

exbio

FagoFlowEx Kit

100 tester | Kat. Nr. ED7042



Bruksanvisning (NN)

Versjon: ED7042_IFU_v10_NN

Utstedelsesdato: 06-03-2026

Symboler brukt i enhetsmerkingen

| | | | |
|--|---|--|---------------------------------|
| | Medisinsk utstyr til in vitro-diagnostikk | | Temperaturgrense |
| | CE-samsvarsmerking | | Hold unna sollys |
| | Produsent | | Holdes tørr Holdes unna regn |
| | Unik enhetsidentifikator | | Innhold |
| | Se bruksanvisningen | | UKCA-merke |
| | Inneholder tilstrekkelig for <n> tester | | |
| | Katalognummer | | |
| | Batch-kode | | |
| | Utløpsdato | | |

1. Tiltent formål

FagoFlowEx Kit er tiltent for bestemmelse av fagocytisk aktivitet av nøytrofile granulocytter ved å måle respiratorisk (oksidativ) burst i helblod med væskestrømcytometri.

Hva oppdages og/eller måles

Enheden oppdager og måler to parametre med fluorogent substrat dihydrorhodamin 123:

- prosentandel av nøytrofile granulocytter som produserer reaktive oksygenmetabolitter (ROS) som respons på innføring av *E. coli*-bakterier
- intracellulær aktivitet av ROS-produserende enzymer.

Enhetsfunksjon

Enheden er ment som screening/hjelpemiddel for diagnostisering av medfødt eller ervervet immunsvikt.

Kontekst til en fysiologisk eller patologisk tilstand

Nøytrofile granulocytters manglende evne til å katalysere produksjon av reaktive oksygenmetabolitter, som fører til kronisk granulomatose (CGD), en gruppe medfødte lidelser med en felles fenotype av tilbakevendende alvorlige bakterie- og soppinfeksjoner og dannelse av vevsgranulom ^(1, 2, 3, 4). Resultater i samsvar med CGD kan også stamme fra MPO-mangel, som er den mest vanlige fagocytdefekten vanligvis presentert som en normal fenotype uten økt forekomst av infeksjoner ⁽⁵⁾.

En reduksjon av fagocytisk aktivitet uten mangelen på ROS-produserende enzymer oppstår i ulike andre kliniske tilstander som er knyttet til immunsuppresjon, enten primær variable immunsvikt- og plasmaopsoninmangler, eller sekundær immunsvikt ^(6, 7).

Type analyse

Ikke automatisert

Kvantitativ

Type prøve nødvendig

Menneskelig heparin-antikoagulert helblod

Testpopulasjon

En pasient med mistenkt mangel på granulocytffunksjon.

2. Tiltent bruker

Enheden er kun tiltent for profesjonell laboratoriebruk. Ikke for nærpasient-testing eller selvtesting.

Krav til kvalifikasjon

Tiltent bruker skal ha toppmoderne ekspertise i væskestrømyctometrianalyse av menneskeceller, standard laboratoriumteknikker inkludert pipetteringsferdigheter, trygg og passende håndtering av prøver avledet fra menneskekroppen.

Tiltent bruker må overholde standard EN ISO 15189 eller andre nasjonale bestemmelser, der det er aktuelt.

3. Testprinsipp

Testen er basert på å måle produksjonen av ROS i nøytrofile granulocytter med en fluorogen substrat dihydrorhodamin 123 (DHR123).

Under testen inkuberes en prøve med helblod med varmeinaktiverte *E. coli*-bakterier og med DHR123. Reaksjonsblandingen bringes til 37 °C for å fremme fagocytose av *E. coli* med nøytrofile granulocytter. Under inkubasjonen oppslukes bakteriene aktivt av cellene mens ikke-fluorescerende DHR123 passivt kommer inn i det intracellulære miljøet gjennom sin konsentrasjonsgradient. Bakterier blir fanget inni cellefagosomene og utløser enzymatiske reaksjoner som fører til produksjon av ROS. ROS-ioner oksiderer DHR123 til fluorescerende rhodamin 123 (R123) som magnetiseres av laserstrålen fra et flowcytometer under innhenting av en blodprøve. Påfølgende utslipp av lys fra R123 som tilsvarer den intracellulære aktiviteten til ROS-produserende enzymer samles inn og analyseres av flowcytometeret.

To andre reaksjoner utføres parallelt med *E. coli*-stimuleringen, den negative kontrollreaksjonen, som er reaksjonen uten *E. coli*, og den positive kontrollreaksjonen, som er en reaksjon som bruker forbol 12-myristat 13 acetat, som aktiverer ROS-produserende enzymer uten fagocytose.

Cellene anses som aktivt fagocytterende hvis fluorescensen deres overskrider fluorescensen til celler fra den negative kontrollreaksjonen. Resultatet rapporteres som en prosentandel av fagocytterende celler. Fluorescensintensiteten til fagocytterende celler er direkte proporsjonal med den intracellulære aktiviteten til ROS-produserende enzymer.

4. Inkluderte reagenser

Innhold

Enheten FagoFlowEx Kit, tilstrekkelig for 100 tester, leveres med følgende reagenser:

E. coli (5 flasker) med lyofiliserte *E. coli*-bakterier, 1 flaske er tilstrekkelig for stimulering av 20 blodprøver (ED7042-1).

DHR123 (5 flasker) med lyofilisert dihydrorhodamin 123, 1 flaske er tilstrekkelig for farging av 60 blodprøver (ED7042-2).

