

exbio

EXCELLYSE Easy
100 ml | Cat. N° ED7066



Instrucciones de uso (ES)

Versión: ED7066_IFU_v7_ES
Fecha de emisión: 15-02-2023

Símbolos utilizados en el etiquetado del dispositivo

	Producto sanitario para diagnóstico IN VITRO		Mantener apartado de la luz del sol
	Marca CE		Mantener seco Mantener alejado de la lluvia
	Fabricante		Contenido
	Identificador único de dispositivo		Precaución
	Consulte las instrucciones de uso		Solución concentrada (10x)
	Número de catálogo		
	Código de lote		
	Fecha de caducidad		
	Límite de temperatura		

1. Objetivo previsto

EXCELLYSE Easy es una solución de lisis diseñada para la lisis de glóbulos rojos y la fijación de glóbulos blancos después de la tinción de sangre periférica humana total con anticuerpos conjugados con fluorocromos, previa al análisis por citometría de flujo.

Qué se detecta y/o mide

N/A. El reactivo es una solución de lisis.

Función del dispositivo

N/A. El reactivo es una solución de lisis diseñada para procedimientos de diagnóstico in vitro relacionados con el análisis por citometría de flujo.

Contexto de un estado fisiológico o patológico

N/A. El reactivo es una solución de lisis.

Tipo de ensayo

N/A. El reactivo es una solución de lisis.

Tipo de muestra requerida

Muestra de sangre periférica humana anticoagulada.

Población sometida a pruebas

N/A. El reactivo es una solución de lisis.

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

N/A. El reactivo es una solución de lisis que provoca la lisis hipotónica de los glóbulos rojos, preservando los glóbulos blancos para el análisis por citometría de flujo.

4. Reactivo(s) suministrado(s)

Contenido

El dispositivo EXCELLYSE Easy es suficiente para 2000 reacciones en el procedimiento de lisis sin lavado o 1000 reacciones en el procedimiento de lisis con lavado de muestras de sangre y se suministra con los siguientes reactivos:

1 frasco (100 ml) que contiene una solución concentrada 10X.

5. Materiales necesarios pero no proporcionados

Tubos de ensayo de fondo redondo (12 x 75 mm)

Agua desionizada (de calidad reactiva)

Solución salina tamponada con 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)

Anticuerpos primarios/secundarios adecuados, marcados con colorante fluorescente

6. Equipamiento necesario

Pipeta automática con puntas desechables (50 - 1000 μl) para pipetear muestras y reactivos

Dispensador de líquidos o pipeta con puntas desechables (0,2 - 0,5 ml) para dispensar PBS

Probetas graduadas para medir el volumen de agua desionizada y del reactivo EXCELLYSE Easy, necesarios para la preparación de la solución de lisis en su concentración de trabajo (1X)

Centrífuga

Mezclador vórtex

Citómetro de flujo

7. Almacenamiento y manipulación

Almacenar a 2-25 °C.

Evitar la exposición prolongada a la luz.

No congele.

Consulte la sección 10 Procedimiento (Preparación de reactivos) para obtener información sobre la estabilidad en uso y la vida útil después de abrirlo por primera vez, junto con las condiciones de almacenamiento y la estabilidad de las soluciones de trabajo (cuando corresponda).

8. Advertencias, precauciones y limitaciones de uso

Clasificación de peligrosidad del SGA

ADVERTENCIA: EXCELLYSE Easy (ED7066) contiene 2,2-oxibisetanol (n.º CAS 111-46-6), formaldehído (n.º CAS -50000-) y metanol (n.º CAS -67561-) en concentraciones clasificadas como peligrosas.

Elementos de etiquetado	Palabra de señal
	Peligro
	
Frases H	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. H371 Puede provocar daños en los órganos. H373 Puede provocar daños en los riñones tras exposiciones prolongadas o repetidas en caso de ingestión. H302+H312+H332 Nocivo en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación.
Frases P	P201 Pedir instrucciones especiales antes del uso. P260 No respirar los vapores. P264 Lavarse las manos y partes expuestas del cuerpo concienzudamente tras la manipulación. P280 Llevar guantes/gafas/máscara de protección. P362+P364 Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. P301+P312 EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico si la persona se encuentra mal. P302+P352 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante agua y jabones.

