

exbio

FagoFlowEx Kit

100 pruebas | Cat. N° ED7042



Instrucciones de uso (ES)

Versión: ED7042_IFU_v8_ES

Fecha de emisión: 14-04-2023

Símbolos utilizados en el etiquetado del dispositivo

	Producto sanitario para diagnóstico IN VITRO		Límite de temperatura
	Marca CE		Mantener apartado de la luz del sol
	Fabricante		Mantener seco Mantener alejado de la lluvia
	Identificador único de dispositivo		Contenido
	Consulte las instrucciones de uso		Marca UKCA
	Contiene suficientes para <n> pruebas		
	Número de catálogo		
	Código de lote		
	Fecha de caducidad		

1. Objetivo previsto

El Kit FagoFlowEx está destinado a la determinación de la actividad fagocítica de los granulocitos neutrófilos mediante la medición del estallido respiratorio (oxidativo) en sangre total por citometría de flujo.

Qué se detecta y/o mide

El dispositivo detecta y mide dos parámetros utilizando el sustrato fluorogénico Dihydrorhodamine 123:

- porcentaje de granulocitos neutrófilos que producen especies reactivas de oxígeno (ROS) en respuesta a la ingestión de bacterias E. coli
- actividad intracelular de las enzimas productoras de ROS.

Función del dispositivo

El dispositivo está destinado al cribado/ayuda al diagnóstico de inmunodeficiencias congénitas o adquiridas.

Contexto de un estado fisiológico o patológico

La incapacidad de los granulocitos neutrófilos para catalizar la producción de especies reactivas de oxígeno causa la Enfermedad Granulomatosa Crónica (EGC), un grupo de trastornos hereditarios con un fenotipo común de infecciones bacterianas y fúngicas graves recurrentes y formación de granulomas tisulares ^(1, 2, 3, 4). Los resultados compatibles con la EGC también pueden deberse a la deficiencia de MPO, que es el defecto fagocítico más común y suele presentarse como un fenotipo normal sin mayor incidencia de infecciones ⁽⁵⁾.

Una disminución de la actividad fagocítica sin el defecto en las enzimas productoras de ROS ocurre en varias otras condiciones clínicas que están asociadas con la supresión inmune, ya sea inmunodeficiencias variables primarias y deficiencias de opsonina plasmática, o inmunodeficiencias secundarias ^(6, 7).

Tipo de ensayo

No automatizado

Cuantitativo

Tipo de muestra requerida

Sangre total humana anticoagulada con heparina

Población sometida a pruebas

Paciente con sospecha de defecto de la función de los granulocitos

2. Usuario previsto

El aparato está destinado exclusivamente a un uso profesional en laboratorio. No para pruebas cercanas al paciente o autodiagnóstico.

Requisitos de cualificación

El usuario previsto deberá poseer los conocimientos más avanzados en análisis de citometría de flujo de células humanas, técnicas de laboratorio estándar, incluidas habilidades de pipeteo, y manipulación segura y adecuada de muestras derivadas del cuerpo humano.

El usuario previsto deberá cumplir la norma EN ISO 15189 u otras disposiciones nacionales, en su caso.

3. Principio de prueba

La prueba se basa en la medición de la producción de ROS en los granulocitos neutrófilos utilizando un sustrato fluorogénico Dihidrorodamina 123 (DHR123). Durante la prueba se incuba una muestra de sangre humana con bacterias *E. coli* inactivadas por calor y con DHR123. La mezcla de reacción se lleva a 37 °C para promover la fagocitosis de *E. coli* por los granulocitos neutrófilos. Durante la incubación, las bacterias son engullidas activamente por las células, mientras que el DHR123 no fluorescente penetra pasivamente en el medio intracelular por su gradiente de concentración. Las bacterias quedan atrapadas en el interior de los fagosomas celulares y desencadenan reacciones enzimáticas que dan lugar a la producción de ROS. Los iones ROS oxidan la DHR123 a rodamina 123 fluorescente (R123) que es excitada por el haz láser de un citómetro de flujo durante la adquisición de una muestra de sangre. La emisión posterior de luz del R123 correspondiente a la actividad intracelular de las enzimas productoras de ROS se recoge y analiza mediante citómetro de flujo.

Se realizan otras dos reacciones en paralelo a la estimulación con *E. coli*, la reacción de control negativo, que es la reacción sin *E. coli*, y la reacción de control positivo, que es una reacción que utiliza acetato de forbol 12-miristato 13 que activa las enzimas productoras de ROS sin fagocitosis.

Se considera que las células fagocitan activamente si su fluorescencia supera la fluorescencia de las células de la reacción de control negativa. El resultado se presenta como porcentaje de células fagocitadoras. La intensidad de la fluorescencia de las células fagocitadoras es directamente proporcional a la actividad intracelular de las enzimas productoras de ROS.

4. Reactivo(s) suministrado(s)

Contenido

El dispositivo FagoFlowEx Kit, suficiente para 100 pruebas, se suministra con los siguientes reactivos:

E. coli (5 viales) que contiene bacterias *E. coli* liofilizadas, 1 vial es suficiente para la estimulación de 20 muestras de sangre (ED7042-1).

DHR123 (5 viales) contiene Dihidrorodamina 123 liofilizada, 1 vial es suficiente

para la tinción de 60 muestras de sangre (ED7042-2).

