

exbio

KOMBITEST B/NK Cell 4-color
50 test | Kat. No. ED7735

IVD CE 2265

Kullanım Kılavuzu (TR)

Versiyon: ED7735_IFU_v2_TR

Yayın Tarihi: 03/12/2024

Cihaz etiketlemede kullanılan semboller

IVD	İn Vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz		Sıcaklık sınırı
CE 2265	CE uygunluk işareti Onaylanmış Kuruluş Kimlik Numarası		Güneş ışığından uzak tutun
	Üretici	UK CA	UKCA işareti
UDI	Benzersiz Cihaz Tanımlayıcısı		
	Kullanım talimatlarına bakın		
	İçeriği <n> test için yeterlidir		
REF	Katalog numarası		
LOT	Parti kodu		
	Son kullanma tarihi		

1. Kullanım Amacı

KOMBİTEST B/NK Cell 4-color, akış sitometrisi ile insan tam kanında lenfosit popülasyonlarının ve alt kümelerinin tespiti ve sayımı için tasarlanmıştır.

Tespit edilen ve/veya ölçülen nedir?

KOMBİTEST B/NK Cell 4-color cihazı, insan T hücrelerinin (CD3+), B hücrelerinin (CD3-CD19+) ve NK hücrelerinin (CD3-CD16+56+) bağlı yüzdelerini ve mutlak sayımlarını tespit ederek ölçer.

Cihazın işlevi

Cihaz, normal hastaların immünolojik değerlendirmesinde kullanılmak üzere tasarlanmıştır ve immün yetmezliği olan veya olduğundan şüphelenilen hastalara tanı konulmasına yardımcı olabilir.

Fizyolojik veya patolojik durumun kapsamı

Cihaz tarafından ölçülen lenfosit popülasyonu frekansları çeşitli patolojik koşullardan etkilenebilmekte olup aşağıdakilerin değerlendirilmesi açısından faydalıdır:

- Viral enfeksiyonlarda ve kalıtsal immün yetmezliklerde CD3+ T hücresi ^(1, 7)
- Otoimmün hastalıklarda CD3-/CD19+ B hücreleri ⁽²⁾
- Doğuştan gelen bağışıklıkta ve immünolojik bozukluklarda CD3-/CD16+56+ NK hücreleri ^(4, 5)

Test türü

Otomatik değil

Nicel

Gereken örnek türü

İnsan antikoagüle periferik tam kan örneği

Test popülasyonu

Belirli bir popülasyon için tasarlanmamıştır.

2. Hedef kullanıcı

Cihaz yalnızca profesyonel laboratuvar kullanımı için tasarlanmıştır. Hasta başı testler veya kendi kendine yapılan testler için uygun değildir.

Yeterliliğe ilişkin gereklilikler

Hedef kullanıcı, insan hücrelerinin akış sitometrisi analizi, pipetleme becerileri dâhil olmak üzere standart laboratuvar teknikleri, insan vücudundan elde edilen örneklerin güvenli ve uygun şekilde işlenmesi konularında son teknolojiye uygun uzmanlığa sahip olmalıdır.

Hedef kullanıcı EN ISO 15189 standardına veya varsa diğer ulusal standartlara uymalıdır.

3. Test prensibi

Test prensibi, belirli insan kan hücreleri tarafından ifade edilen spesifik bir moleküle (antijen) bağlanan monoklonal antikorun tespitine dayanmaktadır. Testte kullanılan monoklonal antikorlar, antikorla boyanmış kan örneğinin alınması sırasında bir akış sitometresinden çıkan lazer ışını ile uyarılan farklı florokromlarla etiketlenir. Alınan bir kan hücresi üzerinde bulunan her florokromdan gelen sonraki floresan (ışık emisyonu) cihaz tarafından toplanır ve analiz edilir. Floresan yoğunluğu, bir hücredeki antijen ekspresyon yoğunluğuyla doğru orantılıdır ve farklı hücre alt kümelerinin birbirinden ayrılmasını sağlar.

4. Sağlanan reaktif/reaktifler

İçindekiler

KOMBITEST B/NK Cell 4-color cihazı ile 50 test yapılabilir ve aşağıdaki reaktifle birlikte sağlanır:

15 mM sodyum azit ve % 0,2 sığır serum albümini (BSA) içeren, stabilize edilmiş fosfat tamponlu salin (PBS) çözeltisi içerisinde optimum konsantrasyonlarda seyreltilmiş CD3 FITC / CD16 PE + CD56 PE / CD45 PerCP / CD19 APC fluorokrom işaretli monoklonal antikorların önceden karıştırılmış kombinasyonunu içeren 1 flakon (1 ml).

Bileşim

Tablo 1 Aktif bileşenlerin açıklaması

Antijen	Florokrom	Klon	İzotip	Konsantrasyon (µg/ml)
CD3	FITC	TB3	IgG2b	2
CD16	PE	3G8	IgG1	1,5
CD56	PE	LT56	IgG2a	1,5
CD19	APC	LT19	IgG1	2
CD45	PerCP	MEM-28	IgG1	5

5. Gereken ancak sağlanmayan malzemeler

Yuvarlak tabanlı test tüpleri (12 x 75 mm)

Eritrosit lizis solüsyonu (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., Kat. No. ED7066 veya CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, Kat. No. BD303500)

Deiyonize su (Reaktif dereceli)

Proses kontrol hücreleri (Streck CD-Chex Plus®, Kat. No. 213323 veya eşdeğer çözünebilir hücre kontrolü)

6. Gerekli ekipman

Örnek ve reaktiflerin pipetlenmesi için tek kullanımlık uçlara sahip otomatik pipet (20 - 100 µl)

Eritrosit lizis solüsyonunu dağıtmak için sıvı dispenserı veya tek kullanımlık uçlara sahip pipet (0,5 - 2 ml)

Vorteks mikser

Örnek µl'si başına beyaz kan hücresi (WBC) ve lenfosit sayımı yapabilen hematoloji analizörü (mutlak hücre sayımı için)

İki lazer eksitasyon kaynağı (488 nm ve ~635 nm), saçılan ışık için dedektörler, optik filtreler ve Tablo 2'de verilen florokromlardan sinyal toplamak için uygun emisyon dedektörlerine sahip akış sitometresi.

