

exbio

EXCELLYSE Easy

100 ml | Cat. N.º ED7066



Instruções de utilização (PT)

Versão: ED7066_IFU_v7_PT

Data de emissão: 15-02-2023

Símbolos utilizados na rotulagem do dispositivo

 IVD	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro		Manter afastado da luz solar
 CE	Marcação CE de conformidade		Manter seco Manter afastado da chuva
	Fabricante		Conteúdo
 UDI	Identificador Único do Dispositivo		Cuidado
	Consultar as instruções de utilização		Solução concentrada (10x)
 REF	Número de catálogo		
 LOT	Código do lote		
	Data limite de utilização		
	Limite de temperatura		

1. Utilização prevista

EXCELLYSE Easy é uma solução de lise, destinada à lise de glóbulos vermelhos e à fixação de glóbulos brancos após a coloração de sangue total periférico humano com anticorpos conjugados com fluorocromos antes da análise por citometria de fluxo.

O que é detetado e/ou medido

N/A. O reagente é uma solução de lise.

Função do dispositivo

N/A. O reagente é uma solução de lise destinada a procedimentos de diagnóstico in vitro relacionados com a análise de citometria de fluxo.

Contexto de um estado fisiológico ou patológico

N/A. O reagente é uma solução de lise.

Tipo de ensaio

N/A. O reagente é uma solução de lise.

Tipo de espécime necessário

Amostra de sangue total periférico humano anticoagulado.

População de teste

N/A. O reagente é uma solução de lise.

2. Utilizador previsto

O aparelho destina-se exclusivamente a utilização profissional em laboratório. Não se destina a testes junto de pacientes ou a autotestes.

Requisitos de qualificação

O utilizador previsto deve possuir conhecimentos avançados em análise citométrica de fluxo de células humanas, técnicas laboratoriais normais, incluindo competências de pipetagem, manuseamento seguro e adequado de amostras derivadas do corpo humano.

O utilizador previsto deve estar em conformidade com a norma EN ISO 15189 ou outras normas nacionais, se aplicável.

3. Princípio de teste

N/A. O reagente é uma solução de lise que provoca a lise hipotónica dos glóbulos vermelhos, preservando os glóbulos brancos para análise por citometria de fluxo.

4. Reagente(s) fornecido(s)

Conteúdo

O dispositivo EXCELLYSE Easy é suficiente para 2000 reações de lisagem/sem procedimento de lavagem ou 1000 reações de lisagem/lavagem de amostras de sangue, e é fornecido com o(s) seguinte(s) reagente(s):

1 frasco (100 ml) com solução concentrada 10X.

5. Materiais necessários, mas não fornecidos

Tubos de ensaio de fundo redondo (12 x 75 mm)

Água desionizada (grau de reagente)

Solução salina tamponada com fosfato (1X PBS), pH 7,4 (0,2 g/L KH_2PO_4 , 1,42 g/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 8,0 g/L NaCl, 0,2 g/L KCl)

Anticorpos primários/secundários apropriados marcados com corantes fluorescentes

6. Equipamento necessário

Pipeta automática com pontas descartáveis (50 - 1000 μl) para pipetagem de amostras e reagentes

Dispensador de líquidos ou pipeta com pontas descartáveis (0,2 - 0,5 ml) para dispensa de PBS

Cilindros graduados para medição do volume de água desionizada e reagente EXCELLYSE Easy para preparação da solução de lise na sua concentração de trabalho (1X)

Centrifugadora

Misturador Vortex

Citômetro de fluxo

7. Armazenamento e manuseamento

Armazenar a 2-25 °C.

Evitar a exposição prolongada à luz.

Não congelar.

Consultar a Seção 10 Procedimento (Preparação de Reagentes) para obter informações sobre a estabilidade na utilização 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 Risco GHS

ADVERTÊNCIA: EXCELLYSE Easy (ED7066) contém 2,2-oxibisetanol (N.º CAS 111-46-6), formaldeído (N.º CAS 50-00-0) e metanol (N.º CAS 67-56-1) em concentrações classificadas como perigosas.

