

exbio

DryFlowEx TBNK 6-color 50 testów | Nr kat. ED7736

IVD **CE**₂₂₆₅

Instrukcja użycia (PL)

Wersja: ED7736_IFU_v5_PL
Data wydania: 17.04.2025 r.

Symbols used in the device labeling

IVD	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro		Ograniczenie temperatury
CE ₂₂₆₅	Znak zgodności CE Numer identyfikacyjny organu notyfikowanego		Przechowywać poza zasięgiem światła słonecznego
	Producent		Utrzymywać w suchości Chronić przed deszczem
UDI	Unikalny identyfikator urządzenia		Uwaga
	Zapoznaj się z instrukcją użycia		Do jednorazowego użytku
	Zawiera ilość wystarczającą na <n> testów	TUBE	Zawiera <n> próbek do testu jednorazowego użytku
REF	Numer katalogowy	CONTENTS	Zawartość
LOT	Kod partii	UK CA	Znak UKCA
	Termin przydatności do użycia		

1. Przeznaczenie

DryFlowEx TBNK 6-color jest przeznaczony do wykrywania i zliczania populacji i podzbiorów limfocytów w ludzkiej krwi pełnej metodą cytometrii przepływowej.

Co jest wykrywane i/lub mierzone

Urządzenie DryFlowEx TBNK 6-color wykrywa i mierzy względne wartości procentowe i bezwzględne liczby ludzkich komórek T (CD3+), komórek B (CD3-CD19+), komórek NK (CD3-CD16+56+), komórek T pomocniczych/indukujących (CD3+CD4+) i supresorowych/cytotoksycznych (CD3+CD8+).

Funkcja urządzenia

Urządzenie jest przeznaczone do oceny immunologicznej zdrowych pacjentów i może pomóc w diagnozowaniu pacjentów z niedoborem odporności lub z podejrzeniem tego niedoboru.

Kontekst stanu fizjologicznego lub patologicznego

Częstotliwości populacji limfocytów mierzone przez urządzenie mogą być zależne od różnych stanów patologicznych i są przydatne przy ocenie:

- Limfocyty T pomocnicze/indukujące CD3+/CD4+ w monitorowaniu HIV ^(1, 5, 9, 11)
- Limfocyty T cytotoksyczne CD3+/CD8+ w zakażeniach wirusowych i dziedzicznych niedoborach odporności ^(3, 4, 13, 14, 17, 19)
- Limfocyty B CD3-/CD19+ w chorobach autoimmunologicznych ^(6, 8)
- Komórki NK CD3-/CD16+56+ w odporności wrodzonej i wadzie immunologicznej ^(15, 16)

Rodzaj testu

Nie zautomatyzowany

Ilościowy

Wymagany rodzaj próbki

Próbka ludzkiej pełnej krwi obwodowej z antykoagulantem

Populacja testowa

Nie jest przeznaczony dla określonej populacji.

2. Użytkownik

Urządzenie jest przeznaczone wyłącznie do profesjonalnego użytku laboratoryjnego. Nie służy do badań przyłóżkowych ani do samodzielnych badań.

Wymagania dotyczące kwalifikacji

Docelowy użytkownik powinien posiadać najnowszą wiedzę specjalistyczną w zakresie analizy cytometrii przepływowej komórek ludzkich, standardowych technik laboratoryjnych, w tym umiejętności pipetowania oraz bezpiecznego i właściwego obchodzenia się z próbkami pobranymi z organizmu ludzkiego.

Docelowy użytkownik musi przestrzegać normy EN ISO 15189 lub innych norm krajowych jeśli takowe istnieją.

3. Zasada testu

Zasada testu opiera się na wykrywaniu przeciwciała monoklonalnego wiążącego się ze specyficzną cząsteczką (antygenem) ekspresjonowaną przez określone ludzkie krwinki. Przeciwciała monoklonalne użyte w teście są znakowane różnymi fluorochromami, które są wzbudzane wiązką laserową z cytometru przepływowego podczas pobierania próbki krwi barwionej przeciwciałami. Późniejsza fluorescencja (emisja światła) każdego fluorochromu obecnego w pobranej komórce krwi jest zbierana i analizowana przez urządzenie. Intensywność fluorescencji jest wprost proporcjonalna do gęstości ekspresji antygeny w komórce, co pozwala na rozdzielenie różnych podzbiorów komórek.

4. Dostarczone odczynniki

Zawartość

Urządzenie DryFlowEx TBNK 6-color wystarcza na 50 testów i jest dostarczane z następującym odczynnikiem:

TBNK 6-color ED7736-1 (10 saszetek). Każda saszetka składa się z 5 zamkniętych jednorazowych probówek zawierających wstępnie zmieszaną kombinację odczynników znakowanych fluorochromem, wysuszonych wraz ze składnikami stabilizującymi jako warstwę na dnie probówek (12 x 75 mm), patrz tabela 1.

TBNK 6-color Compensation Set ED7736-2 (1 saszetka) zawierający 6 zamkniętych probówek jednorazowego użytku, z których każda zawiera pojedynczy odczynnik znakowany fluorochromem (patrz tabela 1) wysuszony ze składnikami stabilizującymi jako warstwa na dnie probówki (12 x 75 mm).

UWAGA: TBNK 6-color Compensation Set przeznaczony jest wyłącznie do konfiguracji kompensacji. Pojedyncze odczynniki znakowane fluorochromem (patrz tabela 1) umożliwiają łatwą i dokładną procedurę kompensacji.

Skład

Tabela 1 Opis składników aktywnych TBNK 6-color

Antygen	Fluorochrom	Klon	Izotyp
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. Materiały wymagane, nie będące w zestawie

Roztwór do lizy erytrocytów EXCELLYSE Easy, nr kat. ED7066

Komórki kontroli procesu (Streck CD-Chex Plus®, nr kat. 213323 lub równoważna kontrola komórek ulegających lizie)

Buforowany fosforanem roztwór soli (1X PBS), pH 7,2 – 7,4

6. Wymagany sprzęt

Pipeta automatyczna z jednorazowymi końcówkami (20 - 100 µl) do pipetowania próbek

Dozownik lub pipeta do płynów z jednorazowymi końcówkami (0,5 – 2 ml) do dozowania roztworu do lizy erytrocytów

Dozownik lub pipeta do płynów z jednorazowymi końcówkami (0,2 – 0,5 ml) do dozowania roztworu do PBS

Mieszadło wirowe

Wirówka z odpowiednimi adapterami rotora do probówek okrągłodennych 12 x 75 mm

Analizator hematologiczny (do bezwzględnego zliczania krwinek) zdolny do oznaczania liczby białych krwinek (WBC) i limfocytów na µl próbki

Cytometr przepływowy z dwoma laserowymi źródłami wzbudzenia (488 nm i ~635 nm), detektorami światła rozproszonego, filtrami optycznymi i detektorami emisji odpowiednimi do zbierania sygnałów z fluorochromów przedstawionych w tabeli 2.

