia zrání lze kvantifikovat průtokovými cytometrickými technikami v normálních a (pre)maligních krevních aspirátech a aspirátech kostní dřeně.

Výkonnost každé šarže NM-Lyse se určuje zpracováním dobře definovaných vzorků krve od reprezentativních dárců a následným porovnáním charakteristik přímého a bočního rozptylu získaných leukocytů. Odchytky těchto parametrů stanovené mezi jednotlivými šaržemi jsou menší než 10 %.

Omezení techniky

Pomocí NM-LYSE se průtoková cytometrická analýza buněčných antigenů stala snadnou a přesnou. Jedinou podmínkou je dostupnost vhodných konjugovaných protilátek. Většinu dostupných (monoklonálních) protilátkových konjugátů lze použít s NM-LYSE, některé determinanty jsou však citlivé na příslušný fixační krok. To a optimální dobu fixace je třeba pro každé činidlo otestovat.

NM-LYSE je navržen pro použití se všemi komerčně dostupnými průtokovými cytometry. Vyrovnání a kompenzace by měly být provedeny podle pokynů výrobce. Průtokovou cytometrii by měli provádět pouze profesionální uživatelé. Nesprávné zarovnání průtokového cytometru, nepřesná kompenzace fluorescence unikající do jiných kanálů i nesprávné umístění oblastí mohou vést k falešným výsledkům. Pokud se ukáže, že lýza červených krvinek není z různých důvodů možná, doporučuje se před barvením izolovat mononukleární buňky (MNC) centrifugací s gradientem hustoty. Výsledky budou správné a reprodukovatelné, pokud použité postupy respektují technická doporučení a dodržují správnou laboratorní praxi. Roztok NM-LYSE se dodává připravený k použití v koncentraci, která umožní lýzu lidských erytrocytů a fixaci (monoklonální) protilátky na buňky při zachování charakteristik buněčného rozptylu. Proto se důrazně doporučuje dodržovat pracovní protokol, pokud jde o koncentraci a objem buněk a protilátky. Vlastnosti NM-LYSE byly stanoveny s použitím EDTA a heparinem antikoagulované periferní krve.

Upozornění a bezpečnostní opatření

Pouze pro profesionální uživatele.

NM-LYSE obsahuje 4-10 % formaldehydu. Formaldehyd je toxický, alergenní a podezřelý karcinogen a je označen: Škodlivý. Doporučuje se správný postup při manipulaci. Nikdy nepipetujte ústy a zabraňte požití a vdechnutí, kontaktu s očima, kůží a oděvem. S tímto výrobkem zásadně nesmí pracovat osoby mladší 18 let. Uživatelé musí být pečlivě poučeni o správném pracovním postupu, nebezpečných vlastnostech výrobku a nezbytných bezpečnostních pokynech. Další informace naleznete v bezpečnostním listu (SDS). Zbytky výrobku likvidujte v souladu s místními předpisy.

Jakákoli závažná událost, ke které došlo v souvislosti s tímto prostředkem, musí být nahlášena výrobci a příslušnému orgánu členského státu EU, ve kterém je uživatel a/nebo pacient má své sídlo.

Obsah nebezpečných látek: 4-10 % formaldehyd



Nebezpečí

H350: Může způsobit rakovinu (uvedte způsob expozice, pokud je jednoznačně prokázáno, že žádné jiné způsoby expozice nezpůsobují nebezpečí)

H317: Může způsobit alergickou kožní reakci

P201: Před použitím si vyžádejte zvláštní pokyny.

P280: Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí / ochranu obličeje.

P308+P313: Pokud je vystaven působení nebo má obavy: Vyhledejte lékařskou pomoc / zásah.

P333+P313: Pokud dojde k podráždění kůže nebo se objeví vyrážka: Vyhledejte lékařskou pomoc / zásah.

