Miltenyi Biotec

7-AAD Staining Solution

REF 170-100-042

For *in vitro* diagnostic use

IVD CE

English | en

1 Intended purpose

The 7-AAD Staining Solution is intended for identification and exclusion of interfering non-viable/degenerating cells in flow cytometry by semi-quantitative, non-automated fluorescent detection of those cells in human whole blood. The reagent serves as an aid to diagnosis to evaluate cell viability in mono- or multiparametric analyses of human leukocytes in flow cytometry in the context of providing information on physiological or pathological state and is to be used by laboratory professionals.

2 Technical data and background information

7-AAD (7-amino-actinomycin D) is a fluorescent dye that intercalates into double-stranded DNA (cytosine and guanine rich regions). It is excluded from viable cells but can penetrate cell membranes of non-viable or degenerating cells.

Technical data	
Excitation laser	Blue (488 nm)
Fluorescence	Em_{Max} [a] 647 nm
Product formulation	The ready-to-use 7-AAD Staining Solution is supplied in phosphate-buffered saline, at a concentration of 262.5 µg/mL (0.03%)[b] and containing 1.04% methanol and 0.04% sodium azide
Quantity supplied per vial	100 tests in 0.2 mL (2 µL/test)

a Emission maximum
b Values in % refer to %w/w

Table 1: Technical data 7-AAD Staining Solution

3 Important information

Interpretation of results is the full responsibility of the user and analysis results obtained with the reagent should never be used as the sole basis for classifying disease states.

4 Warnings and precautions

⚠ WARNING

Risk of infection

All biological specimens and all materials that come into contact with blood and blood products must be treated as infectious material. Regulations for the handling and disposal of potentially infectious material must be observed.[1]

Risk of explosion

Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive buildups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide buildups in plumbing.

Risk of damage to environment

Reagent contains components that are (aqua-)toxic in pure form. National and local regulations for disposal must be observed.

Risk of poisoning

Reagent contains 7-AAD, methanol and sodium azide. In pure form, 7-AAD is a potentially carcinogenic and reproductive toxin; methanol and sodium azide are toxic. Although this mixture is not classified as dangerous at product concentration, safety guidelines must be observed (notably: use of gloves, gown and protective glasses). Never pipet by mouth and avoid any contact with the skin, mucosa, and eyes. Keep away from heat. Do not breathe in vapors and aerosols.

Hazardous components
1 – <5% methanol
Relevant H and EUH statements
H225 Highly flammable liquid and vapor.
H301 Toxic if swallowed.
H311 Toxic in contact with skin.
H331 Toxic if inhaled.
H370 Causes damage to organs.
EUH210 Safety data sheet available on request.

Table 2: Relevant H and EUH statements

To request the Safety Data Sheet (SDS), contact Miltenyi Biotec Technical Support (see chapter 10 "Notice to user").

⚠ CAUTION

Risk of delay of results.

Any deviation from instruction for use and protocol can cause impairment of performance. Always observe the instructions for use and protocol.

Consult instructions for use. Strictly adhere to the protocol and only use the reagent as described.

+2 °C +8 °C Store and handle at +2 to +8 °C. Do not freeze.

Minimize exposure to light during handling and storage.

For in-use stability at +2 to +8 °C storage temperature refer to the use-by date printed on the vial label.

Do not use after the use-by date.

Do not use the reagent if the vial is damaged or if signs of leakage are observed. Avoid ingress of bacteria into the reagent vial.

1 Callihan, D. R. et al. (2014) Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections.; Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 4th ed. CLSI M29-A4.

5 Evidence of deterioration

Any change in the physical appearance of the reagent may indicate deterioration and the reagent should not be used. In case of unexpected results, repeat the measurement or contact Miltenyi Biotec Technical Support (see chapter 10 "Notice to user").

6 Materials required but not provided

For material required but not provided, the manufacturer's recommendations and safety regulations must be observed.

- Disposable capped polystyrene tubes, 12×75 mm
- PBS/EDTA/BSA (PEB) buffer: Prepare a solution containing phosphate-buffered saline (PBS), pH 7.2, 0.5% bovine serum albumin (BSA), and 2 mM EDTA by diluting e.g., MACS® BSA Stock Solution (# 130-091-376) 1:20 with autoMACS® Rinsing Solution (# 130-091-222). Keep buffer cold (+2 to +8 °C).

- Red blood cell (RBC) lysing solution: e.g., Red Blood Cell Lysis Solution (10×), Miltenyi Biotec (# 130-094-183), or equivalent
- Double-distilled water (ddH_2O)
- Micropipettes with disposable tips, capable of dispensing volumes of 2 µL up to 2 mL, respectively
- Low speed centrifuge: minimum speed 300×g, with 12×75 mm tube carriers
- Vortex mixer
- Flow cytometer with appropriate laser and filter setting, e.g., MACSQuant® Dx (# 170-082-000). For excitation and emission data for 7-AAD Staining Solution, see chapter 2 "Technical data and background information".
- For multiparametric use: additional immunofluorescent reagents

7 Protocol

For all handling, consideration of good laboratory practice (GLP) regulations is recommended.

7.1 Principle of method

The incubation of human whole blood samples with the provided reagent leads to fluorescent staining of non-viable/degenerating cells. Analysis of the sample is performed in a flow cytometer at a single-cell level. The analysis is based on the detection of characteristic light emission patterns emitted by the fluorescently labeled cell upon excitation with laser light. The collected data can be processed and analyzed using flow cytometry software.

7.2 Sample requirements and limitations

Storage conditions and limitations for whole blood samples should be considered prior to collection and analysis. For collection of patient samples European and national legislation must be followed.

- Venous blood must be taken using sterile tubes containing EDTA as anticoagulant.
- For monoparametric use: whole blood should be stained within 72 hours.
- For multiparametric use: whole blood should be stained within 24 hours.
- Cell count of white blood cells should not exceed 10,000 cells/µL
  Note: If necessary, dilute cell sample with buffer.

7.3 Limitations

For multiparametric analysis, it is strongly recommended to check inter-compatibility of the reagent with other immunofluorescent reagents. In particular, be aware of incompatibilities with reagents that have a similar emission spectrum (e.g., PerCP or PE-Cy®5 reagents). See chapter 2 "Technical data and background information" for the specifications of the flow cytometer.

Specimens with impaired integrity (hemolytic, icteric, lipemic sample or sample containing cell aggregates) might lead to changes in performance. Hence, such samples shall be rejected.

7.4 Protocol for staining

Note: Do not use reagents containing permeating or fixating agents during the procedure in order to prevent false positive or misleading results.

1. If necessary, prepare a working solution for lysis of red blood cells according to manufacturer's recommendation.
2. Add 2 µL of 7-AAD Staining Solution to 100 µL of cell sample.
   Optional for multiparametric use: Add the recommended amount of immunofluorescent reagent(s).
3. Mix well and incubate for 15 minutes in the dark at room temperature (+20 to +25 °C).
   Note: Higher temperatures and/or longer incubation times may lead to non-specific cell labeling.
4. Perform lysis of red blood cells by following the recommendations of the lysis reagent used.
   If using Red Blood Cell Lysis Solution (10×), Miltenyi Biotec (# 130-094-183), add 2 mL of the working solution (1×), vortex immediately and incubate for 10 minutes at room temperature in the dark. Check for successful lysis (clear, red solution) by optical inspection of the tube before continuation. Extend lysis time to up to 20 minutes if necessary.
5. Centrifuge at 300×g for 10 minutes. Remove supernatant.
6. Wash cells by adding 1–2 mL of buffer, centrifuge at 300×g for 10 minutes. Remove supernatant.
7. Resuspend cell pellet in a suitable amount of buffer and proceed to flow cytometric analysis. Store samples at +2 to +8 °C and minimize exposure to light until analysis.
   Note: Time until analysis should not exceed 2 hours.

Quality control:
For diagnostic flow cytometry, it is recommended to regularly run control samples from healthy adult specimens or commercially available whole blood controls.

8 Performance characteristics

7-AAD Staining Solution does not have a medical decision point and will not have clinical performance characteristics such as diagnostic sensitivity, diagnostic specificity, positive predictive value, negative predictive value, likelihood ratio, or expected values in normal and affected populations.

The values obtained from healthy individuals may vary from laboratory to laboratory. Hence, for multiparametric use, each laboratory should establish its own normal reference ranges for the populations under study.

Analytical performance parameters were tested according to CLSI-H62[2] recommendations, where applicable. EDTA-whole blood samples from presumed healthy donors (N) were collected and stored up to 96 hours for repeated testing. Samples were acquired within 2 hours post staining on a MACSQuant Dx flow cytometer.

8.1 Analytical specificity

7-AAD is a well-documented viability marker which binds specifically to cytosine and guanine bases of the DNA double strand of non-viable cells.[3,4,5] Combined with its spectral properties, it is well-suited for flow cytometry analysis.[6,7] Furthermore, trueness was tested to confirm the specificity of the reagent.

8.2 Accuracy

Precision
Frequency (%pos) of 7-AAD+ subpopulation was tested for repeatability using ≥10 EDTA-whole blood samples over ≥3 days of testing and for reproducibility using ≥5 EDTA-whole blood samples over ≥3 days of testing. Each sample was run in a 4-run cross design (two operators, two instruments, same sample tested in the morning and afternoon). Statistical analysis was conducted based on variance components analysis using JMP® version 15.2.

	N	Mean %pos	SD[a]	SD between operator	SD between instrument	% CV[b]
Repeatability	14	41.6	3.09	2.35	0.13	8.59
Reproducibility	11	0.47	0.16	0.08	0.05	33.2

a Standard deviation
b Coefficient of variation

Table 3: Repeatability and reproducibility of 7-AAD Staining Solution

Trueness
Frequency (%pos) of 7-AAD+ subpopulation detected by 7-AAD Staining Solution was tested by comparing the results with a reference reagent on ≥10 whole blood samples.

N	Mean %pos	Mean delta	Mean bias
15	32.0	–1.40	–2.03

Table 4: Trueness of 7-AAD Staining Solution

2 Litwin, V. *et al.* (2021) Validation of Assays performed by flow cytometry. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 1st ed. CLSI H62.

3 Graves, D. E. and Wadkins, R. M. (1989) 7-Azidoactinomycin D: a novel probe for examining actinomycin D-DNA interactions. J Biol Chem. 5;264(13):7262-6.

4 Zelenin, A. V. *et al.* (1984) 7-Amino-actinomycin D as a specific fluorophore for DNA content analysis by laser flow cytometry. Cytometry 5(4):348-54.

5 Gill, J. E. *et al.* (1975) 7-Amino-actinomycin D as a cytochemical probe. I. Spectral properties. J. Histochem. Cytochem., 23, 793-799.

6 Schmid, I. *et al.* (1992) Dead cell discrimination with 7-aminoactinomycin D in combination with dual color immunofluorescence in single laser flow cytometry. Cytometry 13 (2): 204–208.

7 Cossarizza, A. *et al.* (2017) Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies. Eur. J. Immunol. 47, 1584–1797.

9 Glossary of symbols

In-use stability

Contains following number of tests

Phone

E-Mail

Website

10 Notice to user

Any serious incident that has occurred in relation to this product should be reported to Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG – using the contact information provided – and the competent authority of the member state in which the user of this product is established.

Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG
Friedrich-Ebert-Str. 68
51429 Bergisch Gladbach
Germany

Miltenyi Biotec Technical Support
+49 2204 8306-3803
technicalsupport@miltenyi.com
www.miltenyibiotec.com

11 Document revision history

Revision No.	Date of issue	Modifications since last revision
01	2023-12	N/A, new issue
02	2024-02	Correction of headline format
03	2025-04	Addition of languages
04	2025-09	Formal adaptions

Table 5: Document revision history

12 Legal notes

autoMACS, MACS, MACSQuant, and the Miltenyi Biotec logo are registered trademarks or trademarks of Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG and/or its affiliates in various countries worldwide. Cy is a registered trademark of GE Healthcare UK Limited. All other trademarks mentioned in this document are the property of their respective owners and are used for identification purposes only.
Copyright © 2025 Miltenyi Biotec and/or its affiliates. All rights reserved.