Stimuleringskontroll (5 flasker) med lyofilisert PMA (forbol 12-myristat 13-acetat), 1 flaske er tiltenkt for 20 positive kontrolltester (ED7042-3).

Lyseringsløsning (1 flaske) inneholder 15 ml bruksklar løsning (ED7042-4).

5. Nødvendige materialer som må skaffes separat

Runde bunnstrør (12 x 75 mm)

Avionisert vann (reagenskvalitet)

6. Nødvendig utstyr

Automatisk pipette med engangsspisser (10–1000 µl) for pipettering av prøve og reagenser

Vortexblander

Termostat (luftinkubator) eller vannbad som kan inkubere testrør ved 37 °C

Lasermagnetiseringskilde til flowcytometer (488 nm), detektorer for spredere, optiske filtre og utslippsdetektor egnet for å hente inn signalet fra fluorokrom oppgitt i tabell 1.

Tabell 1 Spektralkarakteristikk for fluorokrom brukt i enheten

| Fluorokrom | Magnetisering [nm] | Utslipp [nm] |
|--------------|--------------------|--------------|
| Rhodamin 123 | 488 | 525 |

MERKNAD: Enheten ble testet på flowcytometrene BD FACSCanto™ II (BD Biosciences), BD FACSLyric™ (BD Biosciences), Navios EX (Beckman Coulter), DxFLEX (Beckman Coulter) og Sysmex XF-1600™ (Sysmex Corporation).

7. Oppbevaring og håndtering

Oppbevares ved 2–8 °C.

Må ikke eksponeres for lys i lengre perioder.



Må ikke fryses.

Se avsnitt 10 Prosedyre (Reagensklargjøring) for informasjon om bruksstabilitet og holdbarhet etter første åpning, sammen med oppbevaringsbetingelser og stabilitet for arbeidsløsninger (der det er aktuelt).

8. Advarsler, forholdsregler og bruksbegrensninger

GHS-fareklassifisering

ADVARSEL: Lyseringsløsning (ED7042-4) inneholder formaldehyd (CAS-nr. 50-00-0) og metanol (CAS-nr. 67-56-1) i konsentrasjoner som klassifiseres som farlige.

| Etikettelementer | Signalord |
|---|---|
|  | Fare |
|  | |
| H-setninger | H315: Irriterer huden. H317: Kan utløse en allergisk hudreaksjon. H319: Gir alvorlig øyeirritasjon. H331: Giftig ved innånding. H335: Kan forårsake irritasjon av luftveiene. H341: Mistenkes for å kunne forårsake genetiske skader. H350: Kan forårsake kreft. EUH071: Etsende for luftveiene. |
| P-setninger | P201: Innhent særskilt instruks før bruk. P260: Ikke innånd damper. P280: Benytt vernehansker/verneklær/øyevern. P308+P313: Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søk legehjelp. P403+P233: Oppbevares på et godt ventilert sted. Hold beholderen tett lukket. |

Se sikkerhetsdatabladet (SDS) tilgjengelig på produktsiden på www.exbio.cz for fullstendig informasjon om risikoene forbundet med kjemiske stoffer og blandinger i produktet og hvordan de skal håndteres og avhendes.

Biologisk fare

Biologiske prøver og blodprøver fra mennesker og alle materialer som kommer i kontakt med dem, skal alltid anses som smittsomme materialer.

Bruk personlig verne- og sikkerhetsutstyr for å unngå kontakt med hud, øyne og slimhinner.

Følg alle gjeldende lover, forskrifter og prosedyrer for håndtering og avhending av smittsomme materialer.

Dokumentasjon på forringelse

Normalt utseende på inkluderte lyofiliserte reagenser er et hvitt pulver (E.coli og stimuleringskontroll) eller en fast lyofilisert blokk (DHR123). Ikke bruk reagensen hvis du legger merke til endret utseende, for eksempel en fargeendring eller kondensering.

Lyseringsløsningens normale utseende er en klar væske. Ikke bruk reagensen hvis du legger merke til endret utseende, for eksempel turbiditet eller tegn på nedfall.

Bruksbegrensninger

Skal ikke brukes etter utløpsdatoen som er angitt på produktetikettene.

9. Prøve

Bruk perifert veneblod innhentet i prøvebeholder klassifisert som en medisinsk enhet, med tilstedeværelse av heparinantikoagulasjonsmiddel.

FORSIKTIG: Antikoagulasjonsmidler EDTA og sitrat har en negativ innvirkning på resultatene av analysen.

Blodprøver i samlørret må oppbevares ved romtemperatur. Ikke kjøøl ned.

Behandle blodprøven ikke senere enn 24 timer etter den ble tatt.

10. Prosedyre

Klargjøring av inkluderte reagenser

E. coli

Rekonstituer innholdet i *E. coli*-flasken i 250 µl avionisert vann (arbeidskonsentrasjon $3,3 \times 10^9$ bakterier per ml). Klargjør på nytt hver måledag, oppbevar ved 2-8 °C og bruk i løpet av de neste åtte timene. Alternativt kan reagenset fryses ved -20 °C til -80 °C og brukes i løpet av sju dager.

FORSIKTIG: Unngå gjentatte fryse- og tinesykluser.

DHR123

Rekonstituer innholdet i DHR123-flasken i 650 µl avionisert vann (arbeidskonsentrasjon 45 µmol/l). Klargjør på nytt hver måledag, oppbevar ved 2-8 °C og bruk i løpet av de neste åtte timene. Alternativt kan reagenset fryses ved -20 °C til -80 °C og brukes i løpet av sju dager.

