

# exbio

DryFlowEx TBNK 6-color  
50 Tests | Kat. Nr. ED7736



## Gebrauchsanweisung (DE)

Version: ED7736\_IFU\_v2\_DE

Ausgabedatum: 13-02-2024

In der Gerätekennzeichnung verwendete Symbole

	Medizinisches Produkt für die In-vitro-Diagnose		Temperaturgrenze
	CE-Kennzeichnung		Von Sonneneinstrahlung fernhalten
	Hersteller		Vor Feuchtigkeit schützen
	Eindeutige Gerätekennung		Vorsicht
	Gebrauchsanweisung beachten		Nicht wiederverwenden
	Ausreichend für <n> Tests		Enthält <n> Röhrchen für Einwegtests
	Katalognummer		Inhalt
	Chargencode		UKCA-Zeichen
	Verfallsdatum		Gibt den autorisierten Vertreter in der Schweiz an

## 1. Verwendungszweck

DryFlowEx TBNK 6-color ist für den Nachweis und die Zählung von Lymphozytenpopulationen und -untergruppen in menschlichem Vollblut mittels Durchflusszytometrie vorgesehen.

### Was wird nachgewiesen und/oder gemessen?

Das Produkt DryFlowEx TBNK 6-color erkennt und misst den relativen Anteil und die absolute Anzahl menschlicher T-Zellen (CD3+), B-Zellen (CD3-CD19+), NK-Zellen (CD3-CD16+56+), Helfer- (CD3+CD4+) und Suppressor-/Zytotoxische- (CD3+CD8+) T-Zell-Untergruppen.

### Funktion des Produkts

Das Produkt ist für die immunologische Beurteilung unauffälliger Patienten bestimmt und könnte bei der Diagnose einer Immunschwäche oder beim Verdacht auf eine Immunschwäche helfen.

### Kontext eines physiologischen oder pathologischen Zustands

Die mit dem Produkt gemessenen Häufigkeiten der Lymphozytenpopulationen können durch verschiedene pathologische Zustände beeinflusst werden, und die Auswertung ihrer Anteile und Zählungen kann zur Beurteilung von Folgendem verwendet werden:

- Fortschreiten einer Infektion mit dem Humanen Immundefizienz-Virus (HIV) <sup>(1, 5, 9, 11)</sup>
- erbliche Immundefekte <sup>(3, 4, 13, 14, 17, 19)</sup>
- Autoimmunkrankheiten <sup>(6, 8)</sup>
- Defekte in der angeborenen Immunabwehr <sup>(15, 16)</sup>

### Art des Tests

Nicht automatisiert

Quantitativ

### Art der benötigten Probe

Antikoagulierte periphere Vollblutprobe vom Menschen

### Testpopulation

Nicht für eine bestimmte Population bestimmt.

## 2. Vorgesehener Benutzer

Das Gerät ist nur für den professionellen Einsatz im Labor bestimmt. Nicht für patientennahe Tests oder Selbsttests geeignet.

## **Anforderungen an die Qualifikation**

Der vorgesehene Benutzer muss über aktuelle Fachkenntnisse in der Durchflusszytometrie-Analyse menschlicher Zellen, standardmäßige Labortechniken, einschließlich Pipettieren, sowie den sicheren und korrekten Umgang mit Proben aus dem menschlichen Körper verfügen.

Der vorgesehene Benutzer muss die Norm EN ISO 15189 oder ggf. andere nationale Normen einhalten.

## **3. Testprinzip**

Das Testprinzip beruht auf dem Nachweis der Bindung eines monoklonalen Antikörpers an ein spezifisches Molekül (Antigen), das von bestimmten menschlichen Blutzellen exprimiert wird. Die in dem Test verwendeten monoklonalen Antikörper sind mit verschiedenen Fluorochromen markiert, die durch einen Laserstrahl eines Durchflusszytometers während der Erfassung einer mit Antikörpern gefärbten Blutprobe angeregt werden. Die anschließend erzeugte Fluoreszenz (Lichtemission) der einzelnen Fluorochrome auf einer aufgenommenen Blutzelle wird von dem Gerät erfasst und analysiert. Die Stärke der Fluoreszenz ist direkt proportional zur Dichte der Antigenexpression in einer Zelle und ermöglicht die Trennung verschiedener Zelluntergruppen.

## **4. Bereitgestellte Reagenzien**

### **Inhalt**

DryFlowEx TBNK 6-color reicht für 50 Tests und wird mit dem folgenden Reagenz geliefert:

**TBNK 6-color ED7736-1** (10 Beutel). Jeder Beutel enthält 5 verschlossene Einwegröhrchen mit einer Vormischung aus mit Fluorochrom markierten Reagenzien, die mit den stabilisierenden Bestandteilen als Schicht am Boden der Reagenzgläser (12 x 75 mm) getrocknet wurden (siehe Tabelle 1).

**TBNK 6-color Compensation Set ED7736-2** (1 Beutel) mit 6 verschlossenen Einwegröhrchen, die jeweils ein einzelnes mit Fluorochrom markiertes Reagenz (siehe Tabelle 1) enthalten. Dies befindet sich getrocknet zusammen mit den stabilisierenden Bestandteilen als Schicht am Boden des Röhrchens (12 x 75 mm).

**VORSICHT:** Das TBNK 6-color Compensation Set ist nur für die Einrichtung der Kompensation bestimmt. Einzelne mit Fluorochrom markierte Reagenzien (siehe Tabelle 1) ermöglichen ein einfaches und genaues Kompensationsverfahren.

## Zusammensetzung

**Tabelle 1** Beschreibung der Wirkstoffe von TBNK 6-color

Antigen	Fluorochrom	Klon	Isotyp
CD3	FITC	UCHT1	IgG1
CD16	PE	3G8	IgG1
CD56	PE	LT56	IgG2a
CD45	PerCP-Cy™5.5	MEM-28	IgG1
CD4	PE-Cy™7	MEM-241	IgG1
CD19	APC	LT19	IgG1
CD8	APC-Cy™7	LT8	IgG1

### 5. Erforderliche, aber nicht bereitgestellte Materialien

Erythrozytenlyselösung EXCELLYSE Easy Kat.- Nr. ED7066

Prozesskontrollzellen (Streck CD-Chex Plus®, Kat.- Nr. 213323 oder gleichwertige lysierbare Zellkontrolle)

Phosphatpufferte Kochsalzlösung (1X PBS), pH 7,2–7,4

### 6. Erforderliche Ausrüstung

Automatische Pipette mit Einwegspitzen (20–100 µl) zum Pipettieren der Proben und Reagenzien

Flüssigkeitsspender oder Pipette mit Einwegspitzen (0,5–2 ml) für die Abgabe der Erythrozytenlyselösung

Flüssigkeitsspender oder Pipette mit Einwegspitzen (0,5–2 ml) für die Abgabe der PBS

Vortex-Mixer

Zentrifuge mit passenden Rotoradaptern für Rundbodenröhrchen 12 x 75 mm

Hämatologie-Analysegerät (für absolute Zellzahlen), das die Anzahl der weißen Blutkörperchen (WBC) und der Lymphozyten pro µl der Probe bestimmen kann

Durchflusszytometer mit 2 Laseranregungsquellen (488 nm und ca. 635 nm), Detektoren für Streulicht, optische Filter und Emissionsdetektoren, die für die Erfassung der Signale der in Tabelle 2 aufgeführten Fluorochrome ausgelegt sind.

**Tabelle 2** Spektrumscharakteristik der in dem Gerät verwendeten Fluorochrome

Fluorochrom	Anregung [nm]	Emission [nm]
FITC	488	525
PE	488	576
PerCP-Cy™5.5	488	695
PE-Cy™7	488	780
APC	630 – 640	660
APC-Cy™7	630 - 640	780

**HINWEIS:** Das Gerät wurde auf den Durchflusszytometern BD FACSCanto™ II (BD Biosciences), DxFLX (Beckman Coulter) und Sysmex™ XF-1600™ (Sysmex Corporation) getestet.

