

## Οδηγίες χρήσης NM-LYSE

### Διάλυμα λύσης κυτταρομετρίας ροής

Για διαδικασίες λύσης με βιολογικά υγρά (αίμα, μυελός των οστών και άλλα)

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

Διάλυμα λύσης κυτταρομετρίας ροής NM-LYSE 30 ml 300 Τεστ

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

Διάλυμα λύσης κυτταρομετρίας ροής NM-LYSE 100 ml 1000 Τεστ



**IVD**

In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή



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

#### Προβλεπόμενη χρήση

Η προβλεπόμενη χρήση της συσκευής είναι η προετοιμασία δειγμάτων ομογενούς κυτταρικού αιωρήματος για ανάλυση κυτταρομετρίας ροής. Η επεξεργασία αίματος, μυελού των οστών λαμβανόμενου με αναρρόφηση και άλλων με αυτό το αντιδραστήριο οδηγεί ταυτόχρονα σε λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων και μονιμοποίηση των λευκών αιμοσφαιρίων. Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά σκέδασης αυτών των λευκοκυττάρων παραμένουν ανέπαφα. Το NM-LYSE είναι κατάλληλο για την ανάλυση φυσιολογικών και κακοήθων πληθυσμών λευκοκυττάρων που προέρχονται από διάφορα ανθρώπινα βιολογικά δείγματα χρησιμοποιώντας κυτταρομετρία ροής. Το NM-LYSE μπορεί να εφαρμοστεί τόσο σε αυτοματοποιημένη όσο και σε μη αυτοματοποιημένη ρύθμιση για τη μελέτη εναιωρημάτων τέτοιων δειγμάτων κυττάρων.

**Το εν λόγω προϊόν προορίζεται μόνο για επαγγελματική in vitro διαγνωστική χρήση.**

#### Θεμελιώδης αρχή

Το NM-LYSE είναι ένα προαναμεμιγμένο, έτοιμο προς χρήση διάλυμα λύσης που έχει σχεδιαστεί για λύση ερυθροκυττάρων μετά από χρώση (μονοκλωνικών) αντισωμάτων ολικού αίματος, μυελού των οστών λαμβανόμενου με αναρρόφηση και άλλων. Οι αναλύσεις κυτταρομετρίας ροής με μονοκλωνικά αντισώματα περιορίζονται για μεγάλο χρονικό διάστημα σε πληθυσμούς λευκοκυττάρων, οι οποίοι έπρεπε να διαχωριστούν με φυγοκέντρηση βαθμίδας από τα ερυθροκύτταρα πριν από τη χρώση ή/και την ανάλυση. Αντίθετα, οι μέθοδοι χρώσης ολικού αίματος επιτρέπουν τον γρήγορο και ακριβή προσδιορισμό των κυτταρικών υποπληθυσμών σε μη διαχωρισμένα βιολογικά δείγματα. Έτσι, όχι μόνο εξοικονομείται χρόνος αλλά μειώνεται επίσης η πιθανότητα ακούσιας απώλειας διαφορετικών κυτταρικών πληθυσμών λόγω π.χ. των διαδικασιών διαφορικής φυγοκέντρησης που χρησιμοποιούνται συνήθως. Με το NM-LYSE, η ανάλυση κυτταρομετρίας ροής ολικού αίματος με αντιδραστήριο έχει καταστεί το ίδιο εύκολη και ακριβής όσο και η ανάλυση των διαχωρισμένων πληθυσμών κυττάρων. Το NM-LYSE μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ή χωρίς πλύση δείγματος.

