

exbio

Kit FagoFlowEx

100 testes | Cat. N.º ED7042



Instruções de Utilização (PT)

Versão: ED7042_IFU_v8_PT

Data de emissão: 14-04-2023

Símbolos utilizados na etiquetagem do dispositivo

	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro		Limites de temperatura
	Marca CE de conformidade		Manter afastado da luz solar
	Fabricante		Manter em local seco
	Identificador Único de Dispositivo		Conteúdos
	Consultar instruções de utilização		Marca UKCA
	Contém o suficiente para <n> testes		
	Número de catálogo		
	Código de lote		
	Data de validade		

1. Finalidade prevista

O Kit FagoFlowEx destina-se à determinação da atividade fagocitária dos granulócitos neutrófilos através da medição da explosão respiratória (oxidativa) no sangue total por citometria de fluxo.

O que é detetado e/ou medido

O dispositivo deteta e mede dois parâmetros utilizando substrato fluorogénico Dihidrohodamina 123:

- percentagem de granulócitos neutrófilos que produzem espécies reativas de oxigénio (ROS) em resposta à ingestão de bactérias *E. coli*
- atividade intracelular das enzimas produtoras de ROS.

Função do dispositivo

O dispositivo destina-se ao rastreio/auxílio para diagnóstico de imunodeficiência congénita ou adquirida.

Contexto do estado fisiológico ou patológico

A incapacidade dos granulócitos neutrófilos para catalisar a produção de espécies reativas de oxigénio provoca a Doença Granulomatosa Crónica (DCG), um grupo de doenças hereditárias com um fenótipo comum de infeções bacterianas e fúngicas graves recorrentes e formação de granuloma de tecidos ^(1, 2, 3, 4).

Resultados consistentes com a CGD podem também ter origem na deficiência de MPO, que é o defeito fagocitário mais comum, apresentando-se geralmente como um fenótipo normal sem aumento da incidência de infeções ⁽⁵⁾.

Uma diminuição da atividade fagocitária sem o defeito das enzimas produtoras de ROS ocorre em várias outras condições clínicas que estão associadas à supressão imunitária, quer deficiências imunitárias primárias variáveis e deficiências de opsonina plasmática, quer imunodeficiências secundárias ^(6, 7).

Tipo de ensaio

Não automatizado

Quantitativo

Tipo de espécime requerido

Sangue total anticoagulado com heparina humana

População de teste

Um doente com suspeita de defeito de função granulocitária

2. Utilizador pretendido

O dispositivo destina-se apenas a uso profissional em laboratório. Não para testes próximos dos pacientes ou autoteste.

Requisitos de qualificação

O utilizador previsto deve possuir conhecimentos especializados de ponta em análise de citometria de fluxo de células humanas, técnicas laboratoriais padrão, incluindo técnicas de pipetagem, manipulação segura e adequada de espécimes derivados do corpo humano.

O utilizador previsto deve cumprir a norma EN ISO 15189 ou outras disposições nacionais, quando aplicável.

3. Princípio de análise

O teste baseia-se na medição da produção de ROS em granulócitos neutrófilos utilizando um substrato fluorogénico Dihydrorhodamine 123 (DHR123).

Durante o teste, uma amostra de sangue humano é incubada com bactérias *E. coli* inativadas por calor e com DHR123. A mistura de reação é levada a 37 °C para promover a fagocitose de *E. coli* por granulócitos neutrófilos. Durante a incubação, as bactérias são ativamente engolfadas pelas células, enquanto o DHR123 não fluorescente entra passivamente no ambiente intracelular pelo seu gradiente de concentração. As bactérias ficam presas dentro dos fagosomas celulares e desencadeiam reações enzimáticas que resultam na produção de ROS. Os iões ROS oxidam DHR123 a rodamina fluorescente 123 (R123) que é excitada pelo feixe laser de um citómetro de fluxo durante a aquisição de uma amostra de sangue. A emissão subsequente de luz de R123 correspondente à atividade intracelular das enzimas produtoras de ROS é recolhida e analisada pelo citómetro de fluxo.

Duas outras reações são realizadas em paralelo com a estimulação de *E. coli* , a reação de controlo negativo, que é a reação sem *E. coli* , e a reação de controlo positivo, que é uma reação que utiliza acetato de 12-miristato de Phorbol 13 que ativa ROS produz enzimas sem fagocitose.

As células são consideradas ativamente fagocitárias se a sua fluorescência exceder a fluorescência das células da reação de controlo negativo. O resultado é relatado como percentagem de células fagocitárias. A intensidade de fluorescência das células fagocitárias é diretamente proporcional à atividade intracelular das enzimas produtoras de ROS.

4. Reagente(s) fornecido(s)

Conteúdos

O dispositivo FagoFlowEx Kit, suficiente para 100 testes, é fornecido com os seguintes reagentes:

E. coli (5 ampolas) contendo bactérias *E. coli* liofilizadas, 1 ampola é suficiente para estimulação de 20 amostras de sangue (ED7042-1).

DHR123 (5 ampolas) contendo liofilizado Dihidrohodamina 123, 1 ampola é

suficiente para coloração de 60 amostras de sangue (ED7042-2).