Control de estimulación (5 viales) con PMA liofilizado (Forbol 12-miristato 13-acetato), 1 vial está destinado a 20 pruebas de control positivo (ED7042-3).

Solución lisante (1 frasco) que contiene 15 ml de solución lista para usar (ED7042-4).

5. Materiales necesarios pero no proporcionados

Tubos de ensayo de fondo redondo de 12 x 75 mm

Agua desionizada (de calidad reactiva)

6. Equipamiento necesario

Pipeta automática con puntas desechables (10 - 1000 µl) para pipetear muestras y reactivos

Mezclador vórtex

Termostato (incubadora de aire) o baño de agua capaz de incubar tubos de ensayo a 37 °C

Fuente de excitación láser del citómetro de flujo (488 nm), detectores de dispersión, filtros ópticos y detector de emisión adecuados para recoger la señal del fluorocromo proporcionado en la Tabla 1.

Tabla 1 Características espectrales del fluorocromo utilizado en el dispositivo

Fluorocromo	Excitación [nm]	Emisión [nm]
Rodamina 123	488	525

AVISO: El dispositivo se probó en los citómetros de flujo BD FACSCanto™ II (BD Biosciences), BD FACSLytic™ (BD Biosciences), Navios EX (Beckman Coulter), DxFLEX (Beckman Coulter) y Sysmex™ XF-1600 (Sysmex Corporation).

7. Almacenamiento y manipulación

Almacenar a 2-8 °C.

Evitar la exposición prolongada a la luz.



No congelar.

Consulte la Sección 10 Procedimiento (Preparación del reactivo) para obtener información sobre la estabilidad en uso y la vida útil tras la primera apertura, junto con las condiciones de almacenamiento y la estabilidad de las soluciones de trabajo (si procede).

8. Advertencias, precauciones y limitaciones de uso

Clasificación de peligrosidad del SGA

ADVERTENCIA: La solución lisante (ED7042-4) contiene formaldehído (CAS N° 50-00-0) and methanol (CAS N° 67-56-1) en concentraciones clasificadas como peligrosas.

Elementos de etiquetado	Palabra de señal
	Peligro
	
Frases H	H302 Nocivo en caso de ingestión. H315 Provoca irritación cutánea. H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel. H319 Provoca irritación ocular grave. H335 Puede irritar las vías respiratorias. H341 Se sospecha que provoca defectos genéticos. H350 Puede provocar cáncer.
Frases P	P201 Pedir instrucciones especiales antes del uso. P264 Lavarse bien las manos y las partes expuestas del cuerpo después de la manipulación. P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P301+P312 EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un médico en caso de malestar. P302+P352 SI SOBRE LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. P305+P351+P338 SI EN LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar los lentes de contacto, si están presentes y es fácil hacerlo. Continúe aclarando. P308+P313 SI están expuestos o preocupados: Obtenga asesoramiento/atención médica. P333+P313 En caso de irritación o erupción cutánea: Obtenga asesoramiento/atención médica. P362 Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de

	volver a usarlas.
--	-------------------

Consulte la Ficha de Datos de Seguridad (FDS) disponible en la página del producto en www.exbio.cz para obtener toda la información sobre los riesgos que plantean las sustancias y mezclas químicas contenidas en el Producto y cómo deben manipularse y eliminarse.

Peligro biológico

Las muestras biológicas humanas y los especímenes sanguíneos, así como cualquier material que entre en contacto con ellos, se consideran siempre materiales infecciosos.

Utilizar equipo de protección personal y de seguridad para evitar el contacto con la piel, los ojos y las mucosas.

Siga todas las leyes, reglamentos y procedimientos aplicables para la manipulación y eliminación de materiales infecciosos.

Pruebas de deterioro

El aspecto normal de los reactivos liofilizados suministrados es un polvo blanco (E. coli y Control de estimulación) o una torta sólida liofilizada (DHR123). No utilice el reactivo si observa algún cambio de aspecto, por ejemplo un cambio de color o licuefacción.

El aspecto normal de la solución lisante es el de un líquido transparente. No utilice el reactivo si observa algún cambio de aspecto, por ejemplo turbidez o signos de precipitación.

Limitación de uso

No utilizar después de la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del producto.

9. Muestra

Utilizar sangre venosa periférica recogida en recipiente para muestras clasificado como dispositivo médico, con presencia de anticoagulante heparina.

PRECAUCIÓN: Los anticoagulantes EDTA y citrato afectan negativamente a los resultados del análisis.

La muestra de sangre en el tubo de recogida debe conservarse a temperatura ambiente. No refrigerar.

Procese la muestra de sangre a más tardar 24 horas después de la extracción.

10. Procedimiento

Preparación de reactivo(s) suministrado(s)

E. coli

Reconstituir el contenido del vial de E. coli en 250 µl de agua desionizada. Prepárelo fresco cada día de medición, consérvelo a 2-8 °C y utilícelo en las 8 horas siguientes. Alternativamente, el reactivo puede congelarse de -20 °C a -80 °C y utilizado en un plazo de 7 días.

PRECAUCIÓN: Evitar ciclos repetidos de congelación/descongelación.

DHR123

Reconstituir el contenido del vial DHR123 en 650 µl de agua desionizada. Prepárelo fresco cada día de medición, consérvelo a 2-8 °C y utilícelo en las 8 horas siguientes. Alternativamente, el reactivo puede congelarse de -20 °C a -80 °C y utilizado en un plazo de 7 días.

