

Gebrauchsanweisung NM-LYSE Durchflusszytometrie-Lyselösung

Für Lyseverfahren mit biologischen Flüssigkeiten (Blut, Knochenmark und andere)

REF **GAS-003-CE/IVD**

NM-LYSE Durchflusszytometrie-Lyselösung 30 ml 300 Tests

REF **GAS-003-1-CE/IVD**

NM-LYSE Durchflusszytometrie-Lyselösung 100 ml 1000 Tests



IVD

Medizinisches Gerät für die In-vitro-Diagnostik



Nordic Immunological Laboratories BV, Nordic-MUBio, Rangeerweg 5A, 6114 BC Susteren, Niederlande

Verwendungszweck

Verwendungszweck des Geräts ist die Vorbereitung von Zellsuspensionsproben für die durchflusszytometrische Analyse. Die Behandlung von Blut, Knochenmarkaspiraten und anderen Proben mit diesem Reagens führt gleichzeitig zur Lyse von roten Blutkörperchen und zur Fixierung von weißen Blutkörperchen. Das morphologische Streuverhalten dieser Leukozyten wird dabei nicht beeinflusst. NM-LYSE eignet sich für die Analyse normaler und maligner Leukozytenpopulationen aus verschiedenen humanbiologischen Proben mittels Durchflusszytometrie. NM-LYSE kann sowohl in automatisierten als auch in nicht-automatisierten Umgebungen angewendet werden, um Suspensionen derartiger Zellproben zu untersuchen.

Dieses Produkt ist ausschließlich für die professionelle Anwendung in der In-vitro-Diagnostik bestimmt.

Prinzip

NM-LYSE ist eine vorgemischte, gebrauchsfertige Lyselösung zur Lyse von Erythrozyten nach (monoklonaler) Antikörperfärbung von Vollblut, Knochenmarkaspiraten und anderen Zellproben. Durchflusszytometrische Analysen mit monoklonalen Antikörpern waren bislang auf Leukozytenpopulationen beschränkt, die vor dem Färben und/oder Analysieren mittels Gradientenzentrifugation von den Erythrozyten getrennt wurden. Im Gegensatz dazu ermöglichen Methoden zur Vollblutfärbung eine schnelle und präzise Bestimmung von zellulären Subpopulationen in nicht separierten biologischen Proben. Dies spart nicht nur Zeit, sondern reduziert auch die Wahrscheinlichkeit eines unbeabsichtigten Verlusts distinkter zellulärer Populationen, z. B. durch gängige Differentialzentrifugationsverfahren. Die durchflusszytometrische Analyse von Vollblut mit dem NM-LYSE-Reagens ist so einfach und präzise wie die Analyse getrennter Zellpopulationen. NM-LYSE kann für Wash- und No-Wash-Verfahren verwendet werden. NM-LYSE ist für die Verwendung mit allen handelsüblichen Durchflusszytometern geeignet. Die Einstellung und Kompensation sollte gemäß den Herstellerangaben erfolgen.

INHALT

Mitgelieferte Materialien

NM-LYSE

NM-LYSE Durchflusszytometrie-Lyselösung
Proprietäre Zusammensetzung, enthält 4–10 % Formaldehyd 1 × 30 ml/1 × 100 ml 300/1000 Tests

Erforderliche, jedoch nicht mitgelieferte Materialien

Geeignete Sicherheitsmaßnahmen treffen und Laborkittel, Handschuhe, Schutzbrille usw. tragen
3- bis 5-ml-Glas- oder Kunststoffröhrchen
Pipetten
Vortexmischer
Zentrifuge
Durchflusszytometer und Hüllflüssigkeit
Geeignete (fluorochrome) konjugierte Antikörper
Destilliertes Wasser

Entnahme, Lagerung und Handhabung von Proben

Biologische Flüssigkeiten (Blut, Knochenmarkaspirate und andere) müssen unter sterilen Bedingungen entnommen werden. Eine Antikoagulation mit EDTA oder Heparin wird empfohlen. Die Proben sind bis zur Verwendung bei Raumtemperatur zu lagern. Für optimale Ergebnisse sollten die Proben innerhalb von 24 Stunden verarbeitet und analysiert werden. Proben mit einer hohen Anzahl von nicht-lebensfähigen Zellen können zu falschen Ergebnissen führen. In diesen Fällen ist die Bestimmung der Zellviabilität in einer separaten Probe z. B. mit Propidiumiodid erforderlich. Alle biologischen Proben sind mit Vorsicht zu

behandeln. Sie sind stets als potenziell infektiös zu betrachten. Geeignete Sicherheitsmaßnahmen treffen und Handschuhe, Laborkittel usw. tragen.

No-Wash-Färbung und -Lyse

Die NM-LYSE Durchflusszytometrie-Lyselösung ist gebrauchsfertig.

