

Bruksanvisning NM-LYSE Lysinlösning för flödescytometri

För lysinförfaranden med biologiska vätskor (blod, benmärg och liknande)

REF GAS-003-CE/IVD

NM-LYSE Lysinlösning för flödescytometri 30 ml 300 tester

REF GAS-003-1-CE/IVD

NM-LYSE Lysinlösning för flödescytometri 100 ml 1000 tester



IVD Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik

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

Avsedd användning

Enhetens avsedda användning är att förbereda cellsuspensionsprover för cytometrianalyser. Behandling av blod, benmärgsprover och liknande med denna reagens leder till en samtidig lysning av röda blodkroppar och en fixering av leukocyter. De morfologiska spridningsegenskaperna hos dessa leukocyter förblir intakt. NM-LYSE kan användas för analysen av normala och maligna grupper av leukocyter som har erhållits ur olika humana biologiska prover som tagits fram genom flödescytometri. NM-LYSE kan både användas i automatiserade och icke-automatiserade uppställningar för att studera suspensioner av sådana cellprover.

Denna produkt är endast avsedd att användas för professionell in vitro-diagnostik.

Princip

NM-LYSE är en förblandad lysinlösning som är klar att användas och som är framtagen för lysning av erythrocyter efter (monoklon) antikropps färgning av helblod, benmärgsprover och liknande. Flödescytometriska analyser med monoklona antikroppar var länge begränsade till grupper av leukocyter, som måste separeras genom gradientcentrifugering från erythrocyterna före färgningen och/eller analysen. Nu kan istället metoder som färgar helblod användas, vilket ger en snabb och noggrann bestämning av cellulära undergrupper i icke-separerade biologiska prover. Detta sparar inte bara tid utan det minskar även sannolikheten för en oavsiktlig förlust av distinkta cellgrupper p.g.a. t.ex. ofta förekommande differentialcentrifugeringsförfaranden. Med NM-LYSE-reagensens flödescytometriska analys är analysen av helblod lika enkel och noggrann som analysen av separerade cellgrupper. NM-LYSE kan användas med eller utan tvättning av proverna. NM-LYSE har utformats för att kunna användas med alla kommersiellt tillgängliga flödescytometrar. Utjämnning och compensation ska utföras i enlighet med tillverkarens instruktioner.

INNEHÅLL

Material som tillhandahålls

NM-LYSE

NM-LYSE Lysinlösning för flödescytometri
skyddad sammanställning, innehåller 4-10 % formaldehyd 1x 30 ml/ 1x 100 ml 300/1000 tester

Material som krävs, men inte tillhandahålls

Vidta lämpliga skyddsåtgärder, som att bära laboratorierock, handskar, skyddsglasögon etc.

3-5 ml glas- eller plaströr

Pipetter

Vortex

Centrifug

Flödescytometer och mantelväska

Lämpliga (fluorokroma) konjugerade antikroppar

Destillerat vatten

Insamling, lagring och hantering av prover

Biologiska vätskor (blod, benmärgsprover och liknande) måste samlas in under sterila förhållanden. Antikoagulering med EDTA eller heparin rekommenderas. Proverna ska lagras i rumstemperatur tills de används. För optimala resultat ska proverna bearbetas och analyseras inom 24 timmar. Prover med ett stort antal icke-viåbla celler kan ge falska resultat, och i sådana fall krävs determinering av cellernas viåblitet i ett separat prov med t.ex. propidiumjod. Alla biologiska prover måste hanteras med försiktighet. Betrakta dem alltid som potentiellt infekterade. Vidta lämpliga skyddsåtgärder, som att bära handskar, laboratorierock, etc.

Förfarande för icke-tvättad färgning och lysering

NM-LYSE Lysinlösning för flödescytometri är färdig att användas.

