KOMBITEST TBNK 6-color

50 test | N. Cat. **ED7733**

IVD CE 2265

Istruzioni per l’uso (IT)

Versione: ED7733_IFU_v4_IT

Data di pubblicazione: 17-04-2025

Simboli utilizzati nell'etichettatura del dispositivo

IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro		Limite di temperatura
CE 2265	Marcatura CE di dichiarazione di conformità Numero identificativo dell'organismo notificato		Tenere lontano dalla luce del sole
	Produttore	UK CA	Marchio UKCA
UDI	Codice Unico di Identificazione	CH REP	Indica il rappresentante autorizzato in Svizzera
	Consultare le istruzioni per l’uso		
	Contenuto sufficiente per <n> test		
REF	Numero di catalogo		
LOT	Codice di lotto		
	Data di scadenza		

1. Uso Previsto

KOMBITEST TBNK 6-color è utilizzato per il rilevamento e la quantificazione della popolazione linfocitaria e delle sottopopolazioni di linfociti nel sangue umano intero tramite citofluorimetria.

Cosa viene rilevato e/o misurato

Il dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color rileva e misura percentuali relative e conte assolute di linfociti T umani (CD3+), linfociti B (CD3-CD19+), linfociti NK (CD3-CD16+56+), sottopopolazioni cellulari di linfociti T helper/inducer (CD3+CD4+) e soppressori/citotossici (CD3+CD8+).

Funzione del dispositivo

Il dispositivo è destinato a essere utilizzato nella valutazione immunologica dei pazienti normali e potrebbe essere d'ausilio nella diagnosi dei pazienti con immunodeficienza confermata o sospetta.

Contesto di stato fisiologico o patologico

Le frequenze delle popolazioni linfocitarie misurate dal dispositivo possono risultare compromesse da varie condizioni patologiche e la valutazione delle percentuali e delle conte può essere utilizzata nella valutazione di:

- Linfociti T helper/inducer CD3+/CD4+ nel monitoraggio dell'HIV [1, 4, 7, 9]
- Linfociti T citotossici CD3+/CD8+ nelle infezioni virali e nelle immunodeficienze ereditarie [2, 3, 4, 11, 12, 15, 17]
- Linfociti B CD3-/CD19+ nelle malattie autoimmuni [5, 6]
- Linfociti NK CD3-/CD16+56+ nell'immunità innata e nei difetti immunologic [13, 14]

Tipo di test

Non automatizzato

Quantitativo

Tipo di campione richiesto

Campione di sangue intero periferico umano con anticoagulanti

Popolazione da sottoporre al test

Non destinato a una popolazione specifica.

2. Utilizzatore previsto

Il dispositivo è destinato esclusivamente all'uso professionale in laboratorio. Non destinato ad analisi decentrate (near-patient testing) o a test autodiagnostico.

Requisiti di qualificazione

L'utilizzatore previsto deve disporre di competenze all'avanguardia nelle analisi di citometria a flusso di cellule umane, nelle tecniche di laboratorio standard, comprese abilità di pipettaggio, manipolazione sicura e corretta di campioni

biologici umani.

L'utilizzatore previsto deve operare in conformità alla norma EN ISO 15189 o ad altre disposizioni nazionali, ove applicabile.

3. Principio del test

Il principio del test si basa sull'individuazione di anticorpi monoclonali che si legano a una specifica molecola (antigene) espressa da determinate cellule ematiche negli esseri umani. Gli anticorpi monoclonali utilizzati nel test sono coniugati con diversi fluorocromi che, durante l'acquisizione di un campione di sangue colorato con anticorpi, vengono eccitati da un fascio laser proveniente da un citofluorimetro. La conseguente fluorescenza (emissione di luce) da ciascun fluorocromo presente sulla cellula ematica acquisita è raccolta e analizzata dallo strumento. L'intensità della fluorescenza è direttamente proporzionale alla densità di espressione dell'antigene in una cellula che permette la separazione di diverse sottopopolazioni cellulari.

4. Reagenti forniti

Contenuti

Il dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color è sufficiente per 50 test ed è fornito con il seguente reagente:

1 flaconcino (1 ml) contenente una combinazione premiscelata di anticorpi monoclonali coniugati con fluorocromi: CD3 coniugato con FITC, CD16 coniugato con PE + CD56 coniugato con PE, CD45 coniugato con PerCP-Cy™5.5, CD4 coniugato con PE-Cy™7, CD19 coniugato con APC, coniugato CD8 con APC-Cy™7, diluiti a concentrazioni ottimali in una soluzione salina tamponata con fosfato (PBS) stabilizzante contenente 15 mM di sodio azide e 0.2% di albumina sierica bovina (BSA).

Composizione

Tabella 1 Descrizione dei componenti attivi

Antigene	Fluorocromo	Clone	Isotipo	Concentrazione (µg/ml)
CD3	FITC	TB3	IgG2b	2
CD4	PE-Cy™7	MEM-241	IgG1	1.5
CD8	APC-Cy™7	LT8	IgG1	1.8
CD16	PE	3G8	IgG1	1.5
CD56	PE	LT56	IgG2a	1.5
CD19	APC	LT19	IgG1	2
CD45	PerCP-Cy™5.5	MEM-28	IgG1	3

5. Materiali necessari ma non forniti

Provette a fondo tondo da 12 x 75 mm

Soluzione per la lisi degli eritrociti (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., N. di cat. ED7066 o CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, N. di cat. BD303500)

Acqua deionizzata (di grado reagente)

Cellule di controllo procedurale (Streck CD-Chex Plus®, N. di cat. 213323 o cellule di controllo lisabili equivalenti)

6. Attrezzatura necessaria

Pipetta automatica con puntali monouso (20 – 100 µl) per il pipettaggio del campione e dei reagenti

Dosatore per liquidi o pipetta con puntali monouso (0.5 – 2 ml) per il dosaggio della soluzione per la lisi degli eritrociti

Agitatore vortex

Analizzatore ematologico (per le conte cellulari assolute) in grado di eseguire il conteggio dei leucociti (WBC) e dei linfociti per µl di campione

Citofluorimetro con due laser di eccitazione (488 nm e ~635 nm), rilevatori del light scatter, filtri ottici e rilevatori di emissioni idonei alla raccolta dei segnali dai fluorocromi forniti nella Tabella 2.

