

Instructions d'utilisation NM-LYSE

Solution de lyse pour cytométrie en flux

Pour les procédures de lyse avec fluides biologiques (sang, moelle osseuse, etc.)

REF GAS-003-CE/IVD

NM-LYSE Cytométrie en flux – solution de lyse 30 ml 300 tests

REF GAS-003-1-CE/IVD

NM-LYSE Cytométrie en flux – solution de lyse 100 ml 1000 tests



IVD

Dispositif médical de diagnostic in vitro



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

Utilisation prévue

L'utilisation prévue du dispositif est la préparation d'échantillons de suspensions cellulaires pour l'analyse de cytométrie en flux. Le traitement du sang, des aspirats de moelle osseuse et autres avec ce réactif conduit simultanément à la lyse des globules rouges et à la fixation des globules blancs. Les caractéristiques de dispersion morphologique des cellules de ces leucocytes restent intactes. NM-LYSE convient à l'analyse de cytométrie en flux de populations de leucocytes normaux et malins provenant de différents échantillons biologiques humains. NM-LYSE peut être appliquée dans un contexte automatisé ou non automatisé pour étudier des suspensions de tels échantillons de cellules.

Ce produit est exclusivement réservé au diagnostic *in vitro* professionnel.

Principe

NM-LYSE est une solution de lyse prémélangée et prête à l'usage, formulée pour la lyse des érythrocytes après coloration des anticorps (monoclonaux) du sang entier, des aspirats de moelle osseuse et autres. Les analyses de cytométrie en flux avec anticorps monoclonaux ont longtemps été limitées aux populations de leucocytes qui devaient être séparées des érythrocytes par centrifugation en gradient avant coloration et/ou analyse. Les méthodes de coloration du sang entier permettent de déterminer avec rapidité et précision les sous-populations cellulaires dans des échantillons biologiques non séparés. Cela permet non seulement de gagner du temps, mais aussi de réduire la probabilité de perte involontaire de populations cellulaires distinctes en raison, par exemple, des procédures de centrifugation différentielle souvent utilisées. Avec le réactif NM-LYSE, l'analyse de cytométrie en flux de sang entier est devenue aussi facile et précise que l'analyse de populations cellulaires séparées. NM-LYSE peut être utilisée avec ou sans lavage de l'échantillon.

NM-LYSE peut être utilisée avec tous les cytomètres en flux disponibles dans le commerce. L'alignement et la compensation doivent être réalisés conformément aux instructions du fabricant.

CONTENU

Éléments fournis

NM-LYSE

NM-LYSE Cytométrie en flux – solution de lyse
composition exclusive, contient 4-10 % de formaldéhyde 1x 30 ml/ 1x 100 ml 300/1000 tests

Matériel requis mais non fourni

Utiliser les précautions de sécurité appropriées, par exemple porter une blouse de laboratoire, des gants, des lunettes de sécurité, etc.

Tubes en verre ou en plastique de 3-5 ml

Pipettes

Vortex

Centrifugeuse

Cytomètre en flux et fluide vecteur

Anticorps conjugués de manière appropriée (fluorochrome)

Eau distillée

Collecte, stockage et manipulation des échantillons

Les fluides biologiques (sang, aspirats de moelle osseuse et autres) doivent être collectés en conditions stériles. Une anticoagulation à l'EDTA ou à l'héparine est recommandée. Les échantillons doivent être stockés à température ambiante jusqu'à utilisation. Pour des résultats optimaux, les échantillons doivent être traités et analysés dans un délai de 24 heures. Les échantillons contenant un nombre élevé de cellules non viables peuvent fausser les résultats ; de tels cas obligent à déterminer la

viabilité des cellules dans un échantillon séparé avec, par exemple, de l'iodure de propidium. Tous les échantillons biologiques doivent être manipulés avec précaution. Toujours considérer qu'ils peuvent présenter une infectiosité potentielle. Utiliser des précautions appropriées (gants, blouse de laboratoire, etc.).

Procédure de lyse et de coloration sans lavage

La solution de lyse pour cytométrie en flux NM-LYSE est prête à l'usage.