Tablo 2 Cihazda kullanılan florokromların spektral özelliği

Florokrom	Eksitasyon [nm]	Emisyon [nm]
FITC	488	525
PE	488	576
PerCP	488	677
APC	630 - 640	660

NOT: Cihaz, BD FACSCanto™ II (BD Biosciences), DxFLEX (Beckman Coulter) ve Sysmex XF-1600™ (Sysmex Corporation) akış sitometrelerinde test edilmiştir.

7. Depolama ve taşıma

2 - 8°C sıcaklıkta muhafaza edin.

Uzun süre ışığa maruz bırakmaktan kaçının.

Dondurmayın.

Çalışma solüsyonlarının (varsa) saklama koşulları ve stabilitesinin yanı sıra ilk açılışından sonraki Kullanım stabilitesi ve raf ömrü hakkında bilgi edinmek için Bölüm 10 Prosedür (Reaktif Hazırlama) kısmına bakın.

8. Uyarılar, önlemler ve kullanım kısıtlamaları

GHS Tehlike Sınıflandırması

Ürünün içerdiği kimyasal maddeler ve karışımların oluşturduğu riskler ve bunların nasıl ele alınması ve imha edilmesi gerektiği hakkında ayrıntılı bilgi için www.exbio.cz adresindeki ürün sayfasında yer alan Güvenlik Bilgi Formuna (SDS) bakın.

Biyolojik Tehlike

İnsan biyolojik numuneleri ve kan örnekleri ile bunlara temas eden her türlü madde her zaman bulaşıcı madde olarak kabul edilir.

Cilt, göz ve mukoza zarlarıyla temasını önlemek için kişisel koruyucu ekipman ve güvenlik ekipmanları kullanın.

Bulaşıcı maddelerin taşınması ve imha edilmesine ilişkin geçerli tüm yasa, yönetmelik ve prosedürlere uyun.

Bozulma belirtisi

Sağlanan reaktif normalde berrak bir sıvı şeklinde görünür. Görünümünde bulanıklık veya çökelme belirtileri gibi herhangi bir değişiklik olduğunu gözlemlerseniz reaktifi kullanmayın.

Kullanım kısıtlamaları

Ürün etiketlerinde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.

9. Örnek

Antikoagülan EDTA ile tıbbi cihaz olarak sınıflandırılan örnek kabına alınan venöz periferik kanı kullanın.

NOT: Toplanan kan örneğindeki WBC mutlak hücre sayısını ve lenfosit sayısını bir hematoloji analizörü ile ölçün. KOMBITEST B/NK Cell 4-color cihazı tek başına mutlak hücre sayılarının sayımını sağlamaz.

WBC sayısı 40×10^3 hücre/ μl 'yi aşan kan örneği, numunenin işlenmesinden önce PBS ile seyreltilmelidir.

Kan örneğini toplandıktan sonra en geç 24 saat içinde işleme alın. Örneği laboratuvar sıcaklığında (20–25 °C) saklayın. Örneği soğutmayın.

Endojen İnterferans

Bilimsel literatür araştırması temel alınarak endojen interferans kaynakları Tablo 3'te tanımlanmıştır.

Tablo 3 Cihazın Endojen İnterferansı

Endojen interferans	Etki	Referans
Albümin	Albümin, bağlanma ve büyük miktarlarda ligand salma kabiliyeti nedeniyle yüksek konsantrasyonlarda girişime neden olabilir.	8, 9, 10
Bilirubin (sarılık) (konjuge olmayan)	Bilirubin, yüksek otofloresansı nedeniyle hücrelerin floresan arka planını artırabilir.	11, 12, 13
Hücre debrisı (lizis sonrası)	Hücre debrisı yanlış hücre sayımlarına neden olabilir ve cihaz içindeki antikoru tüketebilir.	14, 15
Eritrositler	Yetersiz lizis, numunede bulunan kırmızı kan hücreleri hatalı hücre sayımına neden olabilir.	16
Hemoglobin	Hemolizli örnekler güvenilir olmayan sonuçlar verebilir.	17
İnsan anti-murin antikorları	Monoklonal antikor tedavisi hatalı sonuçlar verebilir (hücre yüzeyi antijenlerine bağlanma kabiliyeti).	18, 19, 20, 21, 22, 23
İmmünoglobülinler	Tek platform yönteminde yıkanamaz ve hatalı lenfosit alt küme sayısına neden olabilir.	24
Romatoid faktörler	RF'nin varlığı MIA (multipleks immünoassaylar) ile girişime neden olur.	25
Trigliseridler	Dolaşımdaki yüksek lipid seviyeleri, belirli kan hücresi popülasyonlarının akış sitometrisi analizini etkileyebilir.	26

Eksojen İnterferans

24 saatten daha eski örnekler hatalı sonuçlar verebilir.

Soğutulmuş örnekler hatalı sonuçlar verebilir.

Eritrosit çözülme solüsyonunun uygun şekilde hazırlanmaması (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., Kat. No. ED7066 veya CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, Kat. No. BD303500) hatalı sonuçlar verebilir. Eritrosit çözülme solüsyonunun kullanımı için üreticinin talimatlarını izleyin.

10. Prosedür

Sağlanan reaktifin/reaktiflerin hazırlanması

Reaktifin hazırlanması gerekmez.

Reaktifi kullanmadan önce oda sıcaklığına getirin. Cihazın birincil kabını kuru tutun.

Reaktifi doğrudan orijinal birincil kabından kullanın. Reaktifin kullanımda olduğu (ışığa ve yüksek sıcaklığa maruz kaldığı) süre günde 4 saati geçmemelidir.