Tabella 2 Caratteristiche spettrali del fluorocromo utilizzato dal dispositivo

Fluorocromo	Eccitazione [nm]	Emissione [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

NOTA: Il dispositivo è stato testato con i citometri a flusso BD FACSCanto™ II (BD Biosciences), DxFLEX (Beckman Coulter) e Sysmex XF-1600™ (Sysmex Corporation).

7. Conservazione e manipolazione

Conservare a 2-8 °C.

Evitare l’esposizione prolungata alla luce.

Non congelare.

Vedere la Sezione 10 “Procedura (Preparazione dei reagenti)” per informazioni sulla stabilità durante l’uso e sul periodo di validità dopo la prima apertura, unitamente alle condizioni di conservazione e alla stabilità delle soluzioni di lavoro (ove pertinente).

8. Avvertenze, precauzioni e limitazioni d’impiego

Classificazione dei pericoli GHS

Consultare la scheda di dati di sicurezza (SDS) disponibile sulla pagina del prodotto sul sito www.exbio.cz per informazioni complete sui rischi associati alle sostanze chimiche e alle miscele contenute nel prodotto, e su come devono essere manipolate e smaltite.

Rischio biologico

I campioni biologici umani, i campioni ematici ed eventuali materiali che vengono a contatto con essi sono sempre considerati materiali infetti.

Utilizzare dispositivi di protezione e sicurezza individuale per evitare il contatto con la pelle, gli occhi e le mucose.

Seguire tutte le norme, i regolamenti e le procedure applicabili per la manipolazione e lo smaltimento di materiali infetti.

Segni di deterioramento

Il reagente fornito appare normalmente come un liquido trasparente. Non utilizzare il reagente se si osservano alterazioni nell’aspetto, ad esempio torbidità o segni di precipitazione.

Limiti di utilizzo

Non utilizzare dopo la data di scadenza riportata sulle etichette del prodotto.

9. Campione

Utilizzare il sangue venoso periferico, raccolto nel contenitore del campione classificato come dispositivo medico, trattato con l’anticoagulante EDTA.

> **AVVISO:** Determinare la conta leucocitaria assoluta e la conta dei linfociti nel campione ematico raccolto tramite un analizzatore ematologico. Il solo dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color non fornisce la quantificazione delle conte cellulari assolute.

I campioni di sangue con una conta leucocitaria oltre le $40x10^3$ cellule/µl dovranno essere diluiti con una PBS prima di essere processati.

Processare il campione ematico entro e non oltre 24 ore dopo la raccolta. Conservare il campione a temperatura di laboratorio (20-25 °C). Non refrigerare il campione.

Interferenza endogena

Sulla base delle ricerche effettuate nella letteratura scientifica, nella Tabella 3 sono riportate le fonti di interferenza endogena.

Tabella 3 Interferenza endogena del dispositivo

Interferenza endogena	Impatto	Riferimento
Albumina	L'albumina può interferire in concentrazioni elevate a causa della sua capacità di legare e rilasciare grandi quantità di ligandi.	18, 19, 35
Bilirubina (ittero) (non coniugata)	La bilirubina può aumentare il fondo di fluorescenza delle cellule a causa della sua elevata autofluorescenza.	22, 24, 28
Detriti cellulari (dopo la lisi)	I detriti cellulari possono fornire un conteggio impreciso delle cellule ed esaurire l'anticorpo all'interno del dispositivo.	21, 25
Eritrociti	Lisi insufficiente, i globuli rossi presenti nel campione possono produrre un conteggio errato delle cellule.	26
Emoglobina	I campioni emolizzati possono produrre risultati errati.	23
Anticorpi umani anti-murini	Il trattamento con anticorpi monoclonali può produrre risultati errati (capacità di legarsi agli antigeni della superficie cellulare).	20, 30, 31, 32, 33, 34
Immunoglobuline	Non possono essere lavate con il metodo a piattaforma singola e possono produrre un conteggio errato delle sottopopolazioni linfocitarie.	21
Fattori reumatoidi	La presenza di FR interferisce con i MIA (immunodosaggi multiplex).	27
Trigliceridi	Elevati livelli di lipidi in circolo possono influenzare l'analisi della citometria a flusso di alcune popolazioni di cellule ematiche.	29

Interferenza esogena

I campioni prelevati da più di 24 ore possono produrre risultati errati.

I campioni refrigerati possono produrre risultati errati.

Una preparazione non corretta della soluzione per lisi eritrocitaria (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., N. di cat. ED7066 o CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, N. di cat. BD303500) può produrre risultati errati. Seguire le istruzioni del

produttore in merito all'uso della soluzione per lisi eritrocitaria.

10. Procedura

Preparazione dei reagenti forniti

Non è necessaria la preparazione del reagente.

Prima dell'uso, portare il reagente a temperatura ambiente. Mantenere asciutto il contenitore primario del dispositivo.

Utilizzare il reagente direttamente dal contenitore primario originale. Il tempo durante il quale il reagente è in uso (esposto alla luce e a una temperatura elevata) non deve superare le 4 ore al giorno.

Dopo la prima apertura, il reagente mantiene le caratteristiche prestazionali fino alla data di scadenza purché sia conservato alle condizioni indicate nel contenitore primario originale.

ATTENZIONE: Non diluire il reagente.

Preparazione dei materiali necessari ma non forniti

Diluire la soluzione concentrata per la lisi degli eritrociti con acqua deionizzata seguendo le istruzioni del produttore. La soluzione per la lisi degli eritrociti diluita (1X) si mantiene stabile per 1 mese se conservata in un dosatore per liquidi o in un contenitore chiuso a temperatura ambiente.

Controllo qualità

Per garantire le corrette prestazioni previste del dispositivo, utilizzare Streck CD-Chex Plus® o cellule di controllo equivalenti come controllo procedurale positivo. Streck CD-Chex Plus® fornisce valori stabiliti per la percentuale positiva e le conte assolute di linfociti T, linfociti B, granulociti, monociti e linfociti NK, inclusi due livelli clinicamente rilevanti di cellule CD4+.