MERKNAD: Alikvotert løsning tåler opptil fem fryse- og tinesykluser.

Stimuleringskontroll

Rekonstituer innholdet i stimuleringskontrollen i 250 µl avionisert vann (arbeidskonsentrasjon 50 µmol/l). Klargjør på nytt hver måledag, oppbevar ved 2-8 °C og bruk i løpet av de neste åtte timene. Alternativt kan reagenset fryses ved -20 °C til -80 °C og brukes i løpet av sju dager.

MERKNAD: Alikvotert løsning tåler opptil fem fryse- og tinesykluser.

Lyseringsløsning

Reagens er klar for bruk.

MERKNAD: Bring reagensen til romtemperatur før bruk.

Prøvefarging

1. For undersøkelse av én pasient: merk tre 12 x 75 mm runde buntestrør med passende prøveidentifikasjon og markering for

**E. coli-stimulert reaksjon,
positiv kontrollreaksjon (PMA-stimulering)
og negativ kontrollreaksjon.**

Pipetter til bunnen av testrørene

- 10 µl E. coli i røret merket som E. coli-stimulert reaksjon.
 - 10 µl stimuleringskontroll i røret merket som positiv kontrollreaksjon.
 - Ikke pipetter noe i røret som er merket som negativ kontrollreaksjon.
2. Pipetter 50 µl brønnblandet prøve til bunnen av hvert av testrørene, og vortex skånsomt.
- FORSIKTIG:** Unngå å pipettere blod på siden av testrøret. Hvis det er blodslø eller -dråper igjen på siden av røret, blir det kanskje ikke farget med reagensen eller erytrocytter blir kanskje ikke lysert og testresultatet vil kanskje ikke være gyldig.
3. Pipetter 10 µl DHR123 prøve til bunnen av hvert av testrørene, og vortex skånsomt.
4. Plasser testrørene ved 37 °C i 20 minutter i et vannbad eller 30 minutter i en luftinkubator.
5. Tilsett 50 µl lyseringsløsning til hvert av testrørene. Vortex skånsomt, og inkuber testrørene i fem minutter ved romtemperatur i mørket.

6. Tilsett 1 ml avionisert vann i hvert av testrørene, vortex skånsomt og inkuber i ti minutter ved romtemperatur i mørket.
7. Hent ut den fargede prøven umiddelbart på flowcytometeret. Hvis den fargede prøven ikke skal hentes umiddelbart, ha lokk på testrøret, oppbevar ved 2–8 °C i mørket og analyser innen to timer.

FORSIKTIG: Fluorescence til rhodamin 123, produsert ved oksidasjon av DHR123, oppdages i FITC-kanalen (525 nm). Fordi rhodamin 123 frigis innen kort tid fra granulocytene som vist på figur 8, må prøvene **måles så raskt som mulig** (ikke senere enn to timer etter lysing) og helst **innenfor et standardisert tidsvindu** (se side 18).

FORSIKTIG: Vortex den fargede prøven umiddelbart før innhenting på flowcytometeret for å unngå aggregater.

Analyse med flowcytometri

Flowcytometeret valgt for bruk med enheten FagoFlowEx Kit skal kalibreres rutinemessig ved hjelp av fluorescerende mikroperler for å sikre stabil følsomhet på detektorene i henhold til cytometerprodusentens anvisninger.

Ved utilstrekkelig vedlikehold kan flowcytometeret gi falske resultater.

Se produsentens cytometerspesifikasjoner for lasere og fluorescensdetektorer ifølge magnetiserings- og utslippsegenskapene til fluorokromene i avsnitt 6 Nødvendig utstyr.

Angi spenninger på fluorescensdetektorene av interesse før analyse av farget prøve. Spenning på en PMT-detektor bør settes høyt nok til at et minimum av negative fargede hendelser forstyrrer den 0. kanalen på fluorescensaksen. PMT-detektorspenningen bør ikke overskride verdier der positive hendelser presses til høyre akse.

For målt dataanalyse er det mulig å bruke cytometerprogramvare utviklet av produsenten, eller programvare laget for offline cytometridataanalyse (for eksempel FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

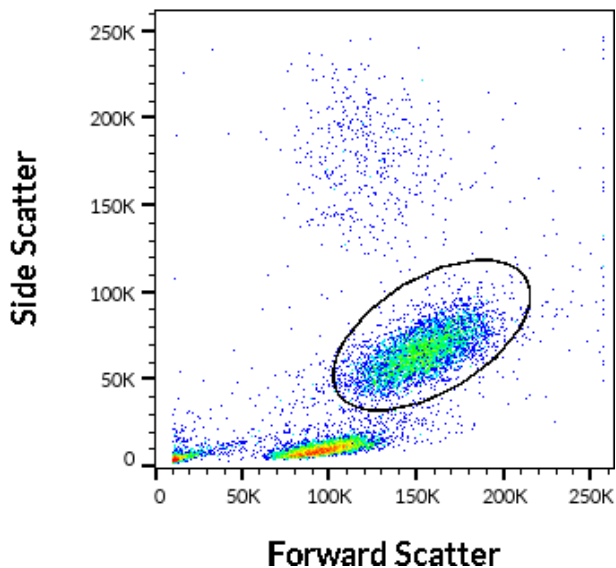
Analyse av en pasients prøve

Innhent minst 5000–10 000 leukocytthendelser. Visualiser innhentede hendelser i sidepunktet (SSC) versus foroverpunktplottet (FSC). Angi porten rundt granulocytterne som vist i figur 1.