	P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado. P308+P313 EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Consultar a un médico. P314 Consultar a un médico en caso de malestar. P333+P313 En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
--	---

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 del reactivo suministrado es el de un líquido transparente. No use el reactivo si observa algún cambio en el 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

Utilice sangre venosa periférica recogida en recipiente para muestras clasificado como dispositivo médico, con anticoagulante EDTA o heparina.

10. Procedimiento

Preparación de reactivo(s) suministrado(s)

El reactivo debe alcanzar la temperatura ambiente antes de su uso.

El reactivo tiene una concentración 10X y debe diluirse con agua desionizada antes de usarlo (1 volumen de la solución concentrada y 9 volúmenes de agua

desionizada). Tras la primera apertura, el reactivo conserva sus características de rendimiento hasta la fecha de caducidad si se conserva en las condiciones indicadas en su envase primario original.

La solución de lisis diluida (1X) es estable durante 1 mes si se conserva en un dispensador de líquidos o en un recipiente cerrado a temperatura ambiente.

Preparación de materiales necesarios pero no suministrados

Lleve el agua desionizada y el PBS 1X a temperatura ambiente antes de su uso.

Control de calidad

N/A. El reactivo es una solución de lisis.

Protocolo de lisis sin lavado

1. Para cada muestra, etiquete un tubo de ensayo de fondo redondo (12 × 75 mm) con la identificación correspondiente.
2. Siga las instrucciones del fabricante del anticuerpo para la tinción de sangre total.
3. Añada 450-1000 µl de la solución de lisis diluida por cada 50 µl de sangre total. Mezcle el contenido del tubo con un mezclador vortex.
4. Incube durante 5-10 minutos, hasta que la solución turbia de la muestra sanguínea se vuelva transparente.
5. Analice la muestra inmediatamente en un citómetro de flujo. Si la muestra teñida no se va a analizar de inmediato, almacene a 2-8 °C en la oscuridad y analícela en un plazo de 24 horas.

Protocolo de lisis con lavado

1. Para cada muestra, etiquete un tubo de ensayo de fondo redondo (12 × 75 mm) con la identificación correspondiente.
2. Siga las instrucciones para la tinción de sangre total con anticuerpos.
3. Añada 1000 µl de la solución de lisis diluida por cada 50 µl de sangre total. Mezcle el contenido del tubo con un mezclador vortex.
4. Incube durante 5-10 minutos, hasta que la solución turbia de la muestra sanguínea se vuelva transparente.
5. Centrifugue el tubo durante 5 minutos a 300 g.
6. Decante el sobrenadante y resuspenda el pellet con 0,2 – 0,5 ml de PBS 1X.
7. Analice la muestra inmediatamente en un citómetro de flujo. Si la muestra teñida no se va a analizar de inmediato, almacene a 2-8 °C en la oscuridad y

analícela en un plazo de 24 horas.

Análisis por citometría de flujo

El citómetro de flujo seleccionado para su uso con el dispositivo EXCELLYSE Easy 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.

Compense las señales de fluorescencia entre los detectores antes o después de la adquisición de datos. Los datos pueden interpretarse de manera incorrecta si las señales de fluorescencia no se compensan bien o si las ventanas de adquisición se colocan mal.

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™).

Datos representativos

Figura 1 Diagrama de puntos de densidad bidimensional que muestra agrupaciones de leucocitos en sangre periférica de una muestra procesada con EXCELLYSE Easy utilizando el protocolo de lisis sin lavado, analizada en el citómetro BD FACSCanto™ II.