AVISO: La solución alícuota aguanta hasta 5 ciclos de congelación/descongelación.

Control de estimulación

Reconstituir el contenido del Control de Estimulación en 250 µl de agua desionizada. Prepárelo fresco cada día de medición, consérvelo a 2-8 °C y utilícelo en las 8 horas siguientes. Alternativamente, el reactivo puede congelarse de -20 °C a -80 °C y utilizado en un plazo de 7 días.

AVISO: La solución alícuota aguanta hasta 5 ciclos de congelación/descongelación.

Solución lisante

El reactivo está listo para su uso.

AVISO: Llevar el reactivo a temperatura ambiente antes de su uso.

Tinción de muestras

1. Para el examen de un paciente, etiquete tres tubos de ensayo de fondo redondo de 12 x 75 mm con la identificación de la muestra y la marca adecuadas para

Reacción estimulada de E. coli,

reacción de control positivo (estimulación con PMA)

y reacción de control negativa.

Pipeta hasta el fondo de los tubos de ensayo

- 10 µl de E. coli en el tubo marcado como reacción estimulada por E. coli.
 - 10 µl de control de estimulación en el tubo marcado como reacción de control positivo.
 - No pipetee nada en el tubo marcado como reacción de control negativo.
2. Pipetear 50 µl de muestra de sangre bien mezclada al fondo de cada uno de los tubos de ensayo y agitar suavemente.

PRECAUCIÓN: Evite pipetear sangre en el lateral del tubo de ensayo. Si el frotis o la gota de sangre permanecen en el lateral del tubo, es posible que no se tiñan con el reactivo o que los eritrocitos no se lisen y el resultado de la prueba no sea válido.

3. Pipetear 10 µl de DHR123 al fondo de cada uno de los tubos de ensayo y agitar suavemente.
4. Colocar los tubos de ensayo a 37 °C durante 20 minutos en un baño de agua o durante 30 minutos en una incubadora de aire.
5. Añadir 50 µl de solución lisante a cada uno de los tubos de ensayo. Agitar suavemente e incubar los tubos de ensayo durante 5 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad.
6. Añadir 1 ml de agua desionizada en cada uno de los tubos de ensayo, agitar suavemente e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad.
7. Adquirir inmediatamente la muestra teñida en el citómetro de flujo. Si la muestra teñida no se va a adquirir inmediatamente, tape el tubo de ensayo, guárdelo a 2-8 °C en la oscuridad y analícelo en un plazo de 2 horas.

PRECAUCIÓN: La fluorescencia de la Rodamina 123, producida por la oxidación de la DHR123, se detecta en el canal FITC (525 nm). Dado que la rodamina 123 se libera rápidamente de los granulocitos, como se muestra en la figura 8, las muestras deben **medirse lo antes posible** (a más tardar 2 horas después de la lisis), **preferiblemente en un intervalo de tiempo estrecho normalizado** (véase la página 18).

PRECAUCIÓN: Agitar la muestra teñida inmediatamente antes de la adquisición en el citómetro de flujo para evitar agregados.

Análisis por citometría de flujo

El citómetro de flujo seleccionado para su uso con el dispositivo FagoFlowEx Kit se calibrará de forma rutinaria utilizando microperlas fluorescentes para garantizar una sensibilidad estable de los detectores de acuerdo con las instrucciones del fabricante del citómetro.

Si no se mantiene adecuadamente, el citómetro de flujo puede producir resultados falsos.

Consulte las especificaciones del fabricante del citómetro para láseres y detectores de fluorescencia según las características de excitación y emisión de los fluorocromos en la Sección 6 Equipo necesario.

Ajuste los voltajes en los detectores de fluorescencia de interés antes del análisis de la muestra teñida. El voltaje en un detector PMT debe ajustarse lo suficientemente alto, para que el mínimo de eventos teñidos negativamente interfieran con el canal 0 en el eje de fluorescencia. Además, el voltaje del detector PMT no debe exceder los valores en los que los eventos positivos se presionan hacia el eje derecho.

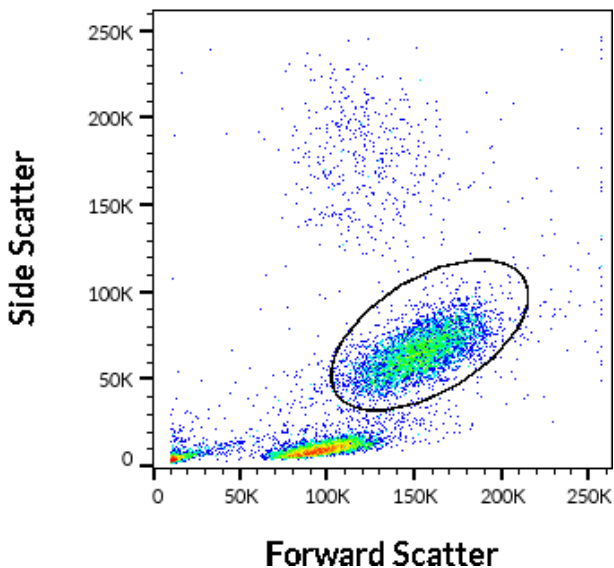
Para el análisis de datos medidos, es posible utilizar software de citómetro desarrollado por el fabricante, o software dedicado para el análisis de datos de citometría fuera de línea (por ejemplo FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

Análisis de la muestra de un paciente

Adquirir al menos 5.000-10.000 eventos leucocitarios. Visualice los eventos adquiridos en el gráfico de puntos de dispersión lateral (SSC) frente a dispersión frontal (FSC). Coloque la puerta alrededor de los granulocitos como se muestra en la figura 1.

