

SÍMBOLOS

IVD Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

LOT Código/número do lote

 Limite de temperatura

 Atenção, consultar os documentos em anexo

EC REP Representante autorizado na Comunidade Europeia

 Não reutilizar

REF Número de catálogo

 Utilizar até AAAA-MM-DD

 Data de fabrico

 Fabricante

 Consultar as instruções de utilização

STERILE | R Estéril, radiação

 Atenção

UTILIZAÇÃO

O CellSave Preservative Tube destina-se à colheita e preservação de células epiteliais circulantes (células tumorais) em sangue total, para fins de quantificação e fenotipagem.

INDICAÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Os tubos CellSave Preservative Tubes podem ser utilizados para monitorizar as células epiteliais circulantes (células tumorais), contribuindo para o acompanhamento de doentes com cancro.

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

Os tubos CellSave são tubos de colheita de sangue por vácuo que contêm anticoagulante EDTA e um conservante celular. O sistema de vácuo permite realizar uma colheita de aproximadamente 10 mL de sangue. O interior do tubo é estéril. Os tubos CellSave destinam-se a ser utilizados em conjunto com instrumentos da Menarini Silicon Biosystems.

PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

Os tubos CellSave são tubos de colheita de sangue por vácuo que se destinam a ser utilizados com o equipamento de flebotomia padrão para colheita de sangue venoso. O tubo contém 300 µL de uma solução que contém Na₂EDTA e um conservante celular. O EDTA absorve os iões de cálcio, evitando a coagulação do sangue. O conservante preserva a morfologia e a expressão do antígeno de superfície das células epiteliais. Cada tubo é evacuado para permitir a colheita de 10,0 mL de sangue total venoso se forem seguidos os procedimentos de flebotomia padrão.

LIMITAÇÕES

- O volume da colheita de sangue varia consoante a altitude, temperatura ambiente, pressão barométrica, utilização do tubo, pressão venosa e técnica de enchimento.
- As amostras devem ser processadas no espaço de 96 horas após a colheita.
- Para a análise de células raras utilizando o CELLTRACKS ANALYZER II®, verifique a integridade da amostra conforme descrito no Guia do Utilizador do CELLTRACKS ANALYZER II®.

PRECAUÇÕES

- O armazenamento dos tubos a uma temperatura igual ou inferior a 0 °C poderá fazer com que os mesmos se partam.
- Não retire a tampa de borracha enrolando-a com o polegar. Para retirar as tampas rode-as e puxe.
- Não utilize os tubos se verificar a existência de matérias estranhas.
- Siga as precauções universais. Use luvas, batas, proteção ocular e outro equipamento de proteção pessoal, bem como controlos técnicos para se proteger contra salpicos e fugas de sangue e da potencial exposição a agentes patogénicos transportados no sangue.
- Todos os materiais de vidro podem partir-se. Examine todos os materiais de vidro para verificar a existência de danos antes de os utilizar e tome as medidas de precaução necessárias durante o seu manuseamento.
- Manuseie todas as amostras biológicas e instrumentos afiados de colheita de sangue (lancetas, agulhas, adaptadores Luer e conjuntos de colheita de sangue) conforme as políticas e procedimentos da sua instituição. Obtenha os cuidados médicos apropriados em caso de exposição a amostras biológicas (por exemplo, através de uma lesão por punção), uma vez que são passíveis de transmitir hepatites vírais, VIH (SIDA) ou outras doenças infecciosas. Caso seja fornecido, utilize sempre o protector de agulhas usadas integrado no dispositivo de colheita de sangue. A Menarini Silicon Biosystems não recomenda que se coloquem novas proteções nas agulhas usadas. No entanto, as políticas e procedimentos da sua instituição poderão diferir e devem ser sempre seguidos.
- Elimine quaisquer instrumentos afiados de colheita de sangue em recipientes para resíduos de risco biológico devidamente aprovados.
- Não se recomenda a transferência de uma amostra colhida através de uma seringa e agulha. A manipulação adicional de instrumentos afiados, tais como agulhas de ponta oca, aumenta o potencial de lesões por picadas de agulha.