FORSIKTIG: Inntak av bakterier påvirker posisjonen til granulocytterne i SSC-FSC-punktplottet. Juster derfor porten individuelt for hver reaksjon.

MERK: Stimuleringskontroll (PMA) forårsaker celledetring i en betydelig andel av granulocytter, og den resulterende reduksjonen i antall nøytrofiler kan forlenge opptakstiden.

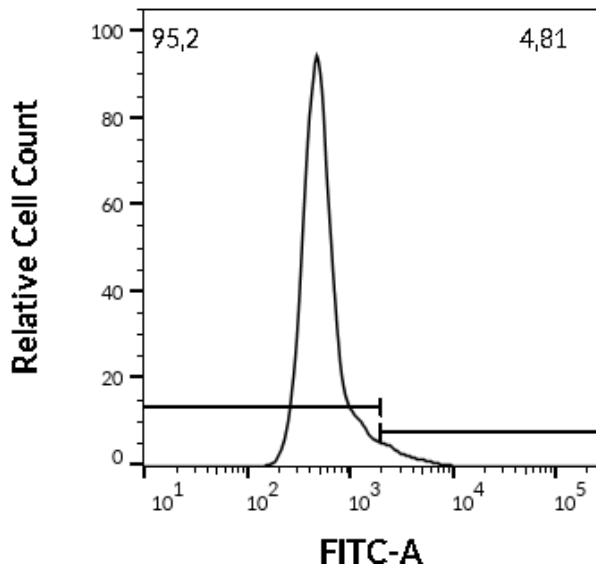
Figur 1 Avgrensning av granulocyttopulasjon



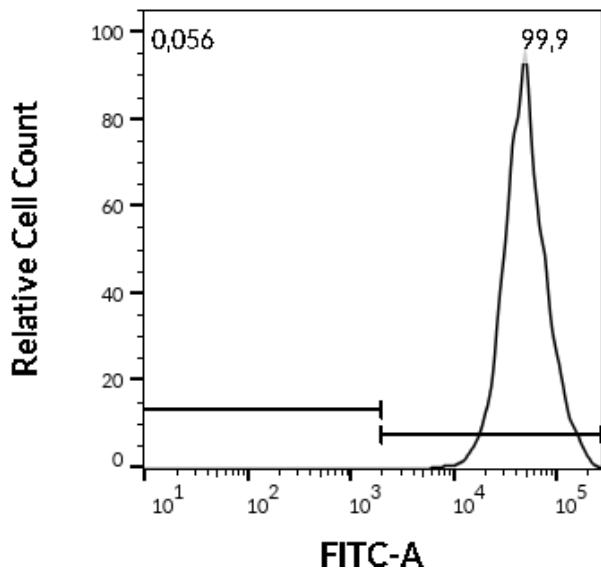
Visualiser gatede granulocytter som histogrammer der X-aksen representerer fluorescensintensitet i FITC-kanal. Bruk den negative kontrollreaksjonen til å angi en passende port for differensierende positiv (aktivt fagocytterende ROS-produserende celler) og negative granulocytter (ikke-fagocytterende ikke-ROS-produserende celler). Kopier porten til *E. coli*-stimuleringsreaksjonen og til den positive kontrollreaksjonen (figur 2a, 2b, 2c).

Granulocytter som gjennomgår oksidativt burst utviser lys fluorescence hos rhodamin 123. Beregn gjennomsnittlig fluorescensintensitet for positive og negative granulocytter. Fluorescensintensiteten er direkte proporsjonal med den intracellulære aktiviteten til ROS-produserende enzymer.

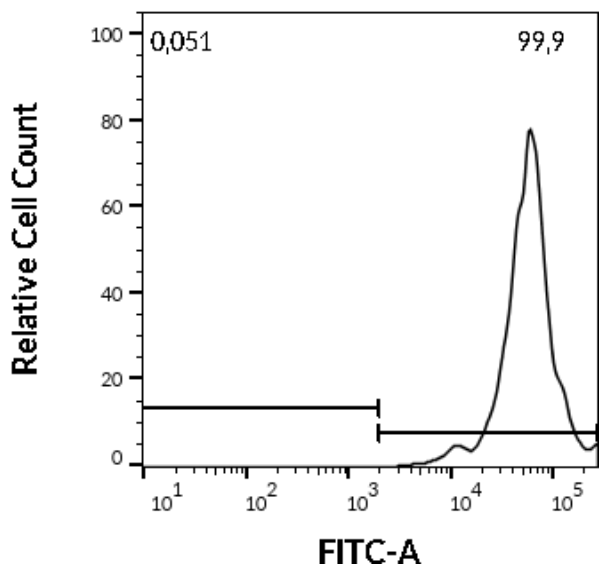
Figur 2a Histogram av granulocytffluorescensintensitet fra negativ kontrollreaksjon



Figur 2b Histogram av granulocytffluorescensintensitet fra *E. coli*-stimulert reaksjon



Figur 2c Histogram av granulocytffluorescensintensitet i positiv kontrollreaksjon



Beregning og tolkning av analyseresultater

Kvantitative parametre

To kvantitative parametre rapporteres og tolkes med tanke på indikasjon på svikt i fagocytisk aktivitet eller mangel i ROS-produksjon:

a) **Relativt antall positive granulocytter** som utviser Respiratory Burst etter stimulering av *E. coli*.

b) **Stimuleringsindeks (SI)** beregnet som gjennomsnittlig fluorescensintensitetsforhold (MFI) for stimulerte granulocytter fra *E. coli*-stimulert reaksjon og granulocytter fra negativ kontrollreaksjon.