İlk açılışından sonra reaktif, orijinal birincil kabında belirtilen koşullarda muhafaza edildiğinde son kullanma tarihine kadar performans özelliklerini korur.

DİKKAT: Reaktifi seyreltmeyin.

Gereken ancak sağlanmayan malzemelerin hazırlanması

Konsantre eritrosit lizis solüsyonunu üreticinin talimatlarına göre deiyonize suyla seyreltin. Seyreltilmiş (1X) eritrosit lizis solüsyonu sıvı bir dispenserde veya kapalı bir kaptaki oda sıcaklığında muhafaza edildiğinde 1 ay boyunca stabil kalır.

Kalite kontrolü

Cihazın amaçlandığı şekilde düzgün performans gösterdiğinden emin olmak için pozitif prosedürel kontrol olarak Streck CD-Chex Plus® veya eşdeğer kontrol hücrelerini kullanın. Streck CD-Chex Plus®, klinik olarak ilgili iki CD4+ hücre seviyesi dâhil olmak üzere T hücreleri, B hücreleri, granülositler, monositler ve NK hücrelerinin yüzde pozitif ve mutlak sayıları için belirlenmiş değerler sağlar.

Kontrol hücrelerini KOMBITEST B/NK Cell 4-color reaktifini kullanarak kullanım kılavuzunda belirtilen örnek işleme yöntemine göre boyayın. Elde edilen sonuçların (%Pozitif Hücreler) kullanılan kontrol hücresi lotu için bildirilen Beklenen aralıkta olduğunu doğrulayın.

Örnek boyama

1. Her bir örnek için 12 × 75 mm'lik yuvarlak tabanlı bir test tüpünü uygun örnek tanımlamasıyla etiketleyin.
2. Test tüpünün dibine 20 µl KOMBITEST B/NK Cell 4-color reaktifini pipetleyin.
3. Test tüpünün dibine 50 µl iyice karıştırılmış kan örneği pipetleyin.

DİKKAT: Test tüpünün yan tarafına kan damlatmaktan kaçının. Tüpün kenarında kan lekesi veya damlacık kalırsa reaktifle boyanmayabilir veya eritrositler çözünmeyebilir ve test sonucu doğru olmayabilir.

4. Karıştıran ve test tüpünü karanlıkta oda sıcaklığında 20 dakika boyunca inkübe edin.
5. Test tüpüne 500 µl seyreltilmiş (1X) lizis solüsyonu ekleyin.
6. Karıştıran ve test tüpünü karanlıkta oda sıcaklığında 10 dakika boyunca inkübe edin.

Boyalı örneği anında akış sitometresinden alın. Boyalı örnek hemen alınmayacaksa 2 – 8°C sıcaklıkta karanlık ortamda saklayın ve 24 saat içinde analiz edin.

DİKKAT: Topaklanmaları önlemek için akış sitometresinde görüntü almadan hemen önce boyalı örneği karıştırın.

Akış sitometrisi analizi

KOMBITEST B/NK Cell 4-color cihazı ile kullanılmak üzere seçilen akış sitometresi, sitometre üreticilerinin talimatlarına göre dedektörlerin sabit hassasiyetini sağlamak için floresan mikro boncuklar kullanılarak rutin olarak kalibre edilmelidir.

Akış sitometresinin bakımı düzgün yapılmazsa yanlış sonuçlar verebilir.

Gerekli ekipman başlıklı Bölüm 6'daki florokromların eksitasyon ve emisyon özelliklerine uygun lazerler ve floresan dedektörleri için üreticinin sitometre spesifikasyonlarına bakın.

Boyalı örnek analizinden önce ilgili floresan dedektörlerindeki gerilimleri ayarlayın. PMT dedektöründeki gerilim yeterli düzeyde yüksek ayarlanmalı, böylece en az negatif boyalı olay floresan eksenindeki 0. kanalla etkileşime girmelidir. PMT dedektörü gerilimi de pozitif olayların sağ eksene baskılandığı değerleri aşmamalıdır.

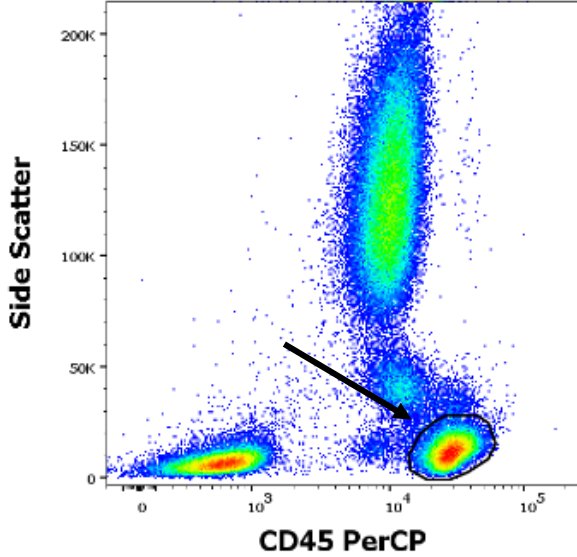
Veri toplamadan önce veya sonra dedektörler arasındaki floresan sinyallerini dengeleyin. Floresan sinyalleri yanlış dengelenirse veya geçitler yanlış konumlandırılırsa veriler yanlış yorumlanabilir.

Ölçülen veri analizi için üretici tarafından geliştirilen sitometre yazılımı veya çevrim dışı sitometri veri analizine özel yazılım (örneğin FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™) kullanılabilir.

