

Instrucciones de uso NM-LYSE

Solución de lisado para citometría de flujo

Para procedimientos de lisado con fluidos biológicos (sangre, médula ósea y otros)

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

Solución de lisado para citometría de Flujo NM-LYSE 30 ml 300 Tests

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

Solución de lisado para citometría de flujo NM-LYSE 100 ml 1000 Tests



IVD

Dispositivo médico de diagnóstico in vitro (IVD o In Vitro Diagnostic)



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

Finalidad prevista

La finalidad prevista del dispositivo es preparar muestras de suspensión de células para su análisis por citometría de flujo. El tratamiento de sangre, aspirados de médula ósea y otros con este reactivo produce simultáneamente la lisis de los glóbulos rojos y la fijación de los glóbulos blancos. Las características morfológicas de dispersión de estos leucocitos se mantienen intactas. NM-LYSE es un producto adecuado para el análisis de poblaciones leucocitarias normales y malignas derivadas de diversas muestras biológicas humanas mediante citometría de flujo. NM-LYSE se puede aplicar tanto en un entorno automatizado como no automatizado para estudiar suspensiones de dichas muestras celulares.

Este producto está destinado, exclusivamente a un uso profesional de diagnóstico in vitro.

Principio

NM-LYSE es una solución de lisado premezclada y lista para usar, formulada para lisar eritrocitos tras la tinción con anticuerpos (monoclonales) de sangre total, aspirados de médula ósea y otros. Los análisis de citometría de flujo con anticuerpos monoclonales se limitaron durante mucho tiempo a las poblaciones de leucocitos, que debían separarse de los eritrocitos mediante centrifugación en gradiente antes de su tinción y/o análisis. En cambio, los métodos de tinción de sangre total permiten una determinación rápida y precisa de las subpoblaciones celulares en muestras biológicas no separadas. Esto no solo ahorra tiempo, sino que también reduce la probabilidad de una pérdida involuntaria de poblaciones celulares distintas debido, por ejemplo, a los procedimientos de centrifugación diferencial comúnmente utilizados. Con el reactivo NM-LYSE, el análisis de citometría de flujo de sangre total se ha convertido en algo tan fácil y preciso como el análisis de poblaciones celulares separadas. NM-LYSE se puede utilizar con o sin lavado de la muestra. NM-LYSE se ha diseñado para su uso con todos los citómetros de flujo disponibles en el mercado. La alineación y la compensación se deben realizar de acuerdo con las instrucciones del fabricante

CONTENID

Materiales suministrados

NM-LYSE

Solución de lisado para citometría de flujo NM-LYSE
composición patentada, contiene formaldehído al 4-10 % 1x 30 ml/ 1x 100 ml 300/1000 Tests

Materiales necesarios, pero no suministrados

Tome las precauciones de seguridad adecuadas, como llevar una bata de laboratorio, guantes, gafas de seguridad, etc.
Tubos de vidrio o plástico de 3-5 ml
Pipetas
Vortex
Centrifugadora
Citómetro de flujo y fluido envolvente
Anticuerpos adecuadamente conjugados (con fluorocromo)
Agua destilada

Recogida, almacenamiento y manipulación de muestras

Los fluidos biológicos (sangre, aspirados de médula ósea y otros) se deben recoger en condiciones estériles. Se recomienda la anticoagulación con EDTA o heparina. Las muestras se deben conservar a temperatura ambiente hasta su uso. Para obtener resultados óptimos, las muestras se deben procesar y analizar en un plazo de 24 horas. Las muestras con un alto número de células no viables podrían causar resultados falsos. Por consiguiente, estos casos requieren la determinación de la viabilidad celular en una muestra separada con, por ejemplo, yoduro de propidio. Todas las muestras biológicas se deben manipular con

precaución. Considérelas siempre como potencialmente infecciosas. Aplique las precauciones adecuadas, como guantes, bata de laboratorio, etc.

Procedimiento de tinción y lisado sin lavado

La solución de lisado para citometría de flujo NM-LYSE está lista para su uso.