PRECAUCIÓN: La ingestión de bacterias influye en la posición de los granulocitos en el diagrama de puntos SSC-FSC. Debido a esto, ajuste la puerta individualmente para cada reacción.

Figura 1 Delimitación de la población de granulocitos



Visualizar los granulocitos gated como histogramas donde el eje X representa la intensidad de fluorescencia en el canal FITC. Utilice la reacción de control negativo para establecer una puerta adecuada para discriminar los granulocitos positivos (células productoras de ROS que fagocitan Copie la puerta a la reacción de estimulación de E. coli y a la reacción de control positivo (Figura 2a, 2b, 2c).

Los granulocitos que sufren el estallido oxidativo muestran una fluorescencia brillante de Rodamina 123. Calcular la intensidad media de fluorescencia de los granulocitos positivos y negativos. La intensidad de la fluorescencia es directamente proporcional a la actividad intracelular de las enzimas productoras de ROS.

Figura 2a Histograma de la intensidad de fluorescencia de los granulocitos a partir de la reacción de control negativo

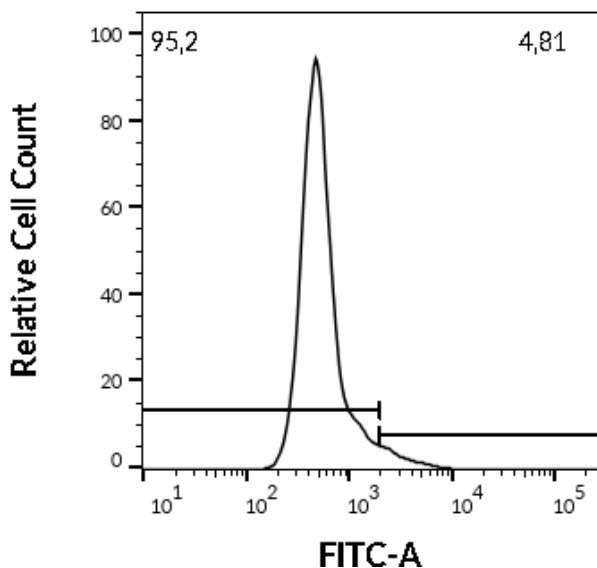


Figura 2b Histograma de la intensidad de fluorescencia de los granulocitos a partir de la reacción estimulada por E. coli

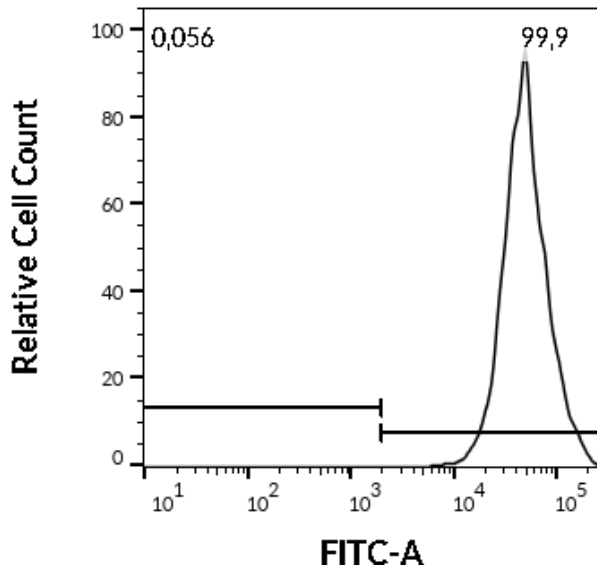
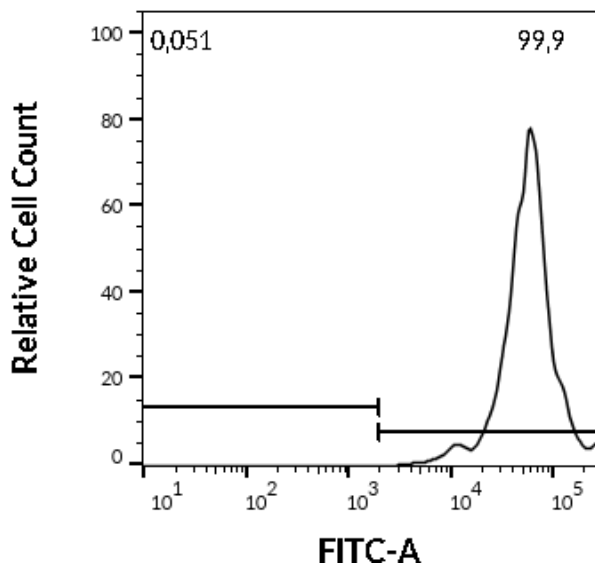


Figura 2c Histograma de la intensidad de fluorescencia de los granulocitos en la reacción de control positivo



Cálculo e interpretación de los resultados analíticos

Parámetros cuantitativos

Se presentan dos parámetros cuantitativos y se interpretan en términos de si existe algún indicio de un defecto en la actividad fagocítica o un defecto en la producción de ROS:

a) **Númerorelativo de granulocitos positivos** que presentaron un estallido respiratorio tras la estimulación con E. coli.

b) **Índice de estimulación (IS)** calculado como la relación entre la intensidad media de fluorescencia (IMF) de los granulocitos positivos de la reacción estimulada por E. coli.