Miltenyi Biotec

7-AAD Staining Solution

REF 170-100-042

Für die *In-vitro*-Diagnostik

IVD CE

Deutsch | de

1 Zweckbestimmung

Die 7-AAD Staining Solution ist für die Identifizierung und den Ausschluss interferierender, nicht vitaler/degenerierender Zellen in der Durchflusszytometrie durch eine semiquantitative, nicht automatisierte Fluoreszenzdetektion dieser Zellen in menschlichem Vollblut bestimmt. Das Reagenz dient als diagnostisches Hilfsmittel zur Bewertung der Zellvitalität bei mono- oder multiparametrischen Analysen menschlicher Leukozyten in der Durchflusszytometrie im Rahmen der Bereitstellung von Informationen über den physiologischen oder pathologischen Zustand und soll von Laborfachleuten verwendet werden.

2 Technische Daten und Hintergrundinformationen

7-AAD (7-Aminoactinomycin D) ist ein Fluoreszenzfarbstoff, der in doppelsträngige DNA (Cytosin- und Guanin-reiche Regionen) interkaliert. Er wird von vitalen Zellen ausgeschlossen, kann jedoch die Zellmembranen nicht vitaler oder degenerierender Zellen durchdringen.

Technische Daten	
Anregungslaser	Blau (488 nm)
Fluoreszenz	Em_{Max} [a] 647 nm
Produktformulierung	Die gebrauchsfertige 7-AAD Staining Solution wird in phosphatgepufferter Saline mit einer Konzentration von 262,5 µg/mL (0,03%)[b] geliefert und enthält 1,04% Methanol sowie 0,04% Natriumazid
Gelieferte Menge pro Fläschchen	100 Tests in 0,2 mL (2 µL/Test)

a Emissionsmaximum (nm)
b Werte in % beziehen sich auf %w/w

Tabelle 1: Technische Daten für 7-AAD Staining Solution

3 Wichtige Informationen

Die Interpretation der Ergebnisse liegt in der alleinigen Verantwortung des Anwenders und Analyseergebnisse, die durch Verwendung des Reagenzes erzielt wurden, dürfen niemals als alleinige Grundlage zur Klassifizierung von Krankheitsstadien verwendet werden.

4 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

⚠ WARNUNG

Infektionsgefahr

Alle biologischen Proben und alle Materialien, die mit Blut und Blutprodukten in Berührung kommen, müssen als infektiöses Material behandelt werden. Die Vorschriften zum Umgang und zur Entsorgung von potenziell infektiösem Material sind zu beachten.[1]

Explosionsgefahr

Natriumazid kann mit Blei oder Kupfer in den Abflussrohren reagieren und so hochexplosive Metallazide bilden. Spülen Sie bei der Entsorgung mit ausreichend Wasser nach, um eine Anreicherung von Metallaziden in den Rohrleitungen zu vermeiden.

Gefahr einer Umweltschädigung

Das Reagenz enthält Bestandteile, die in reiner Form (in Wasser) giftig sind. Die nationalen und örtlichen Vorschriften zur Entsorgung sind zu beachten.

Vergiftungsgefahr

Das Reagenz enthält 7-AAD, Methanol und Natriumazid. In reiner Form ist 7-AAD ein potenziell krebserregendes und fortpflanzungsgefährdendes Toxin; Methanol und Natriumazid sind giftig. Auch wenn diese Mischung in der Produktkonzentration nicht als gefährlich eingestuft wird, müssen die Sicherheitshinweise beachtet werden (insbesondere: Verwendung von Handschuhen, Kittel und Schutzbrille). Pipettieren Sie niemals mit dem Mund und vermeiden Sie den Kontakt mit Haut, Schleimhäuten und Augen. Von Hitze fernhalten. Dämpfe und Aerosole nicht einatmen.

Gefährliche Bestandteile
1 – <5% Methanol
Relevante H- und EUH-Sätze
H225 Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.
H301 Giftig bei Verschlucken.
H311 Giftig bei Hautkontakt.
H331 Giftig bei Einatmen.
H370 Schädigt die Organe.
EUH210 Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich.

Tabelle 2: Relevante H- und EUH-Sätze

Um das Sicherheitsdatenblatt (SDB) anzufordern, kontaktieren Sie den Miltenyi Biotec Technical Support (siehe Kapitel 10 "Hinweis für den Benutzer").

⚠ VORSICHT

Gefahr der Verzögerung von Ergebnissen.

Jede Abweichung von der Gebrauchsanweisung und dem Protokoll kann zu einer Leistungsbeeinträchtigung führen. Gebrauchsanweisung und Protokoll sind immer zu beachten.

Gebrauchsanweisung beachten. Halten Sie sich strikt an das Protokoll und verwenden Sie das Reagenz wie beschrieben.

+2 °C +8 °C Bei +2 bis +8 °C lagern und gebrauchen. Nicht einfrieren.

Während des Gebrauchs und der Lagerung vor Licht schützen.

Für die Stabilität nach Anbruch bei einer Lagertemperatur von +2 bis +8 °C ist das Verfallsdatum auf dem Etikett des Fläschchens zu beachten.

Nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

Das Reagenz nicht verwenden, wenn das Fläschchen beschädigt ist oder undicht zu sein scheint. Vermeiden Sie das Eindringen von Bakterien in das Reagenzfläschchen.

1 Callihan, D. R. et al. (2014) Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections.; Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 4th ed. CLSI M29-A4.

5 Hinweis auf Verfallsanzeichen

Jede Veränderung des physikalischen Erscheinungsbildes des Reagenzes kann auf Verfallsanzeichen hinweisen und das Reagenz sollte nicht verwendet werden. Sollten unerwartete Ergebnisse auftreten, wiederholen Sie die Messung oder wenden Sie sich an den

Miltenyi Biotec Technical Support (siehe Kapitel 10 "Hinweis für den Benutzer").

6 Benötigte, nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Für benötigtes, aber nicht im Lieferumfang enthaltenes Material sind die Empfehlungen und Sicherheitsvorschriften des Herstellers zu beachten.

- Einweg-Polystyrol-Röhrchen mit Deckel, 12×75 mm
- PBS/EDTA/BSA (PEB) Pufferlösung: Bereiten Sie eine Lösung mit phosphatgepufferter Saline (PBS) bei pH 7,2, 0,5% bovines Serumalbumin (BSA) und 2 mM EDTA zu, indem Sie beispielsweise MACS® BSA Stock Solution (# 130-091-376) im Verhältnis 1:20 mit autoMACS® Rinsing Solution (# 130-091-222) verdünnen. Die Pufferlösung kühl aufbewahren (+2 bis +8 °C).
- Lösung zur Lyse von roten Blutkörperchen (RBC): z. B. Red Blood Cell Lysis Solution (10×), Miltenyi Biotec (# 130-094-183) oder gleichwertig
- Doppelt destilliertes Wasser (ddH_2O)
- Mikropipetten mit Einwegspitzen und einem Dosiervolumen von 2 µL bis 2 mL
- Zentrifuge mit niedriger Geschwindigkeit: Mindestgeschwindigkeit 300×g, mit 12×75 mm Röhrchenträgern
- Vortex-Mixer
- Durchflusszytometer mit geeigneter Laser- und Filtereinstellung, z. B. MACSQuant® Dx (# 170-082-000). Für Anregungs- und Emissionsdaten für die 7-AAD Staining Solution siehe Kapitel 2 "Technische Daten und Hintergrundinformationen".
- Für eine multiparametrische Anwendung: zusätzliche Immunfluoreszenz-Reagenzien

7 Protokoll

Bei jeglicher Verwendung wird empfohlen, die Grundsätze der Guten Laborpraxis (GLP) zu beachten.

7.1 Prinzip der Methode

Die Inkubation humaner Vollblutproben mit dem gelieferten Reagenz führt zur Fluoreszenzfärbung der nicht vitalen/degenerierenden Zellen. Die Analyse der Probe erfolgt mit einem Durchflusszytometer auf Einzelzellebene. Die Analyse basiert auf der Detektion charakteristischer Lichtemissionsmuster, die von den fluoreszenzmarkierten Zellen nach Anregung mit Laserlicht emittiert werden. Die gesammelten Daten können mit Hilfe von Durchflusszytometrie-Software verarbeitet und analysiert werden.

7.2 Anforderungen an die Probe und Einschränkungen

Die Lagerungsbedingungen und Einschränkungen für Vollblutproben sollten vor der Entnahme und Analyse berücksichtigt werden. Bei der Entnahme von Patientenproben sind die europäischen und nationalen Rechtsvorschriften einzuhalten.

- Venöses Blut muss in sterilen Röhrchen entnommen werden, die EDTA als Antikoagulans enthalten.
- Bei monoparametrischer Verwendung: Vollblut sollte innerhalb von 72 Stunden gefärbt werden.
- Bei multiparametrischer Verwendung: Vollblut sollte innerhalb von 24 Stunden gefärbt werden.
- Die Anzahl der weißen Blutkörperchen sollte 10.000 Zellen/µL nicht überschreiten.
  Hinweis: Verdünnen Sie die Zellprobe gegebenenfalls mit Pufferlösung.

7.3 Einschränkungen

Für multiparametrische Analysen wird dringend empfohlen, die Kompatibilität des Reagenzes mit anderen Immunfluoreszenzreagenzien zu prüfen. Achten Sie insbesondere auf Unverträglichkeiten mit Reagenzien, die ein ähnliches Emissionsspektrum aufweisen (z. B. PerCP- oder PE-Cy®5-Reagenzien). Siehe Kapitel 2 "Technische Daten und Hintergrundinformationen" für die Spezifikationen des Durchflusszytometers.

Proben mit beeinträchtigter Integrität (hämolytische, ikterische, lipämische Proben oder Proben, die Zellaggregate enthalten) können zu Veränderungen der Leistung führen. Solche Proben sind daher zurückzuweisen.

7.4 Protokoll für die Färbung

Hinweis: Verwenden Sie während des Verfahrens keine Reagenzien, die Permeations- oder Fixierungsmittel enthalten, um falsch positive oder irreführende Ergebnisse zu vermeiden.

1. Falls erforderlich, bereiten Sie eine Arbeitslösung für die Lyse der roten Blutkörperchen gemäß den Empfehlungen des Herstellers vor.
2. Geben Sie 2 µL der 7-AAD Staining Solution zu 100 µL der Zellprobe. Optional bei multiparametrischer Verwendung: Die empfohlene Menge an Immunfluoreszenzreagenz(ien) hinzufügen.
3. Gut mischen und 15 Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur (+20 bis +25 °C) inkubieren.
   Hinweis: Höhere Temperaturen und/oder längere Inkubationszeiten können zu unspezifischer Zellmarkierung führen.
4. Führen Sie die Lyse der roten Blutkörperchen durch, indem Sie die Empfehlungen des verwendeten Lyse-Reagenzes befolgen.
   Bei Verwendung der Red Blood Cell Lysis Solution (10×), Miltenyi Biotec (# 130-094-183), 2 mL der Arbeitslösung (1×) zugeben, sofort vortexen und 10 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren. Kontrollieren Sie durch optische Inspektion des Röhrchens, ob die Lyse erfolgreich war (klare, rote Lösung), bevor Sie mit dem nächsten Schritt fortfahren. Verlängern Sie die Lysezeit gegebenenfalls auf bis zu 20 Minuten.
5. Bei 300×g für 10 Minuten zentrifugieren. Überstand abnehmen.
6. Zellen durch Zugabe von 1–2 mL Pufferlösung waschen, bei 300×g für 10 Minuten zentrifugieren. Überstand abnehmen.
7. Das Zellpellet in einer geeigneten Menge Pufferlösung resuspendieren und mit der durchflusszytometrischen Analyse fortfahren. Die Proben bei +2 bis +8 °C lagern und bis zur Analyse vor Licht schützen.
   Hinweis: Die Zeit bis zur Analyse sollte 2 Stunden nicht überschreiten.