Controlo de estimulação (5 frascos) contendo PMA liofilizado (Phorbol 12-miristate 13-acetato), 1 frasco destina-se a 20 testes de controlo positivo (ED7042-3).

Solução de lisagem (1 frasco) contendo 15 ml de solução pronta a usar (ED7042-4).

5. Materiais necessários, mas não incluídos

Tubos de ensaio de fundo redondo de 12 x 75 mm

Água desionizada (Reagent-grade)

6. Equipamento necessário

Pipeta automática com pontas descartáveis (10 - 1000 µl) para pipetagem de espécimes e reagentes

Misturador Vortex

Termóstato (incubadora de ar) ou banho de água capaz de incubar os tubos de ensaio a 37 °C

Fonte de excitação a laser de clímax de fluxo (488 nm), detetores para espalhadores, filtros óticos e detetor de emissões apropriados para recolher o sinal do fluorocromo fornecido no Quadro 1.

Quadro 1 Característica espectral do fluorocromo utilizado no dispositivo

Fluorocromo	Excitação [nm]	Emissões [nm]
Rodamina 123	488	525

AVISO: O dispositivo foi testado em citómetros de fluxo BD FACSCanto™ II (BD Biociências), BD FACSLyric™ (BD Biociências), Navios EX (Beckman Coulter), DxFLEX (Beckman Coulter) e Sysmex™ XF-1600(Sysmex Corporation).

7. Armazenamento e manuseamento

Armazenar a 2-8 °C.

Evitar a exposição prolongada à luz.



Não congelar.

Ver Secção 10 Procedimento (Preparação de Reagentes) para informações sobre a estabilidade de In-Use e o prazo de validade após a primeira abertura, juntamente com as condições de armazenamento e estabilidade das soluções de trabalho (quando aplicável).

8. Avisos, precauções e limitações de utilização

Classificação de Perigos GHS

ADVERTÊNCIA: A solução de lisagem (ED7042-4) contém formaldeído (CAS No. 50-00-0) e metanol (CAS No. 67-56-1) em concentrações classificadas como perigosas.

Elementos de etiqueta	Palavra de sinal
	Perigo
	
Frases H	H302 Nocivo por ingestão. H315 Provoca irritação cutânea. H317 Pode provocar uma reacção alérgica cutânea. H319 Provoca irritação ocular grave. H335 Pode provocar irritação das vias respiratórias. H341 Suspeito de provocar anomalias genéticas. H350 Pode provocar cancro.
Frases P	P201 Pedir instruções específicas antes da utilização. P264 Lavar bem as mãos e as partes expostas do corpo após manuseamento. P280 Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial. P301+P312 EM CASO DE INGESTÃO: caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. P302+P352 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes. P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar. P308+P313 EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico. P333+P313 Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.

	P362 Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.
--	----------------------------------------------------------------------

Consulte a Ficha de Dados de Segurança (FDS) disponível na página do produto em www.exbio.cz para obter informações completas sobre os riscos colocados pelas substâncias e misturas químicas contidas no Produto e como devem ser manuseadas e eliminadas.

Perigo biológico

Amostras biológicas humanas e amostras de sangue e quaisquer materiais que entrem em contacto com elas são sempre considerados como materiais infecciosos.

Utilizar equipamento de proteção pessoal e de segurança para evitar o contacto com a pele, olhos e membranas mucosas.

Seguir todas as leis, regulamentos e procedimentos aplicáveis para o manuseamento e eliminação de materiais infecciosos.

Evidência de deterioração

O aspeto normal dos reagentes liofilizados fornecidos é um pó branco (E. coli e Stimulation Control) ou um bolo liofilizado sólido (DHR123). Não utilizar o reagente se observar qualquer mudança na aparência, por exemplo, uma mudança de cor ou liquefação.

O aspeto normal da solução de lisagem é um líquido límpido. Não utilizar o reagente se observar qualquer alteração na aparência, por exemplo, turbidez ou sinais de precipitação.

Limitação de utilização

Não utilizar após a data de validade indicada nos rótulos dos produtos.

9. Espécime

Utilizar sangue periférico venoso recolhido em recipiente de espécimes classificados como dispositivo médico, com a presença de anticoagulante de heparina.

CUIDADO: Os anticoagulantes EDTA e citrato afetam de forma negativa os resultados da análise.

A amostra de sangue no tubo de colheita deve ser armazenada à temperatura ambiente. Não refrigerar.

Processar a amostra de sangue o mais tardar 24 horas após a colheita.

10. Procedimento

Preparação do(s) reagente(s) fornecido(s)

E. coli

Reconstituir o conteúdo da ampola de *E. coli* em 250 µl de água deionizada. Preparar fresco em cada dia de medição, armazenar a 2-8 °C e utilizá-lo nas próximas 8 horas. Em alternativa, o reagente pode ser congelado a -20 °C a -80 °C e utilizado no prazo de 7 dias.

CUIDADO: Evitar ciclos repetidos de congelação / descongelação.