KOMBITEST B/NK Cell 4-color boyalı örneğin veri analizi

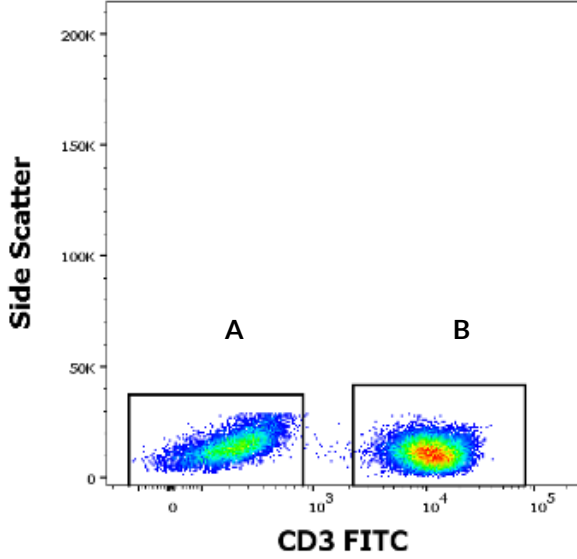
Dengelenmiş verileri yana saçılım (SSC) ve CD45 PerCP grafiğinde görselleştirin. CD45+ lenfosit popülasyonu için geçidi Şekil 1'de gösterildiği gibi ayarlayın.

Şekil 1 CD45+ lenfosit popülasyonunun grafiği
(BD FACSCanto™ II'de elde edilen veriler)



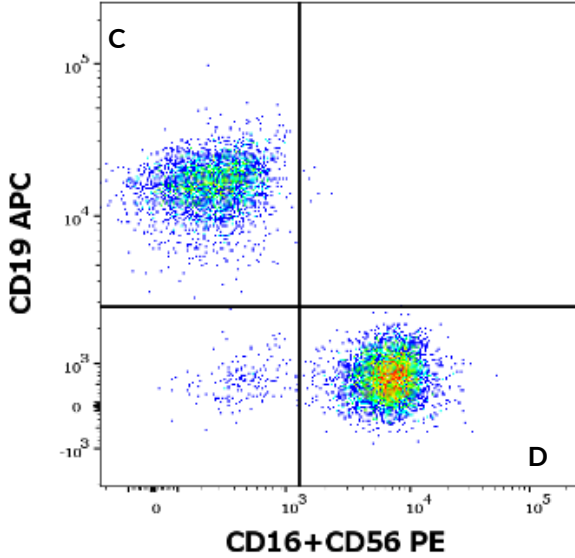
Şekil 2'de gösterildiği üzere geçitli CD45+ lenfositleri yana saçılım (SSC) ve CD3 FITC grafiğine dökün. Uygun geçitleri kullanarak CD3+ ve CD3- lenfositlerini ayırın. Tüm lenfositlerdeki T hücrelerinin (CD3+; Şekil 2'deki B bölgesi) yüzdesini hesaplayın.

Şekil 2 CD3+ ve CD3- lenfositlerinin ayrılması
(BD FACSCanto™ II'de elde edilen veriler)



Geçitli CD3- lenfositleri (Şekil 2'deki A bölgesi) Şekil 3'te gösterildiği gibi CD19 APC ve CD16+CD56 PE şeklinde grafiğe dökün. Uygun geçitleri ayarlayın ve tüm lenfositlerdeki B hücrelerinin (CD16-CD56-CD19+; Şekil 3'teki C bölgesi) ve doğal öldürücü (NK) hücrelerin (CD16+CD56+CD19-; Şekil 3'teki D bölgesi) yüzdesini hesaplayın.

Şekil 3 CD3- CD19 APC ve CD16+CD56 PE noktasal grafiğindeki lenfositler (BD FACSCanto™ II'de elde edilen veriler)



Analitik sonuçların hesaplanması ve yorumlanması

Mutlak sayılara ulaşmak amacıyla bir hematoloji analizörü tarafından belirlenen mutlak lenfosit sayısını kullanın. Hematoloji analizörü üreticisinin talimatlarına bakın. Gerekli lenfosit alt kümesinin mutlak sayımı için aşağıdaki formülleri kullanın.

$$A \times \frac{B (\%)}{100 (\%)} = \text{Gerekli lenfosit alt kümesinin mutlak sayısı}$$

A = mutlak lenfosit sayısı (hematoloji analizöründen alınan veriler; hücre/ μ l)

B = gerekli lenfosit alt kümesinin tüm lenfositlerden göreceli yüzdeleri (akış sitometresinden alınan veriler; %)

11. Analitik performans

Özgüllük

TB3 antikoruna, TCR/CD3 kompleksinin insan CD3 antijenini tanıır. Antikoronun özgüllüğü HCDM Kurulu tarafından onaylanmıştır (HLDA XI atölyesi).

3G8 antikoruna insan CD16 antijenini (düşük afiniteli immünoglobulin tip III Fc-gama reseptörü) tanıır. Antikoronun özgüllüğü HLDA atölyesi tarafından onaylanmıştır (HLDA V atölyesi ⁽⁶⁾).

LT56 antikoruna, insan CD56 antijeninin (Nöral hücre adezyon molekülü 1) lökosit izoformunu tanıır. Antikoronun özgüllüğü HCDM Kurulu tarafından onaylanmıştır (HLDA X atölyesi).

LT19 antikoruna, insan CD19 antijenini (B hücresi transmembran glikoproteini CD19) tanıır. Antikoronun özgüllüğü HCDM Kurulu tarafından onaylanmıştır (HLDA X atölyesi).

MEM-28 antikoruna, insan CD45 antijeninin (Protein tirozin fosfataz reseptörü tip C) tüm lökosit izoformlarını tanıır. Antikoronun özgüllüğü HCDM Kurulu tarafından onaylanmıştır (HLDA III atölyesi ⁽³⁾).

Doğruluk

Yöntemin doğruluğu BD FACSCanto™ II akış sitometresinde ölçülmüş ve 60 sağlıklı kan donörünün paralel boyamasıyla, KOMBITEST B/NK Cell 4-color cihazı ile, piyasadaki benzer ürün olan KOMBITEST TBNK 6-color (EXBIO, Kat. No. ED7733) karşılaştırması olarak belirlenmiştir.