Eksempel på beregning av stimuleringsindeks

Tabell 2 MFI av granulocytter

| Populasjon | Gjennomsnittlig FITC-A |
|------------------------------------|------------------------|
| <i>E. coli</i> -stimulert reaksjon | 53836 |
| Negativ kontrollreaksjon | 550 |

$$\frac{\text{MFI for granulocytter fra reaksjonen stimulert med } E.coli}{\text{MFI for granulocytter fra negativ kontrollreaksjon}} =$$

$$\frac{53836}{550} = \text{SI (Stimulation Index)} = 98$$

FORSIKTIG: Hvis det er en multimodal fordeling av fluorescensen, beregn stimuleringsindeksen for hver fordelingstopp.

Kvalitative parametre

Kvalitativ datatolkning inkorporerer histogrammer for å evaluere signaldistribusjonen og for å identifisere individuelle topper som, når det gjelder forekomsten av flere granulocyttopulasjoner, må analyseres separat.

Når det gjelder **respiratorisk burst-mangler** (manglende oksidering av DHR123) vil de resulterende granulocytthistogrammene vise overensstemmelse for signaldistribusjon mellom *E. coli*-stimuleringsreaksjon og positiv kontrollreaksjon (figur 4, 5, 6).

Når det gjelder **fagocytisk aktivitet-mangler** (reduert partikkeloppslukning) vil de resulterende granulocytthistogrammene vise uoverensstemmelse for signaldistribusjon mellom *E. coli*-stimuleringsreaksjon og positiv kontrollreaksjon. *E. coli*-stimulert reaksjon vil få granulocyttopulasjonen delt inn i flere topper av

ulike fluorescensintensiteter, positiv kontrollreaksjon vil ha en enkelt topp (figur 7).

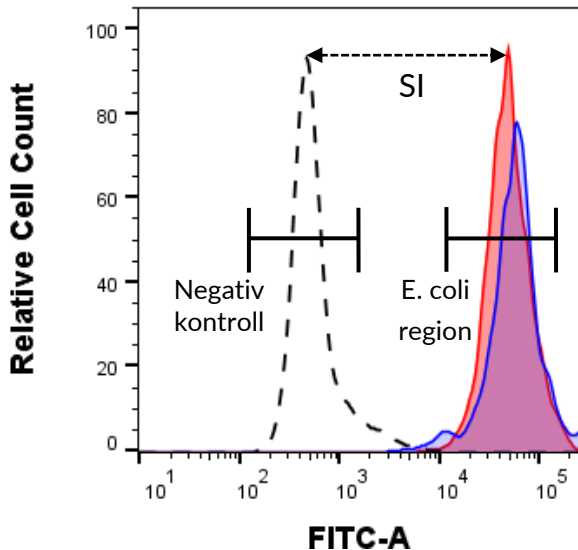
MERKNAD: Deteksjon av uvanlige resultater indikerer kun en mistanke om sykdom, og må bekreftes i andre tester.

Eksempler

Normalt resultat til en frisk donor

Granulocytter viser høy respiratorisk burst etter stimulering med **både** *E. coli* og positiv kontrollreaksjon (figur 3).

Figur 3 Overlapping med histogram: Frisk donor uten respiratorisk burst-mangel, (SI = 98, relativt antall positive granulocytter 99,9 %). Signaldistribusjon av *E. coli*-stimulerte granulocytter (rødfylte), granulocytter fra negativ kontrollreaksjon (svartstreket) og granulocytter fra positiv kontrollreaksjon (blåfylte) i FITC-detektor.



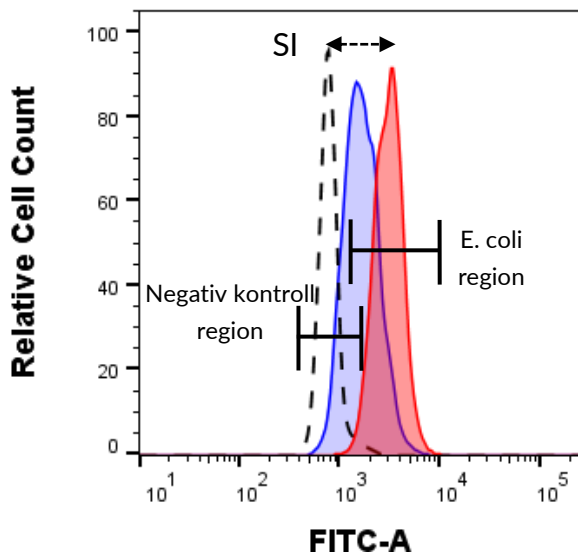
Resultater indikerer respiratorisk burst-mangel