DHR123

Reconstituir o conteúdo da ampola de DHR123 em 650 µl de água deionizada. Preparar fresco em cada dia de medição, armazenar a 2-8 °C e utilizá-lo nas próximas 8 horas. Em alternativa, o reagente pode ser congelado a -20 °C a -80 °C e utilizado no prazo de 7 dias.

AVISO: A solução alíquotada suportará até 5 ciclos de congelamento / descongelamento.

Controlo da estimulação

Reconstituir o conteúdo do Controlo de Estimulação em 250 µl de água deionizada. Preparar fresco em cada dia de medição, armazenar a 2-8 °C e utilizá-lo nas próximas 8 horas. Em alternativa, o reagente pode ser congelado a -20 °C a -80 °C e utilizado no prazo de 7 dias.

AVISO: A solução alíquotada suportará até 5 ciclos de congelamento / descongelamento.

Solução de lisagem

Reagente está pronto a ser utilizado.

AVISO: Levar o reagente à temperatura ambiente antes da sua utilização.

Coloração de espécimes

1. Para o exame de um doente, rotular três tubos de ensaio de 12 x 75 mm de fundo redondo com a identificação e marcação adequadas da amostra para

E. coli estimulou a reação,

reação de controlo positivo (estimulação de PMA)

e reação de controlo negativo.

Pipetas para o fundo dos tubos de ensaio

- 10 µl de *E. coli* no tubo marcado como *E. coli* estimulou a reação.

- 10 µl de Controlo de Estimulação no tubo marcado como reação de controlo positivo.
 - Não pipetar nada no tubo marcado como reação de controlo negativo.
2. Pipetar 50 µl de amostra de sangue bem misturada para o fundo de cada um dos tubos de ensaio e vortex suavemente.

CUIDADO: Evitar a pipetagem de sangue na lateral do tubo de ensaio. Se o esfregão ou gota de sangue permanecer na lateral do tubo, pode não ser manchado com o reagente ou os eritrócitos podem não ser lisados e o resultado do teste pode não ser válido.

3. Pipetar 10 µl de DHR123 para o fundo de cada um dos tubos de ensaio e vortex suavemente.
4. Colocar os tubos de ensaio a 37 °C durante 20 minutos num banho de água ou durante 30 minutos numa incubadora de ar.
5. Adicionar 50 µl de Solução de Lisagem a cada um dos tubos de ensaio. Vortexar suavemente e incubar os tubos de ensaio durante 5 minutos à temperatura ambiente no escuro.
6. Adicionar 1 ml de água deionizada em cada um dos tubos de ensaio, vórtice suavemente, e incubar durante 10 minutos à temperatura ambiente no escuro.
7. Adquirir a amostra corada imediatamente no citómetro de fluxo. Se a amostra corada não for adquirida imediatamente, tapar o tubo de ensaio, armazenar a 2-8 °C no escuro e analisar no prazo de 2 horas.

CUIDADO: A fluorescência da Rodamina 123, produzida pela oxidação do DHR123, é detetada no canal FITC (525 nm). Uma vez que a Rhodamine 123 é rapidamente libertada dos granulócitos, como mostra a figura 8, as amostras têm de ser **medidas o mais rapidamente** possível (o mais tardar 2 horas após a lisagem), de preferência **numa janela de tempo estreita padronizada** (ver página 18).

CUIDADO: Vortexar a amostra corada imediatamente antes da aquisição no citómetro de fluxo para evitar agregados.

Análise de citometria de fluxo

O medidor de caudal selecionado para utilização com o dispositivo FagoFlowEx Kit deve ser calibrado numa base de rotina utilizando micro esferas fluorescentes para assegurar uma sensibilidade estável dos detetores de acordo com as instruções do fabricante do medidor de caudal.

Se não for mantido corretamente, o citómetro defluxopode produzir resultados falsos.

Consultar as especificações do fabricante para os lasers e detetores fluorescentes de acordo com as características de excitação e emissão dos fluorocromos na Secção 6 Equipamento necessário.

Definir as tensões nos detetores de fluorescência de interesse antes da análise de amostras coradas. A tensão num detetor de PMT deve ser definida suficientemente alta, para que o mínimo de eventos com manchas negativas interfira com o 0º canal no eixo de fluorescência. Além disso, a tensão do detetor de PMT não deve exceder os valores em que os eventos positivos são pressionados para o eixo direito.

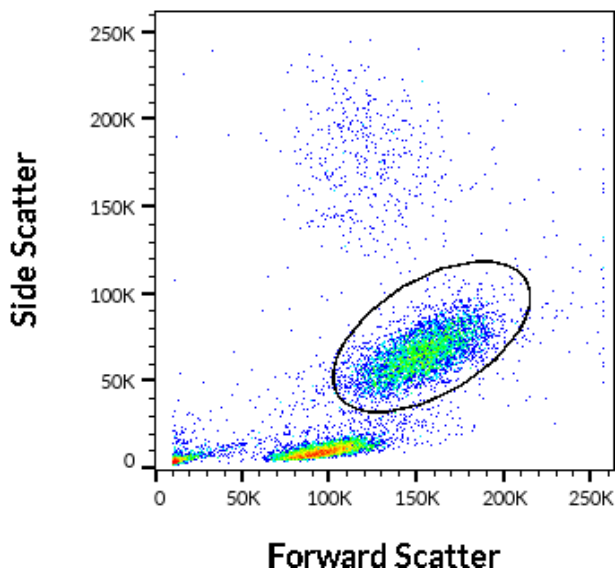
Para a análise de dados medidos, é possível utilizar software de citómetro desenvolvido pelo fabricante, ou software dedicado à análise de dados de citometria offline (por exemplo FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

Análise da amostra de um doente

Adquirir pelo menos 5.000-10.000 eventos de leucócitos. Visualizar os eventos adquiridos no ponto de dispersão lateral (SSC) versus ponto de dispersão para a frente (FSC). Delimite os granulócitos como indicado na figura 1.