Elementos de rótulo	Legenda
	Perigo
	
Frases H	H315 Provoca irritação cutânea. H317 Pode provocar uma reação alérgica cutânea. H319 Provoca irritação ocular grave. H335 Pode provocar irritação das vias respiratórias. H341 Suspeito de provocar anomalias genéticas. H350 Pode provocar cancro. H371 Pode afectar os órgãos. H373 Pode afectar os rins após exposição prolongada ou repetida por ingestão. H302+H312+H332 Nocivo por ingestão, contacto com a pele ou inalação.
Frases P	P201 Pedir instruções específicas antes da utilização. P260 Não respirar as vapores. P264 Lavar mãos e partes do corpo expostas cuidadosamente após manuseamento. P280 Usar luvas de proteção/proteção ocular/proteção facial. P362+P364 Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar. P301+P312 EM CASO DE INGESTÃO: caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. P302+P352 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: Lavar abundantemente com água e sabão.

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. Continue a enxaguar.

P308+P313 EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico.

P314 Em caso de indisposição, consulte um médico.

P333+P313 Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.

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

Risco biológico

As amostras biológicas humanas e as amostras de sangue e quaisquer materiais que entrem em contacto com elas são sempre considerados materiais infecciosos. Utilizar equipamento de proteção individual e de segurança para evitar o contacto com a pele, os olhos e as mucosas.

Cumprir todas as leis, regulamentos e procedimentos aplicáveis ao manuseamento e eliminação de materiais infecciosos.

Indícios de deterioração

O aspeto normal do reagente fornecido é um líquido límpido. Não utilizar o reagente se observar qualquer alteração do seu aspeto, por exemplo, turvação ou sinais de precipitação.

Limitação da utilização

Não utilizar após o prazo de validade indicado nos rótulos dos produtos.

9. Espécime

Utilizar sangue venoso periférico colhido num recipiente de amostra classificado como dispositivo médico, com anticoagulante EDTA ou Heparina.

10. Procedimento

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

Colocar o reagente à temperatura ambiente antes de o utilizar.

O reagente é concentrado 10X e deve ser diluído com água desionizada antes de ser utilizado (1 volume da solução concentrada e 9 volumes de água desionizada).

Após a primeira abertura, o reagente mantém as suas características de desempenho até à data de validade quando armazenado nas condições indicadas

no seu recipiente primário original.

A solução de lise diluída (1X) é estável durante 1 mês quando armazenada num dispensador de líquidos ou num recipiente fechado à temperatura ambiente.

Preparação de materiais necessários, mas não fornecidos

Colocar a água desionizada e o PBS 1X à temperatura ambiente antes da utilização.

Controlo de qualidade

N/A. O reagente é uma solução de lise.

Protocolo de lisagem/lisagem sem lavagem

1. Para cada amostra, etiquetar um tubo de ensaio de fundo redondo (12 × 75 mm) com a identificação adequada da amostra.
2. Seguir as instruções do fabricante do anticorpo para a coloração do sangue total.
3. Adicionar 450-1000 µl de solução de lise diluída por 50 µl de sangue total. Misturar o conteúdo do tubo com um misturador vortex.
4. Incubar durante cerca de 5-10 minutos, até que a solução turva da amostra de sangue se torne límpida.
5. Analisar imediatamente a amostra processada utilizando o citómetro de fluxo. Se a amostra corada não for adquirida imediatamente, armazenar a 2-8 °C no escuro e analisar no prazo de 24 horas.

Protocolo de lisagem/lavagem

1. Para cada amostra, etiquetar um tubo de ensaio de fundo redondo (12 × 75 mm) com a identificação adequada da amostra.
2. Seguir as instruções para a coloração de anticorpos no sangue total.
3. Adicionar 1000 µl de solução de lise diluída por 50 µl de sangue total. Misturar o conteúdo do tubo com um misturador vortex.
4. Incubar durante cerca de 5-10 minutos, até que a solução turva da amostra de sangue se torne límpida.
5. Centrifugar o tubo durante 5 minutos a 300 g.
6. Decantar o sobrenadante e voltar a suspender o sedimento com 0,2 - 0,5 ml de PBS 1X.
7. Analisar imediatamente a amostra processada utilizando o citómetro de fluxo. Se a amostra corada não for adquirida imediatamente, armazenar a 2-8 °C no escuro e analisar no prazo de 24 horas.

Análise de citometria de fluxo

O citómetro de fluxo selecionado para utilização com o dispositivo EXCELLYSE Easy deve ser calibrado por rotina utilizando microesferas fluorescentes para garantir uma sensibilidade estável dos detetores, de acordo com as instruções do fabricante do citómetro.

Se não for feita uma manutenção adequada, o citómetro de fluxo pode produzir resultados falsos.