Qualitätskontrolle:
Für die diagnostische Durchflusszytometrie wird empfohlen, regelmäßig Kontrollproben von gesunden Erwachsenen oder im Handel erhältlichen Vollblutkontrollen durchzuführen.

8 Leistungsmerkmale

Die 7-AAD Staining Solution hat keinen medizinischen Entscheidungspunkt und weist keine klinischen Leistungsmerkmale auf, wie z. B. diagnostische Sensitivität, diagnostische Spezifität, positiver prädiktiver Wert, negativer prädiktiver Wert, Likelihood Ratio oder erwartete Werte in normalen und betroffenen Populationen.

Die von gesunden Personen erhaltenen Werte können von Labor zu Labor variieren. Daher sollte jedes Labor bei multiparametrischer Anwendung seine eigenen normalen Referenzbereiche für die untersuchten Populationen festlegen.

Analytische Leistungsparamter wurden, soweit zutreffend, gemäß den CLSI-H62[2]-Empfehlungen getestet. EDTA-Vollblutproben von mutmaßlich gesunden Spendern (N) wurden entnommen und bis zu 96 Stunden für wiederholte Tests aufbewahrt. Die Proben wurden innerhalb von 2 Stunden nach der Färbung an einem MACSQuant Dx Durchflusszytometer gemessen.

8.1 Analytische Spezifität

7-AAD ist ein gut dokumentierter Marker für die Vitalität, der sich spezifisch an die Basen Cytosin und Guanin des DNA-Doppelstrangs nicht vitaler Zellen bindet.[3,4,5] In Verbindung mit seinen spektralen Eigenschaften ist er gut für durchflusszytometrische Analysen geeignet.[6,7] Darüber hinaus wurde die Richtigkeit der Ergebnisse geprüft, um die Spezifität des Reagenzes zu bestätigen.

8.2 Genauigkeit

Präzision

Die Frequenz (%pos) der 7-AAD+ Subpopulation wurde auf Wiederholbarkeit mit ≥10 EDTA-Vollblutproben über ≥3 Testtage und auf Reproduzierbarkeit mit ≥5 EDTA-Vollblutproben über ≥3 Testtage geprüft. Jede Probe wurde in einem Kreuzdesign mit 4 Durchläufen getestet (zwei Bediener, zwei Geräte, dieselbe Probe am Morgen und am Nachmittag). Die statistische Analyse wurde auf der Grundlage der Varianzkomponentenanalyse mit JMP® Version 15.2 durchgeführt.

	N	Mittelwert %pos	SD[a]	SD zwischen Bediener	SD zwischen Instrument	% CV[b]
Wiederholbarkeit	14	41,6	3,09	2,35	0,13	8,59
Reproduzierbarkeit	11	0,47	0,16	0,08	0,05	33,2

a Standardabweichung (Standard Deviation)
b Variationskoeffizient (Coefficient of Variation)

Tabelle 3: Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit der 7-AAD Staining Solution

Richtigkeit

Die Frequenz (%pos) der mit der 7-AAD Staining Solution nachgewiesenen 7-AAD+ Subpopulation wurde durch Vergleich der Ergebnisse mit einem Referenzreagenz an ≥10 Vollblutproben getestet.

N	Mittelwert %pos	Mittelwert Delta	Mittelwert Verzerrung
15	32,0	–1,40	–2,03

Tabelle 4: Richtigkeit der 7-AAD Staining Solution

2 Litwin, V. *et al.* (2021) Validation of Assays performed by flow cytometry. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Erstauflage CLSI H62.

3 Graves, D. E. and Wadkins, R. M. (1989) 7-Azidoactinomycin D: a novel probe for examining actinomycin D-DNA interactions. J Biol Chem. 5;264(13):7262-6.

4 Zelenin, A. V. *et al.* (1984) 7-Amino-actinomycin D as a specific fluorophore for DNA content analysis by laser flow cytometry. Cytometry 5(4):348-54.

5 Gill, J. E. *et al.* (1975) 7-Amino-actinomycin D as a cytochemical probe. I. Spectral properties. J. Histochem. Cytochem., 23, 793-799.

6 Schmid, I. *et al.* (1992) Dead cell discrimination with 7-aminoactinomycin D in combination with dual color immunofluorescence in single laser flow cytometry. Cytometry 13 (2): 204–208.

7 Cossarizza, A. *et al.* (2017) Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies. Eur. J. Immunol. 47, 1584–1797.

9 Glossar der Symbole

Stabilität nach Anbruch

Enthält die folgende Anzahl an Tests

Telefon

E-Mail

Website

10 Hinweis für den Benutzer

Alle im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetretenen schwerwiegenden Vorkommnisse sind der Miltenyi Biotec B.V. &Co.KG – unter Verwendung der angegebenen Kontaktinformationen – und der zuständigen Behörde des Mitgliedsstaates anzuzeigen, in dem der Anwender des Produktes niedergelassen ist.

Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG
Friedrich-Ebert-Str. 68
51429 Bergisch Gladbach
Deutschland

Miltenyi Biotec Technical Support
+49 2204 8306-3803
technicalsupport@miltenyi.com
www.miltenyibiotec.com

11 Revisionshistorie des Dokuments

Revision Nr.	Datum der Revision	Änderungen seit der letzten Revision
01	2023-12	N/A, neue Ausstellung
02	2024-02	Korrektur der Überschriften Formatierung
03	2025-04	Hinzufügen von Sprachen
04	2025-09	Formale Anpassungen

Tabelle 5: Revisionshistorie des Dokuments

12 Rechtliche Hinweise

autoMACS, MACS, MACSQuant und das Miltenyi Biotec Logo sind eingetragene Warenzeichen oder Warenzeichen der Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG und/oder ihrer verbundenen Unternehmen in verschiedenen Ländern weltweit. Cy ist ein eingetragenes Warenzeichen der GE Healthcare UK Limited. Alle anderen in diesem Dokument genannten Warenzeichen sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber und werden nur zu Identifikationszwecken verwendet.
Copyright © 2025 Miltenyi Biotec und/oder verbundene Unternehmen. Alle Rechte vorbehalten.

Miltenyi Biotec

7-AAD Staining Solution

REF 170-100-042

Para *in vitro* uso diagnóstico

IVD CE

Español | es

1 Finalidad prevista

La 7-AAD Staining Solution está destinada a la identificación y exclusión de células interferentes no viables o en degeneración en citometría de flujo por medio de la detección por fluorescencia semicuantitativa no automatizada de estas células en sangre total humana. El reactivo facilita el diagnóstico para evaluar la viabilidad celular en análisis mono o multiparamétricos de leucocitos humanos por citometría de flujo, a fin de proporcionar información sobre el estado fisiológico o patológico y su uso se limita a profesionales de laboratorio.

2 Datos técnicos e información general

El 7-AAD (7-amino-actinomicina D) es un colorante fluorescente que se intercala en el ADN de doble cadena (regiones ricas en citosina y guanina). Se excluye de las células viables pero puede penetrar en las membranas celulares de las células no viables o moribundas.

Datos técnicos	
Láser de excitación	Azul (488 nm)
Fluorescencia	$Em_{Máx}$ [a] 647 nm
Formulación del producto	La 7-AAD Staining Solution, lista para usar, se suministra en solución salina tamponada con fosfato, a una concentración de 262,5 µg/mL (0,03%) [b] y con un 1,04% de metanol y un 0,04% de azida sódica
Cantidad suministrada por vial	100 tests en 0,2 mL (2 µL/test)

a Máximo de emisión
b Los valores en % se refieren a %w/w

Tabla 1: Datos técnicos 7-AAD Staining Solution

3 Informaciones importantes

La interpretación de los resultados es responsabilidad única del usuario y los resultados de los análisis obtenidos mediante el uso del reactivo nunca serán la única base para clasificar los estados de enfermedad.

4 Advertencias y precauciones

⚠ ADVERTENCIA

Riesgo de infección

Todas las muestras biológicas y todos los materiales que entren en contacto con la sangre y los hemoderivados deben ser tratados como material infeccioso. Se deben respetar la regulación vigente sobre la manipulación y la eliminación del material infeccioso.[1]

Riesgo de explosión

La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre para formar acumulaciones altamente explosivas de azidas metálicas. Durante la eliminación, se debe lavar con grandes volúmenes de agua para evitar la acumulación de azida metálica en las tuberías.

Riesgo de daños al medio ambiente

El reactivo contiene componentes que son (acua-)tóxicos en estado puro. Se deben respetar las normas nacionales y locales de eliminación.

Riesgo de intoxicación

El reactivo contiene 7-AAD, metanol y azida sódica. En forma pura, el 7-AAD es una toxina potencialmente cancerígena y reproductiva; el metanol y la azida sódica son tóxicos. Aunque, a la concentración del producto, esta mezcla no está clasificada como peligrosa, se deben observar las directrices de seguridad (en particular: uso de guantes, bata y gafas protectoras). No pipetee nunca el reactivo con la boca y evite todo contacto con la piel, las mucosas y los ojos. Manténgalo alejado del calor. No respire los vapores y aerosoles.

Componentes peligrosos
1-<5 % de metanol
Declaraciones H y EUH pertinentes
H225 Líquido y vapores muy inflamables.
H301 Tóxico en caso de ingestión.
H311 Tóxico en contacto con la piel.
H331 Tóxico en caso de inhalación.
H370 Provoca daños en los órganos.
EUH210 Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad.

Tabla 2: Declaraciones H y EUH pertinentes

Para solicitar la ficha de datos de seguridad (FDS), póngase en contacto con el Miltenyi Biotec Technical Support (ver capítulo 10 "Nota para el usuario").

⚠ ATENCIÓN

Riesgo de retraso de los resultados.

Cualquier desviación de las instrucciones de uso y del protocolo puede alterar el funcionamiento. Observe siempre las instrucciones de uso y el protocolo.

Consultar instrucciones de uso. Cumpla estrictamente el protocolo y utilice el reactivo solo según la descripción.

+2 °C +8 °C Almacenar y manipular entre +2 y +8 °C. No congelar.

Minimizar la exposición a la luz durante la manipulación y el almacenamiento.

Para la estabilidad durante el uso a una temperatura de almacenamiento de +2 a +8 °C, consulte la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.

No usar después de la fecha de caducidad.

No utilice los reactivos si el vial está dañado o si se observan signos de fuga. Evite la penetración de bacterias en en el vial del reactivo.

1 Callihan, D. R. et al. (2014) Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections.; Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 4th ed. CLSI M29-A4.

5 Signos de deterioro

Cualquier cambio en el aspecto físico del reactivo puede indicar un deterioro; en este caso no se deberá utilizar el reactivo. En caso de resultados inesperados, repita la medición o póngase en contacto con el Miltenyi Biotec Technical Support (véase el capítulo 10 "Nota para el usuario").

6 Materiales necesarios pero no proporcionados

En cuanto al material necesario pero no suministrado, se deben respetar las recomendaciones de los fabricantes y las normas de seguridad.