Marcare le cellule di controllo utilizzando il reagente KOMBITEST TBNK 6-color in base al trattamento del campione specificato nelle istruzioni per l'uso. Verificare che i risultati ottenuti (% di cellule positive) rientrino nell'intervallo previsto indicato per il lotto di cellule di controllo utilizzato.

Marcatura del campione

1. Per ciascun campione, etichettare una provetta a fondo tondo da 12 × 75 mm con il numero di identificazione corrispondente.
2. Pipettare 20 µl di reagente KOMBITEST TBNK 6-color sul fondo della provetta da 12 x 75 mm.
3. Pipettare 50 µl di campione di sangue ben mescolato sul fondo della provetta.

   ATTENZIONE: Evitare di pipettare il sangue sul lato della provetta. Se uno striscio o una gocciolina di sangue rimane sul lato della provetta, è possibile che non si colori con il reagente o che gli eritrociti non siano lisi e quindi il

risultato del test non sia valido.

4. Agitare con vortex e incubare la provetta per 20 minuti al buio a temperatura ambiente.
5. Aggiungere 500 µl di soluzione di lisi diluita (1X) alla provetta.
6. Agitare con vortex e incubare la provetta per 10 minuti al buio a temperatura ambiente.

Acquisire immediatamente il campione colorato sul citofluorimetro. Se il campione colorato non è acquisito immediatamente, conservarlo al buio a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C e analizzarlo entro 24 ore.

ATTENZIONE: Per evitare aggregati, agitare su vortex il campione marcato immediatamente prima dell'acquisizione sul citofluorimetro.

Analisi citofluorimetrica

Il citofluorimetro selezionato per l'uso con il dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color deve essere regolarmente calibrato utilizzando microsfere fluorescenti per garantire una stabile sensibilità dei rilevatori, secondo le indicazioni del produttore del citometro.

Se non mantenuto correttamente, il citofluorimetro può produrre risultati errati.

Per i laser e i rilevatori di fluorescenza fare riferimento alle specifiche tecniche del citometro fornite dal produttore, in base alle caratteristiche di eccitazione ed emissione dei fluorocromi indicate nella Sezione 6 Attrezzatura necessaria.

Prima di procedere con l’analisi del campione marcato, impostare le tensioni al valore desiderato sui rilevatori di fluorescenza. La tensione sul fotomoltiplicatore deve essere impostata su un livello sufficientemente alto, in modo che il minimo di eventi marcati come negativi interferisca con il canale 0 sull'asse della fluorescenza. Inoltre la tensione del fotomoltiplicatore non deve superare valori ai quali gli eventi positivi vengano spinti verso l’asse destro.

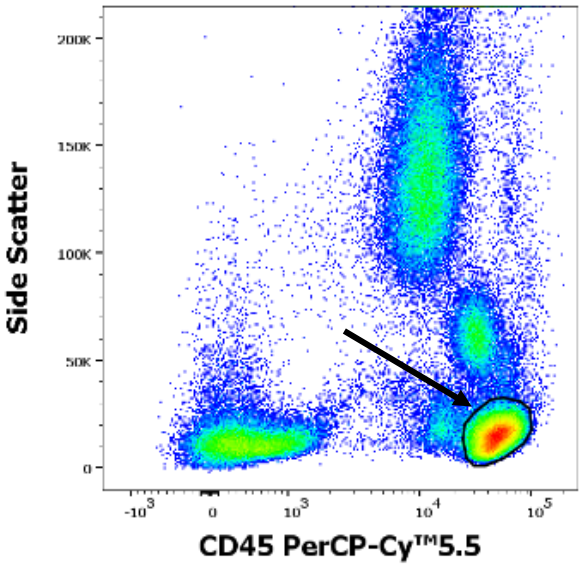
Compensare i segnali di fluorescenza tra i rilevatori prima o dopo l’acquisizione dei dati. I dati possono essere interpretati in modo errato se i segnali di fluorescenza non sono compensati correttamente o se i gate sono posizionati in modo impreciso.

Per l'analisi dei dati misurati, è possibile utilizzare il software del citometro sviluppato dal produttore, o un software specifico progettato per l’analisi dei dati citometrici offline (ad esempio FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

Analisi dei dati del campione colorato con KOMBITEST TBNK 6-color

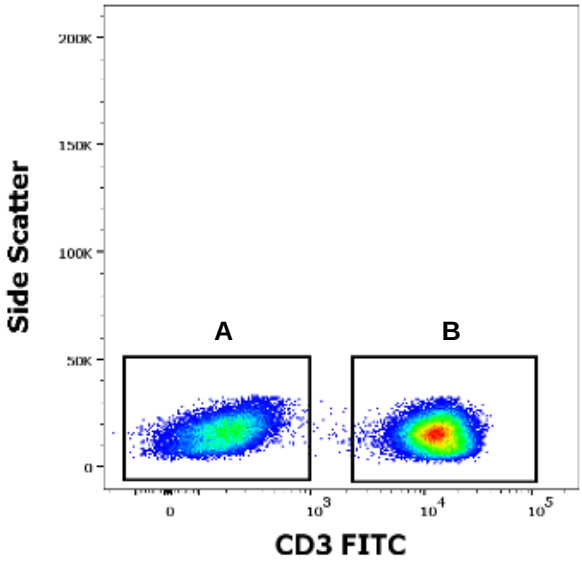
Visualizzare i dati compensati in un plot side scatter (SSC) vs CD45 PerCP-Cy™5.5. Impostare il gate per la popolazione di linfociti CD45+ come illustrato nella Figura 1.

Figura 1 Delineazione della popolazione di linfociti CD45+ (dati acquisiti con BD FACSCanto™ II)



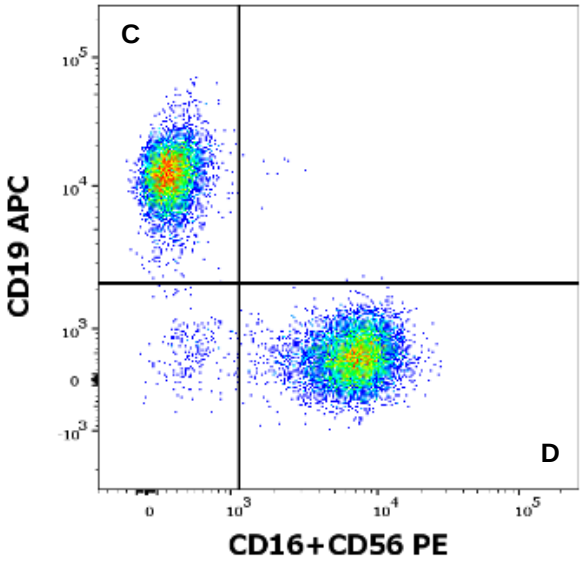
Tracciare i linfociti CD45+ all’interno del gate nel plot side scatter (SSC) vs CD3 FITC come illustrato nella Figura 2. Separare i linfociti CD3+ e CD3- utilizzando gate adeguati. Tra tutti i linfociti calcolare la percentuale di linfociti T (CD3+; regione B nella Figura 2).