- Lägg till 50 µl EDTA eller heparin antikoagulerat blod, benmärgsprov eller andra cellprover i ett 3-5 ml rör för varje prov
- Lägg till 20 µl av det lämpliga (monoklona) antikropps-konjugatet
- Inkubera röret i 15 minuter vid 4°C eller rumstemperatur i mörker
- Lägg till 100 µl NM-LYSE till varje rör och inkubera i 10 minuter vid rumstemperatur
- Lägg till 1 ml destillerat vatten och vortex, inkubera i 5-10 minuter vid rumstemperatur
- Analysera omedelbart eller lagra proverna vid 2-8°C i mörker och analysera inom 24 timmar

Förfarande för tvättad färgning och lysering

- Lägg till 50 µl EDTA eller heparin antikoagulerat blod, benmärgsprover eller andra cellprover i ett 3-5 ml rör för varje prov
- Lägg till 20 µl av det lämpliga (monoklona) antikropps-konjugatet
- Inkubera röret i 15 minuter vid 4°C eller rumstemperatur i mörker
- Lägg till 100 µl NM-LYSE till varje rör och inkubera i 10 minuter vid rumstemperatur
- Lägg till 3-4 ml destillerat vatten och vortex, inkubera i 5-10 minuter vid rumstemperatur
- Centrifugera röret i 5 minuter vid 300 g
- Aspirera supernatant och återsuspendera pelleten i 0,3 ml mantelvätska
- Analysera omedelbart eller lagra proverna vid 2-8°C i mörket och analysera inom 24 timmar

Prestandaegenskaper

NM-LYSE har i ett antal publikationer (se utvalda referenser nedan) visat sig möjliggöra en framgångsrik immunfärgning av cellens ytmarkörer och intracellulära antigener i olika slags celler som utvunnits ur perifert blod, benmärg eller liknande samtidigt som spridningskännetecknen för dessa celltyper förblev intakta. Genom detta kan de olika celltyperna och deras mognadsstadier kvantifieras med flödescytometriteknik i normalt och (pre)malignt blod och benmärgsprover.

Prestationerna för varje NM-Lyse-sats avgörs genom behandlingen av väldefinierade blodprover från representativa givare och en följande jämförelse av fram- och sidospridda kännetecken från leukocyter som erhållits. Avvikelser från dessa parametrar som har fastställts mellan följande sats är mindre än 10 %.

Teknikens begränsningar

Användningen av NM-LYSE har gjort att flödescytometriska analyser av cellulära antigener har blivit enkel och noggrann. Det enda villkoret är att det finns lämpliga antikropps-konjugat. De flesta av de tillgängliga (monoklona) antikropps-konjugaten kan användas med NM-LYSE, vissa determinanter är dock känsliga mot det fixeringssteg som ingår. Detta och den optimala fixeringstiden måste testas för varje reagens.

NM-LYSE har utformats för att kunna användas med alla kommersiellt tillgängliga flödescytometrar. Utjämning och kompensation ska utföras i enlighet med tillverkarens instruktioner. Flödescytometri ska endast utföras av professionella användare. Felaktig inställning av flödescytometern, bristfällig kompensation för fluorescens som läcker till andra kanaler samt en felaktig positionering av regionerna kan leda till falska resultat. Om det av olika skäl skulle visa sig att det inte går att utföra lysering av röda celler rekommenderar vi att man isolerar mononukleära celler (MNC) via densitetsgradientscentrifugering, före färgningen. Resultaten blir korrekta och reproducerbara om de förfaranden som används respekterar de tekniska rekommendationerna och följer god laboratoriepraxis. NM-LYSE-lösningen tillhandahålls färdig att användas i en koncentration som tillåter lysering av humana erythrocyter och fixering av den (monoklonala) antikroppen samtidigt som de cellulära spridningskännetecknen behålls. Vi rekommenderar därför att man verkligen håller sig till protokollet vad gäller koncentrationen och volymerna för celler och antikroppar. Egenskaperna hos NM-LYSE har fastställts med EDTA och heparin antikoagulerat perifert blod.

Varningar och försiktighetsåtgärder

Endast för professionella användare.