Tabela 2 Charakterystyka widmowa fluorochromów zastosowanych w urządzeniu

Fluorochrom	Wzbudzenie [nm]	Emisja [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

UWAGA: Urządzenie zostało przetestowane na cytometrach przepływowych BD FACSCanto™ II (BD Biosciences), DxFLEX (Beckman Coulter) i Sysmex XF-1600™ (Sysmex Corporation).

7. Przechowywanie

Przechowywać w temperaturze 20-30 °C.

Unikać długotrwałej ekspozycji na światło.

Utrzymywać w suchości.

UWAGA: produkt wrażliwy na wilgoć. Nie otwierać woreczka foliowego przed pierwszym użyciem.



Po pierwszym otwarciu dokładnie zamknij woreczek foliowy za pomocą zamknięcia strunowego, aby przechowywać pozostałe, niewykorzystane próbówki.

Patrz punkt 10 Procedura (Przygotowanie odczynników), aby uzyskać informacje na temat stabilności podczas użycia i okresu ważności po pierwszym otwarciu, a także warunków przechowywania i stabilności roztworów roboczych (jeśli dotyczy).

8. Ostrzeżenia, środki ostrożności i ograniczenia użytkowania

Klasyfikacja zagrożeń GHS

Zapoznaj się z kartą charakterystyki (SDS) dostępną na stronie produktu pod adresem www.exbio.cz, aby uzyskać pełne informacje na temat zagrożeń stwarzanych przez substancje chemiczne i mieszaniny zawarte w produkcie oraz jak należy się z nimi obchodzić i jak je utylizować.

Zagrożenie biologiczne

Ludzkie próbki biologiczne i próbki krwi oraz wszelkie materiały mające z nimi kontakt są zawsze uważane za materiały zakaźne.

Stosować środki ochrony osobistej i bezpieczeństwa, aby uniknąć kontaktu ze skórą, oczami i błonami śluzowymi.

Postępować zgodnie ze wszystkimi obowiązującymi przepisami prawa, regulacjami i procedurami dotyczącymi obchodzenia się z materiałami zakaźnymi i ich usuwania.

Oznaki pogorszenia jakości

Normalny wygląd dostarczonego odczynnika to przezroczysta wysuszona warstwa na dnie próbówki. Nie używać odczynnika w przypadku zaobserwowania jakichkolwiek zmian w wyglądzie, na przykład obecności wilgoci wewnątrz próbówki.

Ograniczenie użytkowania

Nie stosować po upływie daty ważności podanej na etykiecie produktu.

Nie używać ponownie próbek.

9. Próbkę

Stosować żylną krew obwodową pobraną do pojemnika na próbki sklasyfikowanego jako wyrób medyczny z antykoagulantem EDTA.

UWAGA: określić bezwzględną liczbę krwinek białych i liczbę limfocytów w pobranej próbce krwi za pomocą analizatora hematologicznego. Samo urządzenie DryFlowEx TBNK 6-color nie zapewnia zliczania bezwzględnej liczby komórek.

Próbka krwi z liczbą WBC przekraczającą 40×10^3 komórek/ μl będzie wymagać rozcieńczenia 1X PBS przed przetwarzaniem próbki.

Próbkę krwi należy poddać obróbce nie później niż 24 godziny po pobraniu. Próbkę przechowywać w temperaturze laboratoryjnej (20–25°C). Nie przechowywać próbki w lodówce.

Interferencja endogenna

Na podstawie badań literatury naukowej w Tabeli 3 przedstawiono endogenne źródła zakłóceń.

Tabela 3 Endogenna interferencja urządzenia

Interferencja endogenna	Wpływ	Odniesienie
Albumina	Albumina może zakłócać działanie w wysokich stężeniach ze względu na swoją zdolność do wiązania i uwalniania dużych ilości ligandów.	20, 21, 37
Bilirubina (żółta) (niesprężona)	Bilirubina może zwiększać tło fluorescencji komórek ze względu na wysoką autofluorescencję.	24, 26, 30

Pozostałości komórek (po lizie)	Szczątki komórek mogą powodować błędy w liczeniu komórek i wyczerpanie przeciwciał w urządzeniu.	23, 27
Erytrocyty	Niewystarczająca liza, obecność czerwonych krwinek w próbce może skutkować błędnym zliczeniem komórek.	28
Hemoglobina	Próbki zhemolizowane mogą dawać błędne wyniki.	25
Ludzkie przeciwciała przeciw mysim	Leczenie przeciwciałami monoklonalnymi może dawać błędne wyniki (zdolność wiązania się z antygenami powierzchniowymi komórek).	22, 32, 33, 34, 35, 36
Immunoglobuliny	Nie można myć metodą jednoplatformową i może to skutkować błędną liczbą podzbiorów limfocytów.	23
Czynniki reumatoidalne	Obecność RF zakłóca MIA (multipleksowe testy immunologiczne).	29
Trójglicerydy	Wysoki poziom lipidów w krążeniu może wpływać na analizę cytometrii przepływowej niektórych populacji komórek krwi.	31

Zakłócenia egzogenne

Próbka starsza niż 24 godziny może dawać błędne wyniki.

Próbka przechowywana w lodówce może dawać błędne wyniki.

Niewłaściwe przygotowanie roztworu do lizy erytrocytów może dawać błędne wyniki. Postępuj zgodnie z instrukcją użytkowania.

10. Procedura

Przygotowanie dostarczonych odczynników

TBNK 6-color

Nie jest wymagane żadne przygotowanie odczynników dostarczanych w probówkach, wyłącznie do jednorazowego użytku.

UWAGA: produkt wrażliwy na wilgoć. Nie otwierać woreczka foliowego przed pierwszym użyciem.



Każda saszetka zawiera 5 zamkniętych zatyczkami, jednorazowych probówek TBNK 6-color. Po każdym otwarciu dokładnie zamknij woreczek foliowy za pomocą zamknięcia strunowego, aby przechowywać pozostałe, niewykorzystane probówki.

Po pierwszym otwarciu pozostałe próbówki TBNK 6-color należy zużyć w ciągu 30 dni.
--

Przygotowanie wymaganych, a nie zawartych w zestawie materiałów

Rozcieńczyć stężony roztwór do lizy erytrocytów wodą dejonizowaną zgodnie z zaleceniami producenta. Rozcieńczony (1X) roztwór do lizy erytrocytów jest stabilny przez 1 miesiąc, jeśli jest przechowywany w dozwolniku cieczy lub zamkniętym pojemniku w temperaturze pokojowej.