- Für jede Probe 50 µl mit EDTA oder Heparin antikoagulierte Blut, Knochenmarkaspirat oder andere Zellproben in ein 3- bis 5-ml-Röhrchen geben
- 20 µl geeignetes (monoklonales) Antikörper-Konjugat hinzugeben
- Das Röhrchen 15 Minuten bei 4 °C oder Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren
- 100 µl NM-LYSE in jedes Röhrchen geben und 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren
- 1 ml destilliertes Wasser hinzugeben und im Vortexmischer schütteln, 5 bis 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren
- Umgehend analysieren oder Proben bei 2 bis 8 °C im Dunkeln lagern und innerhalb von 24 Stunden analysieren

Wash-Färbung und -Lyse

- Für jede Probe 50 µl mit EDTA oder Heparin antikoagulierte Blut, Knochenmarkaspirat oder andere Zellproben in ein 3- bis 5-ml-Röhrchen geben
- 20 µl geeignetes (monoklonales) Antikörper-Konjugat hinzugeben
- Das Röhrchen 15 Minuten bei 4 °C oder Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren
- 100 µl NM-LYSE in jedes Röhrchen geben und 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren
- 3 bis 4 ml destilliertes Wasser hinzugeben und im Vortexmischer schütteln, 5 bis 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren
- Das Röhrchen 5 Minuten lang bei 300 g zentrifugieren
- Überstand absaugen und Pellet in 0,3 ml Hüllflüssigkeit resuspendieren
- Umgehend analysieren oder Proben bei 2 bis 8 °C im Dunkeln lagern und innerhalb von 24 Stunden analysieren

Leistungsmerkmale

NM-LYSE hat in verschiedenen Publikationen (siehe ausgewählte Referenzen unten) gezeigt, dass es eine erfolgreiche Immunfärbung von Zelloberflächenmarkern und intrazellulären Antigenen in verschiedenen aus peripherem Blut, Knochenmark oder anderen Zellproben gewonnenen Zelltypen ermöglicht, ohne das Streuverhalten dieser Zellen zu beeinträchtigen. Daher können die unterschiedlichen Zelltypen und ihre Reifungsstadien mittels durchflusszytometrischer Verfahren in normalem und (prä)malignem Blut und Knochenmarkaspiraten quantifiziert werden.

Die Leistung jeder NM-Lyse-Charge wird durch Behandlung von gut definierten Blutproben repräsentativer Spender und anschließenden Vergleich des Vorwärts- und Seitwärts-Streulichts der erhaltenen Leukozyten ermittelt. Die zwischen den aufeinanderfolgenden Chargen festgestellten Abweichungen für diese Parameter liegen alle unter 10 %.

Grenzen des Verfahrens

Die durchflusszytometrische Analyse von zellulären Antigenen mit NM-LYSE ist einfach und präzise. Die einzige Voraussetzung ist die Verfügbarkeit geeigneter Antikörper-Konjugate. Die meisten verfügbaren (monoklonalen) Antikörper-Konjugate sind mit NM-LYSE kompatibel. Einige Determinanten reagieren jedoch empfindlich auf den Fixierungsschritt. Dies und die optimale Fixierungszeit müssen für jedes Reagens getestet werden.

NM-LYSE ist für die Verwendung mit allen handelsüblichen Durchflusszytometern geeignet. Die Einstellung und Kompensation sollte gemäß den Herstellerangaben erfolgen. Die Durchflusszytometrie darf nur von professionellen Nutzern durchgeführt werden. Eine ungenaue Einstellung des Durchflusszytometers, eine inkorrekte Kompensation von in andere Kanäle eindringender Fluoreszenz und eine fehlerhafte Positionierung von Regionen können zu falschen Ergebnissen führen. Wenn eine Lyse von roten Blutkörperchen aus jedweden Gründen nicht möglich ist, wird empfohlen, mononukleare Zellen (MNC) vor dem Färben mittels Dichtegradienten-Zentrifugation zu isolieren. Die Ergebnisse sind korrekt und reproduzierbar, sofern die Verfahren den technischen Empfehlungen und der guten Laborpraxis entsprechen. Die NM-LYSE-Lösung wird gebrauchsfertig in einer Konzentration bereitgestellt, die die Lyse humaner Erythrozyten und die Fixierung des (monoklonalen) Antikörpers an den Zellen unter Beibehaltung ihrer zellulären Streueigenschaften ermöglicht. Daher wird dringend empfohlen, sich bezüglich der Konzentrationen und Menge der Zellen und Antikörper genau an das Arbeitsprotokoll zu halten. Die Eigenschaften von NM-LYSE wurden anhand von mit EDTA antikoaguliertem peripherem Blut ermittelt.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Nur für den professionellen Gebrauch.

