

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 risospingere 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

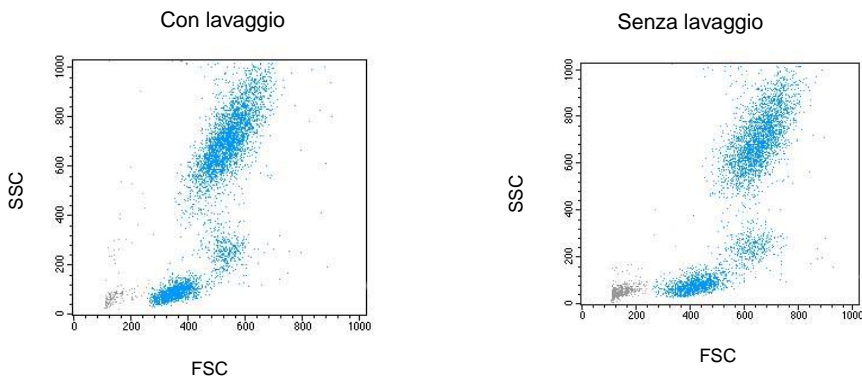
I prodotti venduti secondo il presente documento sono garantiti solamente per la quantità e i contenuti dichiarati sull'etichetta al momento della consegna al cliente. Non si fornisce alcuna garanzia, espressa o implicita, che si estenda oltre quanto espressamente indicato nella descrizione sull'etichetta 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, neutrofili e monociti.

Data di rilascio

Versione 2

22 maggio 2022

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