Konfiguracja kompensacji

Przed analizą próbek TBNK 6-color należy nabyć próbówki z zestawem kompensacyjnym (Compensation Set), używając tej samej konfiguracji cytometru przepływowego.

UWAGA: TBNK 6-color i TBNK 6-color Compensation Set wymagają tego samego typu próbki.

TBNK 6-color compensation tubes

1. Odmierzyć pipetą 50 µl dobrze wymieszanej próbki krwi na dno każdej próbówki kompensacyjnej z jednym kolorem.
2. Energicznie zamieszać przez 7–10 sekund i inkubować przez 20 minut w temperaturze pokojowej, w ciemności.
3. Do każdej próbówki kompensacyjnej dodać 1 ml rozcieńczonego (1X) roztworu do lizy erytrocytów.
4. Mieszać i inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej w ciemności.
5. Wirować przez 5 minut z prędkością 300×g, odrzucić sklarowany płyn zebrany nad osadem i ponownie zawiesić osad komórek w 0,2 ml 1X PBS.
6. Ustawić napięcia na detektorach fluorescencji przed analizą wybarwionych próbek. Napięcie na detektorze PMT powinno być ustawione na tyle wysoko, aby jak najmniej zdarzeń wybarwionych ujemnie zakłócało kanał 0 na osi fluorescencji. Ponadto napięcie detektora PMT nie powinno przekraczać wartości, przy których zdarzenia dodatnie są dociskane do prawej osi.
7. Natychmiast pobrać zabarwioną próbkę za pomocą cytometru przepływowego.

Kompensacja sygnałów fluorescencji między detektorami przed lub po akwizycji danych. Dane mogą być nieprawidłowo interpretowane, jeśli sygnały fluorescencyjne są niewłaściwie skompensowane lub jeśli bramki są ustawione niedokładnie.

Ustawić bramki dla populacji dodatnich i ujemnych dla każdej próbówki kompensacyjnej zgodnie z rysunkiem 1.

Macierz kompensacji można obliczyć albo w oprogramowaniu cytometrycznym opracowanym przez producenta, albo w oprogramowaniu przeznaczonym do analizy danych cytometrycznych offline. Użyć tej macierzy kompensacji dla wszystkich próbek z serii TBNK 6-color.

UWAGA: po dokonaniu ustawień dla określonej partii TBNK 6-color nie należy zmieniać ustawień detektorów fluorescencyjnych, aby zachować te same ustawienia akwizycji macierzy kompensacji i wyniki kompensacji.

Kontrola jakości

Użyć Streck CD-Chex Plus® lub równoważnej krwi stabilizowanej jako pozytywnej kontroli proceduralnej, aby zapewnić prawidłowe działanie urządzenia zgodnie z przeznaczeniem. Streck CD-Chex Plus® zapewnia ustalone wartości procentowe dodatnich i bezwzględnych zliczeń limfocytów T, limfocytów B, granulocytów, monocyty i komórki NK, w tym dwóch klinicznie istotnych poziomów komórek CD4+.

Wybarwić krew kontrolną przy użyciu TBNK 6-color zgodnie z obróbką próbki określoną w instrukcji obsługi. Sprawdzić, czy uzyskane wyniki (% komórek dodatnich) mieszczą się w oczekiwanym zakresie podanym dla używanej serii komórek kontrolnych.

Barwienie próbek

1. Oznaczyć próbkę TBNK 6-color odpowiednim identyfikatorem próbki.
2. Odmierzyć pipetą 50 µl dobrze wymieszanej próbki krwi i przenieść ją na dno próbki TBNK 6-color.

UWAGA: unikać pipetowania krwi po ścianie próbki. Jeśli na boku próbki pozostanie rozmaz krwi lub kropla, może ona nie zostać zabarwiona odczynnikami lub erytrocyty mogą nie ulec lizie, przez co wynik testu może być nieważny.

3. Energicznie zamieszać przez 7–10 sekund i inkubować próbkę przez 20 minut w temperaturze pokojowej, w ciemności.

UWAGA: skrócenie czasu wirowania może wpłynąć na wyniki testu.

4. Do próbki TBNK 6-color dodać 1 ml rozcieńczonego (1X) roztworu do lizy erytrocytów.
5. Mieszać i inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej w ciemności.
6. Wirować próbkę TBNK 6-color przez 5 minut na ustawieniu 300×g.
7. Odrzucić sklarowany płyn zebrany nad osadem bez naruszania osadu komórek i dodać do próbki 0,2 ml 1X PBS.
8. Krótko wirować, aby ponownie zawiesić osad komórkowy.

9. Pobrać wybarwioną próbkę za pomocą cytometru przepływowego. Jeżeli wybarwionej próbki nie da się natychmiast pobrać, przechowywać w ciemności w temperaturze 2–8°C i analizować w ciągu 24 godzin.

UWAGA: wirować zabarwioną próbkę bezpośrednio przed akwizycją w cytometrze przepływowym, aby uniknąć tworzenia się agregatów.

Analiza metodą cytometrii przepływowej

Cytometr przepływowy wybrany do współpracy z urządzeniem DryFlowEx TBNK 6-color należy rutynowo kalibrować przy użyciu mikrokulek fluorescencyjnych, aby zapewnić stabilną czułość detektorów zgodnie z zaleceniami producenta cytometru.

W przypadku nieprawidłowej konserwacji cytometr przepływowy może dawać fałszywe wyniki.

