

exbio

EXCELLYSE I

100 ml | Cat. N.º ED7065
















Instruções de utilização (PT)

Versão: ED7065_IFU_v7_PT

Data de emissão: 20-01-2023

Símbolos utilizados na rotulagem do dispositivo

	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro		Manter afastado da luz solar
	Marcação CE de conformidade		Manter seco Manter afastado da chuva
	Fabricante		Conteúdo
	Identificador Único do Dispositivo		Marcação UKCA
	Consultar as instruções de utilização		
	Número de catálogo		
	Código do lote		
	Data limite de utilização		
	Limite de temperatura		

1. Utilização prevista

EXCELLYSE I é uma solução de lise, destinada à lise de glóbulos vermelhos e à fixação de glóbulos brancos após 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 I é suficiente para lisar 1000 amostras de sangue e é fornecido com o(s) seguinte(s) reagente(s):

1 frasco (100 ml) contendo a solução pronta a utilizar.

5. Materiais necessários, mas não fornecidos

Tubos de ensaio de fundo redondo de 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 μl - 100 μl) para pipetar amostras e reagentes

Dispensador de líquidos ou pipeta com pontas descartáveis (1,0 ml - 3,0 ml) para dispensar água desionizada

Misturador Vortex

Centrifugadora

Citómetro de fluxo

7. Armazenamento e manuseamento

Armazenar a 2-25 °C.

Evitar a exposição prolongada à luz.



Não congelar.

Consultar a Secção 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 I (ED7065) contém 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	<p>H302 Nocivo por ingestão.</p> <p>H315 Provoca irritação cutânea.</p> <p>H317 Pode provocar uma reação alérgica cutânea.</p> <p>H319 Provoca irritação ocular grave.</p> <p>H335 Pode provocar irritação das vias respiratórias.</p> <p>H341 Suspeito de provocar defeitos genéticos.</p> <p>H350 Pode provocar cancro.</p>
Frases P	<p>P201 Obter instruções especiais antes da utilização.</p> <p>P264 Lavar bem as mãos e as partes expostas do corpo após o manuseamento.</p> <p>P280 Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular.</p> <p>P301+P312 EM CASO DE INGESTÃO: caso sinta indisposição, contacte um médico.</p> <p>P302+P352 EM CASO DE CONTACTO COM A PELE: lavar abundantemente com água e sabão.</p> <p>P305+P351+P338 EM CASO DE 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.</p> <p>P308+P313 Em caso de exposição ou de preocupação: obter aconselhamento/cuidados médicos.</p> <p>P333+P313 Em caso de irritação ou erupção cutânea: consultar um médico.</p> <p>P362+P364 Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.</p>

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.

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.

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 de 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 100 µl de solução de lise por 50 µl de sangue total. Misturar o conteúdo do tubo com um misturador vortex.

4. Incubar durante 2-5 minutos à temperatura ambiente.
5. Adicionar 1 ml de água desionizada ao tubo, misturar bem e incubar durante cerca de 5-10 minutos, até a solução turva da amostra de sangue ficar límpida.
6. 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 de 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 100 µl de solução de lise por 50 µl de sangue total. Misturar o conteúdo do tubo com um misturador vortex.
4. Incubar durante 2-5 minutos à temperatura ambiente.
5. Adicionar 3 ml de água desionizada ao tubo, misturar bem e incubar durante cerca de 5-10 minutos, até a solução turva da amostra de sangue ficar límpida.
6. Centrifugar o tubo durante 5 minutos a 300 g.
7. Decantar o sobrenadante e voltar a suspender o sedimento com 0,2 - 0,5 ml de PBS 1X.
8. 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 I 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 Diagrama de pontos de densidade bidimensional que mostra os aglomerados de leucócitos do sangue periférico da amostra processada pelo EXCELLYSE I lise/sem lavagem analisada no citômetro BD FACSCanto™ II.