Ejemplo de cálculo del Índice de Estimulación

Tabla 2 Reacción de control negativo: IFM de granulocitos negativos y positivos

Población	NúMedia FITC-Amero (%)	Media FITC-A
negativo	95,2	550
positivo	4,81	3995

Tabla 3 Reacción estimulada por E. coli: IFM de granulocitos negativos y positivos

Población	NúMedia FITC-Amero (%)	Media FITC-A
negativo	0,056	1224
positivo	99,9	53836

La relación entre el valor MFI de los granulocitos positivos de la reacción estimulada por E. coli (en la Tabla 3) se divide por el valor MFI de los granulocitos negativos de la reacción de control negativa (en la Tabla 2).

$$\frac{\text{MFI valor de los granulocitos positivos de la reacción estimulada por E.coli}}{\text{MFI valor de granulocitos negativos de la reacción de control negativo}} =$$

$$\frac{53836}{550} = \text{IS (Índice de estimulación)} = 98$$

Parámetros cuantitativos

La interpretación cualitativa de los datos incorpora superposiciones de histogramas para evaluar la distribución de la señal e identificar picos individuales que, en caso de aparición de múltiples poblaciones de granulocitos, deben analizarse por separado.

En caso de **defectos en el estallido respiratorio** (falta de oxidación de la DHR123), los histogramas de granulocitos resultantes mostrarán una concordancia en la distribución de la señal entre la reacción de estimulación con E. coli y la reacción de control positivo (figuras 4, 5 y 6).

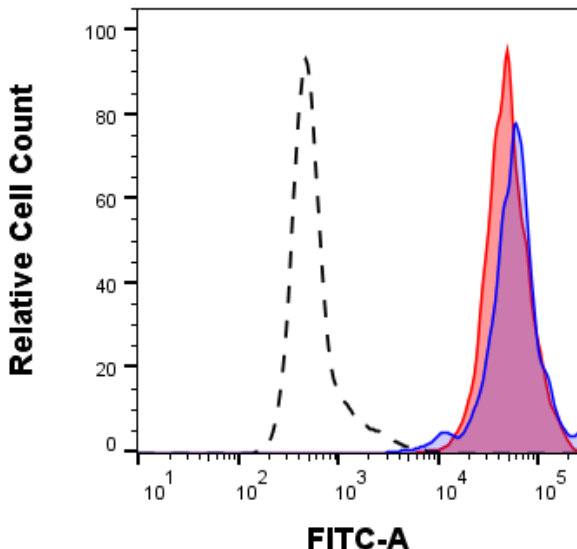
En caso de **defectos en la actividad fagocítica** (disminución del engullimiento de partículas), los histogramas de granulocitos resultantes mostrarán discrepancias en la distribución de la señal entre la reacción de estimulación con E. coli y la reacción de control positivo. La reacción estimulada por E. coli tendrá la población de granulocitos dividida en múltiples picos de diferentes intensidades de fluorescencia, la reacción de control positivo tendrá un único pico (Figura 7).

AVISO: La detección de resultados inusuales sólo indica la sospecha de una enfermedad que debe confirmarse mediante otras pruebas.

Resultado normal de donante sano

Los granulocitos muestran un elevado estallido respiratorio tras la estimulación **tanto** con E. coli como con la reacción de control positiva (Figura 3).

Figura 3 Superposición de histogramas: Donante sano sin defecto del estallido respiratorio, (SI = 98, número relativo de granulocitos positivos 99,9 %). Distribución de la señal de los granulocitos estimulados por *E. coli* (relleno rojo), granulocitos de la reacción de control negativa (relleno negro) y granulocitos de la reacción de control positiva (relleno azul) en el detector FITC.



Resultados que indican un defecto del estallido respiratorio

1) Un único pico con baja intensidad de señal

Si los granulocitos presentan un bajo estallido respiratorio tras la estimulación tanto con *E. coli* como con la reacción de control positiva, indica **una deficiencia de mieloperoxidasa (MPO)** (figura 4) o una **enfermedad granulomatosa** crónica (EGC) menos frecuente (figura 5). La intensidad del estallido respiratorio en la EGC depende de la mutación en el complejo enzimático NADPH oxidasa. Existen cinco tipos autosómicos recesivos (1-5) y un tipo recesivo ligado al cromosoma X de la enfermedad.

PRECAUCIÓN: La prueba no puede diferenciar entre la EGC y la deficiencia de MPO.

Figura 4 Superposición de histogramas: Paciente con deficiencia de MPO, (SI = 11, número relativo de granulocitos positivos 89,7 %). Distribución de la señal de los granulocitos estimulados por E. coli (relleno rojo), granulocitos de la reacción de control negativa (relleno negro) y granulocitos de la reacción de control positiva (relleno azul) en el detector FITC.