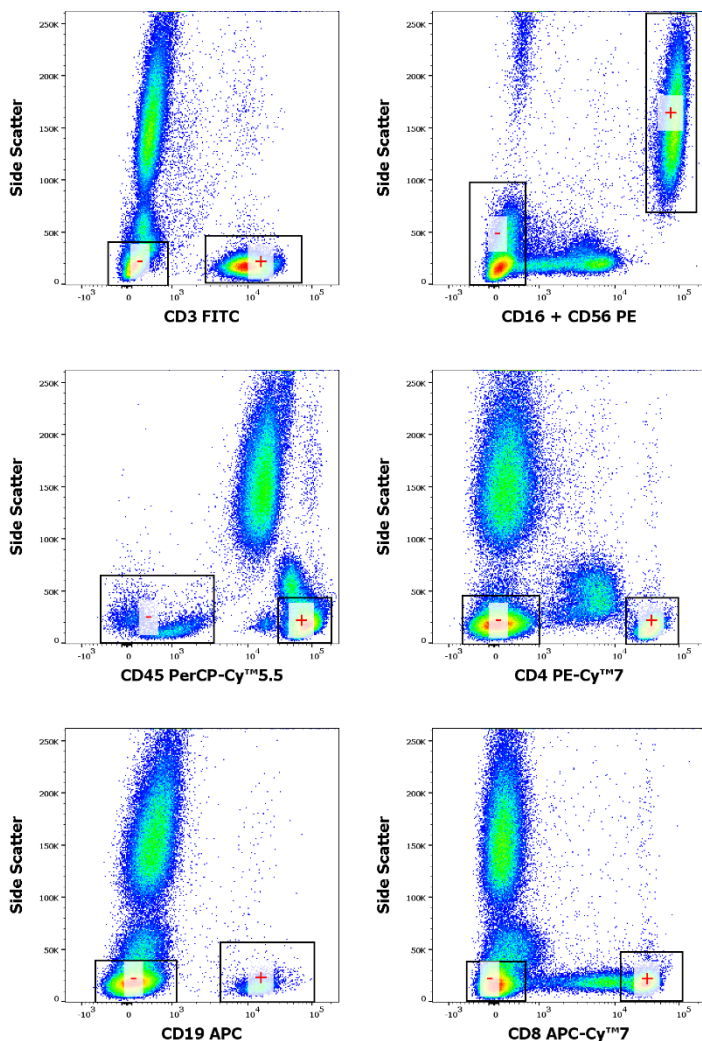
Patrz specyfikacje cytometru producenta dotyczące laserów i detektorów fluorescencyjnych zgodnie z charakterystyką wzbudzenia i emisji fluorochromów w rozdziale 6. Wymagany osprzęt.

Do analizy danych pomiarowych można wykorzystać oprogramowanie cytometryczne opracowane przez producenta lub oprogramowanie dedykowane do analizy danych cytometrycznych offline (np. FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

Analiza probówek kompensacyjnych

Wizualizuj dane nieskompensowane dla każdej probówki kompensacyjnej na wykresie punktowym rozproszenia bocznego (SSC) w porównaniu z „fluorochromem do skompensowania”. Ustawić bramki dla populacji dodatnich (+) i ujemnych (-), jak pokazano na rysunku 1.

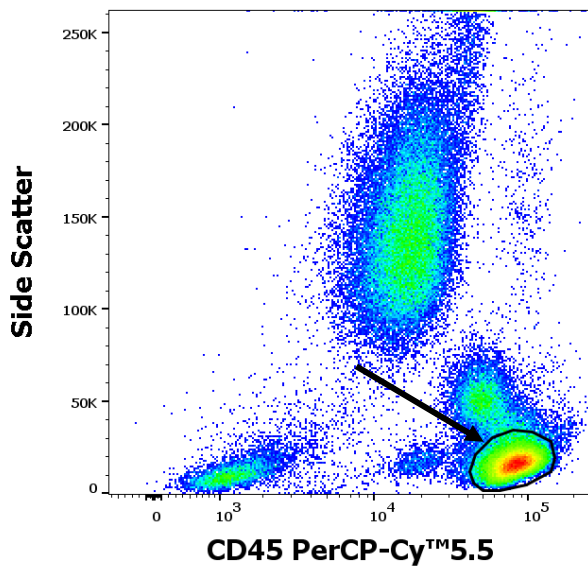
Rysunek 1 Identyfikacja zdarzeń dodatnich (+) i ujemnych (-) w probówkach kompensacyjnych (dane zebrane na BD FACSCanto™ II)



Analiza danych barwionej próbki TBNK 6-color

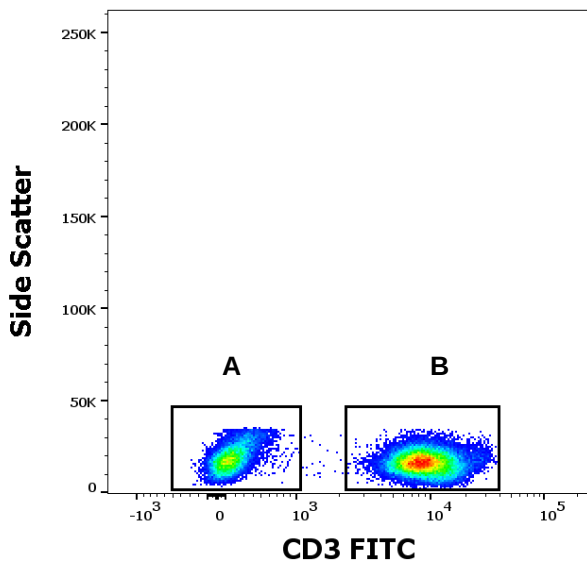
Wizualizować skompensowane dane na wykresie rozproszenia bocznego (SSC) względem CD45 PerCP-Cy™5.5. Ustawić bramkę dla populacji limfocytów CD45+, jak pokazano na rysunku 2.

Rysunek 2 Określenie populacji limfocytów CD45+
(dane zebrane na BD FACSCanto™ II)



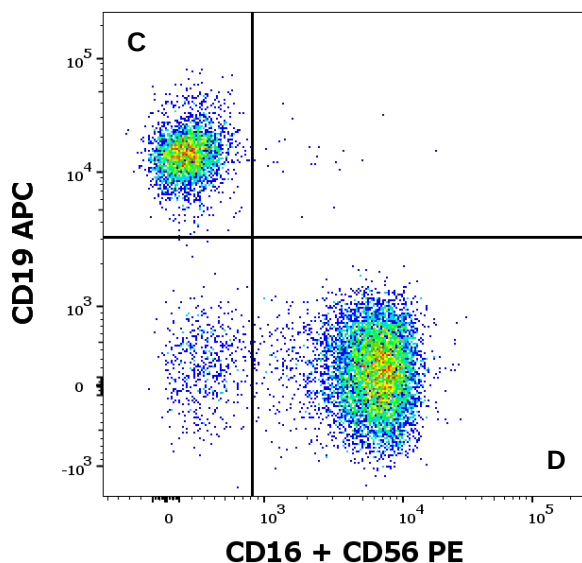
Wykreślić bramkowane limfocyty CD45+ na wykresie rozproszenia bocznego (SSC) względem CD3 FITC, jak pokazano na rysunku 3. Oddzielić limfocyty CD3+ i CD3- za pomocą odpowiednich bramek. Obliczyć procent limfocytów T (CD3+; region B na rysunku 3) ze wszystkich limfocytów.