- Tubos de poliestireno desechables con tapón, 12×75 mm
- Tampón PBS/EDTA/BSA (PEB) : Prepare una solución que contenga solución salina tamponada con fosfato (PBS), pH = 7,2, albúmina bovina (BSA) al 0,5% y EDTA 2 mM diluyendo, por ejemplo, MACS® BSA Stock Solution (# 130-091-376) 1:20 con la autoMACS® Rinsing Solution (# 130-091-222). Mantenga el tampón en frío (+2 a +8 °C).
- Solución lisante de glóbulos rojos (GR): p. ej, Red Blood Cell Lysis Solution (10×), Miltenyi Biotec (# 130-094-183) o equivalente
- Agua bidestilada (ddH_2O)
- Micropipetas con puntas desechables, capaces de dispensar volúmenes de 2 µL a 2 mL, respectivamente
- Centrífuga de baja velocidad: velocidad mínima 300×g, con portatubos de 12×75 mm
- Vortex
- Citómetro de flujo con ajuste del láser y del filtro adecuados, p. ej., MACSQuant® Dx (n.° 170-082-000). Consulte los datos de excitación y emisión de 7-AAD Staining Solution en el capítulo 2 "Datos técnicos e información general".
- Para el uso multiparamétrico: reactivos inmunofluorescentes adicionales

7 Protocolo

Durante toda manipulación, se recomienda tener en cuenta las normas de buenas prácticas de laboratorio (BPL).

7.1 Principio del método

La incubación de muestras de sangre total humana con el reactivo suministrado produce una tinción fluorescente de las células no viables o en degeneración. El análisis de la muestra se realiza en un citómetro de flujo a nivel de cada célula. El análisis se basa en la detección de los patrones de emisión de luz característicos de la célula marcada con fluorescencia tras la excitación con luz láser. Los datos recogidos se pueden procesar y analizar mediante un software de citometría de flujo.

7.2 Requisitos y limitaciones de las muestras

Antes de la recogida y el análisis de muestras de sangre total se deberán observar las condiciones y limitaciones de almacenamiento correspondientes. Para obtener muestras de pacientes se debe seguir la legislación europea y nacional.

- La sangre venosa se debe extraer en tubos estériles que contengan EDTA como anticoagulante.
- Para el uso monoparamétrico: la sangre total se debe teñir en un plazo de 72 horas.
- Para el uso multiparamétrico: la sangre total se debe teñir en un plazo de 24 horas.
- La cifra de leucocitos no debe superar 10 000 células/µL
  Nota: En caso necesario, diluya la muestra celular con tampón.

7.3 Limitaciones

Para análisis multiparamétricos, se recomienda encarecidamente comprobar la intercompatibilidad del reactivo con otros reactivos inmunofluorescentes. En particular, tenga en cuenta las incompatibilidades con reactivos que dispongan de un espectro de emisión similar (p. ej., reactivos PerCP o PE-Cy®5). Véase el capítulo 2 "Datos técnicos e información general" para las especificaciones del citómetro de flujo.

Las muestras con integridad alterada (muestra hemolítica, ictérica, lipémica o que contenga agregados celulares) podrían provocar cambios en el funcionamiento. Por lo tanto, dichas muestras se deberán rechazar.

7.4 Protocolo de tinción

Nota: No utilice reactivos que contengan agentes permeantes o fijadores durante el procedimiento para evitar positivos falsos o resultados que inducen a error.

1. En caso necesario, prepare una solución de trabajo para la lisis de eritrocitos según las recomendaciones del fabricante.
2. Añada 2 µL de 7-AAD Staining Solution a 100 µL de muestra de células.
   Opcional para uso multiparamétrico: añada la cantidad recomendada de reactivos inmunofluorescentes.
3. Mezcle bien e incube en la oscuridad durante 15 minutos a temperatura ambiente (+20 a +25 °C).
   Nota: Las temperaturas más altas o los tiempos de incubación más largos pueden dar lugar a un marcaje celular inespecífico.
4. Realice la lisis de los eritrocitos según las recomendaciones del reactivo de lisis utilizado.
   Si utiliza Red Blood Cell Lysis Solution (10×), Miltenyi Biotec (n.° 130-094-183), añada 2 mL de la solución de trabajo (1×), agite inmediatamente en un vortex e incube durante 10 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. Compruebe que la lisis es correcta (solución transparente y roja) mediante inspección visual del tubo antes de continuar. Prolongue el tiempo de lisis hasta 20 minutos, si es necesario.
5. Centrifugue a 300×g durante 10 minutos. Elimine el sobrenadante.
6. Lave las células añadiendo 1-2 mL de tampón, centrifugue a 300×g durante 10 minutos. Elimine el sobrenadante.
7. Resuspenda el sedimento celular en una cantidad adecuada de tampón y proceda al análisis por citometría de flujo. Almacene las muestras de +2 a +8 °C y minimizar su exposición a la luz hasta su análisis.
   Nota: El tiempo hasta el análisis no debe ser mayor de 2 horas.

Control de calidad

Para la citometría de flujo diagnóstica se recomienda analizar periódicamente muestras de control de sujetos adultos sanos o controles de sangre total disponibles en el mercado.

8 Características de funcionamiento

7-AAD Staining Solution no tiene un punto de decisión médica ni presentará características de funcionamiento clínico, como sensibilidad diagnóstica, especificidad diagnóstica, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, cociente de verosimilitudes ni valores previstos, en poblaciones normales y afectadas.

Los valores obtenidos de individuos sanos pueden variar de un laboratorio a otro. Por lo tanto, para el uso multiparamétrico, cada laboratorio deberá establecer sus propios intervalos de referencia para las poblaciones en estudio.

Se comprobaron los parámetros de funcionamiento analítico siguiendo las recomendaciones CLSI-H62[2], si procede. Se recogieron muestras de sangre total con EDTA de donantes presuntamente sanos (N) y se almacenaron hasta 96 horas para repetir las pruebas. Las muestras se adquirieron en las 2 horas posteriores a la tinción, en un citómetro de flujo MACSQuant Dx.

8.1 Especificidad del análisis

El 7-AAD es un marcador de viabilidad bien documentado, que se une específicamente a las bases de citosina y guanina de la doble cadena de ADN de las células no viables.[3,4,5] Combinado con sus propiedades espectrales, es óptimo para el análisis mediante citometría de flujo.[6,7] Además, se comprobó la veracidad para confirmar la especificidad del reactivo.

8.2 Precisión

Precisión

Se comprobó la repetibilidad de la frecuencia (%pos) de la subpoblación de 7-AAD+ utilizando ≥10 muestras de sangre total con EDTA a lo largo de ≥3 días de análisis y la reproducibilidad utilizando ≥5 muestras de sangre total con EDTA a lo largo de ≥3 días de análisis. Cada muestra se analizó en un diseño cruzado de 4 análisis (dos técnicos, dos instrumentos, análisis de la misma muestra por la mañana y por la tarde). El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el análisis de la varianza de los componentes utilizando la versión 15.2 de JMP®.

	N	%pos media	DE[a]	DE entre técnicos	DE entre instrumentos	% CV[b]
Repetibilidad	14	41,6	3,09	2,35	0,13	8,59
Reproducibilidad	11	0,47	0,16	0,08	0,05	33,2

a Desviación estándar
b Coeficiente de variación

Tabla 3: Repetibilidad y reproducibilidad de la 7-AAD Staining Solution

Veracidad

Se comprobó la frecuencia (%pos) de la subpoblación de 7-AAD+ detectada por la 7-AAD Staining Solution comparando los resultados con un reactivo de referencia en ≥10 muestras de sangre total.

N	%pos media	Delta medio	Sesgo medio
15	32,0	–1,40	–2,03

Tabla 4: Veracidad de la 7-AAD Staining Solution

2 Litwin, V. *et al.* (2021) Validation of Assays performed by flow cytometry. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 1st ed. CLSI H62.

3 Graves, D. E. and Wadkins, R. M. (1989) 7-Azidoactinomycin D: a novel probe for examining actinomycin D-DNA interactions. J Biol Chem. 5;264(13):7262-6.

4 Zelenin, A. V. *et al.* (1984) 7-Amino-actinomycin D as a specific fluorophore for DNA content analysis by laser flow cytometry. Cytometry 5(4):348-54.

5 Gill, J. E. *et al.* (1975) 7-Amino-actinomycin D as a cytochemical probe. I. Spectral properties. J. Histochem. Cytochem., 23, 793-799.

6 Schmid, I. *et al.* (1992) Dead cell discrimination with 7-aminoactinomycin D in combination with dual color immunofluorescence in single laser flow cytometry. Cytometry 13 (2): 204–208.

7 Cossarizza, A. *et al.* (2017) Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies. Eur. J. Immunol. 47, 1584–1797.

9 Glosario de símbolos

Estabilidad durante el uso

Contiene el siguiente número de pruebas

Teléfono

E-mail

Sitio web

10 Nota para el usuario

Cualquier incidente grave que se haya producido en relación con este producto deberá notificarse a Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG – utilizando la información de contacto proporcionada – y a la autoridad competente del estado miembro en el que esté establecido el usuario de este producto.

Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG
Friedrich-Ebert-Str. 68
51429 Bergisch Gladbach
Alemania

Miltenyi Biotec Technical Support:
+49 2204 8306-3803
technicalsupport@miltenyi.com
www.miltenyibiotec.com

11 Historial de revisión de documentos

N.° de revisión	Fecha de edición	Modificaciones desde la última revisión
01	2023-12	(N/A), nueva edición
02	2024-02	Corrección del formato de los encabezamientos
03	2025-04	Adición de idiomas
04	2025-09	Adaptaciones formales

Tabla 5: Historial de revisión de documentos

12 Aviso legal

autoMACS, MACS, MACSQuant y el logotipo de Miltenyi Biotec son marcas comerciales registradas o marcas comerciales de Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG y/o de sus filiales en distintos países del mundo. Cy es una marca comercial registrada de GE Healthcare UK Limited. Todas las demás marcas comerciales mencionadas en este documento son propiedad de sus respectivos propietarios y se utilizan únicamente con fines de identificación.
Copyright © 2025 Miltenyi Biotec y/o sus filiales. Todos los derechos reservados.

Miltenyi Biotec

7-AAD Staining Solution

REF 170-100-042

Pour diagnostic *in vitro*

IVD CE

Français | fr

1 Destination

La solution de coloration 7-AAD Staining Solution est destinée à l'identification et à l'exclusion des cellules non viables/en dégénérescence, qui interfèrent dans la cytométrie en flux, par le biais d'une détection fluorescente semi-quantitative et non automatisée de ces cellules dans le sang total humain. Le réactif sert d'aide au diagnostic pour évaluer la viabilité cellulaire lors d'analyses mono- ou multiparamétriques de leucocytes humains par cytométrie en flux dans le but d'obtenir des informations sur l'état physiologique ou pathologique. Il est destiné à être utilisé par des techniciens de laboratoire.

2 Caractéristiques techniques et informations générales

La solution 7-AAD (7-amino-actinomycine D) est un colorant fluorescent qui s'intercale dans l'ADN double brin (régions riches en guanine et cytosine). Ce colorant reste en dehors des cellules viables, mais peut pénétrer les membranes des cellules non viables ou en dégénérescence.

Caractéristiques techniques	
Laser d'excitation	Bleu (488 nm)
Fluorescence	Em_{Max} [a] 647 nm
Formulation du produit	La solution de coloration 7-AAD Staining Solution prête à l'emploi est fournie dans une solution saline tamponnée au phosphate, à une concentration de 262,5 µg/mL (0,03%) [b] et contenant 1,04% de méthanol et 0,04% d'azide de sodium.
Quantité fournie par flacon	100 tests dans 0,2 mL (2 µL/test)

a Maximum d'émission
b Les valeurs en % se réfèrent au %p/p

Tableau 1: Caractéristiques techniques de la solution de coloration 7-AAD Staining Solution

3 Informations importantes

L'interprétation des résultats relève de l'entière responsabilité de l'utilisateur, et les résultats d'analyse obtenus avec le réactif ne doivent jamais constituer le seul élément pour la classification des stades d'une maladie.