Το NM-LYSE προορίζεται για χρήση με όλους τους εμπορικά διαθέσιμους κυτταρομετρητές ροής. Η ευθυγράμμιση και η αντιστάθμιση πρέπει να εκτελούνται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

**ΠΕΡΙΕΧΟΜ**

Παρεχόμενα υλικά

NM-LYSE

Διάλυμα λύσης κυτταρομετρίας ροής NM-LYSE  
πατενταρισμένη σύνθεση, περιέχει 4-10% φορμαλδεΐδη 1x 30 ml/ 1x 100 ml 300/1000 Τεστ

#### Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Χρησιμοποιήστε τα κατάλληλα μέσα προφύλαξης για την ασφάλειά σας όπως εργαστηριακή στολή, γάντια, προστατευτικά γυαλιά κ.λπ.

Γυάλινα ή πλαστικά σωληνάρια των 3-5 ml

Πιπέτες

Αναμείκτης τύπου Vortex

Φυγόκεντρος

Κυτταρομετρητής ροής και αδρανές ρυθμιστικό διάλυμα

Κατάλληλα (φθοριόχρωμα) συζευγμένα αντισώματα

Απεσταγμένο νερό

#### Συλλογή, αποθήκευση και χειρισμός δειγμάτων

Τα βιολογικά υγρά (αίμα, μυελός των οστών λαμβανόμενος με αναρρόφηση και άλλα) πρέπει να συλλέγονται υπό άσηπτες συνθήκες. Συνιστάται αντιπηκτική αγωγή με EDTA ή ηπαρίνη. Τα δείγματα πρέπει να αποθηκευτούν σε θερμοκρασία δωματίου

μέχρι να χρησιμοποιηθούν. Για βέλτιστα αποτελέσματα, τα δείγματα θα πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία και να αναλύονται εντός 24 ωρών. Δείγματα με μεγάλο αριθμό μη βιώσιμων κυττάρων μπορεί να προκαλέσουν ψευδή αποτελέσματα και σε τέτοιες περιπτώσεις απαιτείται προσδιορισμός της βιωσιμότητας των κυττάρων σε ξεχωριστό δείγμα με π.χ. ιωδιούχο προπιδίο. Ο χειρισμός όλων των βιολογικών δειγμάτων πρέπει να γίνεται με προσοχή. Να τα θεωρείτε πάντα ως δυνητικά μολυσματικά. Χρησιμοποιήστε τα κατάλληλα μέσα προφύλαξης όπως γάντια, εργαστηριακή στολή κ.λπ.

#### Διαδικασία χρώσης και λύσης χωρίς πλύση

Το διάλυμα λύσης κυτταρομετρίας ροής NM-LYSE είναι έτοιμο για χρήση.

- Για κάθε δείγμα προσθέστε 50 μl αίματος για το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί EDTA ή ηπαρίνη ως αντιπηκτικό, μυελό των οστών λαμβανόμενο με αναρρόφηση ή άλλα δείγματα κυττάρων σε σωληνάριο των 3-5 ml
- Προσθέστε 20 μl του κατάλληλου συζεύγματος (μονοκλωνικών) αντισωμάτων
- Επώαστε το σωληνάριο για 15 λεπτά στους 4°C ή σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι
- Προσθέστε 100 μl NM-LYSE σε κάθε σωληνάριο και επώαστε για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου
- Προσθέστε 1 ml απεσταγμένου νερού και ανακατέψτε, επώαστε για 5-10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου
- Αναλύστε αμέσως ή αποθηκεύστε τα δείγματα στους 2-8°C στο σκοτάδι και αναλύστε τα εντός 24 ωρών

#### Διαδικασία χρώσης και λύσης με πλύση

- Για κάθε δείγμα προσθέστε 50 μl αίματος για το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί EDTA ή ηπαρίνη ως αντιπηκτικό, μυελό των οστών λαμβανόμενο με αναρρόφηση ή άλλα δείγματα κυττάρων σε σωληνάριο των 3-5 ml
- Προσθέστε 20 μl του κατάλληλου συζευγμένου (μονοκλωνικού) αντισώματος
- Επώαστε το σωληνάριο για 15 λεπτά στους 4°C ή σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι
- Προσθέστε 100 μl NM-LYSE σε κάθε σωληνάριο και επώαστε για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου
- Προσθέστε 3-4 ml απεσταγμένου νερού και ανακατέψτε, επώαστε για 5-10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου
- Φυγοκεντρήστε το σωληνάριο για 5 λεπτά στα 300 g
- Αναρροφήστε το υπερκείμενο υγρό και επαναιωρήστε το κυτταρικό σύμπηκτο (pellet) σε 0,3 ml αδρανούς ρυθμιστικού διαλύματος
- Αναλύστε αμέσως ή αποθηκεύστε τα δείγματα στους 2-8°C στο σκοτάδι και αναλύστε τα εντός 24 ωρών