Consultar as especificações do fabricante do citómetro para lasers e detetores de fluorescência, 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 da amostra corada. A tensão num detetor PMT deve ser suficientemente elevada para que o mínimo de eventos corados negativamente interfira com o canal 0 no eixo de fluorescência. Além disso, a tensão do detetor PMT não deve exceder os valores nos quais os eventos positivos sejam pressionados para o eixo direito.

Compensar os sinais de fluorescência entre detetores antes ou depois da aquisição de dados. Os dados podem ser interpretados de forma incorreta se os sinais de fluorescência forem compensados de forma inadequada ou se as portas forem posicionadas de forma incorreta.

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

Dados representativos

Figura 1 Gráfico de pontos de densidade bidimensional que mostra os aglomerados de leucócitos do sangue periférico da amostra processada por EXCELLYSE Easy Lise/sem lavagem analisada no citómetro BD FACSCanto™ II.

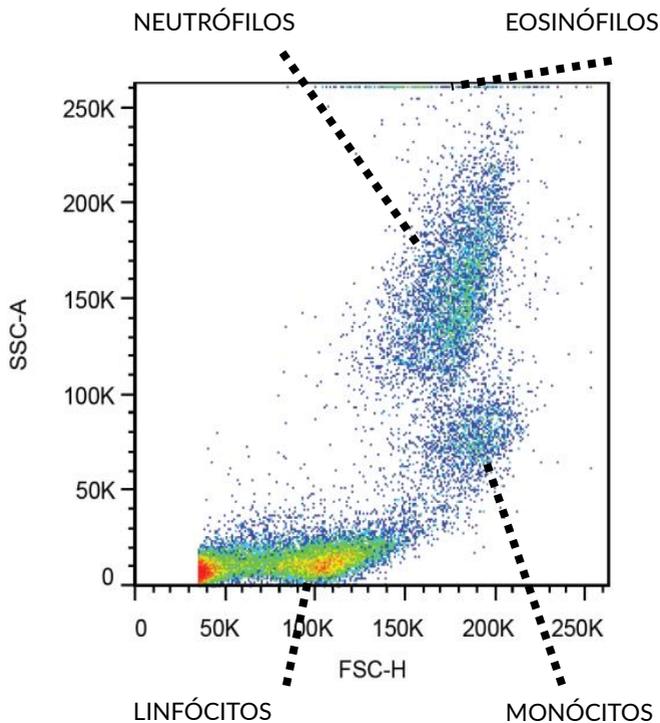


Figura 2 Perfil de coloração do sangue total corado com anticorpo marcado com PerCP anti-CD45, processado com o protocolo de lise/sem lavagem e analisado no citômetro BD FACSCanto™ II.

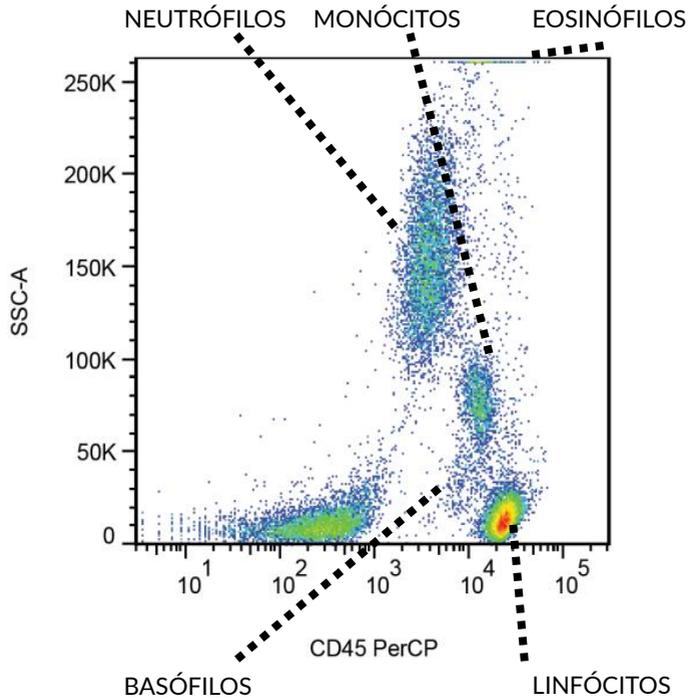


Figura 3 Gráfico de pontos de densidade bidimensional que mostra os aglomerados de leucócitos do sangue periférico da amostra processada EXCELLYSE Easy Lise/lavagem analisada no citômetro BD FACSCanto™ II.