CUIDADO: A ingestão de bactérias influencia a posição dos granulócitos no diagrama de dispersão DL-DF. Devido a isto, ajustar o portão individualmente para cada reação.

Figura 1 Delineação da população de granulócitos



Visualizar granulócitos fechados como histogramas onde o eixo X representa a intensidade de fluorescência no canal FITC. Utilizar a reação de controlo negativo para estabelecer uma porta apropriada para discriminar os granulócitos positivos (células que produzem ativamente fagócitos ROS) e negativos (células que não produzem fagócitos ROS). Copiar a porta para a reação de estimulação de *E. coli* e para a reação de controlo positivo (Figura 2a, 2b, 2c).

Os granulócitos que sofrem a explosão oxidativa exibem uma fluorescência brilhante de Rhodamine 123. Calcular a intensidade média de fluorescência dos granulócitos positivos e negativos. A intensidade de fluorescência é diretamente proporcional à atividade intracelular das enzimas produtoras de ROS.

Figura 2a Histograma de intensidade de fluorescência de granulócitos a partir da reação de controlo negativo

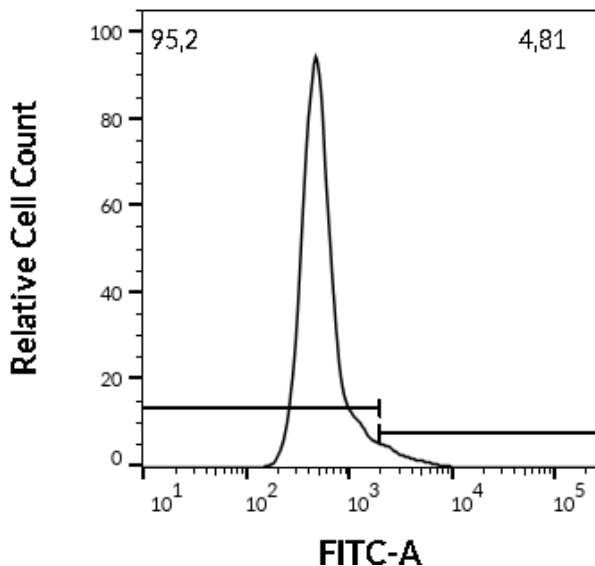


Figura 2b Histograma de intensidade de fluorescência de granulócitos da reação estimulada por *E. coli*

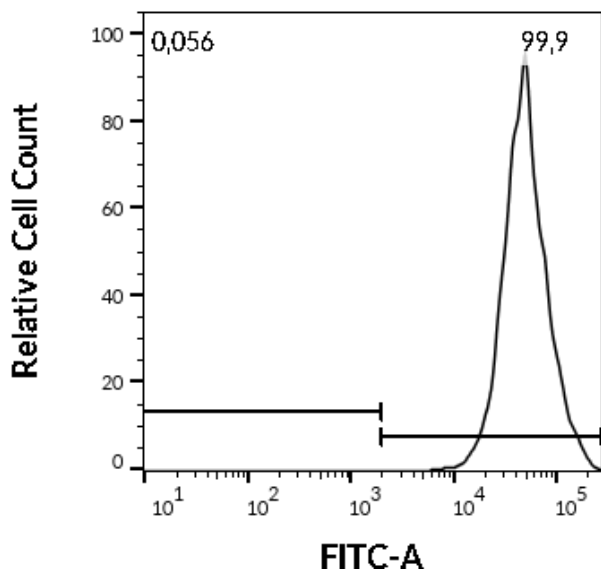
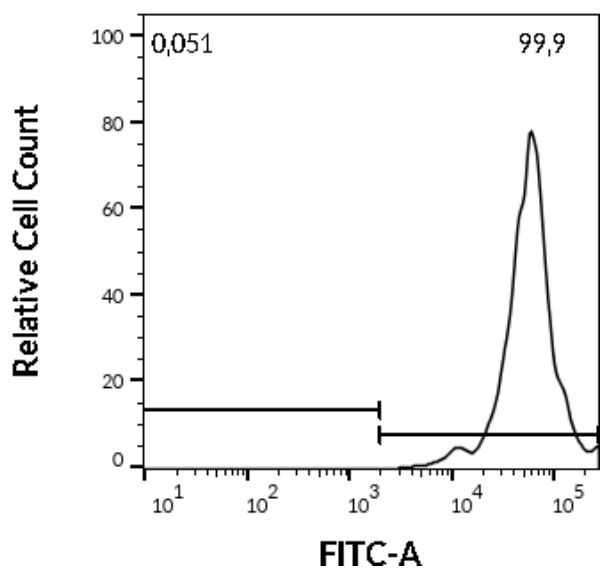