#### Χαρακτηριστικά απόδοσης

Το NM-LYSE έχει αποδειχθεί σε πολλές δημοσιεύσεις (βλ. επιλεγμένες παραπομπές παρακάτω) ότι επιτρέπει την επιτυχή ανοσοχρώση δεικτών κυτταρικής επιφάνειας και ενδοκυτταρικών αντιγόνων σε διαφορετικούς τύπους κυττάρων που προέρχονται από περιφερικό αίμα, μυελό των οστών ή άλλα, και ταυτόχρονα αφήνει τα χαρακτηριστικά σκέδασης αυτών των τύπων κυττάρων άθικτα. Ως αποτέλεσμα, οι διαφορετικοί τύποι κυττάρων και τα στάδια ωρίμανσής τους μπορούν να ποσοτικοποιηθούν με τεχνικές κυτταρομετρίας ροής σε φυσιολογικά και μη (προ-κακοήθη) δείγματα αίματος και μυελό των οστών λαμβανόμενο με αναρρόφηση. Η απόδοση κάθε παρτίδας NM-LYSE προσδιορίζεται από την επεξεργασία καλά καθορισμένων δειγμάτων αίματος από αντιπροσωπευτικούς δότες και την επακόλουθη σύγκριση των χαρακτηριστικών της εμπρόσθιας και πλάγιας σκέδασης των ληφθέντων λευκοκυττάρων. Οι αποκλίσεις για αυτές τις παραμέτρους που προσδιορίζονται μεταξύ των επόμενων παρτίδων είναι όλες μικρότερες από 10%.

#### Περιορισμοί της τεχνικής

Χρησιμοποιώντας το NM-LYSE, η ανάλυση κυτταρομετρίας ροής των κυτταρικών αντιγόνων έχει γίνει εύκολη και ακριβής. Η μόνη προϋπόθεση είναι η διαθεσιμότητα κατάλληλων συζευγμάτων αντισωμάτων. Τα περισσότερα από τα διαθέσιμα (μονοκλωνικά) συζεύγματα αντισωμάτων μπορούν να χρησιμοποιηθούν με το NM-LYSE, ορισμένοι παράγοντες καθορισμού είναι, ωστόσο, ευαίσθητοι στο στάδιο μονιμοποίησης. Αυτό και ο βέλτιστος χρόνος μονιμοποίησης πρέπει να ελέγχονται για κάθε αντιδραστήριο. Το NM-LYSE προορίζεται για χρήση με όλους τους εμπορικά διαθέσιμους κυτταρομετρητές ροής. Η ευθυγράμμιση και η αντιστάθμιση πρέπει να εκτελούνται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Η κυτταρομετρία ροής πρέπει να εκτελείται μόνο από επαγγελματίες χρήστες. Η εσφαλμένη ευθυγράμμιση του κυτταρομετρητή ροής, η ανακριβής αντιστάθμιση με φθορισμό της διαρροής σε άλλα κανάλια καθώς και η εσφαλμένη τοποθέτηση των περιοχών μπορεί να οδηγήσουν σε ψευδή αποτελέσματα. Σε περίπτωση που η λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων αποδειχθεί αδύνατη για διάφορους λόγους, συνιστάται η απομόνωση μονοπύρηνων κυττάρων (MNC) μέσω φυγοκέντρησης διαβάθμισης πυκνότητας πριν από τη χρώση. Τα αποτελέσματα θα είναι σωστά και αναπαραγόμενα εφόσον οι διαδικασίες που χρησιμοποιούνται τηρούν τις τεχνικές συστάσεις και την ορθή εργαστηριακή πρακτική. Το διάλυμα NM-LYSE παρέχεται έτοιμο προς χρήση σε συγκέντρωση που θα επιτρέψει τη λύση των ανθρώπινων ερυθροκυττάρων και τη μονιμοποίησή του (μονοκλωνικού) αντισώματος στα κύτταρα διατηρώντας παράλληλα τα χαρακτηριστικά κυτταρικής σκέδασης. Επομένως, συνιστάται ανεπιφύλακτα να τηρείτε το πρωτόκολλο εργασίας όσον αφορά τη συγκέντρωση και τον όγκο των κυττάρων και των αντισωμάτων. Οι ιδιότητες του NM-LYSE έχουν προσδιορισθεί χρησιμοποιώντας περιφερικό αίμα για το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί EDTA ή ηπαρίνη ως αντιπηκτικό.