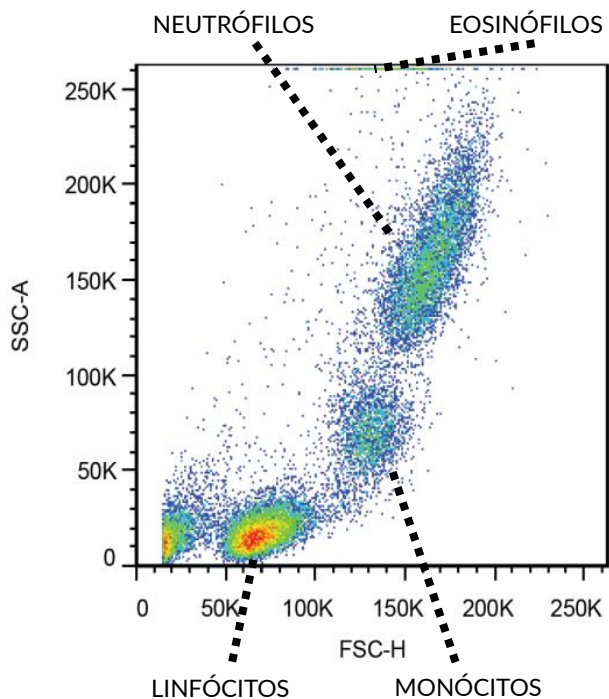


Figura 2 Perfil de coloração do sangue total corado com anticorpo marcado com PerCP anti-CD45, processado com o protocolo de lise/sem lavagem e analisado no citômetro BD FACSCanto™ II.

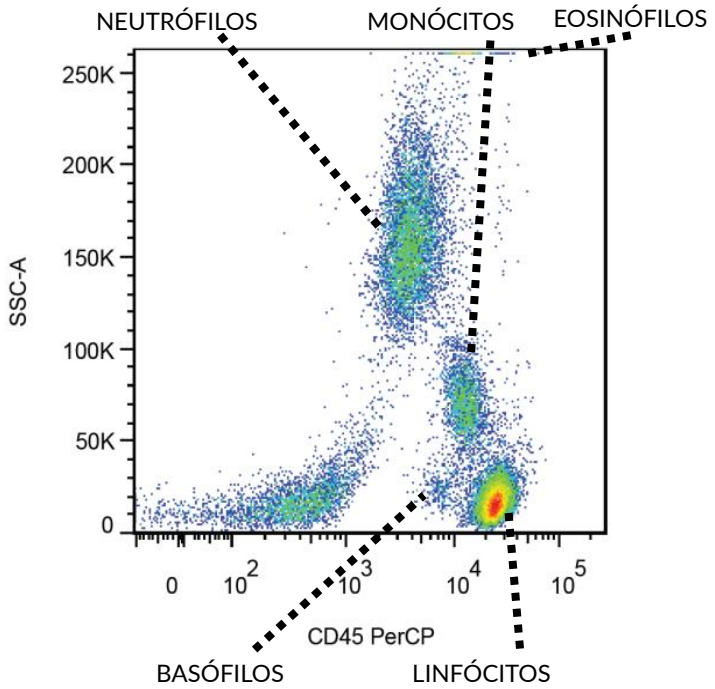


Figura 3 Diagrama de pontos de densidade bidimensional que mostra os aglomerados de leucócitos do sangue periférico da amostra processada pelo EXCELLYSE I lise/lavagem analisada no citômetro BD FACSCanto™ II.