Figura 2c Histograma de intensidade de fluorescência de granulócitos em reação de controlo positivo



Cálculo e interpretação de resultados analíticos

Parâmetros quantitativos

Dois parâmetros quantitativos são relatados e interpretados em termos da existência de qualquer indicação de um defeito na atividade fagocitária ou de um defeito na produção de ROS:

a) O **número relativo de granulócitos positivos** que apresentaram uma explosão respiratória após o estímulo com *E. coli*.

b) **Índice de estimulação (SI)** calculado como a relação de intensidade de fluorescência média (IFM) dos granulócitos positivos da reação estimulada de *E. coli* e dos granulócitos negativos da reação de controle negativa.

Exemplo de cálculo do Índice de Estímulo

Quadro 2 Reação de controle negativa: IFM de granulócitos negativos e positivos

População	Número (%)	FITC-A médio
negativa	95,2	550
positiva	4,81	3995

Quadro 3 *E. coli* estimulou a reação: IFM de granulócitos negativos e positivos

População	Número (%)	FITC-A médio
negativa	0,056	1224
positiva	99,9	53836

A razão do valor de IFM dos granulócitos positivos da reação estimulada por *E. coli* (no Quadro 3) é dividida pelo valor de IFM dos granulócitos negativos da reação de controle negativa (no Quadro 2).

$$\frac{\text{Valor MFI de granulócitos positivos da reação estimulada por E.coli}}{\text{Valor MFI de granulócitos negativos da reação de controle negativo}} =$$

$$\frac{53836}{550} = \text{SI (Índice de estimulação)} = 98$$

Parâmetros qualitativos

A interpretação qualitativa dos dados incorpora sobreposições de histogramas para avaliar a distribuição do sinal e identificar picos individuais que, no caso da ocorrência de populações de granulócitos múltiplos, precisam de ser analisados separadamente.

Em caso de **defeitos de rutura respiratória** (falta de oxidação do DHR123), os histogramas granulocitários resultantes mostrarão concordância na distribuição do sinal entre a reação de estimulação de *E. coli* e a reação de controlo positivo (Figura 4, 5, 6).

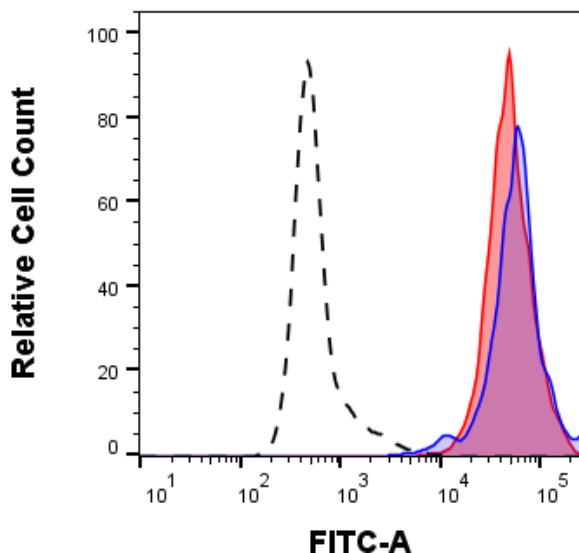
Em caso de **defeitos de atividade fagocitária** (diminuição do engolfamento das partículas), os histogramas granulocitários resultantes mostrarão discrepância na distribuição do sinal entre a reação de estimulação de *E. coli* e a reação de controlo positivo. A reação estimulada por *E. coli* terá a população de granulócitos dividida em múltiplos picos de diferentes intensidades de fluorescência, a reação de controlo positivo terá um único pico (Figura 7).

AVISO: A deteção de resultados pouco usuais indica apenas a suspeita de doença que precisa de ser confirmada por outros testes.

Resultado normal de doador saudável

Os granulócitos exibem uma alta explosão respiratória após estimulação com *E. coli* e reação de controlo positivo (Figura 3).

Figura 3 Sobreposição do Histograma: Doador saudável sem defeito de rutura respiratória, (SI = 98, número relativo de granulócitos positivos 99,9%). Distribuição do sinal dos granulócitos estimulados por *E. coli* (preenchidos a vermelho), granulócitos da reação de controlo negativo (preenchidos a preto) e granulócitos da reação de controlo positivo (preenchidos a azul) no detector FITC.



Resultados indicando defeito de rutura respiratória

1) Um único pico com baixa intensidade de sinal

Se os granulócitos apresentarem uma baixa rutura respiratória após estimulação com *E. coli* e reação de controlo positivo, indica **deficiência de mieloperoxidase (MPO)** (Figura 4) ou **doença granulomatosa crónica** menos comum (**CGD**) (Figura 5). A intensidade da explosão respiratória na CGD depende da mutação no complexo enzimático NADPH oxidase. Existem cinco tipos autossómicos recessivos (1-5) e um tipo recessivo ligado ao X da doença.

CUIDADO: O ensaio não pode diferenciar entre deficiência de CGD e MPO.

