

## Istruzioni per l'uso NM-LYSE Soluzione di lisi per citometria a flusso

Per procedure di lisi con fluidi biologici (sangue, midollo osseo e altri)

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

NM-LYSE Soluzione di lisi per citometria a flusso 30 ml 300 test

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

NM-LYSE Soluzione di lisi per citometria a flusso 100 ml 1000 test



**IVD**

**Dispositivo medico-diagnostico in vitro**



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

### Destinazione d'uso

Il dispositivo si intende destinato alla preparazione di campioni di sospensioni cellulari per analisi citofluorimetriche. Il trattamento di sangue, aspirati midollari e altro con questo reagente causa contemporaneamente la lisi degli eritrociti e la fissazione dei leucociti. Le caratteristiche morfologiche di scatter dei leucociti rimangono intatte. NM-LYSE è adatto all'analisi citofluorimetrica di leucociti normali e maligni provenienti da diversi campioni biologici umani. NM-LYSE può essere utilizzato con strumenti di analisi automatizzati e non automatizzati per studiare le sospensioni di tali campioni cellulari.

**Questo prodotto si intende destinato solamente a un uso diagnostico *in vitro* da parte di personale specializzato.**

### Principio

NM-LYSE è una soluzione di lisi premiscelata e pronta all'uso, ideata per la lisi degli eritrociti in seguito alla colorazione anticorpale (monoclonale) di sangue intero, aspirato di midollo osseo e altri. Le analisi citofluorimetriche con anticorpi monoclonali sono state per lungo tempo unicamente destinate alle popolazioni leucocitarie, che dovevano essere separate dagli eritrociti tramite centrifugazione a gradiente prima della colorazione e/o analisi. Invece, i metodi di colorazione di sangue intero permettono di determinare rapidamente e accuratamente le sottopopolazioni cellulari in campioni biologici non separati. Ciò non permette solo di risparmiare tempo, ma riduce anche la possibilità di perdita indesiderata di popolazioni cellulari dovuta, ad esempio, alle comuni procedure di centrifugazione differenziale. Grazie al reagente NM-LYSE, l'analisi citofluorimetrica del sangue intero è diventata facile e accurata esattamente come l'analisi delle popolazioni cellulari separate. NM-LYSE può essere utilizzato con o senza lavaggio dei campioni.

NM-LYSE è adatto all'uso in tutti i citometri a flusso disponibili sul mercato. L'allineamento e la compensazione devono essere eseguiti secondo le istruzioni del produttore

**CONTENUT**

**Materiali forniti**

**NM-LYSE**

NM - LYSE Soluzione di lisi per citometria a flusso  
Composizione riservata, contiene 4-10% formaldeide 1x 30 ml/1x 100 ml 300/1000 test

### Materiali necessari ma non forniti

Utilizzare adeguate precauzioni di sicurezza come il camice da laboratorio, i guanti, gli occhiali protettivi ecc.

Provette in vetro o plastica da 3-5 ml

Pipette

Vortex

Centrifuga

Citometro a flusso e fluido di scorrimento

Anticorpi adeguatamente coniugati (fluorocromo)

Acqua distillata

### Raccolta campioni, stoccaggio e manipolazione

I fluidi biologici (sangue, aspirati midollari e altro) devono essere raccolti in condizioni sterili. È raccomandato l'utilizzo di anticoagulanti (EDTA o eparina). I campioni devono essere stoccati a temperatura ambiente prima dell'uso. Per risultati ottimali, i campioni devono essere processati e analizzati entro 24 ore. I campioni con un alto numero di cellule non vitali potrebbero causare risultati falsati. In tal caso, è richiesta una valutazione della vitalità cellulare in un campione separato con, per esempio, ioduro di propidio. Tutti i campioni biologici devono essere maneggiati con cautela. Ogni campione biologico è sempre da considerarsi potenzialmente infetto. Utilizzare precauzioni adeguate come guanti, camice da laboratorio, ecc.

### Procedura di colorazione e lisi senza lavaggio

NM-LYSE - Soluzione di lisi per citometria a flusso è pronta all'uso.