Yöntemin doğruluğu, immün sistem patolojik durumu olduğundan şüphelenilen 81 hastanın paralel boyamasıyla desteklenmiştir (bkz. Tablo 5). Doğrusal regresyon analiz parametreleri Tablo 4 ve 5'te verilmiştir.

Tablo 4 Sağlıklı donörlerde lenfosit alt grupları için doğrusal regresyon analizi (KOMBITEST B/NK Cell 4-color cihazının KOMBITEST TBNK 6-color IVD ürünü ile karşılaştırması (EXBIO, Kat. No. ED7733))

Lenfosit Alt Kümesi	Birim	n	Eğim	Kesişme Noktası	R ²
CD3+	%	60	0,994	0,003	1,00
	hücre/ μ l	60	0,992	9,958	1,00
CD3-CD16+CD56+	%	60	0,995	0,001	1,00
	hücre/ μ l	60	1,010	-2,796	1,00
CD3-CD19+	%	60	1,003	0,002	1,00
	hücre/ μ l	60	1,003	3,669	0,99

n = kan örneklerinin sayısı

Tablo 5 İmmün sistem patolojik durumu olduğundan şüphelenilen hastalarda lenfosit alt grupları için doğrusal regresyon analizi (KOMBITEST B/NK Cell 4-color cihazının AQUIOS CL Akış Sitometre Sistemi - Beckman Coulter, Inc. ile karşılaştırması)

Lenfosit Alt Kümesi	Birim	n	Eğim	Kesişme Noktası	R ²
CD3+	%	81	1,042	-2,976	0,97
	hücre/ μ l	81	1,005	-0,010	1,00
CD3-CD16+CD56+	%	81	1,061	-0,626	0,98
	hücre/ μ l	81	1,078	-0,017	0,99
CD3-CD19+	%	81	1,023	-0,163	0,99
	hücre/ μ l	81	1,032	-0,006	1,00

n = kan örneklerinin sayısı

Doğrusallık

Yöntemin doğrusallığı, lökosit yönünden zenginleştirilmiş bir kan örneğinin (buffy coat) 10 seri seyreltisi üzerinde doğrulanmıştır. Hücre örnekleri, KOMBITEST B/NK Cell 4-color altı paralel tekrar halinde boyanmıştır. Örnekler, BD FACSCanto™ II akış sitometresi ve Beckman Coulter DxFLEX akış sitometresi kullanılarak analiz edilmiştir. Belirtilen lenfosit alt grupları için ölçülen verilerin, BD FACSCanto™ II kullanılarak 368 - 10634 hücre/ μ l ve Beckman Coulter DxFLEX kullanılarak 328 - 9061 hücre/ μ l lenfosit aralığında doğrusal olduğu gözlemlenmiştir. Hücre alt grupları Tablo 6 ve 7'de verilen aralıklarda yer almıştır.

Tablo 6 BD FACSCanto™ II ile analiz edilen lenfosit alt gruplarının doğrusal aralıkları

BD FACSCanto™ II	
Lenfosit Alt Kümesi	Aralık (hücre/ μ l)
CD3+	227 - 6163
CD3-CD16+CD56+	59 - 1609
CD3-CD19+	34 - 912

Tablo 7 Beckman Coulter DxFLEX ile analiz edilen lenfosit alt kümelerinin doğrusal aralıkları

Beckman Coulter DxFLEX	
Lenfosit Alt Kümesi	Aralık (hücre/ μ l)
CD3+	217 - 6051
CD3-CD16+CD56+	69 - 1669
CD3-CD19+	33 - 889

Tespit limiti/Ölçüm limiti/Tahlil Eşiği

Doğrusallık verileri, tespit limiti (LOD) ve ölçüm limitini (LOQ) belirtmek için kullanılmıştır.

Tespit limiti, her bir lenfosit alt kümesi için sıfır olmayan en düşük mutlak hücre sayısı değeri artı $3 \times SD$ (standart sapma) olarak belirtilmiştir (bkz. Tablo 8–9).

Ölçüm limiti, lenfosit alt kümesi mutlak sayımı olarak sunulan analit konsantrasyonlarının doğrusallık aralığındaki en düşük değer olarak belirtilmiştir, bu değerde altı kopyalı gruplardan gelen varyasyon katsayısı (CV) %10'u geçmemiştir ve geri kazanım %90 - %110 aralığında olmuştur (bkz. Tablo 8–9).

Tahlil sonuçları, tek bir klinik antite için benzersiz bir şekilde tanısal değildir, bu nedenle tahlil eşiği tahmin edilemez.

Tablo 8 BD FACSCanto™ II'de tespit ve ölçüm limitleri

BD FACSCanto™ II				
Lenfosit Alt Kümesi	Sıfır olmayan en düşük hücre sayısı (hücre/ μ l)	$3 \times SD$ (SD)	LOD (hücre/ μ l)	LOQ (hücre/ μ l)
CD3+	1	0,12 (0,04)	1,12	8
CD3-CD16+CD56+	3	1,2 (0,4)	4,2	21
CD3-CD19+	1	1,2 (0,4)	2,2	34

Tablo 9 Beckman Coulter DxFLEX'te tespit ve ölçüm limitleri

Beckman Coulter DxFLEX				
Lenfosit Alt Kümesi	Sıfır olmayan en düşük hücre sayısı (hücre/ μ l)	$3 \times SD$ (SD)	LOD (hücre/ μ l)	LOQ (hücre/ μ l)
CD3+	1	0,3 (0,1)	1,3	25
CD3-CD16+CD56+	1	0,3 (0,1)	1,3	23
CD3-CD19+	1	0,6 (0,2)	1,6	33

Tekrarlanabilirlik

Testin tekrarlanabilirliği on kan örneği üzerinde hekzaplikat olarak ölçülmüştür. Numuneler BD FACSCanto™ II ve Beckman Coulter DxFLEX™ akış sitometreleri kullanılarak analiz edilmiştir. Varyasyon katsayıları (CV) aşağıdaki tablolarda verilmiştir (Tablo 10-11).