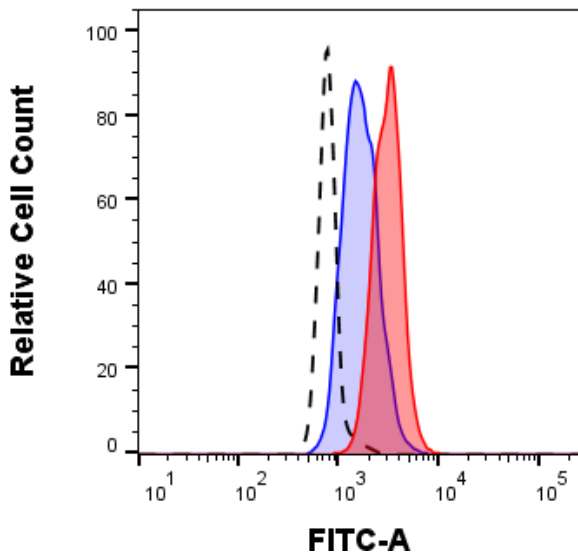
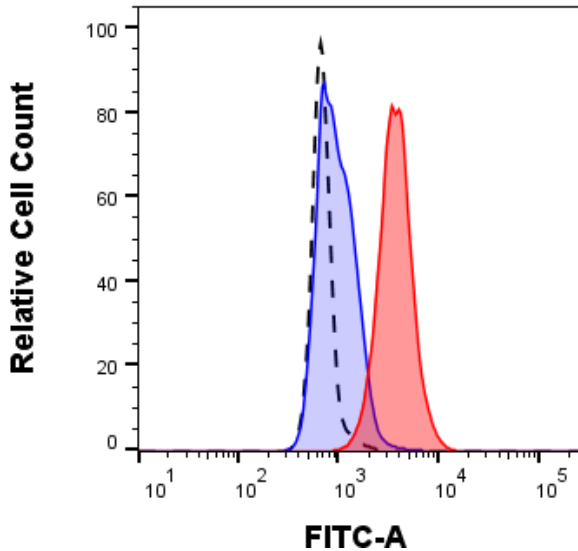


Figura 5 Superposición de histogramas: Paciente varón con EGC ligada al cromosoma X, (SI = 16, número relativo de granulocitos positivos 99 %). Distribución de la señal de los granulocitos estimulados por E. coli (relleno rojo), granulocitos de la reacción de control negativa (relleno negro) y granulocitos de la reacción de control positiva (relleno azul) en el detector FITC.

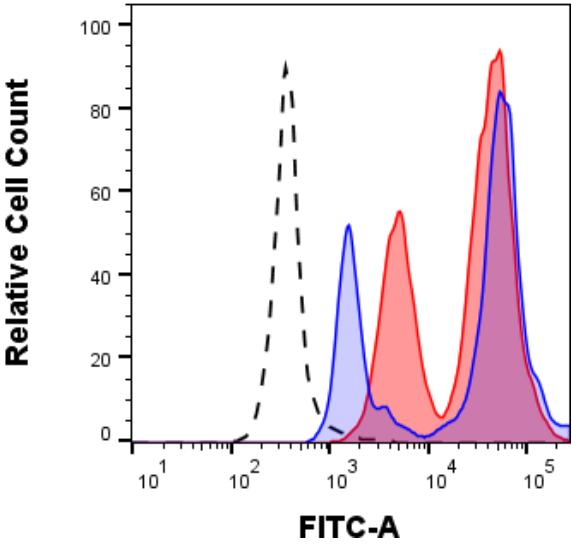


2) Dos picos con diferente intensidad de señal

Si los granulocitos de una paciente presentan **dos subpoblaciones** que difieren en la intensidad del estallido respiratorio tras la estimulación con E. coli y la reacción de control positiva (Figura 6), esto indica que la paciente es portadora de la EGC ligada al X-.

PRECAUCIÓN: Tres o más picos en el histograma indican una contaminación de la puerta de entrada de la población de granulocitos en el gráfico de puntos SSC frente a FSC (Figura 1) con monocitos o con células muertas no fagocitadoras.

Figura 6 Superposición de histogramas: Mujer portadora de mutación ligada al cromosoma X del gen de la NADPH oxidasa. Dos subpoblaciones de granulocitos difieren en la intensidad del estallido respiratorio, (baja MFI pico SI = 14, número relativo de granulocitos 35 %, alta MFI pico SI = 125, número relativo de granulocitos 65 %). Distribución de la señal de los granulocitos estimulados por *E. coli* (relleno rojo), granulocitos de la reacción de control negativa (relleno negro) y granulocitos de la reacción de control positiva (relleno azul) en el detector FITC.



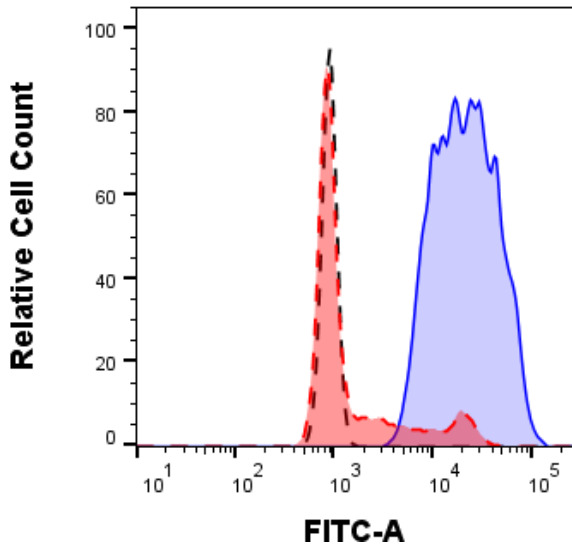
Resultados que indican un defecto de actividad fagocítica

Diferente patrón de picos entre la reacción de control positivo y la reacción estimulada por E. coli

Si los granulocitos estimulados con E. coli muestran un estallido respiratorio bajo y los granulocitos estimulados con la reacción de control positiva muestran un estallido respiratorio alto (Figura 7), indica un defecto en la actividad fagocítica de los granulocitos, alternativamente la muestra de sangre contiene anticoagulante EDTA o citrato o la muestra era vieja o estaba mal almacenada.