Figura 4 Sobreposição do histograma: Paciente com deficiência de MPO, (SI = 11, número relativo de granulócitos positivos 89,7%). Distribuição do sinal dos granulócitos estimulados por *E. coli* (preenchidos a vermelho), granulócitos da reação de controlo negativo (preenchidos a preto) e granulócitos da reação de controlo positivo (preenchidos a azul) no detector FITC.

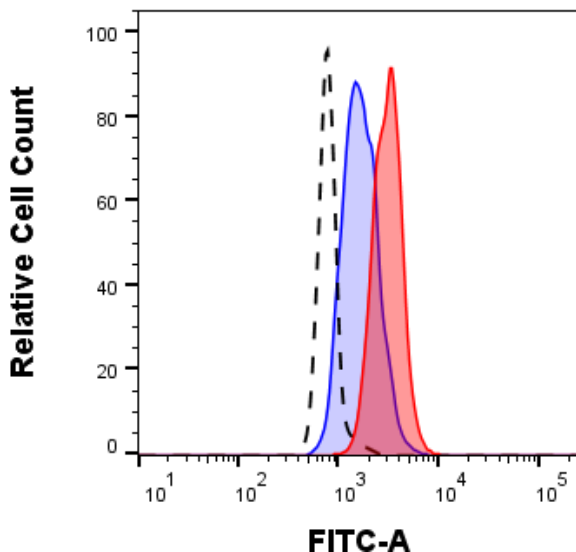
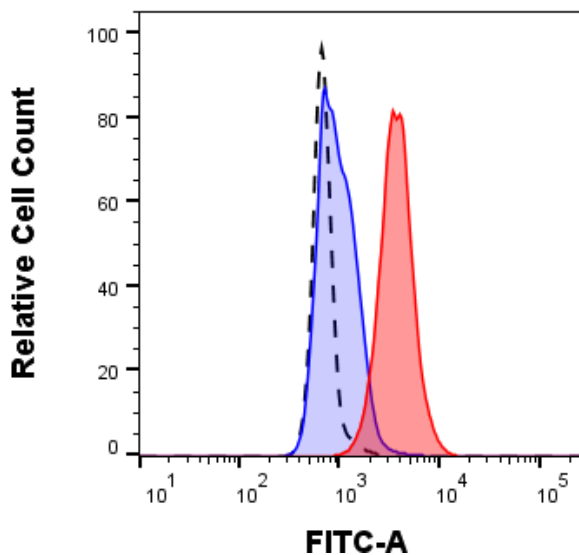


Figura 5 Sobreposição do histograma: Doente masculino com CGD ligada ao X, (SI = 16, número relativo de granulócitos positivos 99%). Distribuição do sinal dos granulócitos estimulados por *E. coli* (preenchidos a vermelho), granulócitos da reação de controlo negativo (preenchidos a preto) e granulócitos da reação de controlo positivo (preenchidos a azul) no detector FITC.

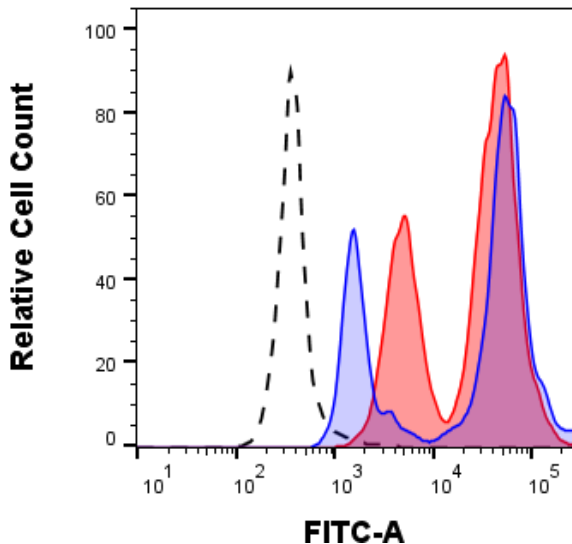


2) Dois picos com intensidade de sinal diferente

Se os granulócitos de uma paciente do sexo feminino **apresentarem duas subpopulações** com intensidade diferente de rutura respiratória após estimulação com *E. coli* e reação de controlo positivo (Figura 6), isso indica que a paciente é portadora de X-ligado à CGD.

CUIDADO: Três e mais picos no histograma indicam uma contaminação da porta da população de granulócitos em SSC vs. ponto-plot FSC (Figura 1) com monócitos ou com células mortas não-fagocitárias.

Figura 6 Sobreposição do histograma: Indivíduo do sexo feminino com mutação ligada ao cromossoma X do gene da NADPH oxidase. Duas subpopulações de granulócitos diferem em intensidade de rutura respiratória, (baixo pico MFI SI = 14, número relativo de granulócitos 35%, pico MFI SI alto = 125, número relativo de granulócitos 65%). Distribuição do sinal dos granulócitos estimulados por *E. coli* (preenchidos a vermelho), granulócitos da reação de controlo negativo (preenchidos a preto) e granulócitos da reação de controlo positivo (preenchidos a azul) no detector FITC.