#### Προειδοποιήσεις και Προφυλάξεις

Μόνο για επαγγελματίες χρήστες.

Το NM-LYSE περιέχει 4-10% φορμαλδεΐδη. Η φορμαλδεΐδη είναι τοξική, αλλεργιογόνος και πιθανή καρκινογόνος ουσία και φέρει την ένδειξη: Βλαβερό. Συνιστώνται σωστές διαδικασίες χειρισμού. Ποτέ μην χρησιμοποιείτε την πιπέτα με το στόμα και αποφύγετε την κατάποση και την εισπνοή, την επαφή με τα μάτια, το δέρμα και τα ρούχα. Κατά κύριο κανόνα, άτομα κάτω των 18 ετών δεν επιτρέπεται να εργάζονται με αυτό το προϊόν. Οι χρήστες πρέπει να ενημερώνονται προσεκτικά για τη σωστή διαδικασία εργασίας, τις επικίνδυνες ιδιότητες του προϊόντος και τις απαραίτητες οδηγίες ασφαλείας. Συμβουλευτείτε το Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας (SDS) για επιπλέον πληροφορίες. Απορρίψτε τα υπολείμματα του προϊόντος σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς. Κάθε σοβαρό περιστατικό που έχει συμβεί σε σχέση με τη συσκευή πρέπει να αναφέρεται στον κατασκευαστή και στην αρμόδια αρχή του κράτους μέλους της ΕΕ στο οποίο είναι εγκατεστημένος ο χρήστης ή/και ο ασθενής.

**Περιεχόμενο επικίνδυνης ουσίας: 4-10% Φορμαλδεΐδη**



**Κίνδυνος**

H350: Μπορεί να προκαλέσει καρκίνο (αναφέρετε την οδό έκθεσης εάν αποδειχθεί αδιαμφισβήτητητα ότι καμία άλλη οδός έκθεσης δεν προκαλεί τον κίνδυνο)

H317: Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση

P201: Λάβετε ειδικές οδηγίες πριν από τη χρήση.

P280: Φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα προστασίας ματιών/προσώπου.

P308+P313: Σε περίπτωση έκθεσης ή ανησυχίας: Λάβετε ιατρική συμβουλή/φροντίδα.

P333+P313: Εάν εμφανιστεί ερεθισμός του δέρματος ή εξάνθημα: Λάβετε ιατρική συμβουλή/φροντίδα.