Figura 7 Superposición de histogramas: Muestra anticoagulada con EDTA, (IFM baja pico SI = 1, número relativo de granulocitos 73 %, IFM alta pico SI = 25, número relativo de 9 %).

Distribución de la señal de los granulocitos estimulados por E. coli (relleno rojo), granulocitos de la reacción de control negativa (relleno negro) y granulocitos de la reacción de control positiva (relleno azul) en el detector FITC.



11. Rendimiento analítico

Precisión (repetibilidad y reproducibilidad)

La **reproducibilidad** del ensayo se determinó a partir de los datos obtenidos por cinco operadores que analizaron seis muestras de sangre de donantes sanos el mismo día y en las mismas condiciones experimentales.

Se calcularon los siguientes parámetros:

a) Para la determinación del número relativo de granulocitos positivos

CV = 2 %

b) Para la determinación del índice de estimulación

CV = 11 %

No se determinó la **repetibilidad** del ensayo. Debido a la dinámica de los cambios de MFI asociados a la liberación de R123 de las células (Figura 8, 9, 10), los valores de repetibilidad dependerían del tiempo transcurrido entre el final del procesamiento de la muestra (fijación/lisis de glóbulos) y el análisis FACS. Se recomienda realizar análisis de series de muestras pequeñas y analizarlas dentro de la ventana temporal estrecha normalizada. Alternativamente, se pueden analizar series más largas más tarde, por ejemplo, después de un intervalo de tiempo mayor (40 minutos) para minimizar la variabilidad de la IFM.

Figura 8 Evolución de la intensidad media de fluorescencia (IMF) de los granulocitos en el tiempo tras la lisis de eritrocitos, una muestra de sangre como ejemplo (donante sano).

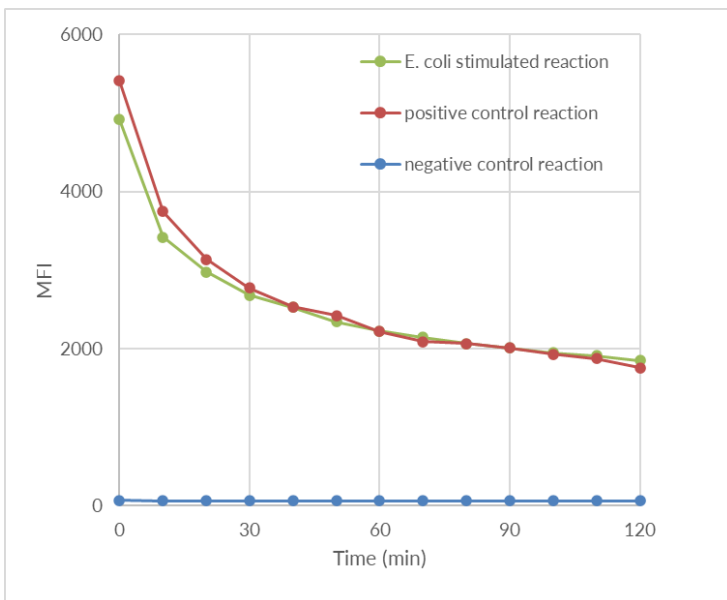


Figura 9 Evolución de la actividad fagocítica de los granulocitos (%) en el tiempo tras la lisis de eritrocitos, 3 muestras de sangre diferentes (donantes sanos).

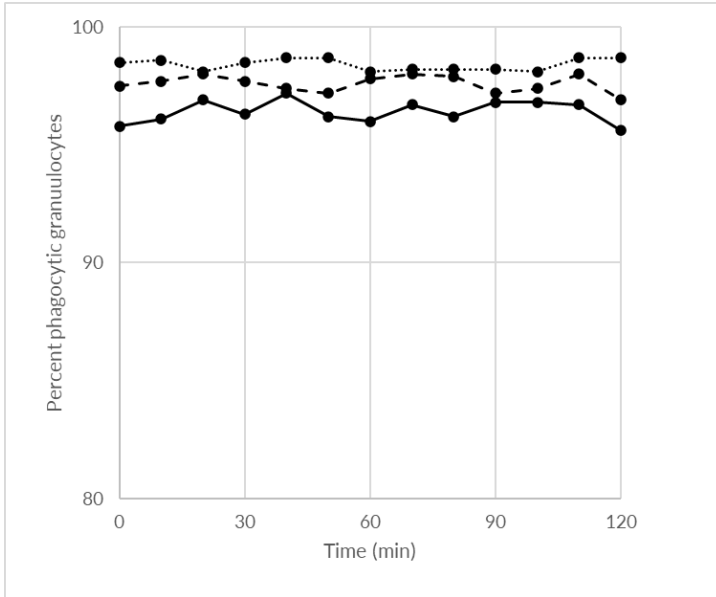
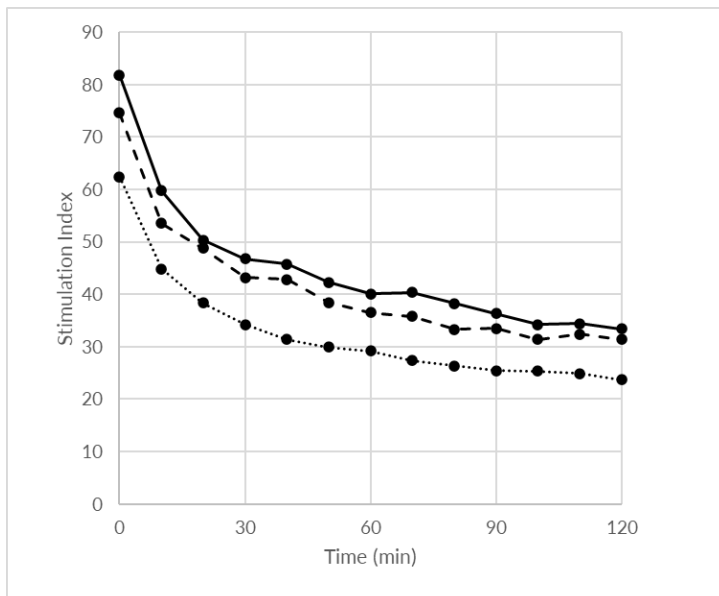