9. A transferência de amostras de uma seringa para um tubo CellSave através de um dispositivo sem elementos afiados deverá ser efectuada com cuidado pelas razões descritas abaixo. Pressionar o êmbolo da seringa durante a transferência pode criar pressão positiva, deslocando abruptamente a tampa e a amostra e provocando salpicos e potencial exposição ao sangue. Utilizar uma seringa para transferir sangue pode igualmente causar o sub ou sobre-enchimento dos tubos, resultando numa proporção sangue/aditivo incorrecta e em resultados analíticos potencialmente incorrectos. Os tubos CellSave destinam-se a ser utilizados na colheita de um volume específico. O enchimento fica concluído quando o sistema de vácuo termina a colheita, embora alguns tubos possam encher parcialmente devido à resistência do êmbolo quando cheios a partir de uma seringa.

10. Se a colheita de sangue for realizada através de uma linha intravenosa, certifique-se de que a linha não contém vestígios de solução I.V. antes de começar a encher os tubos CellSave.

11. O sub ou sobre-enchimento dos tubos causará uma proporção sangue/aditivo incorrecta e poderá resultar em resultados analíticos incorrectos.

12. Cuidado: as amostras devem ser transportadas e armazenadas a temperaturas de 15–30 °C. A refrigeração das amostras antes do processamento poderá ter efeitos adversos na integridade das amostras.

13. **AVISO:** Este reagente contém Imidazolidinil Ureia. De seguida descrevem-se as advertências de Perigo e de Prudência:¹

H317 Pode provocar uma reacção alérgica cutânea.

Prevenção:

P261 Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerosóis.

P272 A roupa de trabalho contaminada não deverá sair do local de trabalho.

P280 Usar luvas de protecção.

Resposta:

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

P362 + P364 Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.

Eliminação:

P501 Eliminar o conteúdo/recipiente numa instalação de tratamento de resíduos aprovada.

Para obter mais informações consulte a Ficha de Segurança que está disponível em www.cellsearchctc.com

Prevenção contra refluxo

Uma vez que o CellSave Preservative Tube contém aditivos, é importante evitar o potencial refluxo do tubo, aliado à possibilidade de reacções adversas. Para prevenir o refluxo, observe as precauções seguintes:

1. Coloque o braço do doente numa posição descendente.
2. Segure o tubo com a tampa na parte superior.
3. Liberte o torniquete assim que o sangue começar a fluir.
4. Certifique-se de que a solução dentro do tubo não toca na tampa nem na extremidade da agulha durante a venipunctura.

ARMAZENAMENTO

- Armazene os tubos a 4–30 °C. Não utilize se o aditivo não estiver transparente e incolor. Não utilize após o fim do prazo de validade.
- **Transporte ou armazene as amostras a temperaturas de 15–30 °C. Poderá ser necessário o devido isolamento em caso de transporte sob condições climáticas extremas.**

PROCEDIMENTO

Material fornecido

CellSave Preservative Tubes. Contêm: 300 µL de solução contendo 4,6% de Na₂EDTA e 36% de conservante celular, 0,36% de polietilenoglicol, 0,46% de ingredientes inerentes.

Material necessário, mas não fornecido

Aguilhas e adaptadores para colheita de sangue, toalhetes humedecidos com álcool, torniquete

1. Efectue a venipunctura conforme o procedimento H3-A6 do CLSI, *Procedure for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture* (Procedimento de colheita de amostras de sangue para diagnóstico por venipunctura). Utilize os tubos CellSave primeiro no caso de necessitar de vários tipos de tubos.
2. Encha o tubo até que o fluxo de sangue termine.
3. Retire o tubo do adaptador e inverta-o suavemente 8 vezes para misturar. A inversão do tubo impede a coagulação. Uma homogeneização inadequada ou retardada poderá resultar em resultados de testes imprecisos.
4. Processe a amostra no espaço de 96 horas após a colheita. Armazene as amostras a temperaturas de 15–30 °C.

DESEMPENHO

Recuperação

A recuperação foi avaliada enriquecendo as amostras com um número reduzido de células tumorais (0, 50, 100 e 200 células/7,5 mL) e um número elevado de células tumorais (0, 100, 1000 e 10 000 células/7,5 mL). Foi efectuada uma colheita de sangue de 5 dadores normais nos tubos CellSave, tendo sido depois enriquecido com células SKBR-3 (uma linha celular de cancro da mama). As amostras foram processadas e coradas com um corante de ácido nucleico, anti-CD45-APC e anti-CK-PE, utilizando o Sistema de processamento de amostras semi-automatizado CELLPREP™, e analisadas utilizando o citómetro de fluxo FACS Calibur com microesferas, de modo a permitir o cálculo da contagem absoluta das células. Para a experiência que envolveu o enriquecimento com um número reduzido de células tumorais, a equação de regressão foi $y=0,8x+4,7$ e o coeficiente de correlação foi $R^2=0,98$. Para a experiência que envolveu o enriquecimento com um número elevado de células tumorais, a equação de regressão foi $y=0,9x+6,2$ e o coeficiente de correlação foi $R^2=0,99$.