- Para cada muestra, añada 50 µl de sangre anticoagulada con EDTA o heparina, aspirado de médula ósea u otras muestras celulares a un tubo de 3-5 ml
- Añada 20 µl del conjugado de anticuerpos (monoclonales) apropiado
- Incube el tubo durante 15 minutos a 4 °C o a temperatura ambiente en condiciones de oscuridad
- Añada 100 µl de NM-LYSE a cada tubo e incube durante 10 minutos a temperatura ambiente
- Añada 1 ml de agua destilada y agite; incube durante 5-10 minutos a temperatura ambiente
- Las muestras se deben analizar inmediatamente o almacenar a 2-8 °C en condiciones de oscuridad. El plazo máximo para analizar las muestras es de 24 horas

Procedimiento de tinción y lisado con lavado

- Para cada muestra, añada 50 µl de sangre anticoagulada con EDTA o heparina, aspirados de médula ósea u otras muestras celulares a un tubo de 3-5 ml
- Añada 20 µl del conjugado de anticuerpos (monoclonales) apropiado
- Incube el tubo durante 15 minutos a 4 °C o a temperatura ambiente en condiciones de oscuridad
- Añada 100 µl de NM-LYSE a cada tubo e incube durante 10 minutos a temperatura ambiente
- Añada 3-4 ml de agua destilada y agite; incube durante 5-10 minutos a temperatura ambiente
- Centrifugue el tubo durante 5 minutos a 300 g
- Aspire el sobrenadante y resuspenda el pellet en 0,3 ml de fluido envolvente
- Las muestras se deben analizar inmediatamente o almacenar a 2-8 °C en condiciones de oscuridad. El plazo máximo para analizar las muestras es de 24 horas

Características de desempeño

NM-LYSE ha demostrado en diferentes publicaciones (véanse las referencias seleccionadas a continuación) que permite la inmunotinción exitosa de los marcadores de la superficie celular y de los antígenos intracelulares en diferentes tipos de células derivadas de la sangre periférica, de la médula ósea o de otros, mientras que, al mismo tiempo, deja intactas las características de dispersión de estos tipos de células. Como resultado de ello, los diferentes tipos de células y sus etapas de maduración se pueden cuantificar mediante el uso de técnicas de citometría de flujo en sangre normal y (pre)maligna y en aspirados de médula ósea.

El desempeño de cada lote de NM-Lyse se determina mediante el tratamiento de muestras de sangre bien definidas de donantes representativos y la posterior comparación de las características de dispersión frontal y lateral de los leucocitos obtenidos. Las desviaciones de estos parámetros determinados entre lotes posteriores son todas inferiores al 10 %.

Limitaciones de la técnica

Con NM-LYSE, el análisis de citometría de flujo de antígenos celulares se ha convertido en algo fácil y preciso. El único requisito previo es la disponibilidad de conjugados de anticuerpos adecuados. La mayoría de los conjugados de anticuerpos (monoclonales) disponibles se pueden utilizar con NM-LYSE. No obstante, algunos determinantes son sensibles al paso de fijación implicado. Esto y el tiempo de fijación óptimo son aspectos que se deben probar para cada reactivo.

NM-LYSE se ha diseñado para su uso con todos los citómetros de flujo disponibles en el mercado. La alineación y la compensación se deben realizar de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La citometría de flujo solo debe ser realizada por usuarios profesionales. Una alineación incorrecta del citómetro de flujo, una compensación inexacta de la fluorescencia que se filtra en otros canales, así como un posicionamiento incorrecto de las regiones, pueden dar lugar a resultados falsos. En el caso de que la lisis de los glóbulos rojos resulte imposible por diversas razones, se recomienda aislar las células mononucleares (MNC, por sus siglas en inglés) mediante centrifugación en gradiente de densidad antes de la tinción. Los resultados serán correctos y reproducibles siempre que los procedimientos utilizados respeten las recomendaciones técnicas y cumplan las buenas prácticas de laboratorio. La solución NM-LYSE se suministra lista para su uso en una concentración que permitirá la lisis de los eritrocitos humanos y la fijación del anticuerpo (monoclonal) a las células, conservando las características de dispersión celular. Por lo tanto, se recomienda encarecidamente respetar el protocolo de trabajo en cuanto a la concentración y el volumen en relación con las células y el anticuerpo. Las propiedades de NM-LYSE se han determinado utilizando sangre periférica anticoagulada con EDTA y heparina.

Advertencias y precauciones

Solo para usuarios profesionales.

NM-LYSE contiene formaldehído al 4-10 %. El formaldehído es tóxico, alergénico y se sospecha que es cancerígeno, y está etiquetado como: nocivo. Se recomienda utilizar procedimientos de manipulación adecuados. Nunca se debe pipetear por la boca y se debe evitar la ingestión e inhalación, el contacto con los ojos, la piel y la ropa. Como norma principal, los menores de 18 años no pueden trabajar con este producto. Los usuarios deben ser cuidadosamente instruidos en el procedimiento de trabajo adecuado, las propiedades peligrosas del producto y las instrucciones de seguridad necesarias. Consulte la ficha de datos de seguridad (FDS) para obtener información adicional. Elimine los restos del producto de acuerdo con la normativa local.