## 7. Lagerung und Handhabung

Bei 20–30 °C aufbewahren.

Längere Lichteinwirkung vermeiden.

Trocken aufbewahren.

**VORSICHT:** Feuchtigkeitsempfindliches Produkt. Den Folienbeutel erst bei der ersten Verwendung öffnen.



Nach dem ersten Öffnen den Folienbeutel für die Aufbewahrung der verbleibenden unbenutzten Röhrchen wieder sorgfältig mit dem Zip-Lock verschließen.

Informationen zur Stabilität beim Gebrauch und zur Haltbarkeit nach dem ersten Öffnen sowie zu den Lagerungsbedingungen und der Stabilität von Arbeitslösungen (falls zutreffend) sind in Abschnitt 10 „Vorgehensweise (Reagenzienvorbereitung)“ zu finden.

## 8. Warnhinweise, Vorsichtsmaßnahmen und Einschränkungen bei der Anwendung

### GHS-Gefahrenklassifizierung

Beachten Sie das Sicherheitsdatenblatt (Safety Data Sheet/SDS) auf der Produktseite auf [www.exbio.cz](http://www.exbio.cz). Dort finden Sie alle Informationen zu den Risiken, die von den im Produkt enthaltenen chemischen Stoffen und Gemischen ausgehen, und dazu, wie diese gehandhabt und entsorgt werden sollten.

## **Biologisches Risiko**

Menschliche biologische Proben und Blutproben sowie alle damit in Kontakt kommenden Materialien werden immer als infektiöses Material betrachtet.

Verwenden Sie eine persönliche Schutz- und Sicherheitsausrüstung, um den Kontakt mit Haut, Augen und Schleimhäuten zu vermeiden.

Befolgen Sie alle geltenden Gesetze, Vorschriften und Verfahren für den Umgang mit und die Entsorgung von infektiösem Material.

## **Anzeichen von Verfall**

Das mitgelieferte Reagenz ist normalerweise eine transparente, getrocknete Schicht auf dem Boden des Röhrchens. Verwenden Sie das Reagenz nicht, wenn Sie eine Veränderung des Aussehens feststellen, z. B. Feuchtigkeit im Inneren des Röhrchens.

## **Beschränkung der Verwendung**

Das Produkt darf nicht nach dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum verwendet werden.

Reagenzgläser nicht wiederverwenden.

## **9. Probe**

Verwenden Sie venöses peripheres Blut, das in einem als medizinisches Produkt klassifizierten Probengefäß mit dem Antikoagulans EDTA entnommen wurde.

**HINWEIS:** Bestimmen Sie die absolute Anzahl der weißen Blutkörperchen und die Anzahl der Lymphozyten in der entnommenen Blutprobe mit einem Hämatologie-Analysegerät. Mit dem Produkt DryFlowEx TBNK 6-color allein ist keine Zählung der absoluten Zellzahlen möglich.

Blutproben mit einer Anzahl an weißen Blutkörperchen von mehr als  $40 \times 10^3$  Zellen/ $\mu\text{l}$  müssen vor der Probenverarbeitung mit 1X PBS verdünnt werden.

Verarbeiten Sie die Blutprobe spätestens 24 Stunden nach der Entnahme.

Die Probe bei Labortemperatur (20 – 25 °C) lagern. Die Probe nicht im Kühlschrank aufbewahren.

## **Endogene Interferenz**

Basierend auf wissenschaftlicher Literaturrecherche werden endogene Störquellen in Tabelle 3 identifiziert.

**Tabelle 3** Endogene Interferenz des Geräts

<b>Endogene Interferenz</b>	<b>Auswirkungen</b>	<b>Referenz</b>
Albumin	In hohen Konzentrationen kann Albumin aufgrund seiner Fähigkeit, große Mengen an Liganden zu binden und freizusetzen, störend sein.	20, 21, 37
Bilirubin (Ikterus) (unkonjugiert)	Bilirubin kann aufgrund seiner hohen Autofluoreszenz den Fluoreszenzhintergrund von Zellen erhöhen.	24, 26, 30
Zelltrümmer (nach der Lyse)	Zelltrümmer können zu ungenauen Zellzahlen führen und die Antikörper im Gerät schwächen.	23, 27
Erythrozyten	Bei unzureichender Lyse können in der Probe vorhandene rote Blutkörperchen zu einer fehlerhaften Zellzählung führen.	28
Hämoglobin	Hämolytierte Proben können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.	25
Humane Anti-Maus-Antikörper	Die Behandlung mit monoklonalen Antikörpern kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen (Fähigkeit zur Bindung an Zelloberflächenantigene).	22, 32, 33, 34, 35, 36
Immunglobuline	Können nicht mit der Einzelplattformmethode gewaschen werden und zu einer fehlerhaften Anzahl von Lymphozytenuntergruppen führen.	23
Rheumafaktoren	Das Vorhandensein von RF beeinträchtigt MIA (Multiplex-Immunoassays).	29
Triglyceride	Hohe zirkulierende Lipidspiegel können die durchflusszytometrische Analyse bestimmter Blutzellpopulationen beeinträchtigen.	31

### **Exogene Interferenz**

Proben, die älter als 24 Stunden sind, können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

Gekühlte Proben können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

Eine unsachgemäße Zubereitung der Erythrozyten-Lyselösung kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Befolgen Sie die Gebrauchsanweisung des Geräts.

## 10. Vorgehensweise

### Vorbereitung der mitgelieferten Reagenzien

#### TBNK 6-color

Es ist keine Vorbereitung der Reagenzien erforderlich, sie werden in Reagenzgläsern zum einmaligen Gebrauch geliefert.

**VORSICHT:** Feuchtigkeitsempfindliches Produkt. Den Folienbeutel erst bei der ersten Verwendung öffnen.



Jeder Beutel enthält 5 verschlossene TBNK-6-color-Röhrchen für den einmaligen Gebrauch. Nach jedem Öffnen den Folienbeutel für die Aufbewahrung der verbleibenden unbenutzten Röhrchen wieder sorgfältig mit dem Zip-Lock verschließen.

Nach dem erstmaligen Öffnen sollten die restlichen TBNK-6-color-Röhrchen innerhalb von 30 Tagen verbraucht werden.

### Vorbereitung der erforderlichen, aber nicht bereitgestellten Materialien

Verdünnen Sie die konzentrierte Erythrozytenlyselösung mit deionisiertem Wasser gemäß den Anweisungen des Herstellers. Die verdünnte (1X) Erythrozytenlyselösung ist 1 Monat lang haltbar, wenn sie in einem Flüssigkeitsspender oder einem geschlossenen Behälter bei Raumtemperatur aufbewahrt wird.

### Einrichtung der Kompensation

Nehmen Sie vor der Analyse der mit TBNK 6-color gefärbten Röhrchen die Röhrchen des Kompensationssets mit demselben Durchflusszytometer-Setup auf.

**VORSICHT:** TBNK 6-color und TBNK 6-color Compensation Set erfordern die gleiche Art von Proben.

#### TBNK-6-color-Kompensationsröhrchen

1. Pipettieren Sie 50 µl der gründlich gemischten Blutprobe in den Boden der einzelnen einfarbigen Kompensationsröhrchen.
2. Vortexen Sie 7–10 Sekunden lang kräftig und inkubieren Sie für 20 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln.
3. Geben Sie in jedes Kompensationsröhrchen 1 ml der verdünnten (1X) Erythrozytenlyselösung.
4. Vortexen Sie und inkubieren Sie für 10 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln.
5. Zentrifugieren Sie für 5 Minuten bei 300×g, werfen Sie den Überstand und



resuspendieren Sie das Zellpellet in 0,2 ml 1X PBS.