1) En enkelt topp med lav signalintensitet

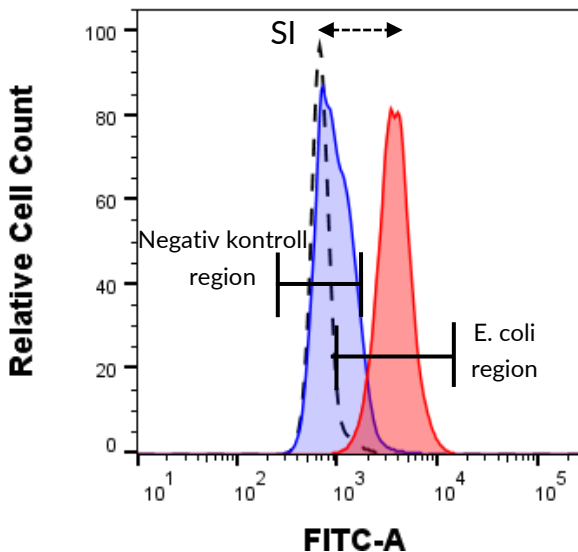
Hvis granulocytter viser lav respiratorisk burst etter stimulering med **både** *E. coli* og positiv kontrollreaksjon, indikerer det enten **myeloperoksidasemangel (MPO)** (figur 4) eller den mindre vanlige **kronisk granulomatøs sykdom (CGD)** (figur 5). Intensiteten på respiratorisk burst i CGD avhenger av mutasjonen i NADPH-oksidasenzymkomplekset. Det finnes fem autosomale recessive typer (1-5) og en X-bundet recessiv type av sykdommen.

FORSIKTIG: Analysen kan ikke differensiere mellom CGD- og MPO-mangel.

Figur 4 Overlapping med histogram: Pasient med MPO-mangel, (SI = 11, relativt antall positive granulocytter 89,7 % - diskrimineringsporten er ikke vist). Signaldistribusjon av *E. coli*-stimulerte granulocytter (rødfylte), granulocytter fra negativ kontrollreaksjon (svartstreket) og granulocytter fra positiv kontrollreaksjon (blåfylte) i FITC-detektor.



Figur 5 Overlapping med histogram: Mannlig pasient med X-bundet CGD, (SI = 16, relativt antall positive granulocytter 99 % - diskrimineringsporten er ikke vist). Signaldistribusjon av *E. coli*-stimulerte granulocytter (rødfylte), granulocytter fra negativ kontrollreaksjon (svartstreket) og granulocytter fra positiv kontrollreaksjon (blåfylte) i FITC-detektor.

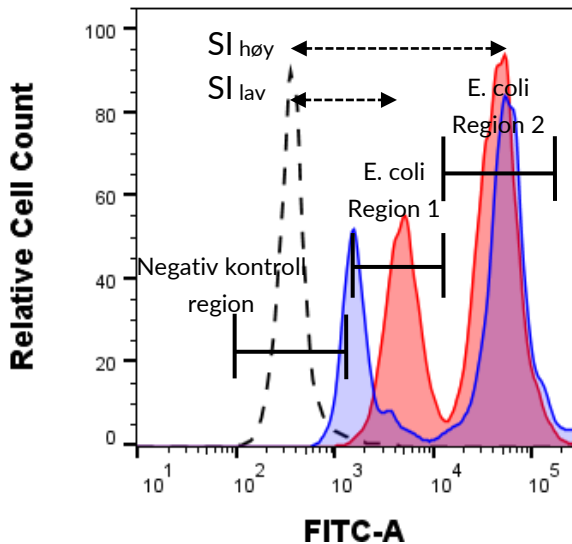


2) To topper med ulik signalintensitet

Hvis granulocytter for en kvinnelig pasient **utviser to underpopulasjoner** som har ulik intensitet av respiratorisk burst eller stimulering med både *E. coli* og positiv kontrollreaksjon (figur 6), indikerer det at pasienten er en bærer av X-bundet CGD.

FORSIKTIG: Tre og flere topper i histogrammet indikerer en kontaminering av granulocyttopulasjonsport i SSC vs. FSC-punktplot (figur 1) med monocytter eller døde ikke-fagocytterende celler.

Figur 6 Overlapping med histogram: Kvinnelig bærer av X-bundet mutasjon av NADPH-oksidase-genet. To granulocyttopulasjoner har ulik respiratorisk burst-intensitet, (*E. coli*-region med lav MFI SI = 14, 35 % av granulocytter, *E. coli*-region med høy MFI SI = 125, 65 % av granulocytter) Signaldistribusjon av *E. coli*-stimulerte granulocytter (rødfylte), granulocytter fra negativ kontrollreaksjon (svartstreket) og granulocytter fra positiv kontrollreaksjon (blåfylte) i FITC-detektor.

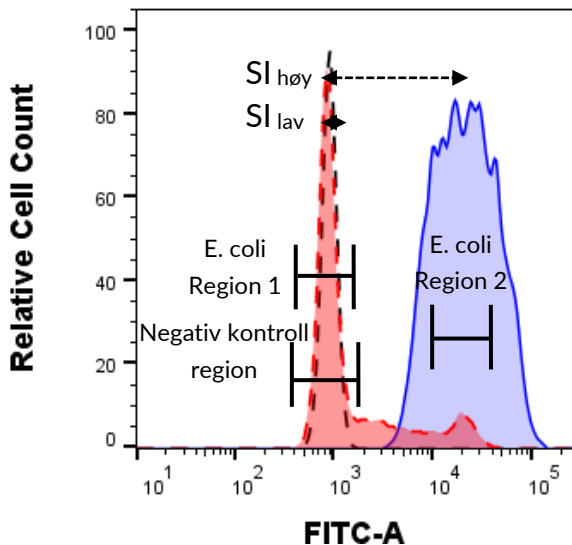


Resultater indikerer fagocytisk aktivitet-mangel

Ulikt toppmønster mellom den positive kontrollreaksjonen og den E. coli-stimulerte reaksjonen

Hvis granulocytter stimulert med E. coli, viser lav respiratorisk burst, og granulocytter stimulert med positiv kontrollreaksjon, viser høy respiratorisk burst (figur 7), indikerer det en mangel i granulocytffagocytisk aktivitet, eller alternativt at blodprøven inneholder antikoagulasjonsmiddel-EDTA eller sitrat eller at prøven var gammel eller har vært oppbevart feil.