NM-LYSE enthält 4–10 % Formaldehyd. Formaldehyd ist toxisch, allergen und potenziell krebserregend und als gesundheitsschädlich gekennzeichnet. Es werden angemessene Arbeitsverfahren empfohlen. Niemals mit dem Mund pipettieren und Verschlucken, Einatmen sowie Kontakt mit Augen, Haut und Kleidung stets vermeiden. Personen unter 18 Jahren ist es grundsätzlich nicht gestattet, mit diesem Produkt zu arbeiten. Benutzer müssen sorgfältig in die richtigen Arbeitsverfahren eingewiesen und über die gefährdenden Eigenschaften des Produktes und die geltenden Sicherheitsvorschriften informiert werden. Weitere Angaben sind dem Sicherheitsdatenblatt (SDB) zu entnehmen. Altbestände und Restmengen des Produkts sind gemäß den geltenden lokalen Vorschriften zu entsorgen.

Schwerwiegende Vorfälle im Zusammenhang mit dem Gerät sind dem Hersteller und der zuständigen Behörde des EU-Mitgliedsstaats zu melden, in dem sich der Benutzer und/oder der Patient befinden.

Gefährliche Inhaltsstoffe 4–10 % Formaldehyd



Gefahr

H350: Kann Krebs erzeugen (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht)

H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen

P201: Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen

P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen

P308+P313: Bei Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen

P333+P313: Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen

P362+P364: Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen

Lagerung

Das NM-LYSE-Reagens ist bei Raumtemperatur (18–24 °C) zu lagern und zu verwenden. Nicht einfrieren. Stabilität des Reagens: Das Haltbarkeitsdatum ist auf der Flasche aufgedruckt. Die Verwendung des Reagens nach dem Haltbarkeitsdatum wird nicht empfohlen. Wenn das Reagens unter Bedingungen gelagert wird, die von den Vorgaben abweichen, müssen die Bedingungen vom Benutzer kontrolliert werden. Das Reagens nicht verwenden, wenn Ablagerungen oder Verfärbungen auftreten. Die Lagerbedingungen für geöffnete Flaschen entsprechen denen für geschlossene Flaschen.

Sollten unerwartete Ergebnisse erzielt werden, die nicht auf Abweichungen im Laborverfahren zurückzuführen sind, kontaktieren Sie uns bitte.

Gewährleistung

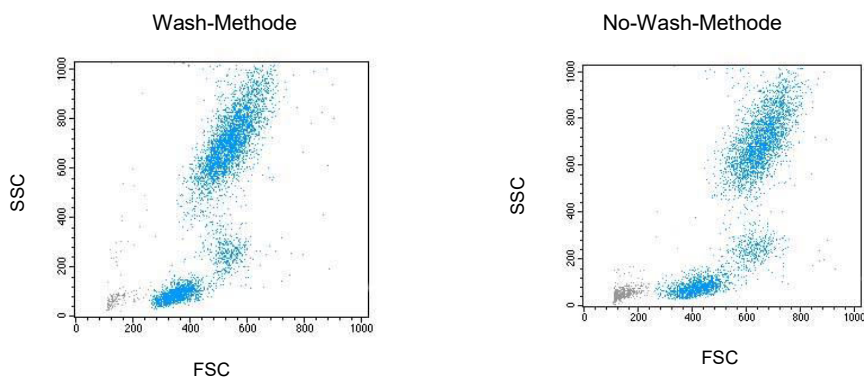
Für dieses Produkt wird nur gewährleistet, dass die Menge und der Inhalt zum Zeitpunkt der Lieferung an den Kunden den Angaben auf dem Etikett entsprechen. Es wird keine über die Beschreibung auf dem Produktetikett hinausgehende ausdrückliche oder implizite Gewährleistung gegeben. Nordic-MUbio verpflichtet sich lediglich, die Produkte auszutauschen oder den Kaufpreis zu erstatten. Nordic-MUbio haftet nicht für Sachschäden, Personenschäden oder finanzielle Verluste, die durch das Produkt verursacht werden. Die Qualität jeder NM-LYSE-Charge wird durch Lyse von roten Blutkörperchen aus gut definierten Blutproben von repräsentativen Spendern und anschließenden Vergleich des Vorwärts- und Seitwärts-Streulichts der erhaltenen Leukozyten bestimmt.

Ausgewählte Referenzen

- 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.

Repräsentative Beispiele

Durchflusszytometrisches Streulichtprofil (Vorwärts- und Seitwärtsstreuung) von Leukozyten aus peripherem Blut nach Lyse von Vollblut mit NM-LYSE, entweder nach Anwendung der Wash-Methode oder der No-Wash-Methode



Ergebnis: gute Trennung von Lymphozyten, Neutrophilen und Monozyten

Erstelldatum

Version 2

22. Mai 2022

Änderungen: Diese Version wurde an die IVDR-Kriterien angepasst.