Figura 2 Separazione dei linfociti CD3+ e CD3- (dati acquisiti con BD FACSCanto™ II)



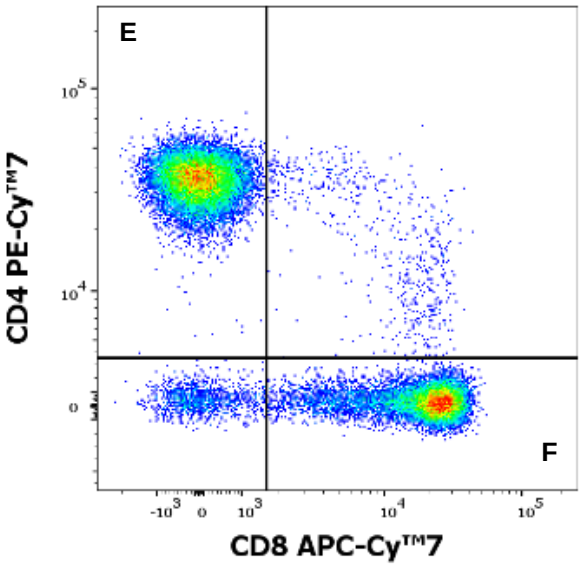
Tracciare i linfociti CD3- (regione A nella Figura 2) all'interno dei gate come CD19 APC vs CD16+CD56 PE come illustrato nella Figura 3. Impostare gate adeguati e, tra tutti i linfociti, calcolare la percentuale di linfociti B (CD16-CD56-CD19+; regione C nella Figura 3) e linfociti natural killer (NK) (CD16+CD56+CD19-; regione D nella Figura 3).

Figura 3 Linfociti CD3- in un dot plot CD19 APC vs CD16+CD56 PE (dati acquisiti con BD FACSCanto™ II)



Tracciare i linfociti T (CD3+; regione B nella Figura 2) all'interno dei gate come CD4 PE-Cy™7 vs CD8 APC-Cy™7 come illustrato nella Figura 4. Impostare gate adeguati e, tra tutti i linfociti, calcolare la percentuale di linfociti T helper/inducer (CD4+CD8-; regione E nella Figura 4) e linfociti T soppressori/citotossici (CD4-CD8+; regione F nella Figura 4).

Figura 4 Linfociti CD3+ in un dot plot CD4 PE-Cy™7 vs CD8 APC-Cy™7 (dati acquisiti con BD FACSCanto™ II)



Calcolo e interpretazione dei risultati analitici

Per ottenere conte assolute, utilizzare la conta assoluta dei linfociti determinata da un analizzatore ematologico. Consultare le istruzioni del produttore dell'analizzatore ematologico. Per la quantificazione delle conte assolute della sottopopolazione linfocitaria necessaria utilizzare le equazioni di seguito.

$$\mathrm{A} \times \frac{B\ (\%)}{100\ (\%)} = Conteggio\ assoluto\ del\ sottogruppo\ di\ linfociti\ richiesto$$

A = conta assoluta dei linfociti (dati dall'analizzatore ematologico; cellule / µl)

B = percentuali relative di sottopopolazione linfocitaria necessaria tra tutti i linfociti (dati del citofluorimetro; %)

11. Prestazione analitiche

Specificità

L'anticorpo TB3 riconosce l'antigene CD3 umano del complesso TCR/CD3. La specificità dell'anticorpo è stata confermata dall'HCDM Council (XI workshop HLDA).

L'anticorpo MEM-241 riconosce l'antigene CD4 umano (glicoproteina CD4 sulla superficie del linfocita T). La specificità dell'anticorpo è stata confermata dall'HCDM Council (VIII workshop HLDA).

L'anticorpo LT8 riconosce l'antigene CD8 umano (dimero legato da un ponte disolfuro espresso come due omodimeri CD8 formati da catene alfa o come eterodimeri CD8 formati da catene alfa/beta). La specificità dell'anticorpo è stata confermata dai workshop HLDA (V workshop HLDA [16] e VII workshop HLDA [8]).

L'anticorpo 3G8 riconosce l'antigene CD16 umano (recettore Fc-gamma di tipo III a bassa affinità delle immunoglobuline). La specificità dell'anticorpo è stata confermata dal workshop HLDA (V workshop HLDA [16]).

L'anticorpo LT56 riconosce l'isoforma leucocitaria dell'antigene CD56 umano (molecola di adesione cellulare neurale 1). La specificità dell'anticorpo è stata confermata dall'HCDM Council (X workshop HLDA).

L'anticorpo LT19 riconosce l'antigene CD19 umano (glicoproteina transmembrana CD19 espressa nei linfociti B). La specificità dell'anticorpo è stata confermata dall'HCDM Council (X workshop HLDA).

L'anticorpo MEM-28 riconosce tutte le isoforme leucocitarie dell'antigene umano CD45 (proteina tirosina fosfatasi, recettore di tipo C). La specificità dell'anticorpo è stata confermata dal workshop HLDA (III workshop HLDA [10]).

Accuratezza

L'accuratezza del metodo è stata misurata con il citometro a flusso BD FACSCanto™ II ed è stata determinata confrontando il dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color con il prodotto analogo disponibile sul mercato BD Multitest™ 6-Color TBNK Reagent (N. di cat. 644611) mediante colorazione parallela di 30 donatori di sangue sani.