P362+P364: Βγάλτε τα μολυσμένα ρούχα και πλύντε τα πριν τα ξαναχρησιμοποιήσετε

**Αποθήκευση**

Το αντιδραστήριο NM-LYSE πρέπει να φυλάσσεται και να χρησιμοποιείται σε θερμοκρασία δωματίου (18-24°C). Μην καταψύχετε. Σταθερότητα του αντιδραστήριου: Ανατρέξτε στην ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο φιαλίδιο. Δεν συνιστάται η χρήση του αντιδραστήριου μετά την ημερομηνία λήξης. Εάν τα αντιδραστήρια αποθηκεύονται υπό άλλες συνθήκες εκτός από αυτές που καθορίζονται, οι συνθήκες πρέπει να επαληθεύονται από τον χρήστη. Μη χρησιμοποιείτε αντιδραστήριο εάν σχηματιστεί ίζημα ή αν παρουσιαστεί αποχρωματισμός. Οι συνθήκες αποθήκευσης μετά το άνοιγμα των φιαλιδίων είναι οι ίδιες όπως και για τα μη ανοιγμένα φιαλίδια.

Εάν ληφθούν απροσδόκητα αποτελέσματα που δεν μπορούν να αποδοθούν σε διαφορές στις εργαστηριακές διαδικασίες, επικοινωνήστε μαζί μας.

**Εγγύηση**

Τα προϊόντα που πωλούνται δυνάμει του παρόντος καλύπτονται από εγγύηση συμμόρφωσης μόνο με την ποσότητα και το περιεχόμενο που αναγράφεται στην ετικέτα κατά τη στιγμή της παράδοσης στον πελάτη. Δεν υπάρχουν εγγυήσεις, ρητές ή σιωπηρές, που να εκτείνονται πέρα από την περιγραφή στην ετικέτα του προϊόντος. Η αποκλειστική ευθύνη της Nordic-MUbio περιορίζεται είτε στην αντικατάσταση των προϊόντων είτε στην επιστροφή χρηματικού ποσού αντίστοιχου με την τιμή αγοράς. Η Nordic-MUbio δεν φέρει ευθύνη για υλικές ζημιές, σωματικές βλάβες ή οικονομική ζημία που προκαλείται από το προϊόν. Η ποιότητα κάθε παρτίδας NM-LYSE προσδιορίζεται από τη λύση ερυθρών αιμοσφαιρίων καλά καθορισμένων δειγμάτων αίματος από αντιπροσωπευτικούς δότες και την επακόλουθη σύγκριση των χαρακτηριστικών της εμπρόσθιας και πλάγιας σκέδασης των ληφθέντων λευκοκυττάρων.

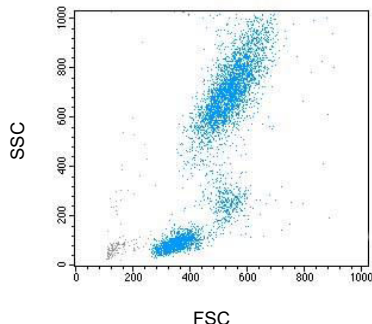
**Επιλεγμένες παραπομπές**

- 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.

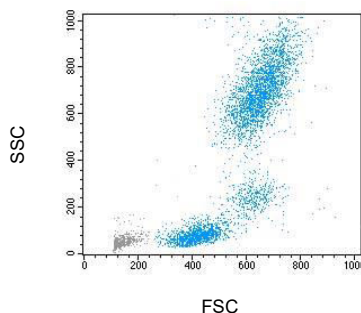
**Αντιπροσωπευτικά δείγματα**

Προφίλ σκέδασης κυτταρομετρίας ροής (Εμπρόσθια και Πλάγια Σκέδαση) λευκοκυττάρων περιφερικού αίματος μετά από λύση ολικού αίματος με NM-LYSE, είτε μετά τη χρήση της μεθόδου πλύσης είτε της μεθόδου χωρίς πλύση.

Μέθοδος πλύσης



Μέθοδος χωρίς πλύση



Αποτέλεσμα: Ορθός διαχωρισμός λεμφοκυττάρων, ουδετερόφιλων και μονοκυττάρων.

**Ημερομηνία έκδοσης**

Έκδοση 2

22 Μαΐου 2022

Τροποποιήσεις που έλαβαν χώρα: Η παρούσα έκδοση έχει τροποποιηθεί για να συνάδει με το IVD-R