P362+P364: Kontaminovaný oděv před dalším použitím svlékněte a vyperte

Skladování

Činidlo NM-LYSE by se mělo skladovat a používat při pokojové teplotě (18-24°C). Nezamrazujte. Stabilita činidla: Sledujte prosím datum použitelnosti vytištěné na lahvičce. Použití činidla po uplynutí doby použitelnosti se nedoporučuje. Pokud jsou činidla skladována za jiných než uvedených podmínek, musí si uživatel tyto podmínky prověřit. Nepoužívejte činidlo, pokud se vytvořila sraženina nebo došlo ke změně barvy. Podmínky skladování po otevření lahviček jsou stejné jako u lahviček neotevřených.

Pokud se objeví neočekávané výsledky, které nelze přičíst rozdílu v laboratorních postupech, kontaktujte nás.

Záruka

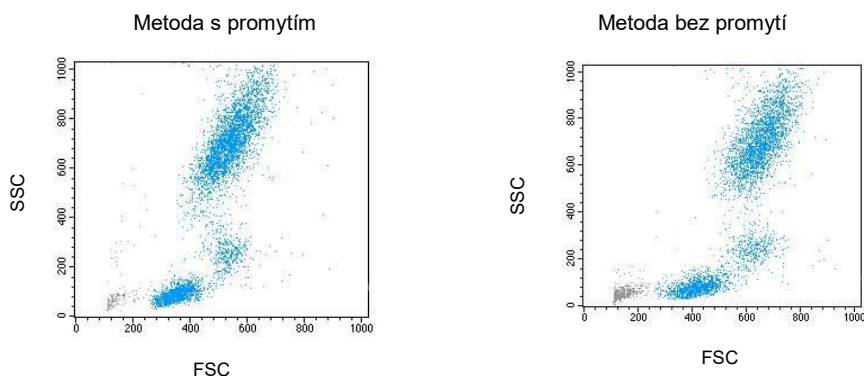
Na níže prodávané výrobky se vztahuje záruka pouze na množství a obsah uvedený na etiketě v době dodání zákazníkovi. Neexistují žádné záruky, výslovné ani předpokládané, které by přesahovaly rámec popisu na štítku výrobku. Jediná odpovědnost společnosti Nordic-MUbio je omezena na výměnu výrobků nebo vrácení kupní ceny. Společnost Nordic-MUbio neodpovídá za škody na majetku, zranění osob nebo ekonomické ztráty způsobené výrobkem. Kvalita každé šarže NM-LYSE se určuje lyzací červených krvinek dobře definovaných vzorků krve od reprezentativních dárců a následným porovnáním charakteristik přímého a bočního rozptylu získaných leukocytů.

Vybrané odkazy

- Bossuyt, X., Marti, G. E. & Fleisher, T. A. (1997) *Cytometry* **30**, 124-33.
- Fritsch, G., Printz, D., Stimpfl, M., Dworzak, M. N., Witt, V., Potschger, U. & Buchinger, P. (1997) *Transfusion* **37**, 775-84.
- Kormoczi, G. F., Wolfel, U. M., Rosenkranz, A. R., Horl, W. H., Oberbauer, R. & Zlabinger, G. J. (2001) *J Immunol* **167**, 451-60.
- Menendez, P., Redondo, O., Rodriguez, A., Lopez-Berges, M. C., Ercilla, G., Lopez, A., Duran, A., Almeida, J., Perez-Simon, J. A., San Miguel, J. F., Gratama, J. W. & Orfao, A. (1998) *Cytometry* **34**, 264-71.

Reprezentativní příklady

Profil rozptylu průtokové cytometrie (dopředný a boční rozptyl) leukocytů periferní krve po lýze plné krve pomocí NM-LYSE, buď po použití promývací metody, nebo metody bez promývání.



Výsledek: Dobrá separace lymfocytů, neutrofilů a monocytů.

Datum vydání

Verze 2

22. května 2022

Provedené změny: Tato verze byla změněna tak, aby byla v souladu s IVD-R.