6. Stellen Sie vor der Analyse der gefärbten Proben die Spannungen an den entsprechenden Fluoreszenzdetektoren ein. Die Spannung am PMT-Detektor sollte ausreichend hoch eingestellt sein, damit möglichst wenige negativ gefärbte Ereignisse den 0. Kanal auf der Fluoreszenzachse stören. Außerdem sollte die Spannung des PMT-Detektors nicht die Werte überschreiten, bei denen positive Ereignisse auf die rechte Achse gedrückt werden.
7. Messen Sie die gefärbte Probe sofort mit dem Durchflusszytometer.

Kompensieren Sie Fluoreszenzsignale zwischen den Detektoren vor oder nach der Datenerfassung. Die Daten können falsch interpretiert werden, wenn die Fluoreszenzsignale nicht richtig kompensiert oder die Gates nicht richtig positioniert sind.

Setzen Sie die Gates für positive und negative Populationen für jedes Kompensationsröhrchen entsprechend Abbildung 1.

Berechnen Sie die Kompensationsmatrix entweder in der vom Hersteller entwickelten Zytometersoftware oder in einer speziellen Software für die Offline-Analyse von Zytometriedaten. Verwenden Sie diese Kompensationsmatrix für alle Reagenzgläser dieser Charge von TBNK 6-color.

**VORSICHT:** Sobald Sie die Einstellungen für eine bestimmte Charge von TBNK 6-color vorgenommen haben, sollten Sie die Einstellungen der Fluoreszenzdetektoren nicht mehr ändern, um die gleichen Einstellungen für die Erfassung der Kompensationsmatrix und die Kompensationsergebnisse beizubehalten.

### **Qualitätskontrolle**

Verwenden Sie Streck CD-Chex Plus® oder gleichwertige Kontrollzellen als positive Verfahrenskontrolle, um die ordnungsgemäße Leistung des Produkts sicherzustellen. Streck CD-Chex Plus® liefert festgelegte Werte für die prozentuale positive und absolute Anzahl von T-Zellen, B-Zellen, Granulozyten, Monozyten und NK-Zellen, einschließlich zweier klinisch relevanter Werte für CD4+-Zellen.

Färben Sie das Kontrollblut mit dem Reagenzglas von TBNK 6-color entsprechend der in der Gebrauchsanweisung angegebenen Probenverarbeitung. Achten Sie darauf, dass die erzielten Ergebnisse (% positive Zellen) innerhalb des für die verwendete Charge von Kontrollzellen angegebenen Erwartungsbereichs liegen.

### **Färbung der Proben**

1. Kennzeichnen Sie das TBNK-6-color-Röhrchen mit der entsprechenden Probenbezeichnung.

2. Pipettieren Sie 50 µl der gründlich gemischten Blutprobe in den Boden des TBNK-6-color-Röhrchens.

**VORSICHT:** Pipettieren Sie das Blut nicht auf die Seiten des Teströhrchens. Wenn ein Blutausrich oder -tropfen an der Seite des Röhrchens verbleibt, wird er möglicherweise nicht mit dem Reagenz gefärbt oder die Erythrozyten werden nicht lysiert und das Testergebnis ist unter Umständen nicht gültig.

3. Vortexen Sie 7–10 Sekunden lang kräftig und inkubieren Sie das Reagenzglas für 20 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln.

**VORSICHT:** Bei einer Verkürzung der Vortex-Zeit können die Testergebnisse beeinträchtigt werden.

4. Geben Sie 1 ml der verdünnten (1X) Erythrozyten-Lyselösung in das TBNK-6-color-Röhrchen.
5. Vortexen Sie und inkubieren Sie für 10 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln.
6. Zentrifugieren Sie das TBNK-6-color-Röhrchen für 5 Minuten bei 300×g.
7. Verwerfen Sie den Überstand, ohne das Zellpellet zu beschädigen, und geben Sie 0,2 ml 1X PBS in das Reagenzglas.
8. Vortexen Sie kurz, um das Zellpellet zu resuspendieren.
9. Messen Sie die gefärbte Probe mit dem Durchflusszytometer. Wird die gefärbte Probe nicht sofort gemessen, lagern Sie sie bei 2–8 °C im Dunkeln und analysieren Sie sie innerhalb von 24 Stunden.

**VORSICHT:** Vortexen Sie die gefärbte Probe unmittelbar vor der Messung auf dem Durchflusszytometer, um Ansammlungen zu vermeiden.

### **Durchflusszytometrie-Analyse**

Das für die Verwendung mit dem DryFlowEx TBNK 6-color ausgewählte Durchflusszytometer muss routinemäßig mit fluoreszierenden Mikrokügelchen kalibriert werden, um eine stabile Empfindlichkeit der Detektoren gemäß den Anweisungen des Herstellers des Zytometers sicherzustellen.

Bei unsachgemäßer Wartung kann das Durchflusszytometer falsche Ergebnisse liefern.

Beachten Sie die Herstellerangaben des Zytometers für Laser und Fluoreszenzdetektoren entsprechend den Anregungs- und Emissionscharakteristiken der Fluorochrome in Abschnitt 6 „Erforderliche Ausrüstung“.

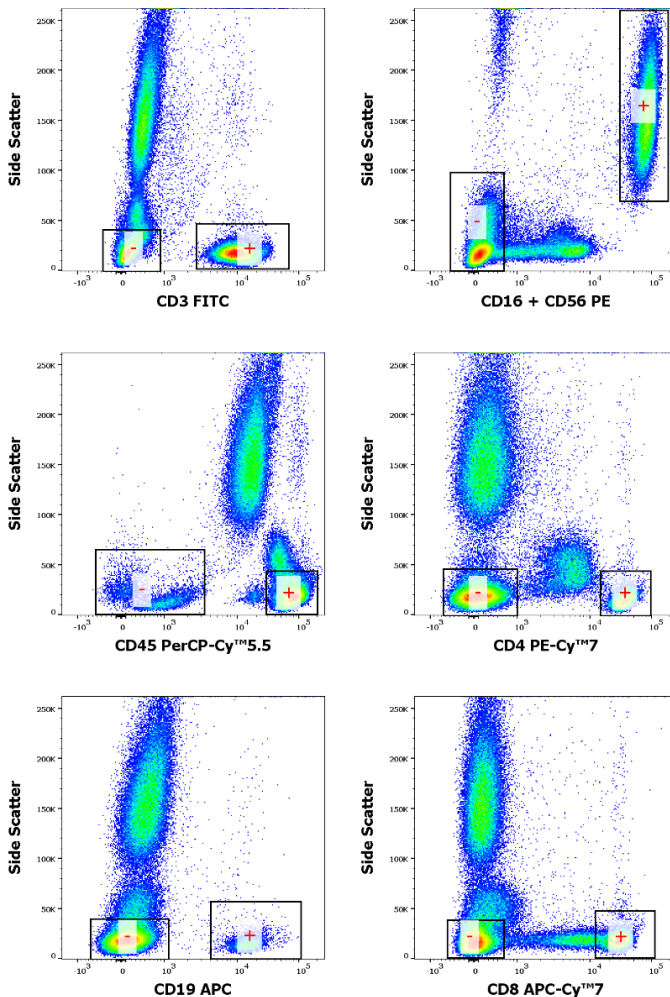
Zur Analyse der Messdaten können die vom Hersteller entwickelte Zytometer-Software oder eine spezielle Software für die Offline-Analyse von Zytometriedaten

verwendet werden (z. B. FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

### Analyse der Kompensationsröhrchen

Stellen Sie die nicht kompensierten Daten für jedes Kompensationsröhrchen in einem Punktdiagramm mit Seitenstreuung (SSC) gegen das zu kompensierende Fluorochrom dar. Setzen Sie die Gates für positive (+) und negative (-) Populationen wie in Abbildung 1 gezeigt.