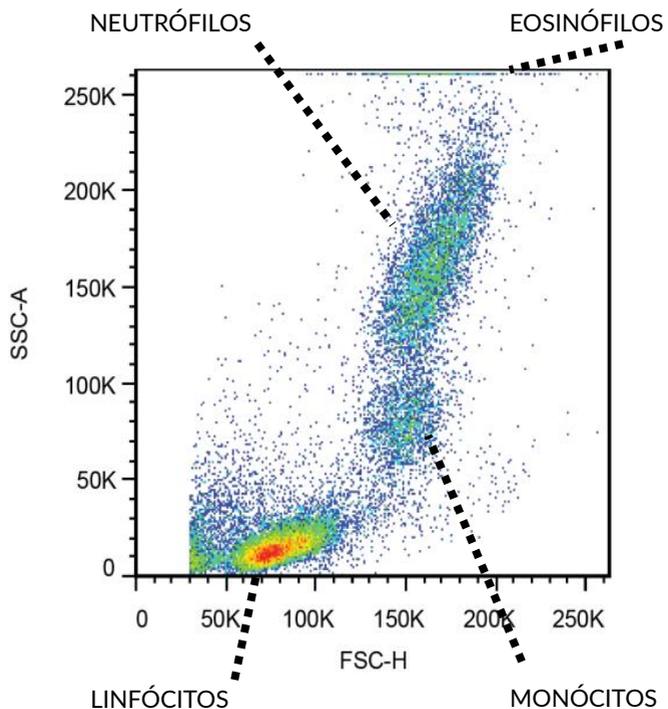
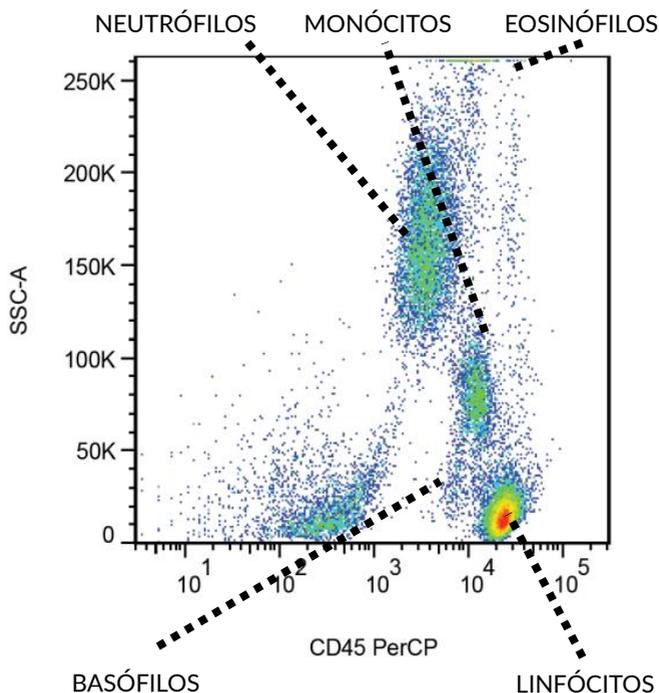


Figura 4 Perfil de coloração do sangue total corado com anticorpo marcado com PerCP anti-CD45, processado com o protocolo de lise/lavagem e analisado no citômetro BD FACSCanto™ II.



Cálculo e interpretação dos resultados analíticos

N/A O reagente é uma solução de lise.

11. Desempenho analítico

O desempenho do dispositivo foi caracterizado pela recuperação de glóbulos brancos, pela estabilidade da amostra no tempo após o seu processamento e pela variabilidade de tubo para tubo das contagens de linfócitos T, B e NK identificadas e enumeradas com o dispositivo CE IVD ED7735 KOMBITEST B/NK Cell 4-color.

Recuperação de glóbulos brancos

As amostras anticoaguladas com EDTA (n=13) e Heparina (n=5) foram processadas utilizando EXCELLYSE Easy e analisadas no modo de pré-diluição do analisador hematológico automático SYSMEX XN1000. A recuperação foi determinada como o rácio entre a contagem de leucócitos na amostra processada e a contagem de leucócitos no sangue total antes da lise.

As amostras pseudoprocessadas (não lisadas, não centrifugadas, diluídas com PBS)

foram analisadas em paralelo.