4 Mises en garde et précautions d'emploi

⚠ AVERTISSEMENT

Risque d'infection

Tous les échantillons biologiques et toutes les matières qui entrent en contact avec du sang et des produits sanguins doivent être traités comme des matières infectieuses. La réglementation concernant le traitement et la mise au rebut de matières potentiellement infectieuses doit être appliquée.[1]

Risque d'explosion

L'azoture de sodium peut réagir avec le plomb et le cuivre des tuyauteries en formant des dépôts d'azotures de métaux hautement explosifs. Avant la mise au rebut, purger avec d'importants volumes d'eau pour éviter le dépôt d'azotures de métaux dans les tuyauteries.

Risque d'atteinte à l'environnement

Le réactif contient des composants qui sont (aqua)toxiques à l'état pur. Les réglementations locales et nationales relatives à la mise au rebut doivent être respectées.

Risque d'empoisonnement

Le réactif contient du 7-AAD, du méthanol et de l'azoture de sodium. Sous sa forme pure, le 7-AAD est potentiellement cancérigène et toxique pour la reproduction ; le méthanol et l'azoture de sodium sont toxiques. Bien que ce mélange ne soit pas classé comme dangereux à la concentration du produit, les consignes de sécurité doivent impérativement être respectées (notamment : utilisation de gants, d'une blouse et de lunettes de protection). Ne jamais pipetter à la bouche et éviter tout contact avec la peau, les muqueuses et les yeux. Conserver à l'abri de la chaleur. Ne pas respirer les vapeurs et les aérosols.

Composants dangereux
1 à < 5 % de méthanol
Phrases H et EUH correspondantes
H225 Liquide et vapeurs très inflammables.
H301 Toxique en cas d'ingestion.
H311 Toxique par contact cutané.
H331 Toxique par inhalation.
H370 Risque avéré d'effets graves pour les organes.
EUH210 Fiche de données de sécurité disponible sur demande.

Tableau 2: Phrases H et EUH correspondantes

Pour demander la fiche de données de sécurité (FDS), contacter le service Miltenyi Biotec Technical Support (voir chapitre 10 "Avis aux utilisateurs").

⚠ ATTENTION

Risque de retard des résultats.

Tout écart par rapport à la notice d'utilisation et au protocole peut nuire aux performances. Toujours respecter la notice d'utilisation et le protocole.


Consulter la notice d'utilisation. Respecter strictement le protocole et n'utiliser le réactif que de la manière décrite.



Conserver et manipuler à une température entre +2 °C et +8 °C. Ne pas congeler.


Réduire au minimum l'exposition à la lumière lors de la manipulation et du stockage.


Pour la stabilité après ouverture avec une température de stockage comprise entre +2 °C et +8 °C, se reporter à la date de péremption imprimée sur l'étiquette du flacon.


Ne pas utiliser après la date de péremption.


Ne pas utiliser le réactif si le flacon est endommagé ou en présence de signes de fuite. Éviter l'infiltration de bactéries dans le flacon de réactif.

1 Callihan, D. R. et al. (2014) Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections.; Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 4th ed. CLSI M29-A4.

5 Preuve de détérioration

Toute modification de l'aspect physique du réactif peut indiquer une détérioration, auquel cas le réactif ne doit pas être utilisé. Si les résultats obtenus sont aberrants, répéter l'analyse ou contacter Miltenyi Biotec Technical Support (voir chapitre 10 "Avis aux utilisateurs").

6 Matériel nécessaire mais non fourni

Concernant le matériel nécessaire mais non fourni, les recommandations et les règles de sécurité du fabricant doivent impérativement être respectées.

- Tubes en polystyrène bouchés jetables, 12×75 mm
- Tampon PBS/EDTA/BSA (PEB) : Préparer une solution constituée d'une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) de pH°7,2, de sérumalbumine bovine (BSA) à 0,5% et de 2 mM d'EDTA en diluant p. ex. la solution de stockage MACS BSA Stock Solution (REF 130-091-376) dans un ratio 1:20 avec la solution de rinçage autoMACS® Rinsing Solution (REF 130-091-222). Conserver le tampon au frais (entre +2 et +8 °C).
- Solution de lyse des globules rouges (GR) : p. ex., Red Blood Cell Lysis Solution (10×), Miltenyi Biotec (réf. 130-094-183), ou équivalent
- Eau bidistillée (ddH_2O)
- Micropipettes avec embouts jetables, capables de distribuer des volumes de 2 µL à 2 mL, respectivement
- Centrifugeuse à basse vitesse : vitesse minimale 300×g, avec porte-tubes de 12×75 mm
- Mélangeur à vortex
- Cytomètre en flux avec réglage approprié du laser et du filtre, p. ex., MACSQuant® Dx (réf. 170-082-000). Pour les données d'excitation et d'émission de la solution de coloration 7-AAD Staining Solution, voir le chapitre 2 "Caractéristiques techniques et informations générales".
- Pour une utilisation multiparamétrique : réactifs pour immunofluorescence supplémentaires

7 Protocole

Pour toutes les manipulations, il est recommandé de prendre en compte les règles de bonnes pratiques de laboratoire (BPL).

7.1 Principe de la méthode

L'incubation d'échantillons de sang total humain avec le réactif fourni entraîne une coloration fluorescente des cellules non viables/en dégénérescence. L'analyse de l'échantillon est réalisée dans un cytomètre en flux au niveau de cellules uniques. L'analyse est basée sur la détection de profils caractéristiques d'émission de la lumière par la cellule marquée par fluorescence après excitation avec une lumière laser. Les données recueillies peuvent être traitées et analysées à l'aide d'un logiciel de cytométrie en flux.

7.2 Exigences et restrictions relatives aux échantillons

Les conditions et les restrictions de conservation des échantillons de sang total doivent être prises en compte avant le prélèvement et l'analyse. Pour la collecte des échantillons de patients, la législation européenne et nationale doit impérativement être respectée.

- Le sang veineux doit impérativement être prélevé en utilisant des tubes stériles contenant de l'EDTA comme anticoagulant.
- Pour une utilisation monoparamétrique : le sang total doit être coloré dans les 72 heures.
- Pour une utilisation multiparamétrique : le sang total doit être coloré dans les 24 heures.
- La numération cellulaire des globules blancs ne doit pas être supérieure à 10,000 cellules/µL

Remarque: Si nécessaire, diluer l'échantillon cellulaire avec un tampon.

7.3 Limites

Pour une analyse multiparamétrique, il est fortement recommandé de vérifier l'intercompatibilité du réactif avec les autres réactifs pour immunofluorescence. Tenir compte, plus particulièrement, des incompatibilités avec les réactifs qui ont un spectre d'émission similaire (p. ex., les réactifs PerCP ou PE-Cy®5). Voir chapitre 2 "Caractéristiques techniques et informations générales" pour les spécifications du cytomètre en flux.

Les échantillons dont l'intégrité est altérée (échantillons hémolytiques, ictériques, lipémiques ou contenant des agrégats cellulaires) peuvent entraîner des modifications des performances. Ces échantillons doivent donc être rejetés.

7.4 Protocole de coloration

Remarque: Ne pas utiliser de réactifs contenant des agents de perméation ou de fixation pendant la procédure afin d'éviter des résultats faussement positifs ou trompeurs.

1. Si nécessaire, préparer une solution de travail pour la lyse des globules rouges selon les recommandations du fabricant.
2. Ajouter 2 µL de solution de coloration 7-AAD Staining Solution à 100 µL d'échantillon cellulaire.
   Facultatif pour une utilisation multiparamétrique : ajouter la quantité recommandée de réactif(s) pour immunofluorescence.
3. Bien mélanger et incuber pendant 15 minutes dans le noir à température ambiante (entre +20 et +25 °C).
   Remarque: Des températures supérieures et/ou des temps d'incubation plus longs peuvent entraîner un marquage cellulaire non spécifique.
4. Effectuer la lyse des globules rouges en suivant les recommandations relatives au réactif de lyse utilisé.
   Si la solution de lyse Red Blood Cell Lysis Solution (10×) Miltenyi Biotec (réf. 130-094-183) est utilisée, ajouter 2 mL de la solution de travail (1×), passer immédiatement au mélangeur à vortex et incuber pendant 10 minutes à température ambiante dans le noir. S'assurer de la réussite de la lyse (solution limpide rouge) en contrôlant visuellement le tube avant de poursuivre. Rallonger le temps de lyse jusqu'à 20 minutes si nécessaire.
5. Centrifuger à 300×g pendant 10 minutes. Retirer le surnageant.
6. Laver les cellules en ajoutant 1 à 2 mL de tampon, centrifuger à 300×g pendant 10 minutes. Retirer le surnageant.
7. Remettre en suspension le culot cellulaire dans une quantité adaptée de tampon et procéder à l'analyse par cytométrie en flux. Conserver les échantillons entre +2 et +8 °C et réduire au maximum l'exposition à la lumière jusqu'à l'analyse.
   Remarque: Le délai avant l'analyse ne doit pas dépasser 2 heures.

Contrôle qualité :
Pour la cytométrie en flux à des fins de diagnostic, il est recommandé d'analyser régulièrement des échantillons de contrôle provenant de sujets adultes sains ou de témoins de sang total disponibles dans le commerce.

8 Caractéristiques de fonctionnement

La solution de coloration 7-AAD Staining Solution ne permet pas de prendre une décision médicale et n'aura pas les caractéristiques de performance clinique telles que la sensibilité diagnostique, la spécificité diagnostique, la valeur prédictive positive, la valeur prédictive négative, le rapport de vraisemblance ou les valeurs attendues dans les populations normales et affectées.

Les valeurs obtenues à partir d'individus sains peuvent varier d'un laboratoire à l'autre. Par conséquent, pour une utilisation multiparamétrique, chaque laboratoire doit établir ses propres plages de référence normales pour les populations étudiées.

Les paramètres de performance analytique ont été testés conformément aux recommandations H62 du CLSI[2], le cas échéant. Des échantillons de sang total EDTA provenant de donneurs présumés sains (N) ont été prélevés et conservés jusqu'à 96 heures en vue de tests répétés. L'acquisition des échantillons a été effectuée sur un cytomètre en flux MACSQuant Dx dans les 2 heures suivant la coloration.

8.1 Spécificité analytique

La 7-AAD est un marqueur de viabilité bien documenté qui se lie spécifiquement aux bases cytosine et guanine de l'ADN double brin des cellules non viables.[3,4,5] Si on ajoute à cela ses propriétés spectrales, elle est parfaitement adaptée pour l'analyse par cytométrie en flux.[6,7] En outre, la justesse a été testée pour confirmer la spécificité du réactif.

8.2 Exactitude

Précision

La fréquence (%pos) de la sous-population 7-AAD+ a été testée pour la répétabilité en utilisant ≥ 10 échantillons de sang total EDTA sur ≥ 3 jours de test et pour la reproductibilité en utilisant ≥ 5 échantillons de sang total EDTA sur ≥ 3 jours de test. Chaque échantillon a été testé dans le cadre d'un plan croisé à 4 essais (deux opérateurs, deux instruments, même échantillon testé le matin et l'après-midi). L'analyse statistique a été réalisée sur la base d'une analyse des composantes de variance à l'aide de l'outil JMP® version 15.2.

	N	%pos moyenne	ET[a]	ET entre opérateurs	ET entre instruments	%CV[b]
Répétabilité	14	41,6	3,09	2,35	0,13	8,59
Reproducti-bilité	11	0,47	0,16	0,08	0,05	33,2

a Écart-type
b Coefficient de variation

Tableau 3: Répétabilité et reproductibilité de la solution de coloration 7-AAD Staining Solution

Justesse

La fréquence (%pos) de la sous-population 7-AAD+ détectée par la solution de coloration 7-AAD Staining Solution a été analysée en comparant les résultats avec un réactif de référence sur ≥ 10 échantillons de sang total.