Con i citometri a flusso Beckman Coulter DxFLEX e Sysmex XF-1600™, l'accuratezza del metodo è stata determinata confrontando i risultati dell'analisi degli stessi campioni di sangue di 39 donatori sani colorati con il dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color rispettivamente sui citometri a flusso BC DxFLEX e BD FACSCanto™ II e sui citometri a flusso Sysmex XF-1600™ e BD FACSCanto™ II.

L'accuratezza del metodo è stata supportata dalla colorazione parallela di 134 pazienti (cfr. Tabella 7) sospettati di avere condizioni patologiche del sistema immunitario. I parametri dell'analisi di regressione lineare sono riportati nelle Tabelle 4-7.

Tabella 4 Analisi di regressione lineare per sottopopolazioni linfocitarie in donatori sani (confronto tra il dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color e il prodotto reagente IVD BD Multitest™ 6-Color TBNK (N. di cat. 644611))

Sottopopolazione di linfociti	Unità	n	Pendenza	Intercetta	R^2
CD3+	%	30	1.0030	-0.0059	0.9942
	cellule/µl	30	0.9898	5.4635	0.9986
CD3+CD8+	%	30	0.9820	0.0029	0.9957
	cellule/µl	30	0.9723	8.959	0.9981
CD3+CD4+	%	30	0.9850	0.0035	0.9939
	cellule/µl	30	0.9850	6.5877	0.9975
CD3-CD16+CD56+	%	30	1.0085	-0.0017	0.9968
	cellule/µl	30	1.0192	-6.1863	0.9985
CD3-CD19+	%	30	0.9953	0.0033	0.9948
	cellule/µl	30	1.0189	1.6105	0.9925

n = numero di campioni ematici

Tabella 5 Analisi della regressione lineare per le sottopopolazioni linfocitarie nei donatori sani (confronto dei campioni di sangue analizzati, colorati con il dispositivo ED7733 su Beckman Coulter DxFLEX con BD FACSCanto™ II)

Accuratezza della misurazione di ED7733 su Beckman Coulter DxFLEX					
Confronto tra il citometro a flusso Beckman Coulter DxFLEX e il citometro a flusso BD FACSCanto™ II					
Attendibilità della misurazione					
Sottopopolazione di linfociti	**Unità**	**n**	**Pendenza**	**Intercetta**	**R^2**
CD3+	%	39	0.9822	0.0145	0.9879
	cellule/µl	39	0.9792	-24.255	0.9811
CD3+CD8+	%	39	1.0171	0.0052	0.9829
	cellule/µl	39	1.0478	-3.0975	0.9930
CD3+CD4+	%	39	0.9789	-0.001	0.9857
	cellule/µl	39	0.9768	-1.499	0.9929
CD3-CD16+ CD56+	%	39	0.9727	0.0054	0.9815
	cellule/µl	39	0.9699	10.484	0.9886
CD3-CD19+	%	39	1.0212	-0.0047	0.9757
	cellule/µl	39	0.9767	-0.0385	0.9825

n = numero di campioni ematici

Tabella 6 Analisi della regressione lineare per le sottopopolazioni linfocitarie nei donatori sani (confronto dei campioni di sangue analizzati, colorati con il dispositivo ED7733 su Sysmex XF-1600™ con BD FACSCanto™ II)

Accuratezza della misurazione di ED7733 su Sysmex XF-1600™					
Confronto tra il citometro a flusso Sysmex XF-1600™ e il citometro a flusso BD FACSCanto™ II					
Attendibilità della misurazione					
Sottopopolazione di linfociti	**Unità**	**n**	**Pendenza**	**Intercetta**	**R^2**
CD3+	%	39	1.0058	0.0105	0.9918
	cellule/µl	39	1.0174	4.2861	0.9991
CD3+CD8+	%	39	1.0134	0.0015	0.9924
	cellule/µl	39	1.0346	-11.555	0.9976
CD3+CD4+	%	39	1.0017	0.0103	0.9963
	cellule/µl	39	1.0043	17.382	0.9981
CD3-CD16+ CD56+	%	39	0.9889	-0.0039	0.9868
	cellule/µl	39	0.972	-3.4422	0.9903
CD3-CD19+	%	39	1.0162	-0.0039	0.9852
	cellule/µl	39	0.9777	0.1994	0.9898

n = numero di campioni ematici

Tabella 7 Analisi di regressione lineare per sottopopolazioni linfocitarie in pazienti con sospette condizioni patologiche del sistema immunitario (confronto tra il dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color con il sistema di citofluorimetria AQUIOS CL - Beckman Coulter, Inc. e il metodo interno di un laboratorio clinico accreditato: un cocktail di anticorpi coniugati a un solo colore di diversi produttori e analisi nel BD FACSCanto™ II)

Sottopopolazione di linfociti	Unità	n	Pendenza	Intercetta	R^2
CD3+	%	134	1.032	-2.655	0.98
	cellule/µl	134	1.023	-0.047	0.97
CD3+CD8+	%	134	1.020	-0.803	0.98
	cellule/µl	134	1.055	-0.041	0.96
CD3+CD4+	%	134	1.014	-0.651	0.98
	cellule/µl	134	0.994	-0.005	0.98
CD3-CD16+CD56+	%	134	1.064	-0.400	0.98
	cellule/µl	134	1.080	-0.014	0.99
CD3-CD19+	%	134	1.027	-0.376	0.99
	cellule/µl	134	1.043	-0.010	1.00

n = numero di campioni ematici

Linearità

La linearità del metodo è stata verificata su 10 diluizioni seriali di un campione ematico arricchito di leucociti (buffy coat). I campioni cellulari sono stati colorati in sestuplicati con KOMBITEST TBNK 6-color. I campioni sono stati analizzati utilizzando il citofluorimetro BD FACSCanto™ II, il citofluorimetro DxFLEX Beckman Coulter e il citofluorimetroSysmex XF-1600™. I dati misurati per le sottopopolazioni linfocitarie indicate sono stati osservati come lineari nell'intervallo di linfociti 333-9.492 cellule/µl utilizzando BD FACSCanto™ II, 309-8.693 cellule/µl utilizzando Beckman Coulter DxFLEX e 86-6.822 cellule/µl utilizzando Sysmex XF-1600™. Le sottopopolazioni cellulari erano comprese negli intervalli riportati nelle Tabelle 8-10.