Tabela 1. Dados da recuperação para o enriquecimento com um número reduzido e elevado de células tumorais SKBR-3

Dador	Enriq. n.º reduzido			Enriq. n.º elevado				
	0	50	100	200	0	100	1000	10 000
A	2	31	89	164	2	84	876	8259
B	2	44	97	141	4	74	775	8185
C	5	51	92	175	1	75	880	9342
D	1	46	81	153	2	118	846	8030
E	4	52	82	181	2	106	959	9014
Média	3	45	88	163	2	91	867	8566
% de Recuperação	89,3%	88,2%	81,4%		91,3%	86,7%	85,7%	

Substâncias interferentes

Foi efectuada uma colheita de sangue de 5 dadores normais nos tubos com EDTA e CellSave, tendo sido depois enriquecido com aproximadamente 800 células SKBR-3. Os tubos CellSave foram enriquecidos com substâncias potencialmente interferentes (hemólise 5+, lipémia 1,94–2,04% de gordura emulsificada, ictericia 7,0 mg/dL) para determinar o efeito na recuperação e quantificação das células tumorais. As amostras duplicadas foram processadas utilizando o Sistema de processamento de amostras semi-automatizado CELLPREP™ e analisadas utilizando o cítrometro de fluxo FACS Calibur. As amostras de sangue total com hemólise, lipémia e ictericia colhidas no tubo CellSave não interferem com a recuperação e quantificação das células tumorais.

Tabela 2. Recuperação das células tumorais enriquecidas em 7,5 mL de sangue total

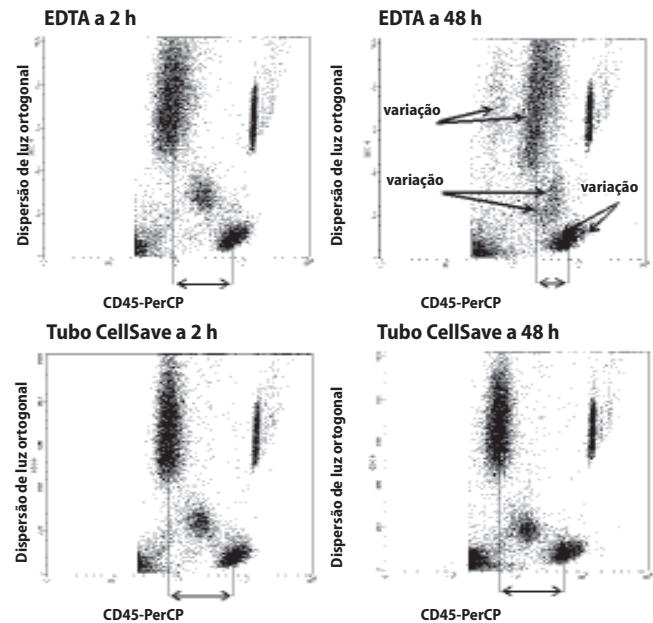
Dador	Controlo EDTA			Controlo CellSave		
	N.º de células Recuperadas	N.º de células Enriquecidas	% Recuperação	N.º de células Recuperadas	N.º de células Enriquecidas	% Recuperação
A1	452	828	55%	388	696	56%
A2	445	828	54%	486	696	70%
B1	802	749	107%	689	696	99%
B2	711	749	95%	690	696	99%
C1	580	771	75%	289	716	40%
C2	451	771	58%	272	716	38%
D1	571	771	74%	552	716	77%
D2	642	771	83%	636	716	89%
E1	610	771	79%	526	716	73%
E2	541	771	70%	535	716	75%
Média	581		75%	506		72%
DP	117		17%	150		22%