Rysunek 3 Separacja limfocytów CD3+ i CD3-
(dane zebrane na BD FACSCanto™ II)



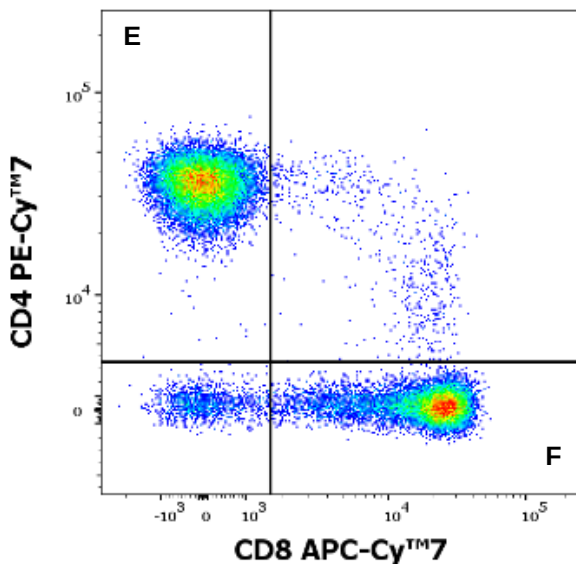
Wykreślić bramkowane limfocyty CD3- (region A na rysunku 3) jako CD19 APC w porównaniu z CD16+CD56 PE, jak pokazano na rysunku 4. Ustawić odpowiednie bramki i obliczyć procent komórek B (CD16-CD56-CD19+; region C na rysunku 4) i komórek NK (CD16+CD56+CD19-; region D na rysunku 4) ze wszystkich limfocytów.

Rysunek 4 Limfocyty CD3- na wykresie punktowym CD19 APC vs. CD16+CD56 PE (dane zebrane na BD FACSCanto™ II)



Nakreślić bramkowane komórki T (CD3+; region B na rysunku 3) jako CD4 PE-CyTM7 w porównaniu z CD8 APC-CyTM7, jak pokazano na rysunku 5. Ustawić odpowiednie bramki i obliczyć procent limfocytów T pomocniczych/indukujących (CD4+CD8-; region E na rysunku 5) i supresorowych/cytotoksycznych limfocytów T (CD4-CD8+; region F na rysunku 5) ze wszystkich limfocytów.

Rysunek 5 Limfocyty CD3+ na wykresie punktowym CD4 PE-CyTM7 vs. CD8 APC-CyTM7 (dane zebrane na BD FACSCantoTM II)



Obliczanie i interpretacja wyników analiz

Aby uzyskać liczbę bezwzględną, należy użyć bezwzględnej liczby limfocytów określonej przez analizator hematologiczny. Patrz instrukcje producenta analizatora hematologicznego. Użyć poniższych równań do bezwzględnego zliczenia wymaganego podzbioru limfocytów.

$$A \times \frac{B (\%) }{100 (\%)} = \text{Bewzględna liczba wymaganego podzbioru limfocytów}$$

A = bezwzględna liczba limfocytów (dane z analizatora hematologicznego; komórki / μ l)

B = względne wartości procentowe wymaganego podzbioru limfocytów ze wszystkich limfocytów (dane z cytometru przepływowego; %)

11. Wydajność analityczna

Specyficzność

Przeciwciało UCHT1 rozpoznaje epitop pozakomórkowy na antygenie CD3 kompleksu TCR/CD3 na dojrzałych ludzkich limfocytach T. Przeciwciało UCHT1 reaguje z łańcuchem epsilon kompleksu CD3. Specyficzność przeciwciała została potwierdzona przez Radę HCDM (warsztaty HLDA I ⁽²⁾, HLDA III ⁽¹²⁾ i HLDA VI ⁽⁷⁾)

Przeciwciało MEM-241 rozpoznaje ludzki antygen CD4 (glikoproteina powierzchniowa CD4 komórek T). Swoistość przeciwciała została potwierdzona przez Radę HCDM (warsztaty HLDA VIII).

Przeciwciało LT8 rozpoznaje ludzki antygen CD8 (dimer połączony mostkiem dwusiarczkowym wyrażany jako dwa homodimery łańcucha alfa CD8 lub heterodimery łańcucha alfa/beta CD8). Swoistość przeciwciała została potwierdzona przez warsztaty HLDA (warsztaty HLDA V ⁽¹⁸⁾ i warsztaty HLDA VII ⁽¹⁰⁾).

Przeciwciało 3G8 rozpoznaje ludzki antygen CD16 (receptor Fc-gamma immunoglobuliny typu III o niskim powinowactwie). Swoistość przeciwciała została potwierdzona przez warsztat HLDA (warsztaty HLDA V ⁽¹⁸⁾).

Przeciwciało LT56 rozpoznaje izoformę leukocytów ludzkiego antygeny CD56 (cząsteczka adhezyjna komórek nerwowych 1). Swoistość przeciwciała została potwierdzona przez Radę HCDM (warsztaty HLDA X).

Przeciwciało LT19 rozpoznaje ludzki antygen CD19 (transbłonowa glikoproteina CD19 komórek B). Swoistość przeciwciała została potwierdzona przez Radę HCDM (warsztaty HLDA X).

Przeciwciało MEM-28 rozpoznaje wszystkie izoformy leukocytów ludzkiego CD45 (receptor białkowej fosfatazy tyrozynowej typu C). Swoistość przeciwciała została potwierdzona przez warsztaty HLDA (warsztaty HLDA III ⁽¹²⁾).

Dokładność

Dokładność metody mierzono na cytometrze przepływowym BD FACSCanto™ II i określono poprzez porównanie urządzenia DryFlowEx TBNK 6-color z podobnym produktem dostępnym na rynku KOMBITEST TBNK 6-color (nr kat. ED7733) przez równoległe barwienie 118 zdrowych dawców krwi.

W przypadku cytometrów przepływowych Beckman Coulter DxFLEx i Sysmex XF-1600™ dokładność metody określono poprzez porównanie wyników analizy tych samych próbek krwi barwionych urządzeniem DryFlowEx TBNK 6-color na cytometrach przepływowych BC DxFLEx i BD FACSCanto™ II (92 zdrowych dawców) oraz na cytometrach przepływowych Sysmex XF-1600™ i BD FACSCanto™ II (71 zdrowych dawców).

Dokładność metody została potwierdzona równoległym barwieniem próbek od 46 pacjentów (patrz tabela 7) z podejrzeniem stanu patologicznego układu odpornościowego. Parametry analizy regresji liniowej przedstawiono w tabelach

4–7.