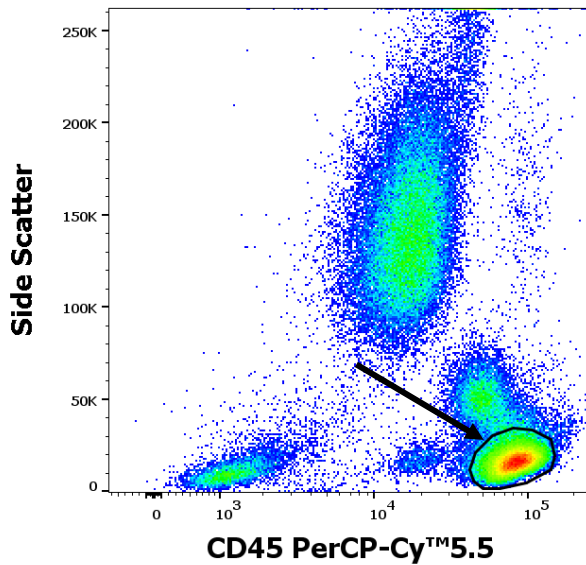
Abbildung 1 Identifizierung von positiven (+) und negativen (-) Ereignissen in Kompensationsröhrchen (Daten erfasst mit BD FACSCanto™ II)



## Datenanalyse der mit TBNK 6-color gefärbten Probe

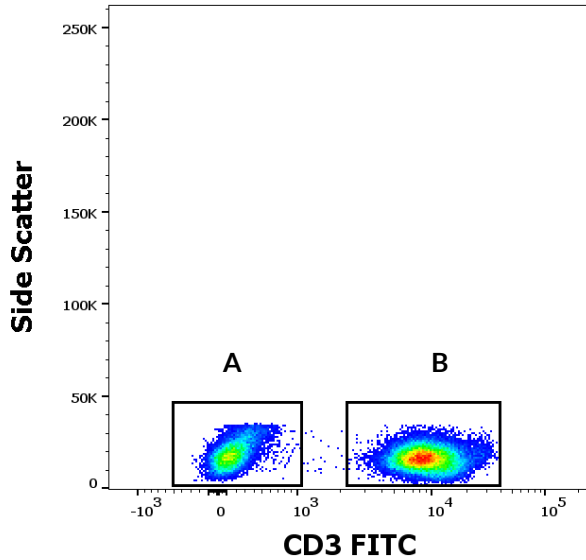
Lassen Sie sich Seitwärtsstreuung (SSC) gegen CD45 PerCP-Cy<sup>TM</sup>5.5 der kompensierten Daten anzeigen. Setzen Sie das Gate für die CD45<sup>+</sup>-Lymphozytenpopulation wie in Abbildung 2 gezeigt.

**Abbildung 2** Abgrenzung der CD45<sup>+</sup>-Lymphozytenpopulation  
(Daten erfasst mit BD FACSCanto<sup>TM</sup> II)



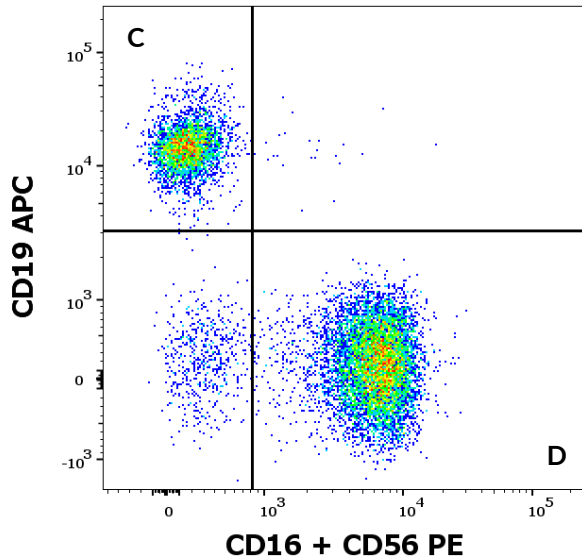
Stellen Sie die löschen CD45+-Lymphozyten als Seitwärtsstreulicht (SSC) gegen CD3 FITC dar, wie in Abbildung 3 dargestellt. Trennen Sie CD3+- und CD3- Lymphozyten mithilfe entsprechender Gates. Berechnen Sie den Prozentsatz der T-Zellen (CD3+; Region B in Abbildung 3) aus allen Lymphozyten.

**Abbildung 3** Trennung von CD3+- und CD3- -Lymphozyten  
(Daten erfasst mit BD FACSCanto™ II)



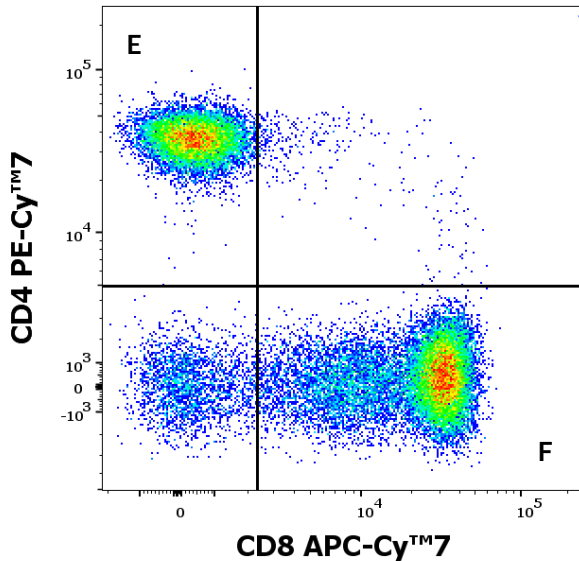
Stellen Sie die löschen CD3- -Lymphozyten (Region A in Abbildung 3) als CD19 APC gegenüber CD16+CD56 PE dar, wie in Abbildung 4 gezeigt. Setzen Sie entsprechende Gates und berechnen Sie den Prozentsatz der B-Zellen (CD16-CD56-CD19+; Region C in Abbildung 4) und der natürlichen Killerzellen (NK) (CD16+CD56+CD19-; Region D in Abbildung 4) aus allen Lymphozyten.

**Abbildung 4** CD3- -Lymphozyten in einem Punktdiagramm CD19 APC vs. CD16+CD56 PE  
(Daten erfasst mit BD FACSCanto™ II)



Stellen Sie die löschen T-Zellen (CD3+; Region B in Abbildung 3) als CD4 PE-Cy<sup>TM</sup>7 gegenüber CD8 APC-Cy<sup>TM</sup>7 dar, wie in Abbildung 5 gezeigt. Setzen Sie entsprechende Gates und berechnen Sie den Prozentsatz der Helfer-/Induktor-T-Zellen (CD4+CD8-; Region E in Abbildung 5) und der Suppressor-/zytotoxischen T-Zellen (CD4-CD8+; Region F in Abbildung 5) aus allen Lymphozyten.

**Abbildung 5** CD3+-Lymphozyten in einem Punktdiagramm CD4 PE-Cy<sup>TM</sup>7 vs. CD8 APC-Cy<sup>TM</sup>7 (Daten erfasst mit BD FACSCanto<sup>TM</sup> II)



**Berechnung und Interpretation von Analyseergebnissen**

Verwenden Sie für absolute Werte die absolute Lymphozytenzahl, die mit einem Hämatologie-Analysegerät bestimmt wurde. Beziehen Sie sich auf die Anweisungen des Herstellers des Hämatologie-Analysegeräts. Verwenden Sie die nachstehenden Gleichungen für die absolute Zählung der gewünschten Lymphozyten-Untergruppe.

$$A \times \frac{B (\%)}{100 (\%)} = \text{Absolute Zählung der erforderlichen Lymphozyten – Untergruppe}$$

A = absolute Lymphozytenzahl (Daten vom Hämatologie-Analysegerät; Zellen/ $\mu$ l)  
 B = relative Prozentsätze der erforderlichen Lymphozytenuntergruppe von allen Lymphozyten (Daten vom Durchflusszytometer; %)

# 11. Analytische Leistung

## Spezifität

Der Antikörper UCHT1 erkennt ein extrazelluläres Epitop auf dem CD3-Antigen des TCR/CD3-Komplexes auf reifen menschlichen T-Zellen. Der UCHT1-Antikörper reagiert mit der Epsilon-Kette des CD3-Komplexes. Die Spezifität des Antikörpers wurde vom HCDM Council bestätigt (Workshops HLDA I<sup>(2)</sup>, HLDA III<sup>(12)</sup> und HLDA VI<sup>(7)</sup>).