Figur 7 Overlapping med histogram: Prøve antikoagulert med EDTA, (E. coli-region med lav MFI SI = 1, 73 % av granulocytter, E. coli-region med høy MFI SI = 25, 9 % av granulocytter). Signaldistribusjon av E. coli-stimulerte granulocytter (rødfylte), granulocytter fra negativ kontrollreaksjon (svartstreket) og granulocytter fra positiv kontrollreaksjon (blåfylte) i FITC-detektor.



11. Analyseresultater

Nøyaktighet (repeterbarhet og reproducerbarhet)

Reproduserbarheten til analysen ble fastslått fra data innhentet av fem operatører som analyserte seks blodprøver fra friske blodgivere på samme dag under de samme eksperimentbetingelsene.

Følgende parametre ble beregnet:

a) For bestemmelse av relativt antall positive granulocytter

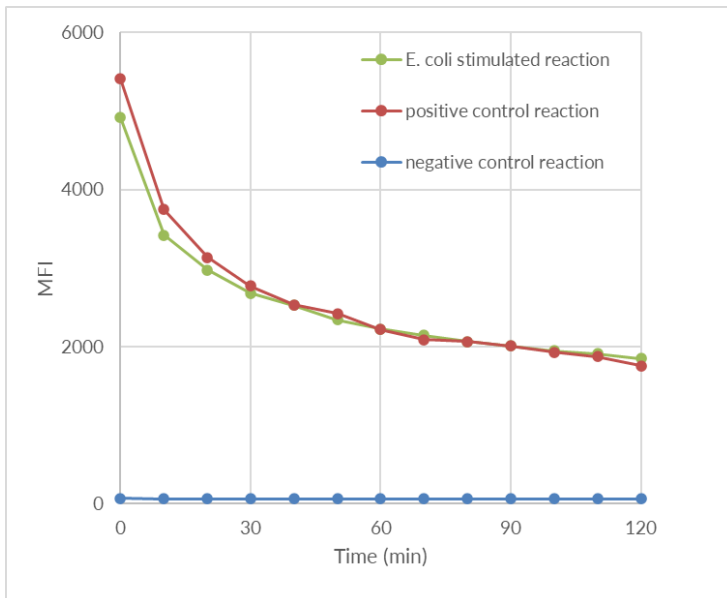
CV = 2 %

b) For bestemmelse av stimuleringsindeks

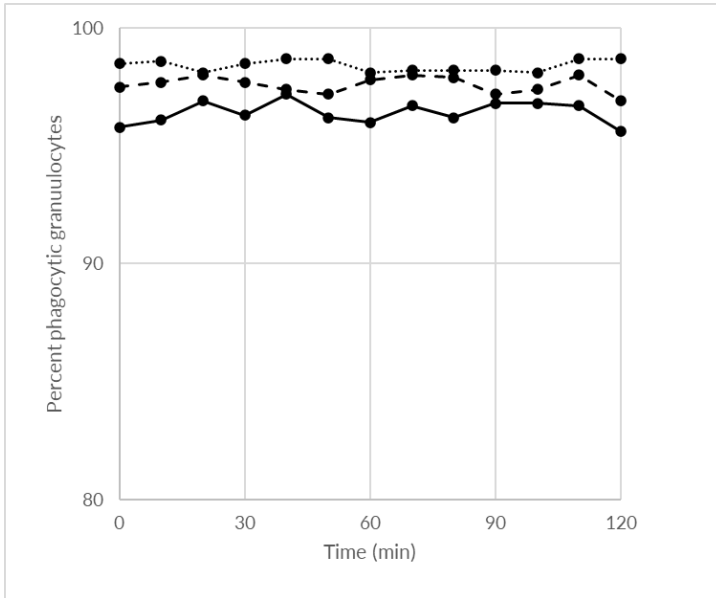
CV = 11 %

Repeterbarheten til analysen ble ikke fastslått. På grunn av dynamikken til MFI-enderinger forbundet med R123-frigjøring fra celler (figur 8, 9, 10), vil repeterbarhetsverdiene avhenge av tiden som gikk mellom slutten av prøveprosesseringen (fiksering/RBC-lysis) og FACS-analysen. Det anbefales å utføre en analyse av små prøveserier, og deretter analysere dem i løpet av det standardiserte smale tidsvinduet. Større serier kan eventuelt analyseres senere, f.eks. etter et større tidsintervall (40 minutter) for å minimere MFI-variabiliteten.

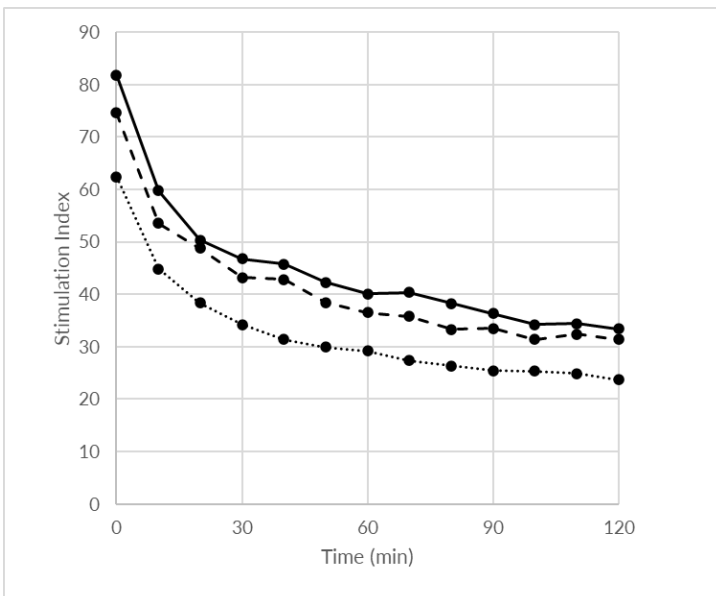
Figur 8 Gjennomsnittlig utvikling av granulocytfluorescensintensitet (MFI) over tid etter lysis av rødt blodlegeme, en blodprøve som et eksempel (frisk donor).