Tabela 4 Analiza regresji liniowej dla podzbiorów limfocytów u zdrowych dawców (porównanie urządzenia DryFlowEx TBNK 6-color z odczynnikiem produktu KOMBITEST TBNK 6-color (EXBIO, nr kat. ED7733))

Podzbiór limfocytów	Jednostka	n	Nachylenie	Przechwyt	R ²
CD3+	%	118	0,9850	+0,0054	0,9696
	komórek/ μ l	118	0,9993	-9,0904	0,9958
CD3+CD8+	%	118	1,0618	-0,006	0,9858
	komórek/ μ l	118	1,0497	-6,1323	0,9910
CD3+CD4+	%	118	1,0067	-0,0015	0,9786
	komórek/ μ l	118	1,0191	-12,603	0,9936
CD3-CD16+CD56+	%	118	0,9956	-0,0023	0,9851
	komórek/ μ l	118	0,9943	-3,9727	0,9848
CD3-CD19+	%	118	0,9885	-0,0015	0,9794
	komórek/ μ l	118	0,9790	-0,9509	0,9880

n = liczba próbek krwi

Tabela 5 Analiza regresji liniowej dla podzbiorów limfocytów u zdrowych dawców krwi (porównanie ED7736 w BD FACSCanto™ II z ED7736 w BC DxFLEX)

Podzbiór limfocytów	Jednostka	n	Nachylenie	Przechwyt	R ²
CD3+	%	92	0,9839	0,0106	0,9823
	komórek/ μ l	92	0,9992	-0,0833	0,9985
CD3+CD8+	%	92	1,0187	-0,0051	0,9864
	komórek/ μ l	92	1,0083	-5,1608	0,9930
CD3+CD4+	%	92	0,9872	0,0017	0,9935
	komórek/ μ l	92	0,9869	3,4994	0,9975
CD3-CD16+CD56+	%	92	0,9857	0,0022	0,9904
	komórek/ μ l	92	0,9784	5,7585	0,9921
CD3-CD19+	%	92	0,9992	-0,0002	0,9900
	komórek/ μ l	92	1,0031	-1,0160	0,9916

n = liczba próbek krwi

Tabela 6 Analiza regresji liniowej dla podzbiorów limfocytów u zdrowych dawców krwi (porównanie ED7736 na BD FACSCanto™ II z ED7736 na Sysmex XF-1600™)

Podzbiór limfocytów	Jednostka	n	Nachylenie	Przechwyt	R ²
CD3+	%	71	0,9942	0,0051	0,9853
	komórek/ μ l	71	1,0101	-10,313	0,9990
CD3+CD8+	%	71	0,9718	0,00006	0,9878
	komórek/ μ l	71	0,9646	2,6825	0,9938
CD3+CD4+	%	71	0,9885	0,0077	0,9955
	komórek/ μ l	71	1,0178	-7,2726	0,9972
CD3- CD16+CD56+	%	71	0,9905	0,0033	0,9915
	komórek/ μ l	71	0,9789	8,4040	0,9951
CD3-CD19+	%	71	0,9149	0,0009	0,9652
	komórek/ μ l	71	0,9128	1,8844	0,9780

n = liczba próbek krwi

Tabela 7 Analiza regresji liniowej dla podzbiorów limfocytów u pacjentów z podejrzeniem stanów patologicznych układu odpornościowego (porównanie urządzenia DryFlowEx TBNK 6- color z systemem do cytometrii przepływowej AQUIOS CL – Beckman Coulter, Inc.

Podzbiór limfocytów	Jednostka	n	Nachylenie	Przechwyt	R ²
CD3+	%	46	1,0027	-0,6999	0,98
	komórek/ μ l	46	0,9805	17,223	1,00
CD3+CD8+	%	46	1,0033	0,7307	0,94
	komórek/ μ l	46	1,0595	4,148	0,97
CD3+CD4+	%	46	1,018	-0,9716	0,97
	komórek/ μ l	46	0,9884	6,4727	0,99
CD3-CD16+CD56+	%	46	1,0469	-0,5117	0,98
	komórek/ μ l	46	1,0543	-11,577	0,99
CD3-CD19+	%	46	1,0213	0,1708	0,96
	komórek/ μ l	46	1,036	-0,1163	0,98

n = liczba próbek krwi

Liniowość

Liniowość metody zweryfikowano na 10 seryjnych rozcieńczeniach próbki krwi wzbogaconej w leukocyty (kożuszek leukocytny). Próbki komórek barwiono barwnikiem DryFlowEx TBNK 6-color w sześciu powtórzeniach. Próbki analizowano przy użyciu cytometrów przepływowych BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEx i Sysmex XF-1600™. Zaobserwowano, że otrzymane dane dla wskazanych podzbiorów limfocytów były liniowe w zakresie limfocytów: 87–7031 limfocytów/ μl przy użyciu BD FACSCanto™ II, 85–6698 komórek/ μl przy użyciu Beckman Coulter DxFLEx i 175–14799 limfocytów/ μl przy użyciu Sysmex XF-1600™. Podzbiory komórek mieściły się w zakresach podanych w tabelach 8–10.

Tabela 8 Liniowe zakresy podzbiorów limfocytów analizowane przez BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II	
Podzbiór limfocytów	Zakres (komórki/ μl)
CD3+	79 - 6427
CD3+CD8+	16 - 1271
CD3+CD4+	57 - 4749
CD3-CD16+CD56+	15 - 1198
CD3-CD19+	8 - 722

Tabela 9 Liniowe zakresy podzbiorów limfocytów analizowane przez Beckman Coulter DxFLEx

Beckman Coulter DxFLEx	
Podzbiór limfocytów	Zakres (komórki/ μl)
CD3+	79 - 6251
CD3+CD8+	16 - 1274
CD3+CD4+	57 - 4583
CD3-CD16+CD56+	15 - 1276
CD3-CD19+	8 - 704

Tabela 10 Liniowe zakresy podzbiorów limfocytów analizowane przez Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™	
Podzbiór limfocytów	Zakres (komórki/ μ l)
CD3+	128 – 10391
CD3+CD8+	53 - 4117
CD3+CD4+	67 - 5421
CD3-CD16+CD56+	32 - 2681
CD3-CD19+	14 - 1090

Granica wykrywalności / Granica oznaczalności / Punkt odcięcia testu

Dane dotyczące liniowości wykorzystano do określenia granicy wykrywalności (LOD) i granicy oznaczalności (LOQ).

Granice wykrywalności określono jako najniższą niezerową bezwzględną liczbę komórek plus $3 \times SD$ (odchylenie standardowe) dla każdego podzbioru limfocytów (patrz Tabele 11–13).

Granice oznaczalności określono jako najniższą wartość w zakresie liniowości stężeń analitów przedstawioną jako bezwzględna liczba podzbioru limfocytów, przy której CV z heksaplikatów nie przekraczało 10% a odzysk mieścił się w zakresie 90–110% (patrz Tabele 11–13).

Wyniki testu nie są jednoznacznie diagnostyczne dla pojedynczej jednostki klinicznej, dlatego nie można oszacować wartości odcięcia testu.