Der Antikörper MEM-241 erkennt das menschliche CD4-Antigen (T-Zell-Oberflächenglykoprotein CD4). Die Spezifität des Antikörpers wurde vom HCDM-Rat bestätigt (Workshop HLDA VIII).

Der Antikörper LT8 erkennt das menschliche CD8-Antigen (disulfid-verknüpftes Dimer, das als 2 CD8-Alpha-Ketten-Homodimere oder CD8-Alpha/Beta-Ketten-Heterodimere exprimiert wird). Die Spezifität des Antikörpers wurde durch HLDA-Workshops bestätigt (Workshop HLDA V<sup>(18)</sup> und Workshop HLDA VII<sup>(10)</sup>).

Der Antikörper 3G8 erkennt das humane CD16-Antigen (Fc-Gamma-Rezeptor mit niedriger Affinität für Immunglobuline vom Typ III). Die Spezifität des Antikörpers wurde durch einen HLDA-Workshop bestätigt (Workshop HLDA V<sup>(18)</sup>).

Der Antikörper LT56 erkennt die Leukozyten-Isoform des menschlichen CD56-Antigens (neurales Zelladhäsionsmolekül 1). Die Spezifität des Antikörpers wurde vom HCDM-Rat bestätigt (Workshop HLDA X).

Der Antikörper LT19 erkennt das menschliche CD4-Antigen (B-Zell-Transmembran-Glykoprotein CD19). Die Spezifität des Antikörpers wurde vom HCDM-Rat bestätigt (Workshop HLDA X).

Der Antikörper MEM-28 erkennt alle Leukozyten-Isoformen des menschlichen CD45 (Protein-Tyrosin-Phosphatase-Rezeptor Typ C). Die Spezifität des Antikörpers wurde durch einen HLDA-Workshop bestätigt (Workshop HLDA III<sup>(12)</sup>).

## Genauigkeit

Die Genauigkeit der Methode wurde mit dem Durchflusszytometer BD FACSCanto™ II gemessen und als Vergleich zwischen dem Gerät DryFlowEx TBNK 6-color und einem ähnlichen, auf dem Markt erhältlichen Produkt KOMBITEST TBNK 6-color (Kat.- Nr. ED7733) durch Parallelfärbung von 118 gesunden Blutspendern ermittelt.

Auf den Durchflusszytometern Beckman Coulter DxFLEx und Sysmex XF-1600™ wurde die Genauigkeit der Methode durch den Vergleich der Ergebnisse der Analyse derselben Blutproben, die mit dem Gerät DryFlowEx TBNK 6-color auf den Durchflusszytometern BC DxFLEx und BD FACSCanto™ II (92 gesunde Spender) gefärbt wurden, bzw. auf den Durchflusszytometern Sysmex XF-1600™ und BD FACSCanto™ II (71 gesunde Spender) ermittelt.



Die Genauigkeit der Methode wurde durch parallele Färbung von 46 Patienten (siehe Tabelle 7) bestätigt, bei denen der Verdacht auf eine Pathologie des Immunsystems bestand.

Die Parameter der linearen Regressionsanalyse sind in den Tabellen 4-7 aufgeführt.

**Tabelle 4** Lineare Regressionsanalyse für Lymphozyten-Untergruppen bei gesunden Spendern (Vergleich des Produkts DryFlowEx TBNK 6-color mit dem IVD-Produkt KOMBITEST TBNK 6-color (EXBIO, Kat.- Nr. ED7733))

Lymphozyten-Untergruppe	Einheit	n	Steigung	Schnittpunkt	R <sup>2</sup>	Bereich
CD3+	%	118	0.99	+0.0054	0.97	58.50 - 88.20
	Zellen/ $\mu$ l	118	1.00	-9.0904	1.00	739 - 2492
CD3+CD8+	%	118	1.06	-0.006	0.99	6.40 - 47.90
	Zellen/ $\mu$ l	118	1.05	-6.1323	0.99	132 - 947
CD3+CD4+	%	118	1.01	-0.0015	0.98	26.00 - 60.60
	Zellen/ $\mu$ l	118	1.02	-12.603	0.99	410 - 1717
CD3-CD16+CD56+	%	118	1.00	-0.0023	0.99	4.64 - 33.80
	Zellen/ $\mu$ l	118	0.99	-3.9727	0.98	89 - 593
CD3-CD19+	%	118	0.99	-0.0015	0.98	2.60 - 22.70
	Zellen/ $\mu$ l	118	0.98	-0.9509	0.99	56 - 608

n = Anzahl Blutproben

**Tabelle 5** Lineare Regressionsanalyse für Lymphozyten-Untergruppen bei gesunden Blutspendern (Vergleich von ED7736 auf BD FACSCanto™ II mit ED7736 auf BC DxFLEx)

Lymphozyten-Untergruppe	Einheit	n	Steigung	Schnittpunkt	R <sup>2</sup>	Bereich
CD3+	%	92	0.9839	0.0106	0.9823	55.00 – 84.90
	Zellen/μl	92	0.9992	-0.0833	0.9985	408 - 2525
CD3+CD8+	%	92	1.0187	-0.0051	0.9864	6.25 – 45.40
	Zellen/μl	92	1.0083	-5.1608	0.9930	130 - 1182
CD3+CD4+	%	92	0.9872	0.0017	0.9935	12.10 – 63.10
	Zellen/μl	92	0.9869	3.4994	0.9975	108 - 1739
CD3-CD16+CD56+	%	92	0.9857	0.0022	0.9904	4.96 – 32.70
	Zellen/μl	92	0.9784	5.7585	0.9921	96 - 676
CD3-CD19+	%	92	0.9992	-0.0002	0.9900	3.23 – 21.60
	Zellen/μl	92	1.0031	-1.0160	0.9916	58 - 418

n = Anzahl Blutproben

**Tabelle 6** Lineare Regressionsanalyse für Lymphozyten-Untergruppen bei gesunden Blutspendern (Vergleich von ED7736 auf BD FACSCanto™ II mit ED7736 auf Sysmex XF-1600™)

Lymphozyten-Untergruppe	Einheit	n	Steigung	Schnittpunkt	R <sup>2</sup>	Bereich
CD3+	%	71	0.9942	0.0051	0.9853	53.40 – 85.30
	Zellen/μl	71	1.0101	-10.313	0.9990	396 - 2440
CD3+CD8+	%	71	0.9718	0.00006	0.9878	11.30 – 47.90
	Zellen/μl	71	0.9646	2.6825	0.9938	121 - 1111
CD3+CD4+	%	71	0.9885	0.0077	0.9955	13.50 – 63.50
	Zellen/μl	71	1.0178	-7.2726	0.9972	114 - 1452
CD3-CD16+CD56+	%	71	0.9905	0.0033	0.9915	5.71 – 33.60
	Zellen/μl	71	0.9789	8.4040	0.9951	102 - 676
CD3-CD19+	%	71	0.9149	0.0009	0.9652	5.11 – 19.20
	Zellen/μl	71	0.9128	1.8844	0.9780	53 - 386

n = Anzahl Blutproben

**Tabelle 7** Lineare Regressionsanalyse für Lymphozyten-Untergruppen bei Patienten mit Verdacht auf Erkrankungen des Immunsystems (Vergleich von DryFlowEx TBNK 6-color mit AQUIOS CL Flow Cytometry System von Beckman Coulter, Inc.)