N	%pos moyenne	Delta moyen	Biais moyen
15	32,0	–1,40	–2,03

Tableau 4: Justesse de la solution de coloration 7-AAD Staining Solution

2 Litwin, V. *et al.* (2021) Validation of Assays performed by flow cytometry. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 1st ed. CLSI H62.

3 Graves, D. E. and Wadkins, R. M. (1989) 7-Azidoactinomycin D: a novel probe for examining actinomycin D-DNA interactions. J Biol Chem. 5;264(13):7262-6.

4 Zelenin, A. V. *et al.* (1984) 7-Amino-actinomycin D as a specific fluorophore for DNA content analysis by laser flow cytometry. Cytometry 5(4):348-54.

5 Gill, J. E. *et al.* (1975) 7-Amino-actinomycin D as a cytochemical probe. I. Spectral properties. J. Histochem. Cytochem., 23, 793-799.

6 Schmid, I. *et al.* (1992) Dead cell discrimination with 7-aminoactinomycin D in combination with dual color immunofluorescence in single laser flow cytometry. Cytometry 13 (2): 204–208.

7 Cossarizza, A. *et al.* (2017) Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies. Eur. J. Immunol. 47, 1584–1797.

9 Glossaire des symboles

Stabilité après ouverture

Contient le nombre de tests suivant

Téléphone

Courriel

Site Web

10 Avis aux utilisateurs

Tout incident grave lié à ce produit doit être signalé à Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG – en utilisant les coordonnées fournies – ainsi qu'à l'autorité compétente du pays dans lequel se trouve l'utilisateur du produit.

Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG
Friedrich-Ebert-Str. 68
51429 Bergisch Gladbach
Alemania

Miltenyi Biotec Technical Support
+49 2204 8306-3803
technicalsupport@miltenyi.com
www.miltenyibiotec.com

11 Historique des révisions du document

Numéro de révision	Date de publication	Modifications depuis la dernière révision
01	2023-12	s.o., nouvelle publication
02	2024-02	Correction du format des titres
03	2025-04	Ajout de langues
04	2025-09	Adaptations formelles

Tableau 5: Historique des révisions du document

12 Mentions légales

autoMACS, MACS, MACSQuant et le logo Miltenyi Biotec sont des marques ou marques déposées de Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG et/ou de ses filiales dans différents pays du monde. Cy est une marque déposée de GE Healthcare UK Limited. Toutes les autres marques commerciales mentionnées dans cette documentation sont la propriété de leurs propriétaires respectifs et ne sont utilisés qu'à des fins d'identification.
Copyright © 2025 Miltenyi Biotec et/ou ses filiales. Tous droits réservés.

Miltenyi Biotec

7-AAD Staining Solution

REF 170-100-042

Per *in vitro* uso diagnostico

IVD CE

Italiano | it

1 Destinazione d'uso

La 7-AAD Staining Solution è destinata all'identificazione e all'esclusione di cellule non vitali/in via di degenerazione interferenti nella citofluorimetria mediante rilevazione fluorescente semiquantitativa e non automatizzata di tali cellule nel sangue umano intero. Il reagente serve come ausilio alla diagnosi per valutare la vitalità cellulare in analisi monoparametriche o multiparametriche di leucociti umani nella citofluorimetria allo scopo di fornire informazioni sullo stato fisiologico o patologico e deve essere utilizzato da tecnici di laboratorio.

2 Dati tecnici e informazioni generali

7-AAD (7-ammino-actinomicina D) è un colorante fluorescente che si intercala nel DNA a doppio filamento (regioni ricche di citosina e guanina). Viene escluso dalle cellule vitali ma può penetrare nelle membrane cellulari delle cellule non vitali o in via di degenerazione.

Dati tecnici	
Eccitazione laser	Blu (488 nm)
Fluorescenza	Em_{Max} [a] 647 nm
Formulazione del prodotto	La 7-AAD Staining Solution pronta per l'uso viene fornita in tampone fosfato salino, a una concentrazione di 262,5 µg/mL (0,03%)[b] e contenente l'1,04% di metanolo e lo 0,04% di sodioazide
Quantità erogata per flaconcino	100 test in 0,2 mL (2 µL/test)

a Emissione massima
b I valori in % si riferiscono a %p/p

Tabella 1: Dati tecnici della 7-AAD Staining Solution

3 Informazioni importanti

L'interpretazione dei risultati rientra pienamente nella sfera di responsabilità dell'utilizzatore e i risultati delle analisi ottenuti con il reagente non devono mai essere utilizzati come unica base per la classificazione degli stati patologici.

4 Avvertenze e precauzioni

⚠ AVVERTENZA

Rischio di infezioni

Tutti i campioni biologici e tutti i materiali che entrano in contatto con sangue ed emoderivati devono essere trattati come materiale infetto. Vanno osservate le disposizioni per la manipolazione e l'eliminazione dei materiali potenzialmente infetti.[1]

Rischio di esplosione

Il sodioazide può reagire con le tubature in piombo e rame formando accumuli altamente esplosivi di azoturi di metallo. Dopo lo smaltimento, sciacquare con grandi volumi d'acqua per prevenire l'accumulo di azoturi di metallo nelle tubature.

Rischio di danni all'ambiente

Il reagente contiene componenti che, in forma pura, sono tossici (in acqua). Osservare le normative nazionali e locali in materia di smaltimento.

Rischio di avvelenamento

Il reagente contiene 7-AAD, metanolo e sodioazide. In forma pura, la 7-AAD è una tossina potenzialmente cancerogena e riproduttiva; il metanolo e il sodioazide sono tossici. Sebbene questa miscela non sia classificata come pericolosa alla concentrazione del prodotto, si devono osservare le linee guida sulla sicurezza (in particolare: uso di guanti, camice e occhiali protettivi). Non pipettare con la bocca ed evitare il contatto con la pelle, le mucose e gli occhi. Tenere lontano dal calore. Non respirare i vapori e gli aerosol.

Componenti pericolosi
1 - <5% di metanolo
Indicazioni H e EUH pertinenti
H225 Liquido e vapori facilmente infiammabili.
H301 Tossico se ingerito.
H311 Tossico per contatto con la pelle.
H331 Tossico se inalato.
H370 Provoca danni agli organi.
EUH210 Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta.

Tabella 2: Indicazioni H e EUH pertinenti

Per richiedere la scheda di sicurezza (SDS), contattare il Miltenyi Biotec Technical Support (cfr. cap. 10). 10 "Avviso all'utilizzatore").

⚠ ATTENZIONE

Rischio di ritardo dei risultati.

Qualsiasi scostamento dalle istruzioni per l'uso e dal protocollo può compromettere le prestazioni. Osservare sempre le istruzioni per l'uso e il protocollo.

Consultare le istruzioni per l'uso. Attenersi rigorosamente al protocollo e utilizzare il reagente solo come descritto.



Conservare e manipolare a una temperatura compresa tra +2 e +8°C.Non congelare.



Ridurre al minimo l'esposizione alla luce durante la manipolazione e la conservazione.



Per la stabilità durante l'uso a una temperatura di conservazione tra +2 °C e +8 °C, fare riferimento alla data di scadenza stampata sull'etichetta del flaconcino.



Non usare dopo la data di scadenza.



Non usare il reagente se la fiala è danneggiata o se si osservano segni di perdite. Evitare la penetrazione di batteri nel flaconcino del reagente.

1 Callihan, D. R. et al. (2014) Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections.; Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 4th ed. CLSI M29-A4.

5 Evidenze di deterioramento

Qualsiasi cambiamento nell'aspetto fisico del reagente può indicare un deterioramento e in tal caso il reagente non deve essere utilizzato. In caso di risultati imprevisti, ripetere la misurazione o contattare il Miltenyi Biotec Technical Support (vedi capitolo 10 "Avviso all'utilizzatore").

6 Materiale necessario ma non fornito

Per il materiale necessario ma non fornito si devono osservare le raccomandazioni del fabbricante e le norme di sicurezza.

- Provette monouso in polistirene con cappuccio avvitato, 12×75 mm
- Soluzione tampone PBS/EDTA/BSA (PEB): preparare una soluzione contenente tampone fosfato salino (PBS), pH 7,2, albumina sierica bovina 0,5% (BSA) e 2 mM di EDTA diluendo, ad esempio, la MACS BSA Stock Solution (REF 130-091-376) 1:20 con l'autoMACS® Rinsing Solution (REF 130-091-222). Mantenere la soluzione tampone fredda (tra +2 e +8 °C).
- Soluzione di lisi dei globuli rossi (RBC): ad es. Red Blood Cell Lysis Solution (10×), Miltenyi Biotec (# 130-094-183), o equivalente
- Acqua bidistillata (ddH_2O)
- Micropipette con puntali monouso, in grado di erogare rispettivamente volumi da 2 µL a 2 mL
- Centrifuga a bassa velocità: velocità minima 300×g, con portaprovette 12×75 mm
- Agitatore a vortice
- Citofluorimetro con adeguata impostazione di laser e filtro, ad es. MACSQuant® Dx (# 170-082-000). Per i dati di eccitazione ed emissione della 7-AAD Staining Solution, consultare il capitolo 2 "Dati tecnici e informazioni generali".
- Per uso multiparametrico: reagenti aggiuntivi per immunofluorescenza

7 Protocollo

Per tutte le manipolazioni, si raccomanda di considerare i principi della buona pratica di laboratorio (GLP).

7.1 Principio del metodo

L'incubazione di campioni di sangue umano intero con il reagente fornito porta alla colorazione fluorescente delle cellule non vitali/in via di degenerazione. L'analisi del campione viene eseguita in un citofluorimetro a livello monocellulare. L'analisi si basa sulla rilevazione di modelli di emissione di luce caratteristici emessi dalla cellula marcata a fluorescenza dopo eccitazione con luce laser. I dati raccolti possono essere elaborati e analizzati mediante un software di citofluorimetria.

7.2 Requisiti e limitazioni del campione

Le condizioni e le limitazioni di conservazione dei campioni di sangue intero devono essere considerate prima del prelievo e dell'analisi. Per la raccolta dei campioni dei pazienti va osservata la legislazione europea e nazionale.

- Il sangue venoso deve essere prelevato utilizzando provette sterili contenenti EDTA come anticoagulante.
- Per l'utilizzo monoparametrico: il sangue intero deve essere colorato entro 72 ore.
- Per l'utilizzo multiparametrico: il sangue intero deve essere colorato entro 24 ore.
- La conta cellulare dei leucociti non deve superare 10.000 cellule/µL
  Nota: Se necessario, diluire il campione di cellule con il tampone.

7.3 Limitazione

Per le analisi multiparametriche, si raccomanda vivamente di verificare l'intercompatibilità del reagente con altri reagenti per immunofluorescenza. In particolare, occorre prestare attenzione alle incompatibilità con i reagenti che hanno uno spettro di emissione simile (ad es., i reagenti PerCP o PE-Cy®5). Vedi capitolo 2 "Dati tecnici e informazioni generali" per le specifiche del citofluorimetro.

I campioni con integrità compromessa (emolitici, itterici, lipemici o contenenti aggregati di cellule) potrebbero causare alterazioni delle prestazioni. Tali campioni devono essere pertanto respinti.

7.4 Protocollo per la colorazione

Nota: per evitare risultati falsi positivi o fuorvianti, non utilizzare reagenti contenenti agenti permeanti o fissanti durante la procedura.