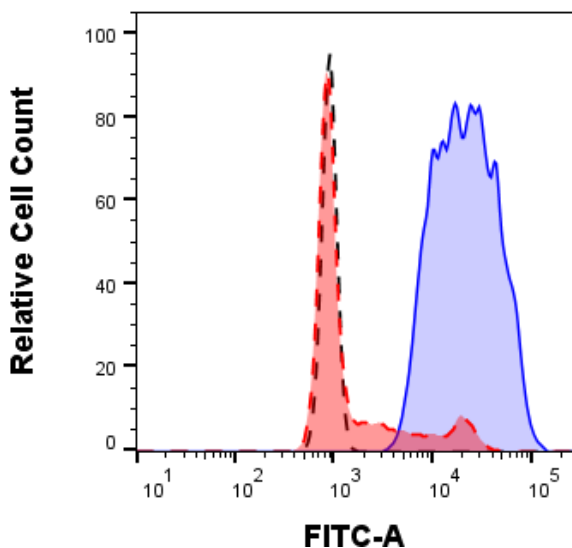
Resultados que indicam defeito de atividade fagocitária

Padrão de pico diferente entre a reação de controlo positivo e a reação estimulada por *E. coli*

Se os granulócitos estimulados com *E. coli* exibirem baixa rutura respiratória e os granulócitos estimulados com reação de controlo positivo exibirem elevada rutura respiratória (Figura 7), indica um defeito na atividade fagocitária dos granulócitos, alternativamente a amostra de sangue contém EDTA anticoagulante ou citrato ou a amostra era velha ou armazenada de forma inadequada.

Figura 7 Sobreposição do histograma: Amostra anticoagulada com EDTA, (pico MFI baixo SI = 1, número relativo de granulócitos 73%, pico MFI alto SI = 25, número relativo de 9%).

Distribuição do sinal dos granulócitos estimulados por *E. coli* (preenchidos a vermelho), granulócitos da reação de controlo negativo (preenchidos a preto) e granulócitos da reação de controlo positivo (preenchidos a azul) no detector FITC.



11. Desempenho analítico

Precisão (repetibilidade e reprodutibilidade)

A **reprodutibilidade** do ensaio foi determinada a partir de dados obtidos por cinco operadores que analisaram seis amostras de sangue de doadores de sangue saudáveis no mesmo dia sob as mesmas condições experimentais.

Foram calculados os seguintes parâmetros:

a) Para a determinação do número relativo de granulócitos positivos

CV = 2 %

b) Para a determinação do índice de Estimulação

CV = 11%

A **repetibilidade** do ensaio não foi determinada. Devido à dinâmica das mudanças de MFI associadas à liberação de R123 das células (Figura 8, 9, 10), os valores de repetibilidade dependeriam do tempo decorrido entre o fim do processamento da amostra (fixação/RBC lise) e a análise FACS. Recomenda-se a análise de pequenas séries de amostras e a sua análise dentro da janela temporal estreita padronizada. Alternativamente, séries maiores podem ser analisadas mais tarde, por exemplo, após um intervalo de tempo maior (40 minutos) para minimizar a variabilidade das IFM.

Figura 8 Desenvolvimento da intensidade de fluorescência média dos granulócitos (IFM) no tempo após lise dos glóbulos vermelhos, uma amostra de sangue como exemplo (dador saudável).

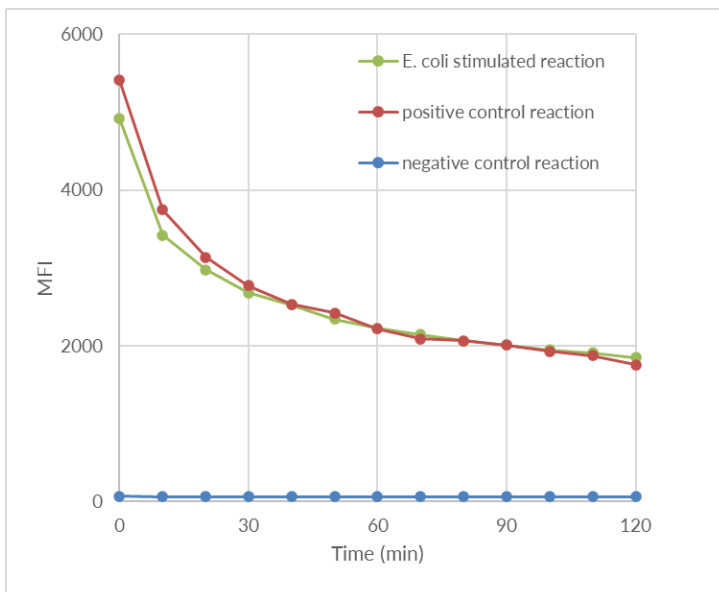


Figura 9 Desenvolvimento da atividade fagocitária de granulócitos (%) no tempo após lise dos glóbulos vermelhos, 3 amostras de sangue diferentes (doadores saudáveis).