Tablo 10 BD FACSCanto™ II'da cihazın tekrarlanabilirliği

BD FACSCanto™ II					
Lenfosit Alt Kümesi	Birim	n	Ortalama	SD	%CV
CD3+	%	10	66,47	0,29	0,44
	hücre/ μ l	10	1362	6,19	
CD3-CD16+CD56+	%	10	18,66	0,21	1,26
	hücre/ μ l	10	374	4,36	
CD3-CD19+	%	10	13,69	0,20	1,57
	hücre/ μ l	10	284	4,35	

n = kan örneklerinin sayısı

Tablo 11 Beckman Coulter DxFLEX'de cihazın tekrarlanabilirliği

Beckman Coulter DxFLEX					
Lenfosit Alt Kümesi	Birim	n	Ortalama	SD	%CV
CD3+	%	10	65,99	0,59	0,92
	hücre/ μ l	10	1352	11,67	
CD3-CD16+CD56+	%	10	19,08	0,44	2,44
	hücre/ μ l	10	382	8,62	
CD3-CD19+	%	10	13,55	0,34	2,59
	hücre/ μ l	10	281	6,73	

n = kan örneklerinin sayısı

Yeniden Üretilirlik

Testin tekrarlanabilirliği, Cihazın 3 partisi kullanılarak (her biri 5 gün) 15 gün boyunca aynı koşullar altında 2 stabilize kan örneği (CD-Chex Plus® ve CD-Chex Plus® CD4 Low) üzerinde ölçölmüştür. Örnekle, BD FACSCanto™ II akış sitometresi ve Beckman Coulter DxFLEX akış sitometresi kullanılarak analiz edilmiştir. Değişim katsayıları (CV) aşağıdaki tablolarda (Tablo 12 ve 13) verilmiştir.

Tablo 12 BD FACSCanto™ II'da cihazın yeniden üretilirliği

Lenfosit Alt Kümesi	Malzeme	Birim	Ortalama	SD	%CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	77,39	0,24	0,31
		hücre/ μ l	1909	5,97	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	61,38	0,55	0,90
		hücre/ μ l	891	8,04	
CD3-CD16+CD56+	CD-Chex Plus®	%	10,57	0,19	1,84
		hücre/ μ l	261	4,81	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	19,28	0,46	2,37
		hücre/ μ l	280	6,64	
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	11,20	0,13	1,13
		hücre/ μ l	276	3,12	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	17,95	0,38	2,13
		hücre/ μ l	261	5,55	

Tablo 13 Beckman Coulter DxFLEx'de cihazın yeniden üretilebilirliği

Lenfosit Alt Kümesi	Malzeme	Birim	Ortalama	SD	%CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	76,77	0,27	0,36
		hücre/ μ l	1894	6,77	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	60,53	0,38	0,62
		hücre/ μ l	878	5,45	
CD3-CD16+ CD56+	CD-Chex Plus®	%	10,83	0,21	1,96
		hücre/ μ l	267	5,23	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	19,54	0,31	1,61
		hücre/ μ l	284	4,55	
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	11,36	0,23	2,03
		hücre/ μ l	280	5,68	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	18,23	0,43	2,38
		hücre/ μ l	265	6,31	

NOT: Tüm analitik performans verileri eritrosit lizis solüsyonu EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., Kat. No. ED7066) kullanılarak ölçülmüştür.

Akış sitometrisi analizi için yazılım sürümünü içeren aşağıdaki akış sitometreleri kullanıldı:

BD FACSCanto™ II BD FACSDiva Yazılımı – sürüm 8.0.2
Beckman Coulter DxFLEx CytExpert for DxFLEx – sürüm 2.0.2.18
Sysmex XF-1600™ IPU Yazılımı – sürüm 0(0.09-00)

Mutlak hücre sayımları için aşağıdaki spesifikasyonlara sahip çift platformlu hematoloji analizörü kullanıldı:

Sysmex XN-1000™ IPU Yazılımı – sürüm 00-22(164)

Ölçülen verilerin değerlendirilmesi için aşağıdaki analiz platformu kullanıldı:
FlowJo™ (Becton, Dickinson and Company) - sürüm 10.9.0

12. Klinik performans

Prime immün yetmezliği olan hastalar

Ortak Değişken İmmün Yetmezlik (CVID) şüphesi olan 30 hastanın klinik verileri bir klinik sahada toplanmıştır. ED7735 cihazının klinik performansı, eritrosit lizis solüsyonu EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., Kat. No. ED7066) ile kullanılan KOMBİTEST B/NK Cell 4-color cihazının akredite klinik No. yöntemiyle (AQUIOS CL Flow Cytometry System - Beckman Coulter, Inc.) karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir.

Hastaların immün durum değerlendirme sonuçları immün yetmezliği bağlamında değerlendirilmiştir (Tablo 14).

Tablo 14 KOMBİTEST B/NK Cell 4-color cihazının klinik performansı – CVID hastaları

		Akredite klinik laboratuvar yöntemiyle değerlendirilen immün durum	
		İmmün yetmezliği	Normal durum
KOMBİTEST B/NK Cell 4-color cihazı tarafından değerlendirilen immün durumu	İmmün yetmezliği	23 hasta	0 hasta
	Normal durum	0 hasta	7 hasta

13. Beklenen değerler

Referans Aralığı

Tablo 15 BD FACSCanto™ II'de ölçülen sağlıklı kan donörlerinin Referans Aralıkları

Lenfosit Alt Kümesi	n	Birim	Aralık		Medyan
			Min	Min	
CD3+	60	%	57,8	87,2	73,0
	60	hücre/ μ l	766	2105	1405
CD3-CD16+CD56+	60	%	4,3	31,4	14,7
	60	hücre/ μ l	82	595	281
CD3-CD19+	60	%	2,8	23,5	10,1
	60	hücre/ μ l	61	630	184

n = kan örneklerinin sayısı

Tablo 15'teki referans aralıkları, bir kan bankasına kan donörlüğü için belirlenen katı kriterleri karşılayan ve Çek Cumhuriyeti mevzuatına göre kan donörü kabul edilen sağlıklı hastalar üzerinde oluşturulmuştur. Veriler BD FACSCanto™ II akış sitometresi ile ölçülmüştür.