- Pour chaque échantillon, ajouter 50 µl de sang anticoagulé à l'EDTA ou à l'héparine, d'aspirat de moelle osseuse ou d'autres échantillons cellulaires à un tube de 3-5 ml
- Ajouter 20 µl d'anticorps (monoclonaux) conjugués appropriés
- Incuber le tube pendant 15 minutes à 4 °C ou à température ambiante dans le noir
- Ajouter 100 µl de NM-LYSE dans chaque tube et incuber 10 minutes à température ambiante
- Ajouter 1 ml d'eau distillée et homogénéiser au vortex, incuber 5-10 minutes à température ambiante
- Analyser immédiatement ou stocker les échantillons à 2-8 °C dans le noir et analyser dans les 24 heures

Procédure de lyse et de coloration avec lavage

- Pour chaque échantillon, ajouter 50 µl de sang anticoagulé à l'EDTA ou à l'héparine, d'aspirats de moelle osseuse ou d'autres échantillons cellulaires à un tube de 3-5 ml
- Ajouter 20 µl d'anticorps (monoclonaux) conjugués appropriés
- Incuber le tube pendant 15 minutes à 4 °C ou à température ambiante dans le noir
- Ajouter 100 µl de NM-LYSE dans chaque tube et incuber 10 minutes à température ambiante
- Ajouter 3-4 ml d'eau distillée et homogénéiser au vortex, incuber 5-10 minutes à température ambiante
- Centrifuger le tube pendant 5 minutes à 300 g
- Aspirer le surnageant et resuspendre le fragment dans 0,3 ml de fluide vecteur
- Analyser immédiatement ou stocker les échantillons à 2-8 °C dans le noir et analyser dans les 24 heures

Caractéristiques de performances

Un certain nombre de publications (voir quelques références ci-dessous) ont montré que NM-LYSE permet l'immunocoloration des marqueurs de surface des cellules et des antigènes intracellulaires dans différents types de cellules provenant de sang périphérique, de moelle osseuse ou autre, tout en laissant intactes les caractéristiques de dispersion morphologique de ces cellules. Les différents types de cellules et leurs stades de maturation peuvent ainsi être quantifiés par des techniques de cytométrie en flux dans les aspirats de moelle osseuse et le sang normal et (pré-)malin.

Les performances de chaque lot NM-LYSE sont déterminées par traitement d'échantillons de sang correctement définis provenant de donneurs représentatifs et la comparaison ultérieure des caractéristiques de dispersion frontale et latérale des leucocytes obtenus. Les écarts détectés pour ces paramètres entre des lots subséquents sont tous inférieurs à 10 %.

Limitations de la technique

Avec NM-LYSE, l'analyse de cytométrie en flux des antigènes cellulaires est dorénavant facile et précise. La seule condition préalable est la disponibilité d'anticorps conjugués adéquats. La plupart des anticorps (monoclonaux) conjugués peuvent être utilisés avec NM-LYSE, même si certains déterminants sont sensibles à l'étape de fixation. Ce facteur et le temps de fixation optimal doivent être testés pour chaque réactif.

NM-LYSE peut être utilisée avec tous les cytomètres en flux disponibles dans le commerce. L'alignement et la compensation doivent être réalisés conformément aux instructions du fabricant. Seuls les utilisateurs professionnels sont habilités à exécuter la cytométrie en flux. Le mauvais alignement du cytomètre en flux, le réglage imprécis des compensations de fluorescence ainsi que le positionnement incorrect des régions peuvent fausser les résultats. Si la lyse des globules rouges s'avère impossible pour différentes raisons, il est recommandé d'isoler les cellules mononucléaires par centrifugation en gradient de densité avant la coloration. Les résultats seront corrects et reproductibles à condition que les procédures utilisées respectent les recommandations techniques et les bonnes pratiques de laboratoire. La solution NM-LYSE est fournie prête à l'usage à une concentration qui permet la lyse des érythrocytes humains et la fixation des anticorps (monoclonaux) aux cellules tout en conservant les caractéristiques de dispersion morphologique de ces cellules. Il est donc fortement recommandé de s'en tenir au protocole de travail en ce qui concerne la concentration et le volume de cellules et d'anticorps. Les propriétés de NM-LYSE ont été déterminées en utilisant du sang périphérique anticoagulé à l'EDTA et à l'héparine.

Avertissements et précautions

Usage réservé aux utilisateurs professionnels.