NM-LYSE innehåller 4-10 % formaldehyd. Formaldehyd är toxiskt, allergiframkallande och misstänkt cancerframkallande och det är märkt: Skadligt. Lämpliga hanteringsförfaranden rekommenderas. Pipettera aldrig med munnen och undvik att svälja eller andas in produkten, undvik även kontakt med ögon, hud och kläder. Som huvudregel får inte personer under 18 år arbeta med denna produkt. Användarna måste få noggranna instruktioner om de rätta arbetsätten, om produktens farliga egenskaper och om nödvändiga säkerhetsinstruktioner. I säkerhetsdatabladet finns mer information. Kassera produktrester i enlighet med lokala regler.

Alla allvarliga incidenter som inträffar i samband med enheten ska rapporteras till tillverkaren och till den behöriga myndigheten i den EU-medlemsstat där användaren och/eller patienten har sitt säte.

Det farliga ämnets innehåll: 4-10 % formaldehyd



Fara

H350: Kan orsaka cancer (ange exponeringsväg om det är definitivt bevisat att faran inte kan orsakas av några andra exponeringsvägar)

H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion

P201: Inhämta särskilda instruktioner före användning.

P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.

P308+P313: Vid exponering eller misstanke om exponering: Sök läkarhjälp.

P333+P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp.

P362+P364: Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen

Lagring

NM-LYSE reagens ska lagras och användas vid rumstemperatur (18-24°C). Fry inte in. Reagensens stabilitet: Se det bäst föredatum som finns tryckt på ampullen. Vi avråder från att använda reagensen efter bäst föredatumet. Om reagenserna lagrats under andra förhållanden än de angivna, måste förhållandena verifieras av användaren. Använd inte reagensen om fällningar eller missfärgningar uppträder. Lagringsförhållandena efter att ampullerna har öppnats är desamma som för öppnade ampuller. Om oväntade resultat erhålls, som inte beror på skillnader i laboratoriets förfaranden ber vi er att kontakta oss.

Garanti

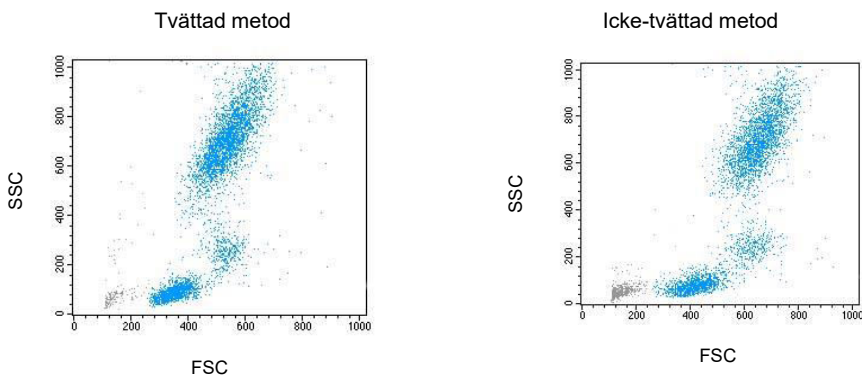
De produkter som säljs omfattas bara av en garanti som gäller den kvantitet och det innehåll som anges på etiketten vid tidpunkten för leverans till kunden. Inga garantier ges, varken uttryckliga eller underförstådda, som går längre än beskrivningen på produktetiketten. Nordic-MUbios enda ansvar begränsas till att antingen ersätta produkterna eller betala tillbaka köpesumman. Nordic-MUbio är inte ansvarigt för skadad egendom, personskador eller ekonomiska förluster som har förorsakats av produkten. Kvaliteten på varje NM-LYSE-sats avgörs genom lysering av röda blodceller i väldefinierade blodprover från representativa givare och en följande jämförelse av fram- och sidospridda kännetecken från leukocyter som erhållits.

Utvalda referenser

- 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.

Representativa exempel

Flödescytometrisk spridningsprofil (fram- och sidospridd) av perifera blodleukocyter efter lysering av helblod med NM-LYSE, antingen efter en tvättad eller icke-tvättad metod.



Resultat: God separation av lymfocyter, neutrofiler och monocyter.

Utfärdad den

Version 2

22 maj 2022

Ändringar som införts: Denna version har ändrats så att den efterlever IVD-R