- Per ogni campione, aggiungere 50 µl di sangue, aspirato midollare o altri campioni cellulari anticoagulati con EDTA o eparina in una provetta da 3-5 ml
- Aggiungere 20 µl di un adeguato coniugato anticorpale (monoclonale)
- Incubare le provette per 15 minuti a 4°C o a temperatura ambiente al buio
- Aggiungere 100 µl di NM-LYSE in ogni provetta e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente
- Aggiungere 1 ml di acqua distillata e agitare con vortex, incubare per 5-10 minuti a temperatura ambiente
- Analizzare immediatamente o stoccare i campioni tra 2-8°C al buio, analizzandoli entro 24 ore

### Procedura di colorazione e lisi con lavaggio

- Per ogni campione, aggiungere 50 µl di sangue, aspirato midollare o altri campioni cellulari anticoagulati con EDTA o eparina in una provetta da 3-5 ml
- Aggiungere 20 µl di un adeguato coniugato anticorpale (monoclonale)
- Incubare le provette per 15 minuti a 4°C o a temperatura ambiente al buio
- Aggiungere 100 µl di NM-LYSE in ogni provetta e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente
- Aggiungere 3-4 ml di acqua distillata e agitare con vortex, incubare per 5-10 minuti a temperatura ambiente
- Centrifugare la provetta per 5 minuti a 300 g
- Aspirare il surnatante e risospendere il precipitato in 0,3 ml di fluido di scorrimento
- Analizzare immediatamente o stoccare i campioni tra 2-8°C al buio, analizzandoli entro 24 ore

### Prestazioni

È stato dimostrato in diverse pubblicazioni (si veda la bibliografia scelta sotto) che NM-LYSE permette una corretta immunocolorazione dei marcatori di superficie cellulari e degli antigeni intracellulari in diversi tipi di cellule provenienti da sangue periferico, midollo osseo o altro, lasciando allo stesso tempo le caratteristiche di scatter delle cellule intatte. Di conseguenza, è possibile quantificare i diversi tipi di cellule nei loro stadi di maturazione con tecniche citofluorimetriche in sangue e aspirati midollari normali o (pre)maligni.

Le prestazioni di ogni lotto di NM-Lyse sono determinate dal trattamento di campioni di sangue ben definiti di donatori rappresentativi, con successivo paragone delle caratteristiche di forward e side scatter dei leucociti ottenuti. Le deviazioni rilevate tra lotti diversi per questi parametri sono tutte al di sotto del 10%.

### Limitazioni tecniche

Utilizzando NM-LYSE, l'analisi citofluorimetrica degli antigeni cellulari è diventata facile e accurata. L'unico prerequisito è la disponibilità di coniugati anticorpali adeguati. La maggior parte dei coniugati anticorpali (monoclonali) disponibili può essere utilizzata con NM-LYSE. Tuttavia, alcuni determinanti sono sensibili alla fase di fissazione inclusa nel processo. Tale sensibilità e i tempi di fissazione ottimali devono essere testati per ogni reagente.

NM-LYSE è adatto all'uso in tutti i citometri a flusso disponibili sul mercato. L'allineamento e la compensazione devono essere eseguiti secondo le istruzioni del produttore. La citofluorimetria deve essere eseguita solamente da personale qualificato. Un allineamento scorretto del citometro a flusso, una compensazione inadeguata della fluorescenza che invada altri canali così come un posizionamento errato delle regioni di interesse potrebbero produrre risultati falsati. Qualora, per vari motivi, la lisi degli eritrociti risultasse impossibile, si raccomanda di isolare le cellule mononucleate (MNC) per centrifugazione in gradiente di densità prima della colorazione. I risultati ottenuti saranno corretti e riproducibili a condizione che nelle procedure utilizzate si rispettino le raccomandazioni tecniche e le buone pratiche di laboratorio. La soluzione NM-LYSE è fornita pronta all'uso a una concentrazione che permette la lisi di eritrociti umani e la fissazione degli anticorpi (monoclonali) alle cellule, mantenendo le caratteristiche di scatter cellulare. Si raccomanda vivamente, pertanto, di rispettare i protocolli di lavoro su concentrazioni e volumi relativi a cellule e anticorpi. Le proprietà di NM-LYSE sono state determinate utilizzando sangue periferico anticoagulato con EDTA e eparina.

### Avvertenze e precauzioni

Solo per personale qualificato.