Figur 9 Utvikling av granulocytffagocytisk aktivitet (%) over tid etter lysis av rødt blodlegeme, 3 ulike blodprøver (friske donorer).



Figur 10 Utvikling av stimuleringsindeks over tid etter lysis av rødt blodlegeme, 3 ulike blodprøver (friske donorer).



12. Kliniske resultater

Analysen ble evaluert av komparative målinger til PhagoBurst (Orpegen Pharma GmbH) med prøver fra totalt 47 pasienter (tabell 3). Begge sett var i stand til å oppdage: a) manglende partikkelinnføring (lav fagocytisk aktivitet) og b) oksidativt burst-lidelser (MPO-mangel, CGD) med 100 % sensitivitet og 100 % spesifisitet.

Tabell 3 Pasientkarakteristikker i ytelseevalueringstudien

| Pasientkarakteristikk | n |
|--|----|
| Frisk donor (ikke-relatert immunlidelse) | 40 |
| CGD (2 syke og en CGD-bærer) | 3 |
| MPO-mangel | 2 |
| Lav fagocytisk aktivitet (sykdomsmodell - EDTA-antikoagulasjonsmiddel) | 2 |
| Gamle prøver (gjentatte målinger av friske donorer på 48 timer) | 4 |

13. Forventede verdier

Normalt referanseområde for Respiratory Burst-aktivitet i granulocytter har blitt vurdert i 40 blodprøver med perifert blod fra friske voksne personer.

- Granulocytter med Respiratory Burst-aktivitet
90–100 %
- Stimuleringsindeks for granulocytter > 30
3-persentil = 31
Median = 56
97-persentil = 97

Fordi stimuleringsindeksen kan gi ulike resultater i forskjellige laboratorier og instrumenter, MÅ vært enkelt laboratorium etablere et referanseområde basert på egne testbetingelser på prøver fra den lokale populasjonen av normale donorer.

14. Interfererende stoffer og begrensninger

Antikoagulasjonsmidler EDTA og sitrat har en negativ innvirkning på resultatene av analysen.

15. Referanser

- 1) Dinauer MC. Chronic granulomatous disease and other disorders of phagocyte function. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2005;89-95. doi: 10.1182/asheducation-2005.1.89. PMID: 16304364.
- 2) de Oliveira-Junior EB, et al. The human NADPH oxidase: primary and secondary defects impairing the respiratory burst function and the microbicidal ability of phagocytes. *Scand J Immunol*. 2011 May;73(5):420-7. doi: 10.1111/j.1365-3083.2010.02501.x. PMID: 21204900.
- 3) Song E, et al. Chronic granulomatous disease: a review of the infectious and inflammatory complications. *Clin Mol Allergy*. 2011 May 31;9(1):10. doi: 10.1186/1476-7961-9-10. PMID: 21624140; PMCID: PMC3128843.
- 4) Kuijpers T, et al. Inflammation and repeated infections in CGD: two sides of a coin. *Cell Mol Life Sci*. 2012 Jan;69(1):7-15. doi: 10.1007/s00018-011-0834-z. Epub 2011 Nov 15. PMID: 22083605; PMCID: PMC3249194.
- 5) Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol*. 2005 May;77(5):598-625. doi: 10,1189/jlb.1204697. Epub 2005 Feb 2. PMID: 15689384.
- 6) Rotrosen D, et al. Disorders of phagocyte function. *Annu Rev Immunol*. 1987;5:127-50. doi: 10,1146/annurev.iy.05.040187.001015. PMID: 3297103.
- 7) Donabedian, H. (1989). *Congenital and Acquired Neutrophil Abnormalities. I: Klempner, M.S., Styrut, B., Ho, J. (eds) Phagocytes and Disease. Immunology And Medicine Series, vol 11. Springer, Dordrecht.*
https://doi.org/10.1007/978-94-009-1279-3_6

16. Varemerker

BD FACSCanto™ II, BD FACSLyric™, BD Multitest™ og FlowJo™ er registrerte varemerker som tilhører Becton, Dickinson and Company, Sysmex™ er et registrert varemerke som tilhører Sysmex Corporation, VenturiOne® er et registrert varemerke som tilhører Applied Cytometry, Infinicyt™ er et registrert varemerke som tilhører Cytognos S.L.

17. Endringshistorikk

Versjon 10, ED7042_IFU_v10

Endring i fareklassifisering for en komponent ED7042-4 Lysersingsløsning.

18. Produsent

EXBIO Praha, a.s.
Nad Safinou II 341
25250 Vestec
Den tsjekkiske republikk

Kontaktinformasjon

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

19. Autoriserte representanter

N/A

MERKNAD: Enhver alvorlig hendelse som har oppstått og som er relatert til enheten, skal rapporteres til produsenten og den lokale tilsynsmyndigheten.