Tabela 1 Recuperação de leucócitos em amostras de sangue processadas pelo EXCELLYSE Easy

	Recuperação de leucócitos	
	Média (%)	SD (%)
Sem lavagem		
EDTA	94	5
Heparina	95	2
Pseudoprocessado	94	3
Lavagem		
EDTA	93	4
Heparina	94	3
Pseudoprocessado	97	2

Estabilidade da contagem de leucócitos no tempo após o processamento da amostra

As amostras anticoaguladas com EDTA (n=9) e Heparina (n=5) foram processadas com EXCELLYSE Easy. As contagens de leucócitos foram analisadas imediatamente no modo de pré-diluição do analisador hematológico automático SYSMEX XN1000 e novamente após 24 horas de armazenamento (durante a noite) num frigorífico. A alteração é comunicada como percentagem (%) de aumento ou redução.

Tabela 2 Alteração das contagens de leucócitos entre amostras processadas EXCELLYSE Easy analisadas imediatamente e após 24 horas de armazenamento

	Variação relativa da contagem de leucócitos	
	Média (%)	SD (%)
Sem lavagem		
EDTA	-1	2
Heparina	-1	3
Lavagem		
EDTA	0	5
Heparina	2	2

Estabilidade da contagem de linfócitos T, B e NK no tempo após o processamento da amostra

As amostras anticoaguladas com EDTA (n=1) e Heparina (n=1) foram coradas em hexacamadas utilizando o dispositivo CE IVD ED7735 KOMBITEST B/NK Cell 4-color e processadas com EXCELLYSE Easy. As análises de citometria de fluxo das percentagens de linfócitos T, B e NK foram analisadas imediatamente no citômetro de fluxo BD FACSCanto™ II e novamente após 24 horas de armazenamento (durante a noite) num frigorífico. As contagens e o CV (%) são indicados para ambas as medições.

Tabela 3 Percentagens de linfócitos T, B e NK em amostras EXCELLYSE Easy processadas analisadas imediatamente e após 24 horas de armazenamento

	Frequência de linfócitos (%)					
	CD3		CD16+56		CD19	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
Sem lavagem						
Análise imediata da heparina	75,2	0,3	13,3	0,9	8,2	2,2
Heparina após 24 horas	78,2	0,9	12,2	5,7	8,4	3,5
Análise imediata com EDTA	85,3	0,6	7,6	1,7	3,5	1,7
EDTA após 24 horas	87,8	0,5	7,0	4,1	3,5	5,0
Lavagem						
Análise imediata da heparina	75,1	0,4	14,6	0,7	8,5	2,0
Heparina após 24 horas	76,2	0,4	13,9	2,4	8,6	2,4
Análise imediata com EDTA	85,5	0,2	9,8	0,6	3,0	4,0
EDTA após 24 horas	85,5	0,2	9,8	0,6	3,0	4,0

Repetibilidade (variabilidade de tubo para tubo)

A repetibilidade foi medida como a variabilidade de tubo para tubo das contagens relativas de linfócitos T, B e NK. As contagens dos subconjuntos de linfócitos foram identificadas através da coloração do sangue total com o reagente de 4 cores (CE IVD ED7735 KOMBITEST B/NK Cell 4-color). Hexaplicados de amostras anticoaguladas com EDTA (n=5) e heparina (n=5) foram processados com os protocolos EXCELLYSE Easy com e sem lavagem e analisados nos citômetros Beckmann Coulter DxFLEx e BD FACSCanto™ II.

Tabela 4 Variação de tubo para tubo das contagens de linfócitos T, B e NK em amostras processadas com EXCELLYSE Easy e analisadas no citômetro BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II	Frequência de linfócitos (%)					
	CD3		CD16+56		CD19	
	Intervalo	CV (%)	Intervalo	CV (%)	Intervalo	CV (%)
Sem lavagem						
Heparina	73 - 80	0,6	8 - 19	2,7	7 - 13	2,5
EDTA	58 - 75	0,7	11 - 28	2,2	4 - 19	3,1
Lavagem						
Heparina	58 - 77	0,5	9 - 31	2,0	4 - 20	1,7
EDTA	77 - 81	0,5	8 - 20	2,2	7 - 14	2,1