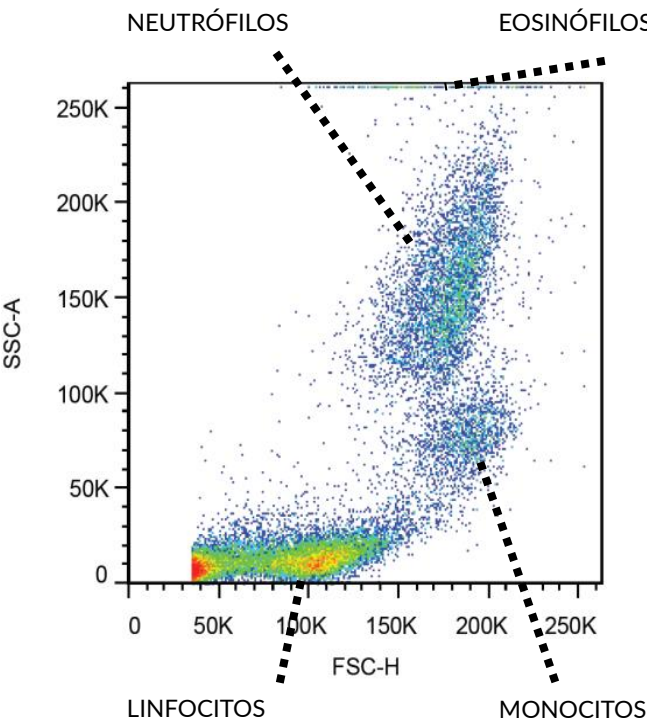


Figura 2 Perfil de tinción de sangre total teñida con anticuerpo anti-CD45 marcado con PerCP, procesada con el protocolo de lisis sin lavado y analizada en el citómetro BD FACSCanto™ II.

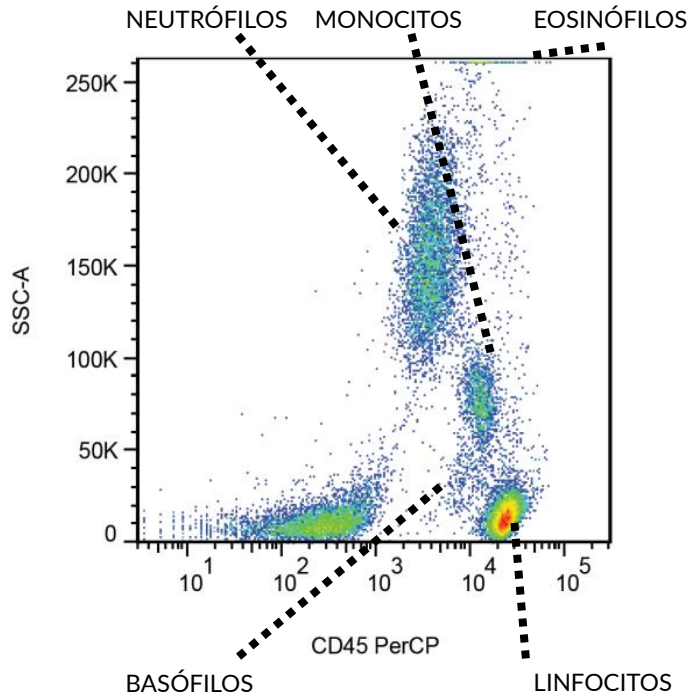


Figura 3 Diagrama de puntos bidimensional que muestra agrupaciones de leucocitos en sangre periférica de una muestra procesada con EXCELLYSE Easy utilizando el protocolo de lisis con lavado, analizada en el citómetro BD FACSCanto™ II.