Dador	CellSave, Hemólise			CellSave, Lipémia			CellSave, Ictericia		
	N.º de células Recuperadas	N.º de células Enriquecidas	% Recuperação	N.º de células Recuperadas	N.º de células Enriquecidas	% Recuperação	N.º de células Recuperadas	N.º de células Enriquecidas	% Recuperação
A1	482	696	69%	664	696	95%	638	696	92%
A2	502	696	72%	691	728	95%	612	728	84%
B1	514	696	74%	748	696	107%	678	696	97%
B2	571	696	82%	712	696	102%	679	696	98%
C1	499	716	70%	568	716	79%	561	716	78%
C2	470	716	66%	599	716	84%	514	716	72%
D1	582	716	81%	628	716	88%	651	716	91%
D2	551	716	77%	549	716	77%	589	716	82%
E1	571	716	80%	620	716	87%	554	716	77%
E2	499	716	70%	620	716	87%	584	716	82%
Média	524		74%	640		90%	606		85%
DP	41		6%	63		10%	55		9%

Conservação de抗énios para fenotipagem

A capacidade de distinguir entre as diferentes populações de células é claramente afectada pela idade da amostra no momento da análise, excepto se a amostra for conservada. A conservação dos leucócitos é indicativa da qualidade da amostra ao efectuar-se a análise das células tumorais circulantes. A Figura 1 mostra um exemplo típico da densidade do antígeno CD45 nas diferentes populações de células da colheita de sangue efectuada com um tubo com EDTA padrão e o tubo CellSave. O sangue foi analisado no espaço de 2 horas após a colheita, procedimento que se repetiu aproximadamente 48 horas após a colheita. O grau de separação entre linfócitos e granulócitos é indicado pelo comprimento das barras horizontais no eixo X de cada um dos gráficos. A separação entre ambas as populações de células degrada-se com o tempo utilizando o tubo com EDTA. A separação mantém-se com o tubo CellSave. As setas que apontam para as populações de linfócitos, monócitos e granulócitos indicam a variação destas populações de células devido ao envelhecimento das amostras de sangue. Assim, torna-se mais difícil distinguir estas populações de células.

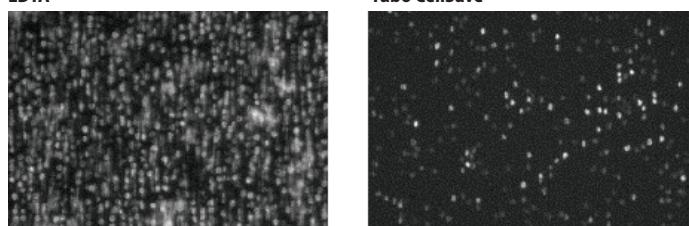
Figura 1. Separação de aglomerados de células durante o envelhecimento do sangue colhido com os tubos com EDTA e CellSave.



Qualidade da amostra

A qualidade da amostra é importante para a detecção adequada de células epiteliais raras. A integridade dos leucócitos em amostras de sangue enriquecidas imunomagneticamente para células epiteliais com o Sistema CELLPREP™ é um excelente indicador desta qualidade. A Figura 2 mostra imagens de coloração nuclear (DAPI) de amostras de sangue colhidas em tubos com EDTA e CellSave que foram processadas após 24 horas utilizando um Sistema CELLPREP™. As imagens foram obtidas através de uma objectiva de 10x num microscópio fluorescente. Enquanto a amostra colhida no tubo com EDTA apresenta uma abundância de material nuclear, a amostra colhida no tubo CellSave apresenta apenas objectos redondos (leucócitos).

Figura 2. Coloração nuclear de leucócitos nos tubos com EDTA e CellSave.



CELLTRACKS ANALYZER II®, CELLSEARCH®, CELLTRACKS® e AUTOPREP® são marcas comerciais da Menarini Silicon Biosystems Inc.

Esta tecnologia, incluindo os produtos e/ou respectivos componentes associados e os procedimentos e sistemas dos instrumentos descritos neste documento estão protegidos pelas patentes dos Estados Unidos, patentes internacionais correspondentes e pedidos de patentes pendentes, incluindo um ou mais dos seguintes: Números de Patentes dos EUA 6,136,182; 6,551,843; 6,623,982; 6,790,366; 7,011,794 e 7,332,288.

BIBLIOGRAFIA

1. Safety Data Sheet according to Regulation (EC) No. 1907/2006, CellSave Preservative 20 Tubes, Version 1.1, Revision Date 2015-03-20



Menarini Silicon Biosystems Inc.
3401 Masons Mill Road, Suite 100
Huntingdon Valley, PA 19006
USA
documents.cellsearchctc.com
Telefone: 1-877-837-4339
00 8000 8374339 (EU)

EC REP Menarini Silicon Biosystems SpA
Via Giuseppe Di Vittorio 21B/3
40013 Castel Maggiore (Bologna)
Italy



outubro-2017