Lymphozyten-Untergruppe	Einheit	n	Steigung	Schnittpunkt	R <sup>2</sup>	Bereich
CD3+	%	46	1.0027	-0.6999	0.98	55.1 – 87.6
	Zellen/μl	46	0.9805	17.223	1.00	620 - 2710
CD3+CD8+	%	46	1.0033	0.7307	0.94	8.1 – 39.8
	Zellen/μl	46	1.0595	4.148	0.97	84 - 1130
CD3+CD4+	%	46	1.018	-0.9716	0.97	24.4 – 68.2
	Zellen/μl	46	0.9884	6.4727	0.99	494 - 1619
CD3-CD16+CD56+	%	46	1.0469	-0.5117	0.98	3.3 – 35.2
	Zellen/μl	46	1.0543	-11.577	0.99	74 - 1070
CD3-CD19+	%	46	1.0213	0.1708	0.96	4.3 – 33.6
	Zellen/μl	46	1.036	-0.1163	0.98	62 - 958

n = Anzahl Blutproben

### Linearität

Die Linearität der Methode wurde an 10 seriellen Verdünnungen einer mit Leukozyten angereicherten Blutprobe (Buffy Coat) nachgewiesen. Die Zellproben wurden mit DryFlowEx TBNK 6-color in Hexaplikaten gefärbt. Die Proben wurden mit den Durchflusszytometern BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEX und Sysmex XF-1600™ analysiert. Die gemessenen Daten für die angegebenen Lymphozyten-Untergruppen wurden als linear über den Lymphozytenbereich 87-7031 Lymphozyten/μl mit BD FACSCanto™ II, 85-6698 Zellen/μl mit Beckman Coulter DxFLEX und 175-14799 Lymphozyten/μl mit Sysmex XF-1600™ ermittelt. Die Zelluntergruppen lagen in den in den Tabellen 8-10 angegebenen Bereichen.

**Tabelle 8** Lineare Bereiche von Lymphozyten-Untergruppen, die mit BD FACSCanto™ II analysiert wurden

<b>BD FACSCanto™ II</b>	
Lymphozyten-Untergruppe	Bereich (Zellen/ $\mu$ l)
CD3+	79 - 6427
CD3+CD8+	16 - 1271
CD3+CD4+	57 - 4749
CD3-CD16+CD56+	15 - 1198
CD3-CD19+	8 - 722

**Tabelle 9** Lineare Bereiche von Lymphozyten-Untergruppen, die mit Beckman Coulter DxFLEX analysiert wurden

<b>Beckman Coulter DxFLEX</b>	
Lymphozyten-Untergruppe	Bereich (Zellen/ $\mu$ l)
CD3+	79 - 6251
CD3+CD8+	16 - 1274
CD3+CD4+	57 - 4583
CD3-CD16+CD56+	15 - 1276
CD3-CD19+	8 - 704

**Tabelle 10** Lineare Bereiche von Lymphozyten-Untergruppen, die mit Sysmex XF-1600™ analysiert wurden

<b>Sysmex XF-1600™</b>	
Lymphozyten-Untergruppe	Bereich (Zellen/ $\mu$ l)
CD3+	128 - 10391
CD3+CD8+	53 - 4117
CD3+CD4+	67 - 5421
CD3-CD16+CD56+	32 - 2681
CD3-CD19+	14 - 1090

## Nachweisgrenze / Quantifizierungsgrenze / Assay-Cut-Off

Zur Bestimmung der Nachweisgrenze (LOD) und der Bestimmungsgrenze (LOQ) wurden Linearitätsdaten verwendet.

Die Nachweisgrenze wurde als niedrigster absoluter Zellzahlwert ungleich Null plus  $3 \times SD$  (Standardabweichung) für jede Lymphozytenuntergruppe angegeben (siehe Tabellen 11–13).

Als Bestimmungsgrenze wurde der niedrigste Wert im Linearitätsbereich der Analytkonzentrationen angegeben, dargestellt als absolute Anzahl der Lymphozyten-Untergruppen, bei dem der CV der Hexaplikate 10 % nicht überschritt und die Wiederfindung im Bereich von 90 % bis 110 % lag (siehe Tabellen 11–13).

Die Testergebnisse sind nicht eindeutig diagnostisch für eine einzelne klinische Einheit, daher kann der Assay-Cut-Off nicht geschätzt werden.

**Tabelle 11** Nachweis- und Quantifizierungsgrenzen auf BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II				
Lymphozyten-Untergruppe	Niedrigste Zellzahl ungleich Null (Zellen/ $\mu$ l)	$3 \times SD$ (SD)	LOD (Zellen/ $\mu$ l)	LOQ (Zellen/ $\mu$ l)
CD3+	1	0.6 (0.2)	1.6	3
CD3+CD8+	1	0.6 (0.2)	1.6	2
CD3+CD4+	1	0.6 (0.2)	1.6	2
CD3-CD16+CD56+	2	0.9 (0.3)	2.9	5
CD3-CD19+	1	0.3 (0.1)	1.3	8

**Tabelle 12** Nachweis- und Quantifizierungsgrenzen auf Beckman Coulter DxFLEx

Beckman Coulter DxFLEx				
Lymphozyten-Untergruppe	Niedrigste Zellzahl ungleich Null (Zellen/ $\mu$ l)	$3 \times SD$ (SD)	LOD (Zellen/ $\mu$ l)	LOQ (Zellen/ $\mu$ l)
CD3+	1	0.3 (0.1)	1.3	3
CD3+CD8+	1	0.3 (0.1)	1.3	2
CD3+CD4+	1	0.6 (0.2)	1.6	2
CD3-CD16+CD56+	1	0.3 (0.1)	1.3	2
CD3-CD19+	1	0.6 (0.2)	1.6	8

**Tabelle 13** Nachweis- und Quantifizierungsgrenzen auf Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™				
Lymphozyten-Untergruppe	Niedrigste Zellzahl ungleich Null (Zellen/μl)	3×SD (SD)	LOD (Zellen/μl)	LOQ (Zellen/μl)
CD3+	2	0.3 (0.1)	2.3	2
CD3+CD8+	1	0.6 (0.2)	1.6	2
CD3+CD4+	1	0.6 (0.2)	1.6	8
CD3-CD16+CD56+	1	0.6 (0.2)	1.6	11
CD3-CD19+	1	0.3 (0.1)	1.3	14

### Wiederholbarkeit

Die Wiederholbarkeit des Testverfahrens wurde an 10 Blutproben in Hexaplikaten gemessen. Die Proben wurden mit den Durchflusszytometern BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEx und Sysmex XF-1600™ analysiert.

Die Variationskoeffizienten (CV) sind in den folgenden Tabellen aufgeführt (Tabellen 14–16).