1. Se necessario, preparare una soluzione di lavoro per la lisi dei globuli rossi secondo le raccomandazioni del fabbricante.
2. Aggiungere 2 µL di 7-AAD Staining Solution a 100 µL di campione cellulare.
   Opzionale per l'utilizzo multiparametrico: aggiungere la quantità raccomandata di reagente/i per immunofluorescenza.
3. Miscelare bene e incubare per 15 minuti al buio a temperatura ambiente (da +18°C a +25°C).
   Nota: Temperature più elevate e/o tempi di incubazione più lunghi possono portare a una marcatura cellulare aspecifica.
4. Eseguire la lisi dei globuli rossi seguendo le raccomandazioni per il reagente di lisi utilizzato.
   Se si utilizza la Red Blood Cell Lysis Solution (10×), Miltenyi Biotec (# 130-094-183), aggiungere 2 mL di soluzione di lavoro (1×), agitare immediatamente e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente al buio. Verificare la riuscita della lisi (soluzione rossa e limpida) mediante ispezione visiva della provetta prima di continuare. Se necessario, prolungare il tempo di lisi fino a 20 minuti.
5. Centrifugare a 300×g per 10 minuti. Rimuovere il sovranatante.
6. Lavare le cellule aggiungendo 1-2 mL di soluzione tampone, centrifugare a 300×g per 10 minuti. Rimuovere il sovranatante.
7. Risospendere il pellet cellulare in una quantità adeguata di soluzione tampone e procedere all'analisi citofluorimetrica. Conservare i campioni a una temperatura compresa tra +2 e +8 °C e ridurre al minimo l'esposizione alla luce fino al momento dell'analisi.
   Nota: Il tempo fino all'analisi non deve essere superiore a 2 ore.

Controllo di qualità:
Per la citofluorimetria diagnostica, si consiglia di analizzare regolarmente i campioni di controllo con campioni prelevati da un adulto sano o con sangue intero disponibile in commercio.

8 Caratteristiche prestazionali

La 7-AAD Staining Solution non ha un intervallo di riferimento che funga da base decisionale e non presenta caratteristiche di prestazioni cliniche quali sensibilità diagnostica, specificità diagnostica, valore predittivo positivo, valore predittivo negativo, rapporto di verosimiglianza o valori attesi nelle popolazioni normali e in quelle interessate.

I valori ottenuti da individui sani possono variare da un laboratorio all'altro. Pertanto, per l'uso multiparametrico, ogni laboratorio deve stabilire i propri intervalli normali di riferimento per le popolazioni in studio.

I parametri di prestazione analitica sono stati testati in base alle raccomandazioni CLSI-H62,[2] ove applicabili. I campioni di sangue intero in EDTA di donatori presumibilmente sani (N) sono stati raccolti e conservati fino a 96 ore per analisi ripetute. I campioni sono stati acquisiti entro 2 ore dalla colorazione su un citofluorimetro MACSQuant Dx.

8.1 Specificità analitica

Il 7-AAD è un marcatore di vitalità ben documentato, che si lega specificamente alle basi citosina e guanina del doppio filamento del DNA di cellule non vitali.[3,4,5] In combinazione con le sue proprietà spettrali è particolarmente indicato per l' analisi citofluorimetrica.[6,7] Inoltre, è stata testata l'esattezza per confermare la specificità del reagente.

8.2 Accuratezza

Precisione

La frequenza (%pos) della sottopopolazione 7-AAD+ è stata testata per la ripetibilità utilizzando ≥10 campioni di sangue intero in EDTA per ≥3 giorni di analisi e per la riproducibilità utilizzando ≥5 campioni di sangue intero in EDTA per ≥3 giorni di analisi. Ogni campione è stato analizzato in un disegno incrociato di 4 prove (due operatori, due strumenti, lo stesso campione analizzato al mattino e al pomeriggio). L'analisi statistica è stata condotta sulla base dell'analisi delle componenti della varianza utilizzando il software JMP®, versione 15.2.

	N	Media %pos	SD[a]	SD tra operatori	SD tra strumenti	%CV[b]
Ripetibilità	16	41,6	3,09	2,35	0,13	8,59
Riproducibilità	11	0,47	0,16	0,08	0,05	33,2

a Deviazione standard
b Coefficiente di variazione

Tabella 3: Ripetibilità e riproducibilità della 7-AAD Staining Solution

Esattezza

La frequenza (%pos) della sottopopolazione 7-AAD+ rilevata mediante 7-AAD Staining Solution è stata testata confrontando i risultati con un reagente di riferimento su ≥10 campioni di sangue intero.

N	Media %pos	Delta medio	Distorsione media
15	32,0	–1,40	–2,03

Tabella 4: Esattezza di 7-AAD Staining Solution

2 Litwin, V. *et al.* (2021) Validation of Assays performed by flow cytometry. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 1st ed. CLSI H62.

3 Graves, D. E. and Wadkins, R. M. (1989) 7-Azidoactinomycin D: a novel probe for examining actinomycin D-DNA interactions. J Biol Chem. 5;264(13):7262-6.

4 Zelenin, A. V. *et al.* (1984) 7-Amino-actinomycin D as a specific fluorophore for DNA content analysis by laser flow cytometry. Cytometry 5(4):348-54.

5 Gill, J. E. *et al.* (1975) 7-Amino-actinomycin D as a cytochemical probe. I. Spectral properties. J. Histochem. Cytochem., 23, 793-799.

6 Schmid, I. *et al.* (1992) Dead cell discrimination with 7-aminoactinomycin D in combination with dual color immunofluorescence in single laser flow cytometry. Cytometry 13 (2): 204–208.

7 Cossarizza, A. *et al.* (2017) Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies. Eur. J. Immunol. 47, 1584–1797.

9 Glossario dei simboli

Stabilità durante l'uso

Contiene il seguente numero di test

Telefono

E-Mail

Sito web

10 Avviso all'utilizzatore

Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al presente prodotto deve essere segnalato a Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG – tramite i recapiti forniti – e all'autorità competente dello Stato membro nel quale è residente l'utilizzatore del presente prodotto.

Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG
Friedrich-Ebert-Str. 68
51429 Bergisch Gladbach
Germania

Miltenyi Biotec Technical Support
+49 2204 8306-3803
technicalsupport@miltenyi.com
www.miltenyibiotec.com

11 Cronologia delle revisioni

Revisione n.	Data di rilascio	Modifiche dall'ultima revisione
01	2023-12	N/A, nuovo rilascio
02	2024-02	Correzione del formato dei titoli
03	2025-04	Aggiunta di lingue
04	2025-09	Adattamenti formali

Tabella 5: Cronologia delle revisioni

12 Note legali

autoMACS, MACS, MACSQuant e il logo Miltenyi Biotec sono marchi registrati o marchi depositati di Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG e/o sue affiliate in vari paesi in tutto il mondo. Cy è un marchio registrato di GE Healthcare UK Limited. Tutti gli altri marchi citati in questo documento sono di proprietà dei rispettivi proprietari e vengono utilizzati solo a scopo identificativo.
Copyright © 2025 Miltenyi Biotec e/o sue affiliate. Tutti i diritti riservati.

7-AAD Staining Solution

REF 170-100-042

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik

IVD CE

Miltenyi Biotec

Nederlands | nl

1 Beoogd doeleind

De 7-AAD Staining Solution is bedoeld voor identificatie en uitsluiting van storende niet-levensvatbare/degenererende cellen in flowcytometrie door semi-kwantitatieve, niet-geautomatiseerde fluorescente detectie van deze cellen in humaan volbloed. Het reagens dient als hulpmiddel bij de diagnose om de levensvatbaarheid van cellen te evalueren in mono- of multiparametrische analyses van humane leukocyten via flowcytometrie. Het levert hierbij informatie over de fysiologische of pathologische toestand van de cellen. Het reagens dient enkel te worden gebruikt door laboratoriumprofessionals.

2 Technische gegevens en achtergrondinformatie

7-AAD (7-amino-actinomycine D) is een fluorescerende kleurstof die wordt tussengevoegd in dubbelstrengs DNA (cytosine- en guaninerijke gebieden). Het wordt uitgesloten van levensvatbare cellen, maar kan doordringen in celmembranen van niet-levensvatbare of degenererende cellen.

Technische gegevens	
Excitatielaser	Blauw (488 nm)
Fluorescentie	Em_{Max} [a] 647 nm
Productformulering	De gebruiksklare 7-AAD Staining Solution wordt geleverd in een fosfaatgebufferde zoutoplossing in een concentratie van 262,5 µg/mL (0,03%) [b] en bevat 1,04% methanol en 0,04% natriumazide
Geleverde hoeveelheid per flacon	100 tests in 0,2 mL (2 µL/test)

a Emissiegrens
b Waarden in % verwijzen naar %w/w

Tabel 1: Technische gegevens 7-AAD Staining Solution

3 Belangrijke informatie

De gebruiker is volledig verantwoordelijk voor de interpretatie van de resultaten en analyseresultaten verkregen met het reagens mogen nooit worden gebruikt als enige basis voor het classificeren van ziekten of aandoeningen.

4 Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

⚠ WAARSCHUWING

Risico van infectie

Alle biologische monsters en alle materialen die met bloed of bloedproducten in aanraking zijn gekomen, moeten worden behandeld als infectieus materiaal. Volg de voorschriften voor de hantering en verwijdering van mogelijk infectieuze materialen op.[1]

Explosiegevaar

Natriumazide kan reageren met loden en koperen leidingen, waarbij zeer explosieve ophopingen van metaalaziden ontstaan. Bij verwijdering doorspoelen met grote hoeveelheden water om ophoping van metaalaziden in leidingen te voorkomen.

Risico op schade aan het milieu

Het reagens bevat bestanddelen die in zuivere vorm giftig (voor in het water levende organismen) zijn. De nationale en plaatselijke voorschriften voor verwijdering moeten worden nageleefd.

Risico op vergiftiging

Het reagens bevat 7-AAD, methanol en natriumazide. In zuivere vorm is 7-AAD mogelijk kankerverwekkend en reproductietoxisch; methanol en natriumazide zijn giftig. Hoewel dit mengsel in de productconcentratie niet geclassificeerd is als gevaarlijk, moeten de veiligheidsrichtlijnen in acht worden genomen (met name: gebruik van handschoenen, schort en veiligheidsbril). Nooit via de mond pipetteren en contact met de huid, slijmvliezen en ogen vermijden. Verwijderd houden van warmte. Dampen en aerosolen niet inademen.

Gevaarlijke componenten
1 - <5% methanol
Relevante H- en EUH-zinnen
H225 Licht ontvlambare vloeistof en damp.
H301 Giftig bij inslikken.
H311 Giftig bij contact met de huid.
H331 Giftig bij inademing.
H370 Veroorzaakt schade aan organen.
EUH210 Veiligheidsinformatieblad op verzoek verkrijgbaar.

Tabel 2: Relevante H- en EUH-zinnen

Om het veiligheidsinformatieblad (VIB) op te vragen, neemt u contact op met Miltenyi Biotec Technical Support (zie hoofdstuk 10 "Mededeling voor de gebruiker").

⚠ VOORZICHTIG

Risico op vertraging van resultaten.

Elke afwijking van de gebruiksaanwijzing en het protocol kan de prestaties nadelig beïnvloeden. Neem altijd de gebruiksaanwijzing en het protocol in acht.

Raadpleeg de gebruiksinstructies. Volg het protocol nauwlettend en gebruik het reagens alleen zoals beschreven.

+2 °C +8 °C Bewaren en hanteren bij +2 tot +8 °C. Niet invriezen.

Minimaliseer blootstelling aan licht tijdens hantering en opslag.

Raadpleeg de vervaldatum op het etiket van de flacon voor de stabiliteit tijdens gebruik bij een opslagtemperatuur van +2 tot +8 °C.

Niet gebruiken na de vervaldatum.

Gebruik het reagens niet als de flacon beschadigd is of als er tekenen van lekkage worden waargenomen. Voorkom dat bacteriën in de reagensflacon terechtkomen.