Tabela 11 Granice wykrywalności i oznaczalności na BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II				
Podzbiór limfocytów	Najniższa niezerowa liczba komórek (komórki na μ l)	$3 \times SD$ (SD)	LOD (komórki na μ l)	LOQ (komórki na μ 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

Tabela 12 Granice wykrywalności i oznaczalności na Beckman Coulter DxFLEx

Beckman Coulter DxFLEx				
Podzbiór limfocytów	Najniższa niezerowa liczba komórek (komórki na µl)	3×SD (SD)	LOD (komórki na µl)	LOQ (komórki na µl)
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

Tabela 13 Granice wykrywalności i oznaczalności na Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™				
Podzbiór limfocytów	Najniższa niezerowa liczba komórek (komórki na µl)	3×SD (SD)	LOD (komórki na µl)	LOQ (komórki na 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

Powtarzalność

Powtarzalność testu mierzono na dziesięciu próbkach krwi w heksaplikacjach. Próbkę analizowano przy użyciu cytometrów przepływowych BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEx i Sysmex XF-1600™. Współczynniki zmienności (CV) podano w poniższych tabelach (Tabele 14–16).

Tabela 14 Powtarzalność urządzenia na BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II					
Podzbiór limfocytów	Jednostka	n	Średnio	SD	%CV
CD3+	%	10	72,15	0,27	0,38
	komórek/ μ l	10	1454	4,9	
CD3+CD8+	%	10	21,05	0,24	1,18
	komórek/ μ l	10	434	4,8	
CD3+CD4+	%	10	46,68	0,28	0,61
	komórek/ μ l	10	932	5,1	
CD3-CD16+CD56+	%	10	15,38	0,19	1,28
	komórek/ μ l	10	294	3,6	
CD3-CD19+	%	10	11,45	0,15	1,34
	komórek/ μ l	10	217	2,7	

n = liczba próbek krwi

Tabela 15 Powtarzalność urządzenia na Beckman Coulter DxFLEx

Beckman Coulter DxFLEx					
Podzbiór limfocytów	Jednostka	n	Średnio	SD	%CV
CD3+	%	10	70,90	0,34	0,48
	komórek/ μ l	10	1429	6,3	
CD3+CD8+	%	10	20,33	0,33	1,33
	komórek/ μ l	10	418	5,3	
CD3+CD4+	%	10	45,60	0,27	0,72
	komórek/ μ l	10	911	6,3	
CD3-CD16+CD56+	%	10	16,13	0,25	1,61
	komórek/ μ l	10	308	5,0	
CD3-CD19+	%	10	11,24	0,18	1,69
	komórek/ μ l	10	213	3,3	

n = liczba próbek krwi

Tabela 16 Powtarzalność urządzenia na Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™					
Podzbiór limfocytów	Jednostka	n	Średnio	SD	%CV
CD3+	%	10	65,29	1,23	2,22
	komórek/ μ l	10	1090	20,6	
CD3+CD8+	%	10	22,34	0,41	2,30
	komórek/ μ l	10	377	6,90	
CD3+CD4+	%	10	38,12	0,98	2,77
	komórek/ μ l	10	633	16,30	
CD3-CD16+CD56+	%	10	20,92	0,78	3,12
	komórek/ μ l	10	354	13,10	
CD3-CD19+	%	10	11,96	0,44	3,81
	komórek/ μ l	10	193	7,10	

n = liczba próbek krwi

Odtwarzalność

Powtarzalność testu na BD FACSCanto™ II i Beckman Coulter DxFLEx mierzone na 2 stabilizowanych próbkach krwi (CD-Chex Plus® i CD-Chex Plus® CD4 Low firmy STRECK). Powtarzalność testu Sysmex XF-1600™ mierzone na 4 stabilizowanych próbkach krwi (CD-Chex Plus® i CD-Chex Plus® CD4 Low oraz IMMUNO-TROL Low Cells i IMMUNO-TROL Cells firmy Beckman Coulter dodatkowo). Próbkę mierzono w tych samych warunkach przez 15 dni, używając 3 serii urządzenia (po 5 dni każda). Współczynniki zmienności (CV) podano w poniższych tabelach (Tabele 17–19).

Tabela 17 Odtwarzalność urządzenia na BD FACSCanto™ II

Podzbiór limfocytów	Materiał	Jednostka	Średnio	SD	%CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	82,07	0,40	0,49
		komórek/ μ l	1659	8,1	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	67,87	0,60	0,89
		komórek/ μ l	917	8,1	
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	25,67	0,43	1,66
		komórek/ μ l	519	8,6	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	47,23	0,80	1,69
		komórek/ μ l	638	10,8	
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	47,20	0,51	1,08
		komórek/ μ l	954	10,3	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	9,56	0,18	1,85
		komórek/ μ l	129	2,4	
CD3-CD16+CD56+	CD-Chex Plus®	%	9,51	0,27	2,87
		komórek/ μ l	192	5,5	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	17,00	0,49	2,89
		komórek/ μ l	230	6,6	
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	7,89	0,17	2,18
		komórek/ μ l	158	3,4	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	14,10	0,18	1,29
		komórek/ μ l	190	2,5	

Tabela 18 Odtwarzalność urządzenia na Beckman Coulter DxFLEx

Podzbiór limfocytów	Materiał	Jednostka	Średnio	SD	% CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	81,58	0,35	0,43
		komórek/ μ l	1649	7,2	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	67,57	0,32	0,48
		komórek/ μ l	913	4,3	
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	26,57	0,31	1,17
		komórek/ μ l	537	6,3	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	48,73	0,41	0,85
		komórek/ μ l	658	5,6	
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	45,43	0,53	1,17
		komórek/ μ l	918	10,8	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	9,17	0,25	2,73
		komórek/ μ l	124	3,4	
CD3-CD16+ CD56+	CD-Chex Plus®	%	9,77	0,15	1,56
		komórek/ μ l	197	3,1	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	17,21	0,23	1,35
		komórek/ μ l	232	3,1	
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	7,99	0,33	4,10
		komórek/ μ l	161	6,6	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	14,18	0,23	1,63
		komórek/ μ l	192	3,1	