NM-LYSE contient 4-10 % de formaldéhyde. Le formaldéhyde est toxique, allergène et potentiellement cancérigène. Il est étiqueté comme nocif. Il est recommandé d'utiliser des procédures de manipulation adéquates. Ne jamais pipeter à la bouche et éviter l'ingestion, l'inhalation et tout contact avec les yeux, la peau et des vêtements. En règle générale, les personnes de moins de 18 ans ne sont pas autorisées à travailler avec ce produit. Les utilisateurs doivent être soigneusement formés à la procédure d'utilisation adéquate, aux propriétés dangereuses du produit et aux instructions de sécurité nécessaires. Se reporter à la fiche de données de sécurité pour en savoir plus. Éliminer les restes de produit conformément aux réglementations locales.

Tout incident grave en lien avec le dispositif doit être signalé au fabricant ainsi qu'aux autorités compétentes de l'État membre de l'Union européenne dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

Contenu de la substance dangereuse : 4-10% de formaldéhyde



Danger

H350 : Peut provoquer le cancer (indiquer la voie d'exposition s'il est formellement prouvé qu'aucune autre voie d'exposition ne conduit au même danger)

H317 : Peut provoquer une allergie cutanée

P201 : Se procurer des instructions spéciales avant l'utilisation

P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage

P308+P313 : EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : consulter un médecin

P333+P313 : En cas d'irritation/éruption cutanée : consulter un médecin

P362+P364 : Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation

Stockage

Le réactif NM-LYSE doit être stocké et utilisé à température ambiante (18-24 °C). Ne pas congeler. Stabilité du réactif : se reporter à la date d'expiration imprimée sur le flacon. Il n'est pas recommandé d'utiliser le réactif au-delà de la date d'expiration. Si les réactifs sont stockés dans des conditions autres que celles spécifiées, les conditions doivent être vérifiées par l'utilisateur. Ne pas utiliser le réactif en cas de formation d'un précipité ou de décoloration. Les conditions de stockage après ouverture des flacons sont identiques à celles des flacons non ouverts.

En cas d'obtention de résultats imprévus qui ne peuvent pas être attribués à des différences de procédures de laboratoire, veuillez nous contacter.

Garantie

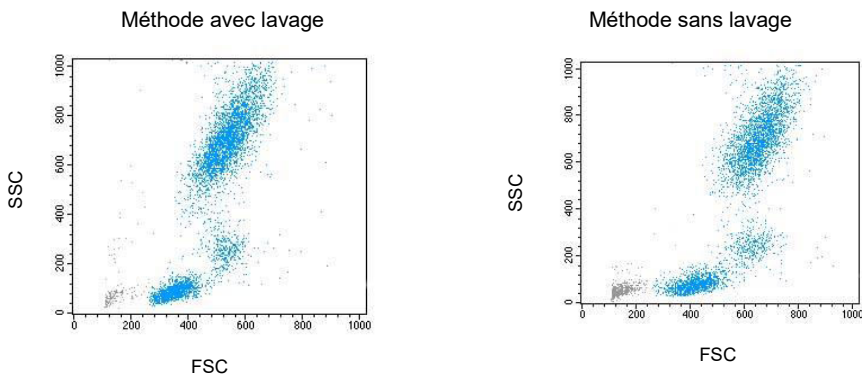
Les produits vendus en vertu des présentes sont garantis uniquement pour la conformité à la quantité et au contenu indiqués sur l'étiquette au moment de la livraison au client. Aucune garantie, expresse ou implicite, ne va au-delà de la description figurant sur l'étiquette du produit. La responsabilité de Nordic-MUBio se limite au remplacement des produits ou au remboursement du prix d'achat. Nordic-MUBio n'est pas responsable des dommages aux biens, des dommages corporels ou des pertes économiques provoqués par le produit. La qualité de chaque lot NM-LYSE est déterminée par lyse des globules rouges d'échantillons de sang correctement définis provenant de donneurs représentatifs et la comparaison ultérieure des caractéristiques de dispersion frontale et latérale des leucocytes obtenus.

Références

- 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.

Exemples représentatifs

Profil de dispersion (frontale et latérale) de la cytométrie en flux de leucocytes de sang périphérique après lyse du sang entier avec NM-LYSE, après utilisation de la méthode avec lavage ou de la méthode sans lavage.



Résultat : bonne séparation des lymphocytes, neutrophiles et monocytes.

Date de publication

Version 2

22 mai 2022

Modifications introduites : cette version a été amendée pour être conforme à l'IVD-R.