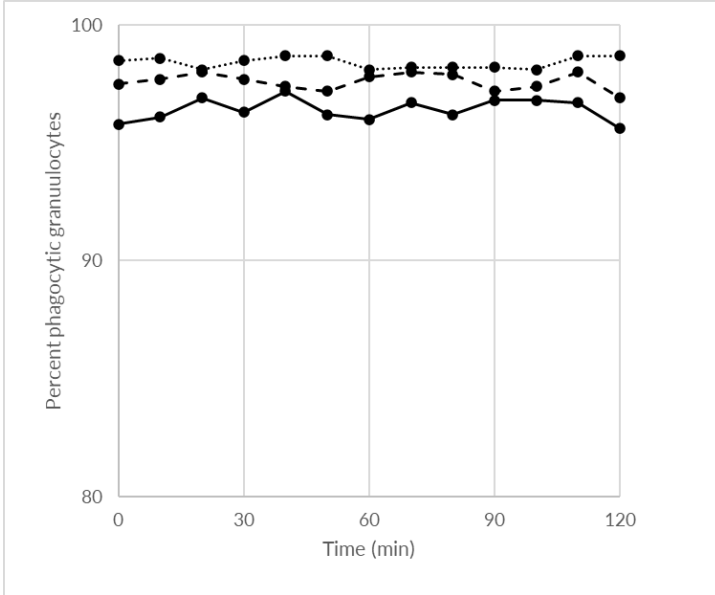
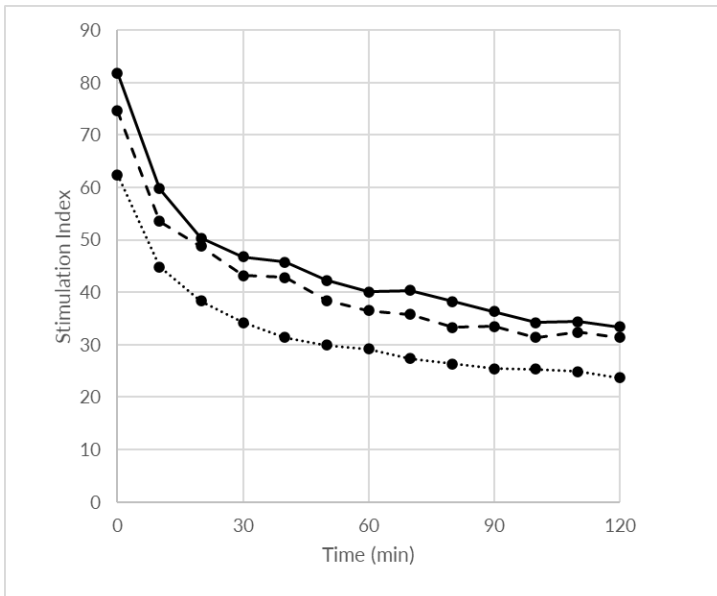


Figura 10 Desenvolvimento do Índice de Estimulação no tempo após a lise dos glóbulos vermelhos, 3 amostras de sangue diferentes (doadores saudáveis).



12. Desempenho clínico

O ensaio foi avaliado por medições comparativas a PhagoBurst (Orpegen Pharma GmbH) utilizando amostras de um total de 47 pacientes (Tabela 4). Ambos os kits foram capazes de detectar: a) falha de ingestão de partículas (baixa atividade fagocitária) e b) distúrbios de explosão oxidativa (deficiência de MPO, CGD) com 100% de sensibilidade e 100% de especificidade.

Quadro 4 Características dos doentes no estudo de avaliação do desempenho

Característica do paciente	n
Doador saudável (desordem imunológica não relacionada)	40
CGD (2 doentes e um portador de CGD)	3
Deficiência de MPO	2
Baixa atividade fagocitária (modelo de doença - anticoagulante EDTA)	2
Amostras antigas (medições repetidas de doadores saudáveis em 48 horas)	4

13. Valores esperados

Os limites normais da atividade de explosão respiratória dos granulócitos foram determinados em 40 amostras de sangue periférico de adultos saudáveis.

- Granulócitos com atividade de explosão respiratória
90-100%
- Índice de estímulo dos granulócitos > 30
3.º percentil = 31
Média = 56
97.º percentil = 97

Uma vez que o índice de estimulação pode variar em diferentes laboratórios e instrumentos, cada laboratório DEVE estabelecer o intervalo normal usando as suas próprias condições de teste em amostras da população local de doadores normais.

14. Interferência de substâncias e limites

Os anticoagulantes EDTA e citrato afetam de forma negativa os resultados da análise.

15. Referências

- 1) Dinauer MC. Chronic granulomatous disease and other disorders of phagocyte function. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2005;89-95. doi: 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 comerciais

BD FACSCanto™ II, BD FACSLyric™, BD Multitest™ e FlowJo™ são marcas registradas da Becton, Dickinson and Company, Sysmex™ é marca registrada da Sysmex Corporation, VenturiOne® é marca registrada da Applied Cytometry, Infinicyt™ é marca registrada da Cytognos S.L..

17. Histórico de revisões

Versão 8, ED7042_IFU_v8

IFU layout alterado.

18. Fabricante

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

Informação de contacto

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

19. Representantes autorizados

N/A

AVISO: Qualquer incidente grave que tenha ocorrido em relação ao dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e à autoridade local competente.