Tabela 19 Odtwarzalność urządzenia na Sysmex XF-1600™

Podzbiór limfocytów	Materiał	Jednostka	Średnio	SD	CV (%)
CD3+	CD-Chex Plus®	%	80,58	0,41	0,51
		komórek/ μ l	1689	8,5	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	64,19	0,71	1,10
		komórek/ μ l	866	9,6	
	IMMUNO-TROL Cells	%	73,47	0,39	0,53
		komórek/ μ l	930	4,9	
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	56,03	0,71	1,26
		komórek/ μ l	431	5,4	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	23,43	0,60	2,54
		komórek/ μ l	490	12,5	
	IMMUNO-TROL Cells	%	43,78	0,99	2,26
		komórek/ μ l	591	13,3	
CD3+CD4+	IMMUNO-TROL Low Cells	%	24,11	0,26	1,08
		komórek/ μ l	305	3,3	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	34,74	1,00	2,87
		komórek/ μ l	267	7,7	
	CD-Chex Plus®	%	51,31	0,74	1,45
		komórek/ μ l	1073	15,6	
CD3-CD16+ CD56+	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12,14	0,84	6,92
		komórek/ μ l	164	11,3	
	IMMUNO-TROL Cells	%	45,17	0,51	1,14
		komórek/ μ l	572	6,5	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	15,83	0,36	2,28
		komórek/ μ l	122	2,8	
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	8,52	0,28	3,31
		komórek/ μ l	178	5,9	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	15,53	0,48	3,06
		komórek/ μ l	209	6,4	
	IMMUNO-TROL Cells	%	10,03	0,28	2,80
		komórek/ μ l	127	3,6	
CD3-CD19+	IMMUNO-TROL Low Cells	%	21,59	0,59	2,74
		komórek/ μ l	166	4,6	
	CD-Chex Plus®	%	9,93	0,25	2,48
		komórek/ μ l	208	5,1	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	18,70	0,31	1,63
		komórek/ μ l	252	4,1	
CD3-CD19+	IMMUNO-TROL Cells	%	13,03	0,34	2,58
		komórek/ μ l	165	4,3	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	17,45	0,55	3,14
		komórek/ μ l	134	4,2	

UWAGA: wszystkie dane dotyczące wydajności analitycznej zostały zmierzone przy użyciu roztworu do lizy erytrocytów EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., nr kat. ED7066).

Do analizy metodą cytometrii przepływowej wykorzystano następujące cytometry przepływowe wraz z wersją oprogramowania:

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

Do bezwzględnego zliczenia komórek zastosowano analizator hematologiczny metodą dwuplatformową o następujących parametrach:

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

Do oceny zmierzonych danych wykorzystano platformę analityczną: FlowJo™ (Becton, Dickinson and Company) - wersja 10.9.0

12. Wydajność kliniczna

Pacjenci podejrzani o występowanie chorób układu odpornościowego

Dane kliniczne zebrano w ośrodku klinicznym od 46 pacjentów z podejrzeniem chorób układu odpornościowego. Skuteczność kliniczną urządzenia określono poprzez porównanie urządzenia DryFlowEx TBNK 6-color z akredytowaną metodą laboratoryjną (system cytometrii przepływowej AQUIOS CL - Beckman Coulter, Inc.).

Wyniki oceny statusu immunologicznego pacjentów oceniano pod kątem niedoboru odporności (tabela 20).

Tabela 20 Wydajność kliniczna urządzenia DryFlowEx TBNK 6-color

		Stan odporności oceniany metodą wewnętrzną akredytowanego laboratorium klinicznego	
		Stany patologiczne układu odpornościowego	Normalna kondycja
Stan odporności oceniany za pomocą urządzenia DryFlowEx TBNK 6-color	Stany patologiczne układu odpornościowego	9 pacjentów	0 pacjentów
	Normalna kondycja	0 pacjentów	37 pacjentów

13. Oczekiwane wartości

Interwał odniesienia

Tabela 21 Interwały odniesienia zdrowych dawców krwi mierzone na urządzeniu BD FACSCanto™ II

Podzbiór limfocytów	n	Jednostka	Zakres		Mediana
			Min	Maks	
CD3+	92	%	53,2	84,4	73,2
	92	komórek/ μ l	731	2550	1298
CD3+CD8+	92	%	6,9	38,3	23,0
	92	komórek/ μ l	126	1138	427
CD3+CD4+	92	%	27,6	63,3	43,6
	92	komórek/ μ l	455	1751	774
CD3-CD16+CD56+	92	%	5,3	33,5	13,7
	92	komórek/ μ l	101	692	255
CD3-CD19+	92	%	3,1	21,2	10,7
	92	komórek/ μ l	56	412	200

n = liczba próbek krwi

Przedziały referencyjne podane w tabeli 21 ustalono dla zdrowych pacjentów, którzy zgodnie z ustawodawstwem Republiki Czeskiej byli uznawani za dawców krwi, spełniając rygorystyczne kryteria stawiane dawcom krwi dla banku krwi. Dane mierzono przy użyciu cytometru przepływowego BD FACSCanto™ II.

Konkretne zakresy odniesienia mogą się różnić w zależności od regionu i populacji, na podstawie której ustalono wartości. Z tego powodu laboratoria muszą ustalić własne normalne przedziały referencyjne dla podzbiorów limfocytów zidentyfikowanych za pomocą testu DryFlowEx TBNK 6-color na podstawie lokalnej populacji zdrowych dawców ze względu na różnice w wartościach związane z wiekiem, płcią, cechami klinicznymi i pochodzeniem etnicznym.

14. Ograniczenia

Urządzenie DryFlowEx TBNK 6-color nie zostało przetestowane do stosowania w próbkach pobranych z heparyną lub antykoagulantami kwaśnego cytrynianu dekstrozy (ACD) do oznaczania zliczeń względnych i bezwzględnych.

Urządzenie DryFlowEx TBNK 6-color nie jest przeznaczone do badań przesiewowych i/lub fenotypowania próbek białaczki i chłoniaka.

Liczby bezwzględne nie są porównywalne między laboratoriami korzystającymi z różnych urządzeń różnych producentów.

15. Bibliografia

- 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 Kindom: 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, Boumsell 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, *OncolImmunology*, 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. Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania

Podsumowanie bezpieczeństwa i działania będzie dostępne w bazie danych Eudamed pod adresem <https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home>. Do tego czasu podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania jest dostępne na żądanie.

17. Używanie znaków towarowych stron trzecich

BD FACSCanto™ II, BD FACSLytic™, BD Multitest™ i FlowJo™ są zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Becton, Dickinson and Company. CD-Chex Plus® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Streck. Cy™ jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Cytiva. CyLyse™ FX, Sysmex XN-1000™ i Sysmex XF-1600™ są zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Sysmex Corporation. VenturiOne® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Applied Cytometry. Infinicyt™ jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Cytognos S.L..

18. Historia zmian

Wersja 5, ED7736_IFU_v5

Bardziej precyzyjny opis rozdziału 13. Oczekiwane wartości - Interwał odniesienia.

19. Producent

EXBIO Praha, a.s.

Nad Safinou II 341

25250 Vestec

Czech Republic

Dane kontaktowe

info@exbio.cz

technical@exbio.cz

orders@exbio.cz

www.exbio.cz

20. Upoważnieni przedstawiciele

N/A

UWAGA: każdy poważny incydent, który miał miejsce w związku z urządzeniem, należy zgłosić producentowi i właściwemu organowi lokalnemu.