NM-LYSE contiene il 4-10% di formaldeide. La formaldeide è tossica, allergenica e sospetta cancerogena e prevede la seguente etichetta: Nocivo. Si raccomanda di utilizzare adeguate procedure di manipolazione. Non tenere mai la pipetta con la bocca e evitare ingestione e inalazione, contatto con occhi, pelle e indumenti. Come regola generale, i minori di 18 anni non sono autorizzati a lavorare con questo prodotto. Gli utilizzatori devono ricevere istruzioni accurate sulle procedure di lavoro adeguate, le proprietà pericolose del prodotto e le necessarie indicazioni di sicurezza. Per ulteriori informazioni, consultare la Scheda di Dati di Sicurezza (SDS). Smaltire i resti del prodotto secondo le normative locali.

Qualsiasi incidente serio che si verifichi con il dispositivo dovrà essere segnalato al produttore e alla competente autorità dello Stato Membro UE in cui l'utilizzatore e/o il paziente sono stabiliti.

### Contenuto sostanza pericolosa: 4-10% Formaldeide



Pericolo

H350: Può provocare il cancro (indicare la via di esposizione se è accertato che nessun'altra via di esposizione comporta il medesimo pericolo)

H317: Può provocare una reazione allergica della pelle

P201: Procurarsi le istruzioni prima dell'uso.

P280: Indossare guanti protettivi/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso.  
 P308+P313: In caso di esposizione o possibile esposizione: Consultare un medico,  
 P333+P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: Consultare un medico,  
 P362+P364: Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

#### Stoccaggio

NM-LYSE deve essere stoccato e utilizzato a temperatura ambiente (18-24°C). Non congelare Stabilità del reagente: Consultare la data di scadenza stampata sulla fiala. Si sconsiglia l'uso del reagente dopo la data di scadenza. Se i reagenti sono stoccati a condizioni diverse da quelle specificate, l'utilizzatore dovrà verificare tali condizioni. Non utilizzare il reagente se si forma un precipitato o si verifica uno scolorimento. Le condizioni di stoccaggio dopo l'apertura delle fiale sono le stesse delle fiale non aperte.

Se si ottengono risultati inaspettati che non possono essere attribuiti a procedure di laboratorio diverse, si prega di contattarci.

#### Garanzia

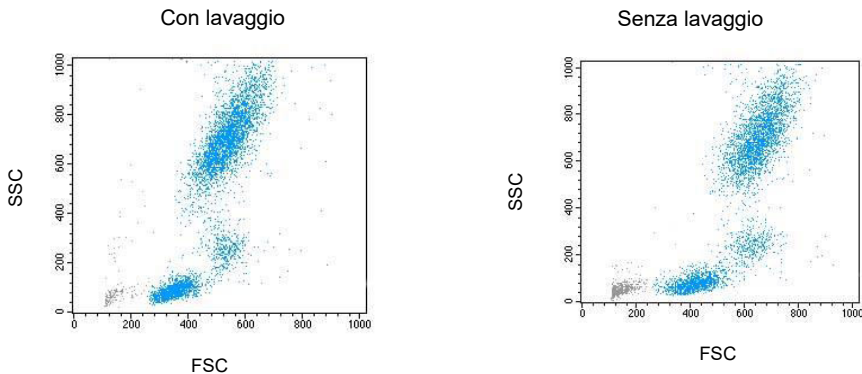
I prodotti venduti secondo il presente documento sono garantiti solamente per la quantità e i contenuti dichiarati sull'etichetta al momento della consegna al cliente. Non si fornisce alcuna garanzia, espressa o implicita, che si estenda oltre quanto espressamente indicato nella descrizione sull'etichetta del prodotto. La sola responsabilità di Nordic-MUBio è limitata alla sostituzione dei prodotti o il rimborso del prezzo di acquisto. Nordic-MUBio non è responsabile per danni materiali, lesioni personali o perdite economiche causate dal prodotto. La qualità di ogni lotto di NM-LYSE è determinata dalla lisi di eritrociti di campioni di sangue ben definiti di donatori rappresentativi, con successivo paragone delle caratteristiche di forward e side scatter dei leucociti ottenuti.

#### Bibliografia scelta

- 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.

#### Esempi rappresentativi

Profilo scatter citofluorimetro (forward e side scatter) dei leucociti da sangue periferico dopo la lisi di sangue intero con NM-LYSE, con metodo con e senza lavaggio.



Risultato: Buona separazione di linfociti, neutrofilii e monociti.

#### Data di rilascio

Versione 2

22 maggio 2022

Modifiche introdotte: Questa versione è stata modificata per essere conforme all'IVD-R.