Figura 10 Evolución del índice de estimulación en el tiempo tras la lisis de hematíes, 3 muestras de sangre diferentes (donantes sanos).



12. Rendimiento clínico

El ensayo se evaluó mediante mediciones comparativas con PhagoBurst (Orpegen Pharma GmbH) utilizando muestras de un total de 47 pacientes (Tabla 4). Ambos kits fueron capaces de detectar: a) fallos en la ingestión de partículas (baja actividad fagocítica) y b) trastornos de la explosión oxidativa (deficiencia de MPO, CGD) con una sensibilidad del 100% y una especificidad del 100%.

Tabla 4 Características de los pacientes del estudio de evaluación del rendimiento

Características del paciente	n
Donante sano (trastorno inmunológico no relacionado)	40
CGD (2 enfermos y un portador de CGD)	3
Deficiencia de MPO	2
Baja actividad fagocítica (modelo de enfermedad - anticoagulante EDTA)	2
Muestras antiguas (mediciones repetidas de donantes sanos en 48 horas)	4

13. Valores previstos

Se ha determinado el rango normal de actividad de estallido respiratorio de los granulocitos en 40 muestras de sangre periférica de adultos sanos.

- Granulocitos con actividad de explosión respiratoria
90-100 %
- Índice de estimulación de granulocitos > 30
3^{er} percentil = 31
Mediana = 56
97^o percentil = 97

Dado que el índice de estimulación puede variar en diferentes laboratorios e instrumentos, cada laboratorio DEBE establecer el rango normal utilizando sus propias condiciones de prueba en muestras de la población local de donantes normales.

14. Sustancias interferentes y limitaciones

Los anticoagulantes EDTA y citrato afectan negativamente a los resultados del análisis.

15. Referencias

- 1) Dinauer MC. Chronic granulomatous disease and other disorders of phagocyte function. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2005-89-95.: 10.1182/asheducation-2005.1.89. PMID: 16304364.
- 2) de Oliveira-Junior EB, et al. The human NADPH oxidase: primary and secondary defects impairing the respiratory burst function and the microbicidal ability of phagocytes. *Scand J Immunol*. 2011 May;73(5):420-7. doi: 10.1111/j.1365-3083.2010.02501.x. PMID: 21204900.
- 3) Song E, et al. Chronic granulomatous disease: a review of the infectious and inflammatory complications. *Clin Mol Allergy*. 2011 May 31;9(1):10. doi: 10.1186/1476-7961-9-10. PMID: 21624140; PMCID: PMC3128843.
- 4) Kuijpers T, et al. Inflammation and repeated infections in CGD: two sides of a coin. *Cell Mol Life Sci*. 2012 Jan;69(1):7-15. doi: 10.1007/s00018-011-0834-z. Epub 2011 Nov 15. PMID: 22083605; PMCID: PMC3249194.
- 5) Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol*. 2005 May;77(5):598-625. doi: 10.1189/jlb.1204697. Epub 2005 Feb 2. PMID: 15689384.
- 6) Rotrosen D, et al. Disorders of phagocyte function. *Annu Rev Immunol*. 1987;5:127-50. doi: 10.1146/annurev.iy.05.040187.001015. PMID: 3297103.
- 7) Donabedian, H. (1989). Congenital and Acquired Neutrophil Abnormalities. In: Klempner, M.S., Styrt, B., Ho, J. (eds) *Phagocytes and Disease*. Immunology And Medicine Series, vol 11. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-009-1279-3_6

16. Marcas comerciales

BD FACSCanto™ II, BD FACSLyric™, BD Multitest™ y FlowJo™ son marcas registradas de Becton, Dickinson and Company, Sysmex™ es marca registrada de Sysmex Corporation, VenturiOne® es marca registrada de Applied Cytometry, Infinicyt™ es marca registrada de Cytognos S.L..

17. Historial de revisiones

Versión 8, ED7042_IFU_v8

Diseño de la IFU modificado.

18. Fabricante

EXBIO Praha, a.s.
Nad Safinou II 341
25250 Vestec
República Checa

Información de contacto

info@exbio.cz
technical@exbio.cz
orders@exbio.cz
www.exbio.cz

19. Representantes autorizados

N / A

AVISO: Cualquier incidente grave que se haya producido en relación con el producto deberá notificarse al fabricante y a la autoridad local competente.