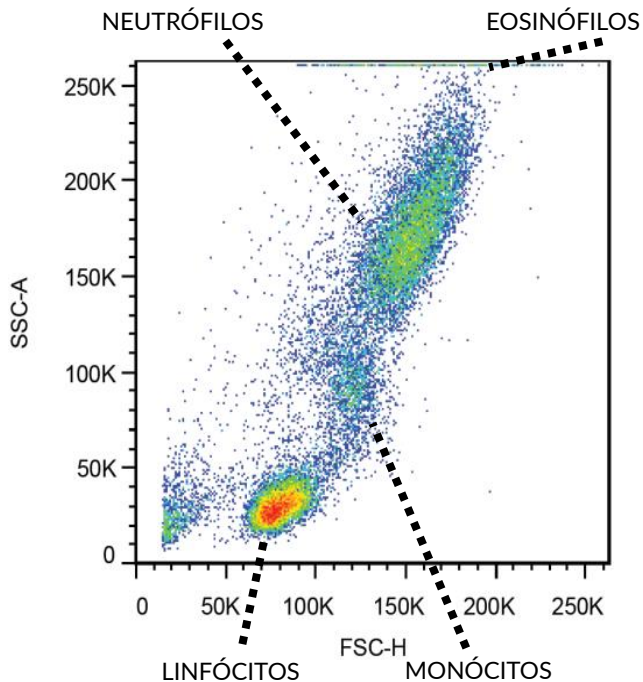
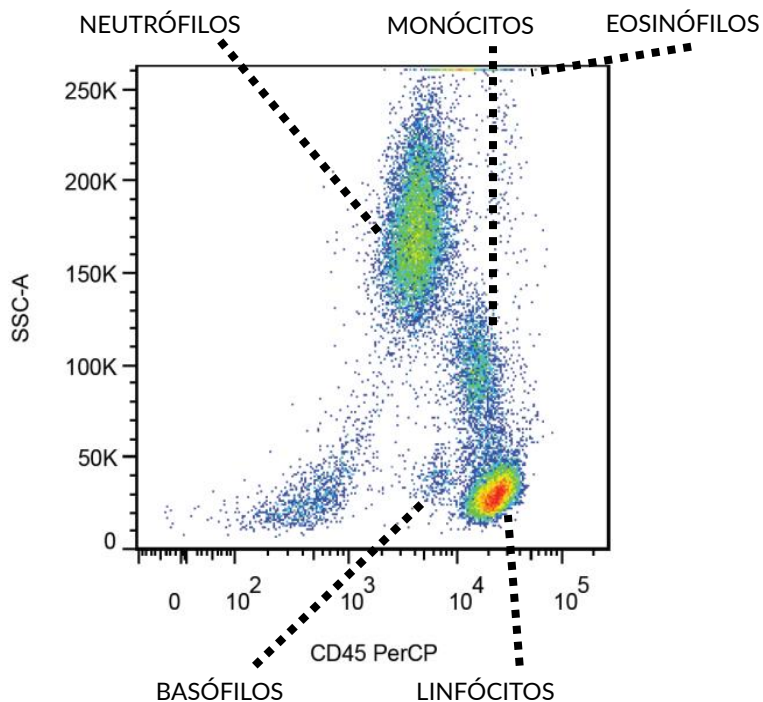


Figura 4 Perfil de coloração do sangue total corado com anticorpo marcado com PerCP anti-CD45, processado com o protocolo de lise/lavagem e analisado no citômetro BD FACSCanto™ II.



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 com EXCELLYSE I 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 I

	Recuperação de leucócitos	
	Média (%)	SD (%)
Sem lavagem		
EDTA	96	6
Heparina	94	9
Pseudoprocessado	95	2
Lavagem		
EDTA	87	5
Heparina	78	6
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 I. 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 por EXCELLYSE I analisadas imediatamente e após 24 horas de armazenamento

	Variação relativa da contagem de leucócitos	
	Média (%)	SD (%)
Sem lavagem		
EDTA	-3	4
Heparina	3	8
Lavagem		
EDTA	1	2
Heparina	-1	3

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 hexaplicado utilizando o dispositivo CE IVD ED7735 KOMBITEST B/NK Cell 4-color e processadas com EXCELLYSE I. 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 processadas pelo EXCELLYSE I 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	75,1	0,3	13,5	1,4	8,3	1,5
Heparina após 24 horas	76,4	0,4	12,9	1,4	8,5	1,5
Análise imediata com EDTA	85,8	0,3	8,2	2,1	3,3	2,3
EDTA após 24 horas	86,3	0,6	8,1	3,7	3,3	3,9
Lavagem						
Análise imediata da heparina	77,1	0,3	13,6	1,3	8,4	1,8
Heparina após 24 horas	78,0	1,2	13,3	4,2	8,1	5,5
Análise imediata com EDTA	86,7	0,4	9,1	3,1	2,5	3,2
EDTA após 24 horas	87,7	0,3	8,3	2,5	2,5	5,7

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 protocolos EXCELLYSE I com e sem lavagem e analisados nos citômetros Beckmann Coulter DxFLEX e BD FACSCanto™ II.