Tabella 8 Intervalli lineari di sottopopolazioni linfocitarie analizzate con BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II	
Sottopopolazione linfocitarie	Intervallo (cellule/µl)
CD3+	249 – 6594
CD3+CD8+	96 – 2560
CD3+CD4+	136 – 3628
CD3-CD16+CD56+	55 – 1525
CD3-CD19+	44 – 1342

Tabella 9 Intervalli lineari di sottopopolazioni linfocitarie analizzate con DxFLEX Beckman Coulter

DxFLEX Beckman Coulter	
Sottopopolazione linfocitarie	Intervallo (cellule/µl)
CD3+	243 – 6565
CD3+CD8+	102 – 2652
CD3+CD4+	128 – 3517
CD3-CD16+CD56+	64 – 1588
CD3-CD19+	41 – 1280

Tabella 10 Intervalli lineari di sottopopolazioni linfocitarie analizzate con Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™	
Sottopopolazione linfocitarie	Intervallo (cellule/µl)
CD3+	45 - 3513
CD3+CD8+	21 - 1507
CD3+CD4+	22 - 1742
CD3-CD16+CD56+	8 - 700
CD3-CD19+	7 - 567

Limite di rivelabilità / Limite di quantificazione / Cut-off del saggio

I dati di linearità sono stati utilizzati per definire il limite di rivelabilità (LOD) e il limite di quantificazione (LOQ).

Il limite di rivelabilità è stato definito come il più basso valore assoluto non nullo di conta cellulare più 3×DS (deviazione standard) per ciascuna sottopopolazione di linfociti (cfr. Tabelle 11-13).

Il limite di quantificazione è stato definito come il valore più basso nell'intervallo di linearità delle concentrazioni dell'analita presentato come conta assoluta delle sottopopolazioni di linfociti, in corrispondenza del quale il CV degli sestuplicati non ha superato il 10% e il recupero è stato compreso tra il 90% e il 110% (cfr. Tabelle 11-13).

I risultati del saggio non sono univocamente diagnostici per una singola entità clinica, pertanto non è possibile stimare il cut-off del saggio.

Tabella 11 Limiti di rivelabilità e quantificazione su BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II				
Sottopopolazione di linfociti	**Conteggio cellulare minimo non nullo (cellule/µl)**	**3×DS (DS)**	**LOD (cellule/µl)**	**LOQ (cellule/µl)**
CD3+	1	0.3 (0.1)	1.3	10
CD3+CD8+	1	0.6 (0.2)	1.6	96
CD3+CD4+	2	1.5 (0.5)	3.5	136
CD3-CD16+CD56+	1	1.2 (0.4)	2.2	55
CD3-CD19+	2	1.2 (0.4)	3.2	44

Tabella 12 Limiti di rivelabilità e quantificazione su Beckman Coulter DxFLEX

Beckman Coulter DxFLEX				
Sottopopolazione di linfociti	**Conteggio cellulare minimo non nullo (cellule/µl)**	**3×DS (DS)**	**LOD (cellule/µl)**	**LOQ (cellule/µl)**
CD3+	1	0.6 (0.2)	1.6	9
CD3+CD8+	1	0.6 (0.2)	1.6	34
CD3+CD4+	2	1.2 (0.4)	3.2	43
CD3-CD16+CD56+	1	0.9 (0.3)	1.9	23
CD3-CD19+	2	1.5 (0.5)	3.5	41

Tabella 13 Limiti di rivelabilità e quantificazione su Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™				
Sottopopolazione di linfociti	**Conteggio cellulare minimo non nullo (cellule/µl)**	**3×DS (DS)**	**LOD (cellule/µl)**	**LOQ (cellule/µl)**
CD3+	1	0.12 (0.04)	1.12	5
CD3+CD8+	1	0.3 (0.1)	1.3	2
CD3+CD4+	1	0.3 (0.1)	1.3	8
CD3-CD16+CD56+	1	0.6 (0.2)	1.6	3
CD3-CD19+	1	0.3 (0.1)	1.3	7

Ripetibilità

La ripetibilità del saggio è stata misurata su dieci campioni ematici in sestuplicati. I campioni sono stati analizzati usando i citometri a flusso BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEX e Sysmex XF-1600™. I coefficienti di variazione (CV) sono riportati nelle tabelle sottostanti (Tabelle 14-16).

Tabella 14 Ripetibilità del dispositivo su BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II					
Sottopopolazione linfocitaria	**Unità**	**n**	**Media**	**DS**	**% CV**
CD3+	%	10	70.34	0.56	0.91
	cellule/µl	10	1396	10.22	
CD3+CD8+	%	10	23.11	0.27	1.25
	cellule/µl	10	453	5.23	
CD3+CD4+	%	10	41.06	0.53	1.36
	cellule/µl	10	808	9.71	
CD3-CD16+CD56+	%	10	16.35	0.40	2.43
	cellule/µl	10	289	7.20	
CD3-CD19+	%	10	11.63	0.25	2.31
	cellule/µl	10	227	4.78	

n = numero di campioni ematici

Tabella 15 Ripetibilità del dispositivo su DxFLEX Beckman Coulter

Beckman Coulter DxFLEX					
Sottopopolazione linfocitaria	**Unità**	**n**	**Media**	**DS**	**% CV**
CD3+	%	10	70.80	0.61	0.95
	cellule/µl	10	1406	11.19	
CD3+CD8+	%	10	23.80	0.32	1.42
	cellule/µl	10	468	6.12	
CD3+CD4+	%	10	40.81	0.56	1.47
	cellule/µl	10	803	10.52	
CD3-CD16+CD56+	%	10	15.89	0.40	2.72
	cellule/µl	10	282	7.23	
CD3-CD19+	%	10	11.68	0.32	2.83
	cellule/µl	10	227	5.94	

n = numero di campioni ematici

Tabella 16 Ripetibilità del dispositivo su Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™					
Sottopopolazione linfocitaria	**Unità**	**n**	**Media**	**DS**	**% CV**
CD3+	%	10	69.15	0.89	1.39
	cellule/µl	10	1151	14.62	
CD3+CD8+	%	10	23.12	0.36	1.72
	cellule/µl	10	389	6.11	
CD3+CD4+	%	10	41.09	0.70	1.76
	cellule/µl	10	680	11.39	
CD3-CD16+CD56+	%	10	18.40	0.56	2.71
	cellule/µl	10	313	9.45	
CD3-CD19+	%	10	10.62	0.35	3.37
	cellule/µl	10	173	5.56	