Belirli referans aralıkları, değerlerin oluşturulduğu bölgeye ve popülasyona bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Bu nedenle laboratuvarlar; yaş, cinsiyet, klinik özellikler ve etnik kökene bağlı değer farklılıkları nedeniyle normal donörlerin yerel popülasyonundan KOMBİTEST B/NK Cell 4-color kullanılarak tanımlanan lenfosit alt kümeleri için kendi normal referans aralıklarını oluşturmalıdır.

14. Kısıtlamalar

KOMBİTEST B/NK Cell 4-color cihazı, heparin veya asit sitrat dekstroz (ACD) antikoagülanları ile toplanan numunelerin bağıl ve mutlak sayımlarının belirlenmesinde kullanım için onaylanmamıştır.

KOMBİTEST B/NK Cell 4-color cihazı, lösemi ve lenfoma örneklerinin taranması ve/veya fenotiplendirilmesi için tasarlanmamıştır.

Mutlak sayımlar, çeşitli üreticilerin farklı ekipmanlarını kullanan laboratuvarlar arasında karşılaştırılmaz.

15. Referanslar

- 1) Boldt, A et al. Eight-color immunophenotyping of T-, B-, and NK-cell subpopulations for characterization of chronic immunodeficiencies *Cytometry B Clin Cytom.* 2014 May;86(3):191-206. doi: 10.1002/cyto.b.21162.
- 2) Kucuksezer, U C et al. The Role of Natural Killer Cells in Autoimmune Diseases. *Front Immunol.* 2021 Feb 25;12:622306. doi: 10.3389/fimmu.2021.622306.
- 3) McMichael AJ, ed. *Leucocyte Typing III: 54 White Cell Differentiation Antigens.* New York, NY: Oxford University Press; 1987.
- 4) Orange, J S. Natural killer cell deficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2013 Sep;132(3):515-525. doi: 10.1016/j.jaci.2013.07.020.
- 5) Orange, J S. How I Manage Natural Killer Cell Deficiency. *J Clin Immunol.* 2020 Jan;40(1):13-23. doi: 10.1007/s10875-019-00711-7.
- 6) Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, et al, eds.: *Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens.* New York, NY: Oxford University Press; 1995.
- 7) van Dongen, J J M et al. EuroFlow-Based Flowcytometric Diagnostic Screening and Classification of Primary Immunodeficiencies of the Lymphoid System. *Front Immunol.* 2019 Jun 13;10:1271. doi: 10.3389/fimmu.2019.01271.
- 8) Tate J, Ward G. Interferences in immunoassay. *Clin Biochem Rev.* 2004 May;25(2):105-20. PMID: 18458713; PMCID: PMC1904417.
- 9) Selby C. Interference in immunoassay. *Ann Clin Biochem.* 1999 Nov; 36 (Pt 6):704-21. doi: 10.1177/000456329903600603. PMID: 10586307.
- 10) J Frengen, B Kierulf, R Schmid, T Lindmo, K Nustad, Demonstration and minimization of serum interference in flow cytometric two-site immunoassays, *Clinical Chemistry, Volume 40, Issue 3, 1 March 1994, Pages 420–425, https://doi.org/10.1093/clinchem/40.3.420.*
- 11) Htun NM, Chen YC, Lim B, et al. Near-infrared autofluorescence induced by intraplaque hemorrhage and heme degradation as marker for high-risk atherosclerotic plaques. *Nat Commun.* 2017;8(1):75. Published 2017 Jul 13. doi:10.1038/s41467-017-00138-x.
- 12) Haga Y, Kay HD, Tempero MA, Zetterman RK. Flow cytometric measurement of intracellular bilirubin in human peripheral blood mononuclear cells exposed to unconjugated bilirubin. *Clin Biochem.* 1992 Aug;25(4):277-83. doi: 10.1016/0009-9120(92)80033-d. PMID: 1381998.
- 13) XUE Yan, XU Li, DANG Liheng, WANG Chao, CUI Yaqiong, WANG Ping, WANG Ning, ZHANG Xinjie, LIU Yang. Interference of high levels of bilirubin on lymphocyte subset determination in peripheral blood by flow cytometry