Tabela 4 Variação tubo a tubo das contagens de linfócitos T, B e NK em amostras processadas com EXCELLYSE I 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	71 - 81	0,4	8 - 19	2,3	7 - 14	2,0
EDTA	59 - 75	0,7	11 - 29	2,0	4 - 19	2,3
Lavagem						
Heparina	72 - 81	0,5	8 - 20	2,0	7 - 14	2,2
EDTA	60 - 77	0,6	9 - 29	2,3	4 - 19	3,1

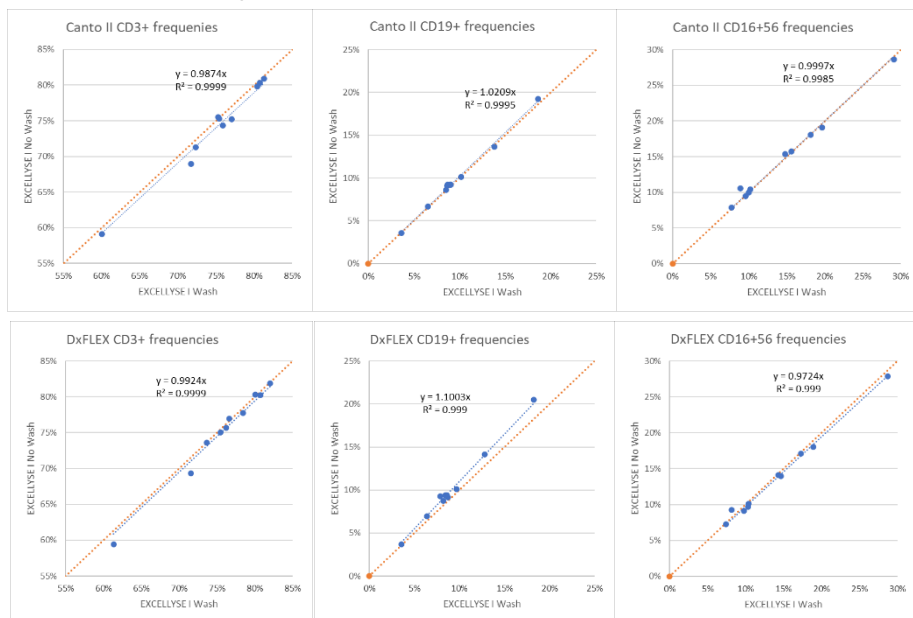
Tabela 5 Variação de tubo para tubo das contagens de linfócitos T, B e NK em amostras processadas com EXCELLYSE I e analisadas no citômetro Beckmann Coulter DxFLEX

DxFLEX	Frequência de linfócitos (%)					
	CD3		CD16+56		CD19	
	Intervalo	CV (%)	Intervalo	CV (%)	Intervalo	CV (%)
Sem lavagem						
Heparina	74 - 82	0,5	7 - 18	3,5	7 - 14	3,1
EDTA	59 - 78	0,6	9 - 28	2,1	4 - 21	3,6
Lavagem						
Heparina	74 - 82	0,4	7 - 19	1,6	6 - 13	2,6
EDTA	61 - 78	0,6	8 - 29	2,1	4 - 18	2,2

Correlação entre os protocolos sem lavagem e com lavagem

Hexaplicados de amostras anticoaguladas 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 I com e sem lavagem. As amostras foram analisadas imediatamente nos citômetros Beckmann Coulter DxFLX e BD FACSCanto™ II.

Figura 5 Comparação das contagens relativas de células T, células B e células NK em amostras processadas com o procedimento de lavagem EXCELLYSE I versus nenhum procedimento de lavagem. As amostras foram analisadas em citômetros BD FACSCanto™ II (fila superior) e Beckmann Coulter DxFLX (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, ED7065_IFU_v7

Esquema das instruções alterado, textos adaptados para cumprir o regulamento IVD. Foram acrescentados mais pormenores sobre o desempenho do dispositivo.

18. Fabricante

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

Pessoa responsável no Reino Unido

Sysmex UK Ltd

Sysmex House

Garamonde Drive

Wymbush

Milton Keynes

MK8 8DF

Reino Unido

☎ +44 (0)333 3203460

✉ info@sysmex.co.uk

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