n = numero di campioni ematici

Riproducibilità

La riproducibilità del saggio su BD FACSCanto™ II e Beckman Coulter DxFLEX è stata misurata su 2 campioni di sangue stabilizzati (CD-Chex Plus® e CD-Chex Plus® CD4 Low di STRECK). La riproducibilità del saggio su Sysmex XF-1600™ è stata misurata su 4 campioni di sangue stabilizzati (CD-Chex Plus® e CD-Chex Plus® CD4 Low e, in aggiunta, IMMUNO-TROL Low Cells e IMMUNO-TROL Cells di Beckman Coulter). I campioni sono stati misurati nelle stesse condizioni per 15 giorni utilizzando 3 lotti del dispositivo (5 giorni ciascuno). I coefficienti di variazione (CV) sono riportati nelle tabelle sottostanti (Tabelle 17-19).

Tabella 17 Ripetibilità del dispositivo su BD FACSCanto™ II

Sottopopolazione linfocitaria	Materiale	Unità	Media	DS	% CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	76.84	0.18	0.23
		cellule/µl	1896	4.39	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	60.61	0.32	0.53
		cellule/µl	879	4.65	
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	23.45	0.23	0.97
		cellule/µl	578	5.62	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	42.17	0.31	0.73
		cellule/µl	612	4.55	
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	48.78	0.45	0.93
		cellule/µl	1203	11.15	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12.53	0.26	2.11
		cellule/µl	182	3.84	
CD3-CD16+CD56+	CD-Chex Plus®	%	10.76	0.22	2.03
		cellule/µl	265	5.39	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	19.51	0.38	1.94
		cellule/µl	283	5.49	
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	11.30	0.16	1.45
		cellule/µl	279	4.03	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	18.05	0.32	1.75
		cellule/µl	262	4.58	

Tabella 18 Riproducibilità del dispositivo su DxFLEX Beckman Coulter

Sottopopolazione di linfociti	Materiale	Unità	Media	DS	% CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	77.17	0.21	0.27
		cellule/µl	1904	5.23	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	60.85	0.43	0.71
		cellule/µl	883	6.24	
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	23.87	0.20	0.85
		cellule/µl	589	4.99	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	42.81	0.32	0.75
		cellule/µl	621	4.65	
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	46.47	1.41	3.03
		cellule/µl	1146	34.77	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12.16	0.53	4.37
		cellule/µl	176	7.71	
CD3-CD16+ CD56+	CD-Chex Plus®	%	10.59	0.20	1.88
		cellule/µl	261	4.92	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	19.38	0.32	1.63
		cellule/µl	281	4.59	
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	11.07	0.17	1.54
		cellule/µl	273	4.19	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	17.85	0.35	1.95
		cellule/µl	259	5.05	

Tabella 19 Riproducibilità del dispositivo su Sysmex XF-1600™

Sottopopolazione di linfociti	Materiale	Unità	Media	DS	% CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	78.50	0.33	0.43
		cellule/µl	1642	7.0	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	60.51	0.42	0.69
		cellule/µl	816	5.7	
	IMMUNO-TROL Cells	%	72.30	0.44	0.61
		cellule/µl	930	5.6	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	53.97	0.79	1.46
		cellule/µl	450	6.6	
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	22.39	0.20	0.88
		cellule/µl	468	4.1	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	41.85	0.54	1.29
		cellule/µl	565	7.3	
	IMMUNO-TROL Cells	%	24.06	0.28	1.14
		cellule/µl	309	3.5	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	33.99	0.76	2.23
		cellule/µl	283	6.3	
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	51.87	0.35	0.67
		cellule/µl	1085	7.2	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12.30	0.44	3.61
		cellule/µl	166	6.0	
	IMMUNO-TROL Cells	%	44.77	0.42	0.93
		cellule/µl	576	5.3	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	15.35	0.29	1.90
		cellule/µl	128	2.4	
CD3-CD16+ CD56+	CD-Chex Plus®	%	9.80	0.16	1.61
		cellule/µl	205	3.3	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	17.79	0.34	1.91
		cellule/µl	240	4.6	
	IMMUNO-TROL Cells	%	10.33	0.22	2.11
		cellule/µl	133	2.8	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	22.35	0.40	1.80
		cellule/µl	186	3.4	
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	10.06	0.17	1.74
		cellule/µl	210	3.7	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	19.70	0.31	1.61
		cellule/µl	260	4.2	
	IMMUNO-TROL Cells	%	12.92	0.32	2.48
		cellule/µl	166	4.1	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	17.31	0.51	2.97
		cellule/µl	144	4.3	

AVVISO: Tutti i dati delle prestazioni analitiche sono stati misurati utilizzando la soluzione per la lisi degli eritrociti EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a. s., N. di cat. ED7066).

Per l'analisi della citometria a flusso sono stati utilizzati i seguenti citometri a flusso, inclusa la versione del software:

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

Per la conta cellulare assoluta è stato utilizzato l'analizzatore ematologico con metodo a doppia piattaforma con le seguenti specifiche:

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

Per la valutazione dei dati misurati è stata utilizzata la seguente piattaforma di analisi:
FlowJo™ (Becton, Dickinson and Company) - versione 10.9.0

12. Prestazione cliniche

Pazienti con immunodeficienza primaria

I dati clinici sono stati raccolti in un centro clinico su 30 pazienti con sospetta immunodeficienza comune variabile (CVID). Le prestazioni cliniche del dispositivo ED7733 sono state stabilite in seguito a un confronto del dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color utilizzando la soluzione per la lisi degli eritrociti EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., N. di cat. ED7066) con il metodo di un laboratorio clinico accreditato (sistema di citofluorimetria AQUIOS CL - Beckman Coulter, Inc.).

I risultati della valutazione dello stato immunologico dei pazienti sono stati valutati con riferimento all’immunodeficienza (Tabella 20).