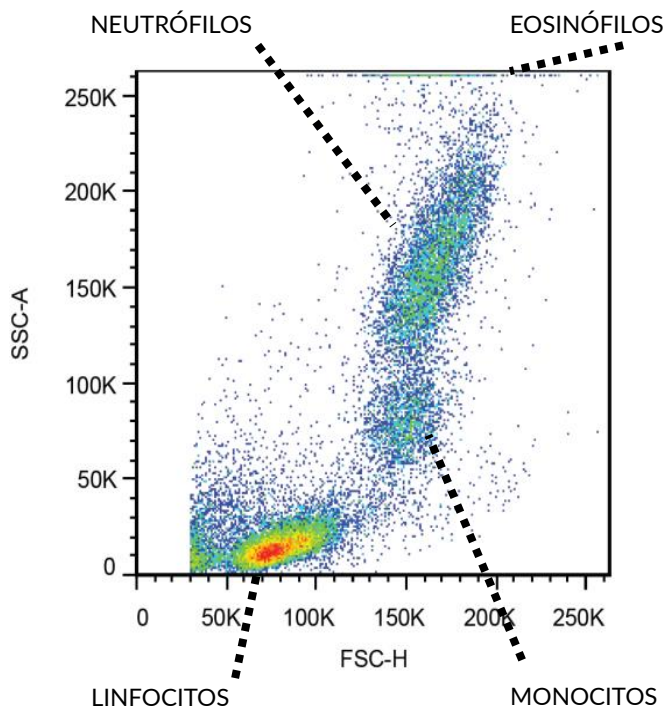
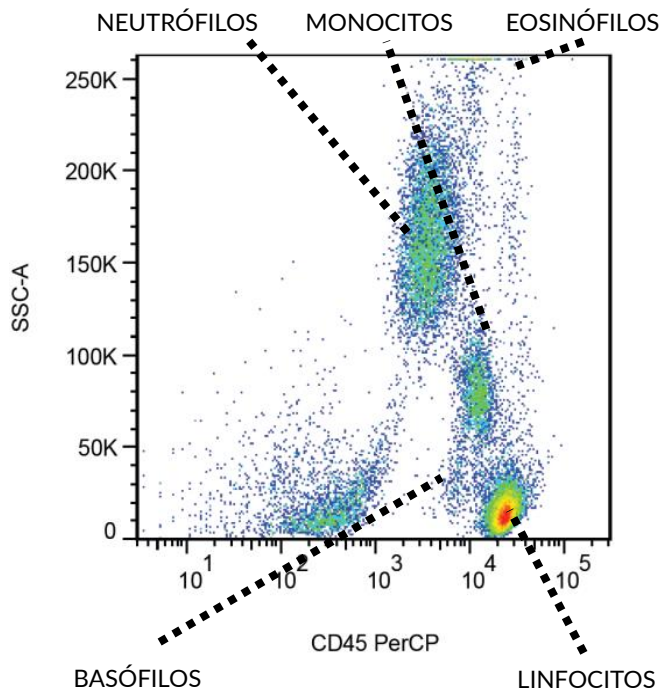


Figura 4 Perfil de tinción de sangre total teñida con anticuerpo anti-CD45 marcado con PerCP, procesada con el protocolo de lisis con lavado y analizada en el citómetro BD FACSCanto™ II.



Cálculo e interpretación de resultados analíticos

N/A El reactivo es una solución de lisis.

11. Rendimiento analítico

El rendimiento del dispositivo fue caracterizado en función de la recuperación de leucocitos, la estabilidad temporal de la muestra tras el procesamiento y la variabilidad entre tubos (repetibilidad) en el conteo de linfocitos T, B y NK, identificados y enumerados con el dispositivo CE IVD ED7735 KOMBITEST B/NK Cell 4-color.

Recuperación de leucocitos

Muestras anticoaguladas con EDTA (n=13) y heparina (n=5) fueron procesadas con EXCELLYSE Easy y analizadas en modo de predilución en el analizador hematológico automatizado SYSMEX XN1000. La recuperación fue determinada como la proporción del conteo de leucocitos en la muestra procesada respecto al conteo en sangre total antes de la lisis.

Se analizaron en paralelo muestras pseudo-procesadas (no lisadas, no centrifugadas, diluidas con PBS).