- and its elimination methods[J]. *Laboratory Medicine*, 2022, 37(12): 1169-1173.
- 14) Higgins J, Hill V, Lau K, Simpson V, Roayaei J, Klabansky R, Stevens RA, Metcalf JA, Baseler M. Evaluation of a single-platform technology for lymphocyte immunophenotyping. *Clin Vaccine Immunol*. 2007 Oct;14(10):1342-8. doi: 10.1128/CVI.00168-07. Epub 2007 Aug 29. PMID: 17761524; PMCID: PMC2168127.
 - 15) Lam WK, Law YFW, Yip SF. Resolution of platelet count interference due to cytoplasmic fragments of leukaemic cells by flow cytometry in acute myeloid leukaemia. *Int J Lab Hematol*. 2022 Dec;44(6):983-985. doi: 10.1111/ijlh.13859. Epub 2022 May 3. PMID: 35504732.
 - 16) Hervé Lecoœur, Marie-Lise Gougeon, Comparative analysis of flow cytometric methods for apoptosis quantitation in murine thymocytes and human peripheral lymphocytes from controls and HIV-infected persons Evidence for interference by granulocytes and erythrocytes, *Journal of Immunological Methods*, Volume 198, Issue 1, 1996, Pages 87-99, ISSN 0022-1759, [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(96\)00148-2](https://doi.org/10.1016/0022-1759(96)00148-2).
 - 17) de Jonge G, Dos Santos TL, Cruz BR, Simionatto M, Bittencourt JIM, Krum EA, Moss MF, Borato DCK. Interference of in vitro hemolysis complete blood count. *J Clin Lab Anal*. 2018 Jun;32(5):e22396. doi: 10.1002/jcla.22396. Epub 2018 Feb 3. PMID: 29396875; PMCID: PMC6817011.
 - 18) Kricka LJ. Human anti-animal antibody interferences in immunological assays. *Clin Chem*. 1999 Jul;45(7):942-56. Erratum in: *Clin Chem* 2000 Oct;46(10):1722. PMID: 10388468.
 - 19) Yasmine Van Caeneghem, Stijn De Munter, Paola Tieppo, Glenn Goetgeluk, Karin Weening, Greet Verstichel, Sarah Bonte, Tom Taghon, Georges Leclercq, Tessa Kerre, Reno Debets, David Vermijlen, Hinrich Abken & Bart Vandekerckhove (2017) Antigen receptor-redirected T cells derived from hematopoietic precursor cells lack expression of the endogenous TCR/CD3 receptor and exhibit specific antitumor capacities, *Oncol Immunology*, 6:3, DOI: 10.1080/2162402X.2017.1283460.
 - 20) Lamia Achour, Mark G. H. Scott, Hamasseh Shirvani, Alain Thuret, Georges Bismuth, Catherine Labbé-Jullié, Stefano Marullo; CD4-CCR5 interaction in intracellular compartments contributes to receptor expression at the cell surface. *Blood* 2009; 113 (9): 1938–1947. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2008-02-141275>.

- 21) A. Stronkhorst, G. N. J. Tytgat & S. J. H. Van Deventer (1992) CD4 Antibody Treatment in Crohn's Disease, *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 27:sup194, 61-65, DOI: 10.3109/00365529209096029.
- 22) Zinzani, P.L., Minotti, G. Anti-CD19 monoclonal antibodies for the treatment of relapsed or refractory B-cell malignancies: a narrative review with focus on diffuse large B-cell lymphoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 148, 177–190 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00432-021-03833-x>.
- 23) Whiteman KR, Johnson HA, Mayo MF, Audette CA, Carrigan CN, LaBelle A, Zukerberg L, Lambert JM, Lutz RJ. Lorvotuzumab mertansine, a CD56-targeting antibody-drug conjugate with potent antitumor activity against small cell lung cancer in human xenograft models. *MABs*. 2014 Mar-Apr;6(2):556-66. doi: 10.4161/mabs.27756. Epub 2014 Jan 8. PMID: 24492307; PMCID: PMC3984343.
- 24) Higgins J, Hill V, Lau K, Simpson V, Roayaei J, Klabansky R, Stevens RA, Metcalf JA, Baseler M. Evaluation of a single-platform technology for lymphocyte immunophenotyping. *Clin Vaccine Immunol*. 2007 Oct;14(10):1342-8. doi: 10.1128/CVI.00168-07. Epub 2007 Aug 29. PMID: 17761524; PMCID: PMC2168127.
- 25) Bartels EM, Falbe Wätjen I, Littrup Andersen E, Danneskiold-Samsøe B, Bliddal H, Ribel-Madsen S. Rheumatoid factor and its interference with cytokine measurements: problems and solutions. *Arthritis*. 2011;2011:741071. doi: 10.1155/2011/741071. Epub 2011 Jun 22. PMID: 22046523; PMCID: PMC3200114.
- 26) van Ierssel SH, Hoymans VY, Van Craenenbroeck EM, Van Tendeloo VF, Vrints CJ, et al. (2012) Endothelial Microparticles (EMP) for the Assessment of Endothelial Function: An In Vitro and In Vivo Study on Possible Interference of Plasma Lipids. *PLOS ONE* 7(2): e31496. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031496>.

16. Güvenlik ve performans özeti

Güvenlik ve performans özeti <https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home> adresindeki Eudamed veritabanında mevcut olacaktır. O zamana kadar güvenlik ve performans özeti talep üzerine temin edilebilir.

17. Üçüncü Taraf Ticari Markaların Kullanımı

BD FACSCanto™ II, BD Multitest™ ve FlowJo™; Becton, Dickinson and Company'nin tescilli ticari markalarıdır. CD-Chex Plus®, Streck'in tescilli ticari markasıdır. CyLyse™ FX, Sysmex XN-1000™ ve Sysmex XF-1600™, Sysmex Corporation'nin tescilli ticari markalarıdır. VenturiOne®, Applied Cytometry'nin tescilli ticari markasıdır. Infinicyt™, Cytognos S.L.'nin tescilli ticari markasıdır.

18. Revizyon Geçmişi

Versiyon 2, ED7735_IFU_v2

- 1) Onaylı Kuruluş ID numarasının eklenmesi.
- 2) "Fizyolojik veya patolojik bir durum bağlamında" bölümünde metin düzeltilmesi.
- 3) Endojen ve eksojen girişim eklendi.
- 4) Doğruluk bölümünün eklenmesi.
- 5) Yeni bölüm girişi: Tespit sınırı/Tayin sınırı/Test eşiği
- 5) Bölüm 13. Beklenen değerler – ufak metin düzeltmeleri.
- 6) Referanslar güncellendi.
- 7) 16 numaralı yeni bölüm eklendi. Güvenlik ve performans özeti.

19. Üretici

EXBIO Praha, a.s.
Nad Safinou II 341
25250 Vestec
Çek Cumhuriyeti

İletişim Bilgileri

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

20. Yetkili Temsilciler

N/A

NOT: Cihaza ilişkin olarak meydana gelen herhangi bir ciddi olay üreticiye ve yerel yetkili makama bildirilmelidir.