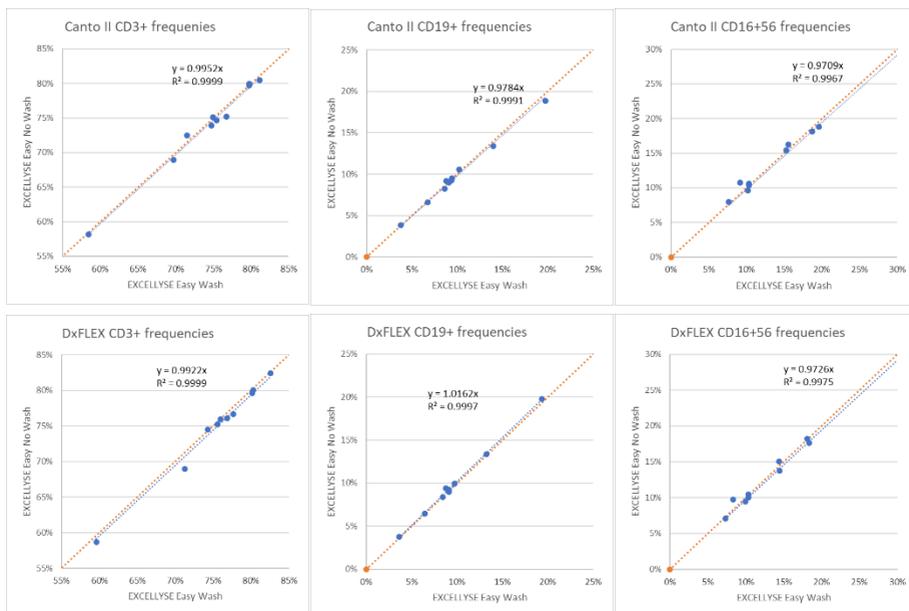
Tabela 5 Variação de tubo para tubo da contagem de linfócitos T, B e NK em amostras processadas com EXCELLYSE Easy e analisadas no citômetro Beckmann Coulter DxFLEx

DxFLEx	Frequência de linfócitos (%)					
	CD3		CD16+56		CD19	
	Intervalo	CV (%)	Intervalo	CV (%)	Intervalo	CV (%)
Sem lavagem						
Heparina	75 - 82	0,6	7 - 18	2,3	6 - 13	3,2
EDTA	59 - 77	0,6	10 - 28	1,5	4 - 20	2,3
Lavagem						
Heparina	74 - 83	0,3	7 - 18	2,0	6 - 13	2,6
EDTA	60 - 78	0,5	8 - 30	1,7	4 - 19	2,4

Correlação entre os protocolos sem lavagem e com lavagem

Hexaplicados de espécimes anticoagulados com EDTA (n=5) e heparina (n=5) foram corados com o reagente de 4 cores (CE IVD ED7735 KOMBITEST B/NK Cell 4-color processado com os protocolos EXCELLYSE Easy com e sem lavagem. As amostras foram analisadas imediatamente nos citômetros Beckmann Coulter DxFLEX e BD FACSCanto™ II.

Figura 5 Comparação das contagens relativas de células T, células B e células NK em amostras processadas com EXCELLYSE Easy com lavagem versus procedimento sem lavagem. As amostras foram analisadas em citômetros BD FACSCanto™ II (fila superior) e Beckmann Coulter DxFLEX (fila inferior).



Reprodutibilidade

N/A

12. Desempenho clínico

N/A. O reagente é uma solução de lise. Não produz resultados que possam ser correlacionados com uma condição clínica específica ou um processo fisiológico ou patológico.

13. Valores esperados

N/A. O reagente é uma solução de lise.

14. Limitações

O protocolo de lavagem apresenta uma menor recuperação de leucócitos devido à centrifugação e à decantação do sobrenadante.

A utilização de aspiração a vácuo para a remoção do sobrenadante pode causar uma perda imprevisível de células e uma variação na recuperação de leucócitos.

15. Referências

N/A

16. Utilização de marcas comerciais de terceiros

BD FACSCanto™ II e FlowJo™ são marcas comerciais registadas da Becton, Dickinson and Company, Sysmex™ é uma marca comercial registada da Sysmex Corporation, VenturiOne® é uma marca comercial registada da Applied Cytometry, Infinicyt™ é uma marca comercial registada da Cytognos S.L..

17. Histórico de revisões

Versão 7, ED7066_IFU_v7

Alteração do volume da solução de lise diluída no passo número 3 da secção 10. Procedimento (protocolo de lisagem/sem lavagem) de 450 µl para 450-1000 µl. Esquema das instruções alterado, textos adaptados para cumprir o regulamento IVD. Foram acrescentados mais pormenores sobre o desempenho do dispositivo.

18. Informações de contacto

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

Informações de contacto

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

19. Representantes autorizados

N/A

AVISO: qualquer incidente grave ocorrido em ligação com o dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e à autoridade local competente.