Tabla 1 Recuperación de leucocitos en muestras de sangre procesadas con EXCELLYSE Easy

	Recuperación de leucocitos	
	Media (%)	DE (%)
Sin lavado		
EDTA	94	5
Heparina	95	2
Pseudoprocados	94	3
Con lavado		
EDTA	93	4
Heparina	94	3
Pseudoprocados	97	2

Estabilidad del recuento de leucocitos en el tiempo tras el procesamiento de la muestra

Las muestras anticoaguladas con EDTA (n=9) y heparina (n=5) se procesaron con EXCELLYSE Easy. Los conteos de leucocitos se analizaron inmediatamente en el modo de predilución del analizador hematológico automatizado SYSMEX XN1000 y de nuevo después de 24 horas de almacenamiento refrigerado. El cambio se indica como porcentaje (%) de aumento o disminución.

Tabla 2 Variación del conteo de leucocitos entre las muestras procesadas con EXCELLYSE Easy analizadas inmediatamente y después de 24 horas de almacenamiento

	Cambio relativo en el conteo de leucocitos	
	Media (%)	DE (%)
Sin lavado		
EDTA	-1	2
Heparina	-1	3
Con lavado		
EDTA	0	5
Heparina	2	2

Estabilidad del conteo de linfocitos T, B y NK tras el procesamiento de la muestra

Las muestras anticoaguladas con EDTA (n=1) y Heparina (n=1) se tiñeron por sextuplicado utilizando el reactivo CE IVD ED7735 KOMBITEST B/NK Cell 4-color y se procesaron con EXCELLYSE Easy. Los análisis de citometría de flujo de los porcentajes de linfocitos T, B y NK se realizaron inmediatamente en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II y después de 24 horas de almacenamiento refrigerado. Se indican los recuentos y el CV (%) para ambas mediciones.

Tabla 3 Porcentajes de linfocitos T, B y NK en muestras procesadas con EXCELLYSE Easy analizadas inmediatamente y después de 24 horas de almacenamiento

	Frecuencia de linfocitos (%)					
	CD3		CD16+56		CD19	
	Media	CV (%)	Media	CV (%)	Media	CV (%)
Sin lavado						
Análisis inmediato de heparina	75,2	0,3	13,3	0,9	8,2	2,2
Heparina después de 24 horas	78,2	0,9	12,2	5,7	8,4	3,5
Análisis inmediato de EDTA	85,3	0,6	7,6	1,7	3,5	1,7
EDTA después de 24 horas	87,8	0,5	7,0	4,1	3,5	5,0
Con lavado						
Análisis inmediato de heparina	75,1	0,4	14,6	0,7	8,5	2,0
Heparina después de 24 horas	76,2	0,4	13,9	2,4	8,6	2,4
Análisis inmediato de EDTA	85,5	0,2	9,8	0,6	3,0	4,0
EDTA después de 24 horas	85,5	0,2	9,8	0,6	3,0	4,0

Repetibilidad (variabilidad entre tubos)

Se midió la repetibilidad como variabilidad entre tubos en los conteos relativos de linfocitos T, B y NK. Los recuentos de subconjuntos de linfocitos se identificaron mediante tinción de sangre total con reactivo de 4 colores (CE IVD ED7735 KOMBITEST B/NK Cell 4-color). Se procesaron sextuplicados de muestras anticoaguladas con EDTA (n=5) y heparina (n=5) con los protocolos de EXCELLYSE Easy con y sin lavado, y analizadas en los citómetros Beckmann Coulter DxFLEx y BD FACSCanto™ II.

Tabla 4 Variación entre tubos de los conteos de linfocitos T, B, NK en muestras procesadas con EXCELLYSE Easy y analizadas en el citómetro BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II	Frecuencia de linfocitos (%)					
	CD3		CD16+56		CD19	
	Intervalo	CV (%)	Intervalo	CV (%)	Intervalo	CV (%)
Sin lavado						
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
Con lavado						
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