**Tabelle 14** Wiederholbarkeit des Produkts mit BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II					
Lymphozyten-Untergruppe	Einheit	n	Durchschnitt	SD	% CV
CD3+	%	10	72.15	0.27	0.38
	Zellen/μl	10	1454	4.9	
CD3+CD8+	%	10	21.05	0.24	1.18
	Zellen/μl	10	434	4.8	
CD3+CD4+	%	10	46.68	0.28	0.61
	Zellen/μl	10	932	5.1	
CD3-CD16+CD56+	%	10	15.38	0.19	1.28
	Zellen/μl	10	294	3.6	
CD3-CD19+	%	10	11.45	0.15	1.34
	Zellen/μl	10	217	2.7	

**Tabelle 15** Wiederholbarkeit des Produkts mit Beckman Coulter DxFLEX

<b>Beckman Coulter DxFLEX</b>					
Lymphozyten-Untergruppe	Einheit	n	Durchschnitt	SD	% CV
CD3+	%	10	70.90	0.34	0.48
	Zellen/ $\mu$ l	10	1429	6.3	
CD3+CD8+	%	10	20.33	0.33	1.33
	Zellen/ $\mu$ l	10	418	5.3	
CD3+CD4+	%	10	45.60	0.27	0.72
	Zellen/ $\mu$ l	10	911	6.3	
CD3-CD16+CD56+	%	10	16.13	0.25	1.61
	Zellen/ $\mu$ l	10	308	5.0	
CD3-CD19+	%	10	11.24	0.18	1.69
	Zellen/ $\mu$ l	10	213	3.3	

**Tabelle 16** Wiederholbarkeit des Produkts mit Sysmex XF-1600™

<b>Sysmex XF-1600™</b>					
Lymphozyten-Untergruppe	Einheit	n	Durchschnitt	SD	% CV
CD3+	%	10	65.29	1.23	2.22
	Zellen/ $\mu$ l	10	1090	20.6	
CD3+CD8+	%	10	22.34	0.41	2.30
	Zellen/ $\mu$ l	10	377	6.90	
CD3+CD4+	%	10	38.12	0.98	2.77
	Zellen/ $\mu$ l	10	633	16.30	
CD3-CD16+CD56+	%	10	20.92	0.78	3.12
	Zellen/ $\mu$ l	10	354	13.10	
CD3-CD19+	%	10	11.96	0.44	3.81
	Zellen/ $\mu$ l	10	193	7.10	

**Reproduzierbarkeit**

Die Reproduzierbarkeit des Tests mit BD FACSCanto™ II und Beckman Coulter DxFLEX wurde an zwei stabilisierten Blutproben gemessen (CD-Chex Plus® und CD-Chex Plus® CD4 Low von STRECK). Die Reproduzierbarkeit des Assays auf

Sysmex XF-1600™ wurde an 4 stabilisierten Blutproben (CD) gemessen (CD-Chex Plus® und CD-Chex Plus® CD4 Low und IMMUNO-TROL Low Cells und zusätzlich IMMUNO-TROL Cells von Beckman Coulter). Die Proben wurden unter den gleichen Bedingungen 15 Tage lang mit 3 Chargen des Geräts (jeweils 5 Tage) gemessen. Die Variationskoeffizienten (CV) sind in den folgenden Tabellen angegeben (Tabelle 17–19).

**Tabelle 17** Reproduzierbarkeit des Produkts mit BD FACSCanto™ II

Lymphozyten-Untergruppe	Material	Einheit	Durchschnitt	SD	% CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	82.07	0.40	0.49
		Zellen/µl	1659	8.1	0.49
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	67.87	0.60	0.89
		Zellen/µl	917	8.1	0.89
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	25.67	0.43	1.66
		Zellen/µl	519	8.6	1.66
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	47.23	0.80	1.69
		Zellen/µl	638	10.8	1.69
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	47.20	0.51	1.08
		Zellen/µl	954	10.3	1.08
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	9.56	0.18	1.85
		Zellen/µl	129	2.4	1.85
CD3-CD16+CD56+	CD-Chex Plus®	%	9.51	0.27	2.87
		Zellen/µl	192	5.5	2.87
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	17.00	0.49	2.89
		Zellen/µl	230	6.6	2.89
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	7.89	0.17	2.18
		Zellen/µl	158	3.4	2.18
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	14.10	0.18	1.29
		Zellen/µl	190	2.5	1.29



**Tabelle 18** Reproduzierbarkeit des Produkts mit Beckman Coulter DxFLEx

Lymphozyten-Untergruppe	Material	Einheit	Durchschnitt	SD	% CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	81.58	0.35	0.43
		Zellen/ $\mu$ l	1649	7.2	0.43
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	67.57	0.32	0.48
		Zellen/ $\mu$ l	913	4.3	0.48
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	26.57	0.31	1.17
		Zellen/ $\mu$ l	537	6.3	1.17
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	48.73	0.41	0.85
		Zellen/ $\mu$ l	658	5.6	0.85
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	45.43	0.53	1.17
		Zellen/ $\mu$ l	918	10.8	1.17
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	9.17	0.25	2.73
		Zellen/ $\mu$ l	124	3.4	2.73
CD3-CD16+ CD56+	CD-Chex Plus®	%	9.77	0.15	1.56
		Zellen/ $\mu$ l	197	3.1	1.56
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	17.21	0.23	1.35
		Zellen/ $\mu$ l	232	3.1	1.35
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	7.99	0.33	4.10
		Zellen/ $\mu$ l	161	6.6	4.10
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	14.18	0.23	1.63
		Zellen/ $\mu$ l	192	3.1	1.63

**Tabelle 19** Reproduzierbarkeit des Produkts mit Sysmex XF-1600™

Lymphozyten-Untergruppe	Material	Einheit	Durchschnitt	SD	% CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	80.58	0.41	0.51
		Zellen/µl	1689	8.5	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	64.19	0.71	1.10
		Zellen/µl	866	9.6	
	IMMUNO-TROL Cells	%	73.47	0.39	0.53
		Zellen/µl	930	4.9	
IMMUNO-TROL Low Cells	%	56.03	0.71	1.26	
	Zellen/µl	431	5.4		
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	23.43	0.60	2.54
		Zellen/µl	490	12.5	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	43.78	0.99	2.26
		Zellen/µl	591	13.3	
	IMMUNO-TROL Cells	%	24.11	0.26	1.08
		Zellen/µl	305	3.3	
IMMUNO-TROL Low Cells	%	34.74	1.00	2.87	
	Zellen/µl	267	7.7		
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	51.31	0.74	1.45
		Zellen/µl	1073	15.6	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12.14	0.84	6.92
		Zellen/µl	164	11.3	
	IMMUNO-TROL Cells	%	45.17	0.51	1.14
		Zellen/µl	572	6.5	
IMMUNO-TROL Low Cells	%	15.83	0.36	2.28	
	Zellen/µl	122	2.8		
CD3-CD16+ CD56+	CD-Chex Plus®	%	8.52	0.28	3.31
		Zellen/µl	178	5.9	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	15.53	0.48	3.06
		Zellen/µl	209	6.4	
	IMMUNO-TROL Cells	%	10.03	0.28	2.80
		Zellen/µl	127	3.6	
IMMUNO-TROL Low Cells	%	21.59	0.59	2.74	
	Zellen/µl	166	4.6		
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	9.93	0.25	2.48
		Zellen/µl	208	5.1	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	18.70	0.31	1.63
		Zellen/µl	252	4.1	
	IMMUNO-TROL Cells	%	13.03	0.34	2.58
		Zellen/µl	165	4.3	
IMMUNO-TROL Low Cells	%	17.45	0.55	3.14	
	Zellen/µl	134	4.2		

**HINWEIS:** Für die Durchflusszytometrieanalyse wurden folgende Durchflusszytometer einschließlich Softwareversion verwendet:  
BD FACSCanto™ II                      BD FACSDiva Software – Version 8.0.2  
Beckman Coulter DxFLEx              CytExpert for DxFLEx – Version 2.0.2.18  
Sysmex XF-1600™                      IPU Software – Version 0(0.09-00)

Für die absoluten Zellzahlen unter Verwendung der Dual-Plattform-Methode wurde ein Hämatologieanalysator mit den folgenden Spezifikationen verwendet:

Sysmex XN-1000™                      IPU Software – Version 00-22(164)

Zur Auswertung der Messdaten wurde folgende Analyseplattform verwendet:

FlowJo™ (Becton, Dickinson und Company) - Version 10.9.0

## **12. Klinische Leistung**

### **Patienten mit Verdacht auf pathologische Störungen des Immunsystems**

Es wurden klinische Daten von 46 Patienten mit Verdacht auf pathologische Störungen des Immunsystems in einer klinischen Einrichtung erhoben. Die klinische Leistung wurde durch einen Vergleich des DryFlowEx TBNK 6-color mit einer zertifizierten klinischen Labormethode (AQUIOS CL Flow Cytometry System – Beckman Coulter, Inc.) ermittelt.

