

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 Miltényi 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.



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.

- 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 Miltényi 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 (ddH₂O)
- 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-H62² 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

- Litwin, V. *et al.* (2021) Validation of Assays performed by flow cytometry. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 1st ed. CLSI H62.
- 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.
- 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.
- Gill, J. E. *et al.* (1975) 7-Amino-actinomycin D as a cytochemical probe. I. Spectral properties. *J. Histochem. Cytochem.*, 23, 793-799.
- 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.
- 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

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 © 2024 Miltenyi Biotec and/or its affiliates. All rights reserved.



Miltenyi Biotec

7-AAD Staining Solution

REF 170-100-042

Für die *In-vitro*-Diagnostik



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

Table 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.

Table 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.



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.

- 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, 12x75 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 (10x), Miltenyi Biotec (# 130-094-183) oder gleichwertig
- Doppelt destilliertes Wasser (ddH₂O)
- Mikropipetten mit Einwegspitzen und einem Dosiervolumen von 2 µL bis 2 mL
- Zentrifuge mit niedriger Geschwindigkeit: Mindestgeschwindigkeit 300xg, mit 12x75 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 Einzelzelebene. 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 Antikoagulant 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-Cy5-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 (10x), Miltenyi Biotec (# 130-094-183), 2 mL der Arbeitslösung (1x) 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 300xg für 10 Minuten zentrifugieren. Überstand abnehmen.
6. Zellen durch Zugabe von 1–2 mL Pufferlösung waschen, bei 300xg 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 Leistungsparameter wurden, soweit zutreffend, gemäß den CLSI-H62²-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)

Table 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

Table 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). Erstaufgabe 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

Table 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 © 2024 Miltenyi Biotec und/oder verbundene Unternehmen. Alle Rechte vorbehalten.