Tabella 20 Prestazioni cliniche del dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color – pazienti con CVID

		Stato immunologico valutato con metodo di un laboratorio clinico accreditato	
		Immunodeficienza	**Condizione nella norma**
Stato immunologico valutato con il dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color	**Immunodeficienza**	24 pazienti	0 pazienti
	Condizione nella norma	0 pazienti	6 pazienti

Pazienti con immunodeficienza acquisita

I dati clinici sono stati raccolti in un centro clinico su 53 pazienti con infezione confermata da virus dell'immunodeficienza umana (HIV). Le prestazioni cliniche del dispositivo sono state determinate in seguito a un confronto del dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color utilizzando la soluzione per la lisi degli eritrociti EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., N. di cat. ED7066) con il metodo interno di un laboratorio clinico accreditato (un cocktail di anticorpi coniugati a un solo colore di diversi produttori e analisi nel BD FACSCanto™ II).

I risultati della valutazione dello stato immunologico dei pazienti sono stati valutati con riferimento all'immunodeficienza (Tabella 21).

Tabella 21 Prestazioni cliniche del dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color – pazienti con HIV

		Stato immunologico valutato con metodo interno di un laboratorio clinico accreditato	
		Immunodeficienza	**Condizione nella norma**
Stato immunologico valutato con il dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color	**Immunodeficienza**	28 pazienti su 29*	0 pazienti
	Condizione nella norma	0 pazienti	24 pazienti

ATTENZIONE:

*Il dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color ha mostrato una colorazione non sufficiente per la separazione distinta delle cellule T (CD3+) in un (1) paziente affetto da HIV in condizioni di salute critiche.

13. Valori previsti

Intervallo di riferimento

Tabella 22 Intervalli di riferimento di donatori di sangue sani misurati su BD FACSCanto™ II

Sottopopolazione linfocitaria	n	Unità	Intervallo		Mediano
			Minimo	Massimo	
CD3+	65	%	49.0	84.9	72.4
	65	cellule/µl	608	2415	1269
CD3+CD8+	65	%	10.4	40.2	22.2
	65	cellule/µl	127	1075	405
CD3+CD4+	65	%	28.1	62.6	43.3
	65	cellule/µl	321	1463	785
CD3-CD16+CD56+	65	%	3.5	38.9	15.8
	65	cellule/µl	84	1036	266
CD3-CD19+	65	%	5.4	25.0	10.6
	65	cellule/µl	74	404	209

n = numero di campioni ematici

Gli intervalli di riferimento riportati nella Tabella 22 sono stati stabiliti su pazienti sani, considerati donatori di sangue secondo la legislazione della Repubblica Ceca, in quanto rispondenti a criteri rigorosi di donazione di sangue per una banca del sangue. I dati sono stati misurati sul citometro a flusso BD FACSCanto™ II.

Gli intervalli di riferimento specifici possono variare a seconda della regione e della popolazione su cui sono stati stabiliti i valori. Per questo motivo, i laboratori devono stabilire i propri intervalli di riferimento normali per le sottopopolazioni linfocitarie identificate con KOMBITEST TBNK 6-color dalla popolazione locale di donatori normali a causa delle variazioni di valore legate all'età, al sesso, alle caratteristiche cliniche e all'etnia.

14. Limitazioni

Il dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color non è stato validato per l’uso in campioni raccolti con anticoagulanti come eparina o citrato destrosio (ACD) nella determinazione di conte relative e assolute.

Il dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color non può essere utilizzato per lo screening e/o la fenotipizzazione di campioni derivati da pazienti affetti da leucemia e linfoma.

Le conte assolute non sono confrontabili tra laboratori che utilizzano apparecchiature di produttori diversi.

15. Riferimenti bibliografici

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) 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.
3) 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.
4) 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.
5) 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.
6) 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.
7) 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.
8) 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.
9) 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.
10) McMichael AJ, ed. Leucocyte Typing III: 54 White Cell Differentiation Antigens. New York, NY: Oxford University Press; 1987.
11) 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.
12) 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.

13) 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.

14) 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.

15) 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.

16) Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, et al, eds.: Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens. New York, NY: Oxford University Press; 1995.

17) 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.

18) Tate J, Ward G. Interferences in immunoassay. Clin Biochem Rev. 2004 May;25(2):105-20. PMID: 18458713; PMCID: PMC1904417.

19) Selby C. Interference in immunoassay. Ann Clin Biochem. 1999 Nov; 36 (Pt 6):704-21. doi: 10.1177/000456329903600603. PMID: 10586307.

20) 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.

21) 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.

22) 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

23) 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.

24) 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.

25) 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.

26) Hervé Lecoeur, 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.

27) 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.

28) 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

29) 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

30) 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, OncoImmunology, 6:3, DOI: 10.1080/2162402X.2017.1283460

31) 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

32) 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

33) 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

34) 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.

35) 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. Sintesi relativa alla sicurezza e alle prestazioni

La sintesi relativa alla sicurezza e alle prestazioni sarà disponibile nel database Eudamed all'indirizzo https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home. Fino ad allora, la sintesi relativa alla sicurezza e alle prestazioni è disponibile su richiesta.

17. Uso di marchi di terzi

BD FACSCanto™ II, BD FACSLyric™, BD Multitest™ e FlowJo™ sono marchi registrati di Becton, Dickinson and Company. CD-Chex Plus® è un marchio registrato di Streck. Cy™ è un marchio registrato di Cytiva. CyLyse™ FX, Sysmex XN-1000™ e Sysmex XF-1600™ sono marchi registrati di Sysmex Corporation. VenturiOne® è marchio registrato di Applied Cytometry. Infinicyt™ è marchio registrato di Cytognos S.L..

18. Cronologia delle revisioni

Versione 4, ED7733_IFU_v4

Correzione del testo nella sezione " Contesto di stato fisiologico o patologico". Descrizione più precisa del capitolo 13. Valori previsti - Intervallo di riferimento.

19. Produttore

EXBIO Praha, a.s.

Nad Safinou II 341

25250 Vestec

Czech Republic

Contatti

info@exbio.cz

technical@exbio.cz

orders@exbio.cz

www.exbio.cz

20. Rappresentanti autorizzati

Svizzera Persona responsabile	EUMEDIQ AG Grafenauweg 8 CH-6300 Zug Switzerland www.eumediq.eu

NOTA: Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al produttore e all'autorità locale competente.