1 Callihan, D. R. et al. (2014) Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections.; Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 4th ed. CLSI M29-A4.

5 Tekenen van verval

Elke verandering in het uiterlijk van het reagens kan duiden op verval en het reagens mag dan niet meer worden gebruikt. Bij onverwachte resultaten moet u de meting herhalen of contact opnemen met Miltenyi Biotec Technical Support (zie hoofdstuk 10 "Mededeling voor de gebruiker").

6 Niet meegeleverde benodigde materialen

Voor materiaal dat nodig is, maar niet is meegeleverd, moeten de aanbevelingen van de fabrikant en de veiligheidsvoorschriften worden opgevolgd.

- Wegwerpbuisjes van polystyreen met dop, 12×75 mm
- PBS/EDTA/BSA-buffer (PEB): Bereid een oplossing met fosfaatgebufferde zoutoplossing (PBS), pH 7,2, 0,5% bovine serum albumine (BSA) en 2 mM EDTA door bijvoorbeeld MACS® BSA Stock Solution (nr. 130-091-376) 1:20 te verdunnen met autoMACS® Rinsing Solution (nr. 130-091-222). Bewaar de buffer koel (+2 tot +8 °C).
- Lyserende oplossing van rode bloedcellen (RBC): bv. Red blood cell lysis solution (10×), Miltenyi Biotec (nr. 130-094-183), of gelijkwaardig
- Dubbel gedestilleerd water (ddH_2O)
- Micropipetten met wegwerptips, geschikt voor volumes van 2 µL tot 2 mL
- Centrifuge met lage snelheid: minimale snelheid 300×g, met buisdragers van 12×75 mm
- Vortexmixer
- Flowcytometer met geschikte laser- en filterconfiguratie, bijvoorbeeld MACSQuant® Dx (nr. 170-082-000). Zie hoofdstuk 2 "Technische gegevens en achtergrondinformatie" voor excitatie- en emissiegegevens voor 7-AAD Staining Solution.
- Voor multiparametrisch gebruik: aanvullende immunofluorescentiereagentia

7 Protocol

Voor alle handelingen wordt aanbevolen de voorschriften voor goede laboratoriumpraktijken (GLP) in acht te nemen.

7.1 Principe van de methode

De incubatie van monsters van humaan volbloed met het geleverde reagens leidt tot fluorescente kleuring van niet-levensvatbare/degenererende cellen. Het monster wordt op celniveau geanalyseerd met een flowcytometer. De analyse is gebaseerd op de detectie van karakteristieke lichtemissiepatronen die door de fluorescent gelabelde cel worden uitgezonden na excitatie met laserlicht. De verzamelde gegevens kunnen worden verwerkt en geanalyseerd met flowcytometriesoftware.

7.2 Vereisten voor en beperkingen van monsters

De opslagomstandigheden en -beperkingen voor volbloedmonsters moeten worden nagegaan voordat de monsters worden afgenomen en geanalyseerd. Voor het afnemen van patiëntmonsters moet de Europese en nationale wetgeving worden opgevolgd.

- Veneus bloed moet worden afgenomen met steriele buisjes met EDTA als antistollingsmiddel.
- Voor monoparametrisch gebruik: volbloed moet binnen 72 uur worden gekleurd.
- Voor multiparametrisch gebruik: volbloed moet binnen 24 uur worden gekleurd.
- Het aantal witte bloedcellen mag niet hoger zijn dan 10.000 cellen/µL

  Opmerking: Verdun het celmonster indien nodig met buffer.

7.3 Beperkingen

Voor multiparametrische analyse wordt sterk aanbevolen om de compatibiliteit van het reagens met andere immunofluorescentie reagentia te controleren. Let in het bijzonder op interferenties met reagentia met een vergelijkbaar emissiespectrum (bijv. PerCP- of PE-Cy®5-reagentia). Zie hoofdstuk 2 "Technische gegevens en achtergrondinformatie" voor de specificaties van de flowcytometer.

Monsters met verminderde integriteit (hemolytisch, icterisch, lipemisch monster of monster dat celaggregaten bevat) kunnen leiden tot veranderingen in de prestaties. Dergelijke monsters moeten daarom worden afgewezen.

7.4 Protocol voor kleuring

Opmerking: Gebruik tijdens de procedure geen reagentia die permeatie- of fixeermiddelen bevatten om foutief positieve of misleidende resultaten te voorkomen.

1. Bereid indien nodig een werkoplossing voor de lysis van rode bloedcellen volgens de aanbevelingen van de fabrikant.
2. Voeg 2 µL 7-AAD Staining Solution toe aan 100 µL celmonster. Optioneel voor multiparametrisch gebruik: Voeg de aanbevolen hoeveelheid immunofluorescentiereagens/-reagentia toe.
3. Meng goed en incubeer 15 minuten in het donker bij kamertemperatuur (+20 tot +25 °C).
   Opmerking: Hogere temperaturen en/of langere incubatietijden kunnen leiden tot niet-specifieke cellabeling.
4. Voer de lysis van rode bloedcellen uit volgens de aanbevelingen van het gebruikte lysisreagens.
   Als u de Red blood cell lysis solution (10×), Miltenyi Biotec (nr. 130-094-183) gebruikt, voeg dan 2 mL van de werkoplossing (1×) toe, meng dit onmiddellijk en incubeer 10 minuten bij kamertemperatuur in het donker. Controleer of de lysis succesvol was (heldere, rode oplossing) door visuele inspectie van het buisje voordat u verdergaat. Verleng de lysistijd tot maximaal 20 minuten indien nodig.
5. Centrifugeer bij 300×g gedurende 10 minuten. Verwijder het supernatant.
6. Was de cellen door 1-2 mL buffer toe te voegen, centrifugeer bij 300×g gedurende 10 minuten. Verwijder het supernatant.
7. Resuspendeer de celpellet in een geschikte hoeveelheid buffer en ga verder met de flowcytometrische analyse. Bewaar de monsters bij +2 tot +8 °C en beperk blootstelling aan licht tot een minimum tot aan de analyse.
   Opmerking: De tijd tot de analyse mag niet langer zijn dan 2 uur.

Kwaliteitscontrole:
Voor diagnostische flowcytometrie wordt aanbevolen om regelmatig controlemonsters van gezonde volwassen monsters of commercieel verkrijgbare volbloedcontroles te gebruiken.

8 Prestatiekenmerken

7-AAD Staining Solution heeft geen medisch beslissingspunt en zal geen klinische prestatiekenmerken hebben zoals diagnostische sensitiviteit, diagnostische specificiteit, positieve voorspellende waarde, negatieve voorspellende waarde, aannemelijkheidsratio of verwachte waarden in normale en getroffen populaties.

De waarden verkregen van gezonde individuen kunnen per laboratorium verschillen. Daarom moet elk laboratorium voor multiparametrisch gebruik zijn eigen normale referentiebereiken vaststellen voor de onderzochte populaties.

Analytische prestatieparameters werden getest volgens CLSI-H62[2] aanbevelingen, waar van toepassing. EDTA-volbloedmonsters van vermoedelijk gezonde donors (N) werden verzameld en bewaard tot 96 uur voor herhaalde testen. De monsters werden binnen 2 uur na kleuring geanalyseerd op een MACSQuant Dx flowcytometer.

8.1 Analytische specificiteit

7-AAD is een goed gedocumenteerde levensvatbaarheidsmarker die specifiek bindt aan cytosine- en guaninebasen van dubbelstengs-DNA van niet-levensvatbare cellen.[3,4,5] In combinatie met zijn spectrale eigenschappen is het zeer geschikt voor flowcytometrieanalyse.[6,7] Bovendien werd de juistheid getest om de specificiteit van het reagens te bevestigen.

8.2 Nauwkeurigheid

Precisie

Frequentie (%pos) van 7-AAD+ subpopulatie werd getest op herhaalbaarheid met ≥10 EDTA-volbloedmonsters over ≥3 testdagen en op reproduceerbaarheid met ≥5 EDTA-volbloedmonsters gedurende ≥3 testdagen. Elk monster werd in een cross-design met 4 runs uitgevoerd (twee operators, twee instrumenten, hetzelfde monster werd 's ochtends en 's middags getest). Statistische analyse werd uitgevoerd op basis van een variantiecomponentenanalyse met behulp van JMP® versie 15.2.

	N	Gemiddelde %pos	SD[a]	SD tussen operator	SD tussen instrument	% CV[b]
Herhaalbaarheid	14	41,6	3,09	2,35	0,13	8,59
Reproduceerbaarheid	11	0,47	0,16	0,08	0,05	33,2

a Standaardafwijking
b Variatiecoëfficiënt

Tabel 3: Herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid van 7-AAD Staining Solution

Juistheid

De frequentie (%pos) van 7-AAD+ subpopulatie gedetecteerd door 7-AAD Staining Solution werd getest door de resultaten te vergelijken met een referentiereagens op ≥10 volbloedmonsters.

N	Gemiddelde %pos	Gemiddelde delta	Gemiddelde bias
15	32,0	–1,40	–2,03

Tabel 4: Juistheid van 7-AAD Staining Solution

2 Litwin, V. *et al.* (2021) Validation of Assays performed by flow cytometry. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 1st ed. CLSI H62.

3 Graves, D. E. and Wadkins, R. M. (1989) 7-Azidoactinomycin D: a novel probe for examining actinomycin D-DNA interactions. J Biol Chem. 5;264(13):7262-6.

4 Zelenin, A. V. *et al.* (1984) 7-Amino-actinomycin D as a specific fluorophore for DNA content analysis by laser flow cytometry. Cytometry 5(4):348-54.

5 Gill, J. E. *et al.* (1975) 7-Amino-actinomycin D as a cytochemical probe. I. Spectral properties. J. Histochem. Cytochem., 23, 793-799.

6 Schmid, I. *et al.* (1992) Dead cell discrimination with 7-aminoactinomycin D in combination with dual color immunofluorescence in single laser flow cytometry. Cytometry 13 (2): 204–208.

7 Cossarizza, A. *et al.* (2017) Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies. Eur. J. Immunol. 47, 1584–1797.

9 Lijst van symbolen

Stabiliteit tijdens gebruik

Bevat het volgende aantal tests

Telefoon

E-mail

Website

10 Mededeling voor de gebruiker

Elk ernstig incident dat zich met betrekking tot dit product heeft voorgedaan, moet worden gemeld aan Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG – met gebruikmaking van de verstrekte contactinformatie – en aan de bevoegde autoriteit van de lidstaat waar de gebruiker van dit product is gevestigd.

Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG
Friedrich-Ebert-Str. 68
51429 Bergisch Gladbach
Duitsland

Miltenyi Biotec Technical Support.
+49 2204 8306-3803
technicalsupport@miltenyi.com
www.miltenyibiotec.com

11 Revisiegeschiedenis van het document

Revisienr.	Publicatiedatum	Wijzigingen sinds laatste revisie
01	2023-12	N.v.t., nieuwe uitgave
02	2024-02	Correctie van koptekstformaat
03	2025-04	Toevoeging van talen
04	2025-09	Formele aanpassingen

Tabel 5: Revisiegeschiedenis van het document

12 Wettelijke vermeldingen

autoMACS, MACS, MACSQuant en het Miltenyi Biotec-logo zijn geregistreerde handelsmerken of handelsmerken van Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG en/of diens filialen in verschillende landen wereldwijd. Cy is een geregistreerd handelsmerk van GE Healthcare UK Limited. Alle andere handelsmerken die in dit document worden genoemd, zijn eigendom van hun respectievelijke eigenaren en worden alleen gebruikt voor identificatiedoeleinden.
Copyright © 2025 Miltenyi Biotec en/of diens filialen. Alle rechten voorbehouden.