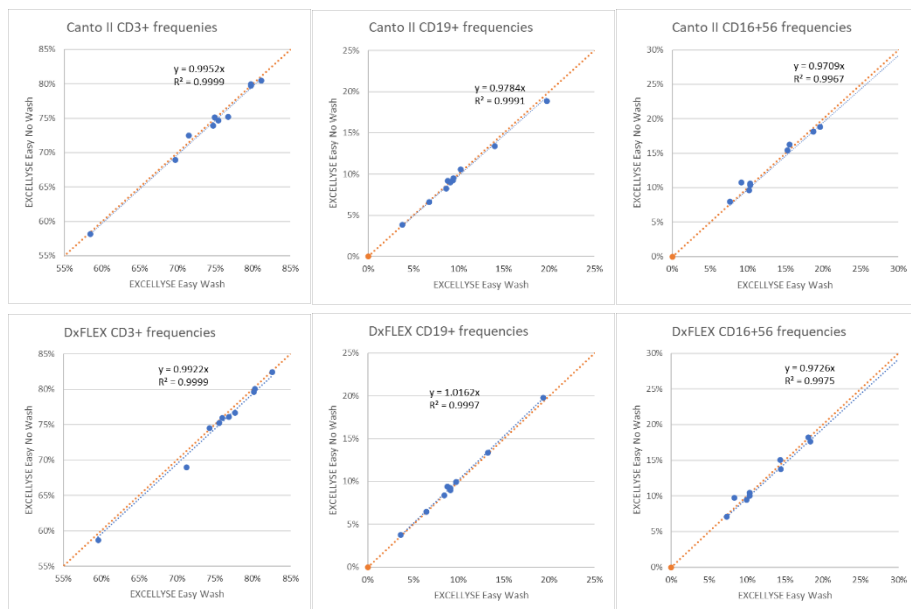
Tabla 5 Variación entre tubos de los conteos de linfocitos T, B, NK en muestras procesadas con EXCELLYSE Easy y analizadas en el citómetro Beckmann Coulter DxFLEx

DxFLEx	Frecuencia de linfocitos (%)					
	CD3		CD16+56		CD19	
	Intervalo	CV (%)	Intervalo	CV (%)	Intervalo	CV (%)
Sin lavado						
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
Con lavado						
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

Correlación entre los protocolos de no lavado y lavado

Se tiñeron sextuplicados de muestras anticoaguladas con EDTA (n=5) y heparina (n=5) con el reactivo de 4 colores (CE IVD ED7735 KOMBITEST B/NK Cell 4-color) y procesadas con los protocolos de EXCELLYSE Easy con y sin lavado. Las muestras se analizaron inmediatamente en los citómetros Beckmann Coulter DxFLEx y BD FACSCanto™ II.

Figura 5 Comparación de los recuentos relativos de células T, B y NK en muestras procesadas con los protocolos de EXCELLYSE Easy con y sin lavado. Las muestras se analizaron en los citómetros BD FACSCanto™ II (fila superior) y Beckmann Coulter DxFLEx (fila inferior).



Reproducibilidad

N/A.

12. Rendimiento clínico

N/A. El reactivo es una solución de lisis. No produce resultados que puedan correlacionarse con una condición clínica o un proceso fisiológico/patológico específico.

13. Valores previstos

N/A. El reactivo es una solución de lisis.

14. Limitaciones

El protocolo con lavado presenta una menor recuperación de leucocitos debido a la centrifugación y eliminación del sobrenadante.

El uso de aspiración al vacío para retirar el sobrenadante puede provocar pérdidas celulares impredecibles y variabilidad en la recuperación de leucocitos.

15. Referencias

N/A

16. Uso de marcas comerciales de terceros

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

17. Historial de revisiones

Versión 7, ED7066_IFU_v7

Se modificó el volumen de solución de lisis diluida en el paso 3 de la sección 10. Procedimiento (protocolo de lisis sin lavado) de 450 µl a 450-1000 µl. Se actualizó el diseño del IFU y se adaptaron los textos para cumplir con la normativa IVD. Se añadieron detalles adicionales sobre el rendimiento del dispositivo.

18. Fabricante

EXBIO Praha, a.s.
Nad Safinou II 341
25250 Vestec
Czech Republic

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.