Cualquier incidente grave que se produzca en relación con el producto se deberá notificar al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro de la UE en el que esté establecido el usuario y/o el paciente.

Contenido de la sustancia peligrosa: formaldehído al 4-10 %



Peligro

H350: Susceptible de provocar defectos genéticos (indíquese la vía de exposición si se ha demostrado concluyentemente que ninguna otra vía es peligrosa)

H317: Puede provocar una reacción cutánea alérgica

P201: Procurarse las instrucciones antes del uso.

P280: Usar guantes protectores/ropa protectora/protección ocular/protección para la cara.

P308+P313: EN CASO de exposición demostrada o supuesta: consultar a un médico.

P333+P313: En caso de irritación cutánea o sarpullido: consultar a un médico.

P362+P364: Quitar la ropa contaminada y lavarla antes de volverla a usar

Almacenamiento

El reactivo NM-LYSE se debe almacenar y utilizar a temperatura ambiente (18-24 °C). No congelar. Estabilidad el reactivo: consulte la fecha de caducidad impresa en el vial. No se recomienda el uso del reactivo después de la fecha de caducidad. Si los reactivos se almacenan en condiciones distintas a las especificadas, el usuario debe comprobar las condiciones. Los reactivos no se deben utilizar si se forma un precipitado o se produce una decoloración. Las condiciones de almacenamiento después de la apertura de los viales son las mismas que para los viales sin abrir.

Si se obtienen resultados inesperados que no se pueden atribuir a diferencias en los procedimientos de laboratorio, póngase en contacto con nosotros.

Garantía

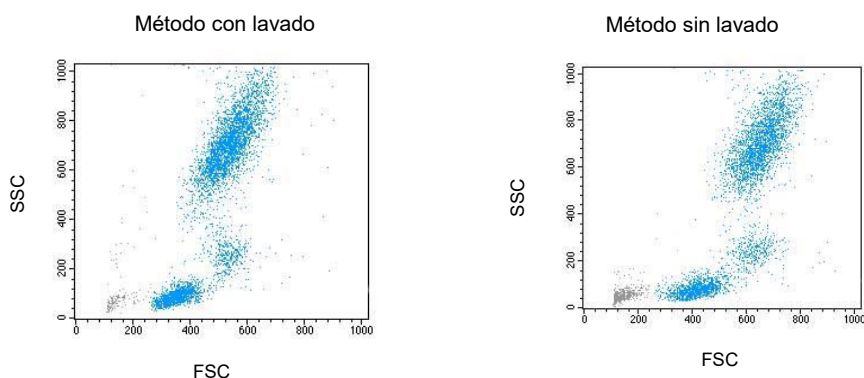
Los productos que se venden en el presente documento solo están garantizados por la cantidad y el contenido indicados en la etiqueta en el momento de la entrega al cliente. No hay garantías, expresas o implícitas, que se extiendan más allá de la descripción en la etiqueta del producto. La única responsabilidad de Nordic-MUbio se limita a la sustitución de los productos o al reembolso del precio de compra. Nordic-MUbio no es responsable de los daños materiales, personales o económicos causados por el producto. La calidad de cada lote de NM-LYSE se determina mediante el lisado de glóbulos rojos de muestras de sangre bien definidas de donantes representativos y la posterior comparación de las características de dispersión frontal y lateral de los leucocitos obtenidos.

Referencias seleccionadas

- Bossuyt, X., Marti, G. E. & Fleisher, T. A. (1997) *Cytometry* **30**, 124-33.
- Fritsch, G., Printz, D., Stimpfl, M., Dworzak, M. N., Witt, V., Potechger, 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.

Ejemplos representativos

Perfil de dispersión por citometría de flujo (dispersión frontal y lateral) de los leucocitos de sangre periférica después de la lisis de la sangre total con NM-LYSE, ya sea después de utilizar el método con lavado o el método sin lavado.



Resultado: buena separación de linfocitos, neutrófilos y monocitos.

Fecha de publicación

Versión 2

22 de mayo de 2022

Modificaciones introducidas: esta versión se ha modificado para cumplir con el IVD-R