Die Ergebnisse der Untersuchung des Immunstatus der Patienten wurden hinsichtlich der Immunschwäche bewertet (Tabelle 20).

**Tabelle 20** Klinische Leistung des Produkts DryFlowEx TBNK 6-color

		Beurteilung des Immunstatus durch eine anerkannte klinische Labormethode	
		Pathologische Störungen des Immunsystems	Normalzustand
Immunstatus bewertet mit dem Produkt ED7736 DryFlowEx TBNK 6-color	Pathologische Störungen des Immunsystems	9 Patienten	0 Patienten
	Normalzustand	0 Patienten	37 Patienten

### 13. Erwartete Werte

#### Referenzintervall

Aufgrund von Wertschwankungen im Zusammenhang mit Alter, Geschlecht, klinischen Merkmalen und ethnischer Zugehörigkeit müssen Labors ihre eigenen normalen Referenzintervalle für die mit DryFlowEx TBNK 6-color identifizierten Lymphozyten-Untergruppen aus der lokalen Population normaler Spender festlegen.

#### 14. Einschränkungen

Das Produkt DryFlowEx TBNK 6-color wurde nicht zur Verwendung in Proben validiert, die mit Heparin oder saurer Zitratdextrose (ACD) als Antikoagulanzen für die Bestimmung der relativen und absoluten Anzahl entnommen wurden.

DryFlowEx TBNK 6-color ist nicht für das Screening und/oder die Phänotypisierung von Leukämie- und Lymphomproben bestimmt.

Absolute Zählungen lassen sich nicht zwischen Laboren vergleichen, die unterschiedliche Geräte von verschiedenen Herstellern verwenden.

#### 15. Referenzen

- 1) Bensussan, A et al. Significant enlargement of a specific subset of CD3+CD8+ peripheral blood leukocytes mediating cytotoxic T-lymphocyte activity during human immunodeficiency virus infection. Proc Natl Acad Sci U S A. 1993

- 15;90(20):9427-30. doi: 10.1073/pnas.90.20.9427.
- 2) Bernard, A et al. *Leucocyte Typing*. Springer, 1984.
  - 3) 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.
  - 4) de Saint Basile, G et al. Severe combined immunodeficiency caused by deficiency in either the delta or the epsilon subunit of CD3. *J Clin Invest*. 2004 Nov;114(10):1512-7. doi: 10.1172/JCI22588.
  - 5) Giorgi, J V. Characterization of T lymphocyte subset alterations by flow cytometry in HIV disease. *Ann N Y Acad Sci*. 1993 Mar 20;677:417-9. doi: 10.1111/j.1749-6632.1993.tb38803.x.
  - 6) Iwatani, Y et al. Decreases in alpha beta T cell receptor negative T cells and CD8 cells, and an increase in CD4+ CD8+ cells in active Hashimoto's disease and subacute thyroiditis. *Clin Exp Immunol*. 1992 Mar;87(3):444-9. doi: 10.1111/j.1365-2249.1992.tb03017.x.
  - 7) Kishimoto, T et al. *Leucocyte Typing VI*. Garland Publishing, 1997.
  - 8) 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.
  - 9) Li, Y et al. AIDS prevention and control in the Yunnan region by T cell subset assessment. *PLoS One*. 2019 Apr 18;14(4):e0214800. doi: 10.1371/journal.pone.0214800.
  - 10) Mason, D et al, eds.: *Leucocyte Typing VII: White Cell Differentiation Antigens: Proceedings of the Seventh International Workshop and Conference Held in Harrogate, United Kingdom: Oxford University Press; 2002.*
  - 11) McCarty, B et al. Low Peripheral T Follicular Helper Cells in Perinatally HIV-Infected Children Correlate With Advancing HIV Disease. *Front Immunol*. 2018 Aug 24;9:1901. doi: 10.3389/fimmu.2018.01901.
  - 12) McMichael AJ, ed. *Leucocyte Typing III: 54 White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1987.
  - 13) Monafo, W J et al. A hereditary immunodeficiency characterized by CD8+ T lymphocyte deficiency and impaired lymphocyte activation. *Clin Exp Immunol*. 1992 Dec;90(3):390-3. doi: 10.1111/j.1365-2249.1992.tb05856.x.
  - 14) North, M E et al. Primary defect in CD8+ lymphocytes in the antibody deficiency disease (common variable immunodeficiency): abnormalities in intracellular production of interferon-gamma (IFN-gamma) in CD28+ ('cytotoxic') and CD28- ('suppressor') CD8+ subsets. *Clin Exp Immunol*. 1998 Jan;111(1):70-5. doi: 10.1046/j.1365-2249.1998.00479.x.

- 15) 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.
- 16) 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.
- 17) Picat, M Q et al. T-cell activation discriminates subclasses of symptomatic primary humoral immunodeficiency diseases in adults. *BMC Immunol*. 2014 Mar 12;15:13. doi: 10.1186/1471-2172-15-13.
- 18) Schlossman SF, Bousmell L, Gilks W, et al, eds.: *Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1995.
- 19) 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.
- 20) Tate J, Ward G. Interferences in immunoassay. *Clin Biochem Rev*. 2004 May;25(2):105-20. PMID: 18458713; PMCID: PMC1904417.
- 21) Selby C. Interference in immunoassay. *Ann Clin Biochem*. 1999 Nov; 36 ( Pt 6):704-21. doi: 10.1177/000456329903600603. PMID: 10586307.
- 22) 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.
- 23) 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.
- 24) 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
- 25) 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.
- 26) 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.
- 27) 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.
- 28) 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).
  - 29) 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.
  - 30) 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
  - 31) 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>
  - 32) 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, *Oncolmunology*, 6:3, DOI: 10.1080/2162402X.2017.1283460
  - 33) 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>
  - 34) 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
  - 35) 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>

- 36) 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.
- 37) 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>

## 16. Marken

BD FACSCanto™ II, BD FACSLyric™, BD Multitest™ und FlowJo™ sind eingetragene Marken von Becton, Dickinson and Company. CD-Chex Plus® ist eine eingetragene Marke von Streck. Cy™ ist eine eingetragene Marke von Cytiva. CyLyse™ FX, Sysmex XN-1000™ und Sysmex XF-1600™ sind eingetragene Marken von Sysmex Corporation. VenturiOne® ist eine eingetragene Marke von Applied Cytometry. Infinicyt™ ist eine eingetragene Marke von Cytognos S.L.

## 17. Revisionsverlauf

Version 2, ED7736\_IFU\_v2

- 1) Aktualisierte Durchflusszytometer, auf denen das Gerät getestet wurde.
- 2) Aktualisierte Probenlagerung. Endogene und exogene Interferenz hinzugefügt.
- 3) Genauigkeit aktualisiert (BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex XF-1600™ Durchflusszytometer)
- 4) Linearität aktualisiert (BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex XF-1600™ Durchflusszytometer)
- 5) Nachweisgrenze / Quantifizierungsgrenze / Assay Cut-off aktualisiert (Durchflusszytometer BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex XF-1600™)
- 6) Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit aktualisiert (BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex XF-1600™ Durchflusszytometer)
- 7) Erwartete Werte entfernt
- 8) Referenzen aktualisiert



## **18. Hersteller**

EXBIO Praha, a.s.  
Nad Safinou II 341  
25250 Vestec  
Tschechische Republik

### **Kontaktinformationen**

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

## **19. Autorisierte Vertreter**

N/A

**HINWEIS:** Alle schwerwiegenden Vorfälle im Zusammenhang mit dem Produkt sind dem Hersteller und der zuständigen Behörde vor Ort zu melden.