

exbio

KOMBITEST TBNK 6-color (RUO)

50 testů | Kat. č. ED7766

RUO










Nepoužívat pro diagnostické a terapeutické procedury.

Technický list (CS)

Verze: ED7766_TDS_v1_CS

Datum vydání: 20-03-2023

Symbole použité k označení produktu

	Pouze pro výzkumné účely
	Výrobce
	Čtete návod k použití
	Obsah postačuje pro <n> testů
	Katalogové číslo
	Kód dávky
	Použití do data
	Omezení teploty
	Chránit přes slunečním zářením

1. Určený účel produktu

KOMBITEST TBNK 6-color detekuje a počítá lymfocytární populace a subpopulace z plné lidské krve pomocí průtokové cytometrie.

Co se zjišťuje a/nebo měří

KOMBITEST TBNK 6-color detekuje a měří procenta a absolutní počty T buněk (CD3+), B buněk (CD3-CD19+), NK buněk (CD3-CD16+56+), pomocných/induktorových (CD3+CD4+) a supresorových/cytotoxických (CD3+CD8+) subpopulací T buněk.

Souvislost s fyziologickým nebo patologickým stavem

Frekvence populací lymfocytů měřené pomocí produktu mohou být ovlivněny různými patologickými stavy a vyhodnocení jejich relativního a absolutního počtu lze využít při posouzení:

- progresse infekce lidského viru imunitní nedostatečnosti (HIV) ^(1, 4, 7, 9)
- dědičné imunodeficiencie ^(2, 3, 4, 11, 12, 15, 17)
- autoimunitního onemocnění ^(5, 6)
- vrozené poruchy imunitního systému ^(13, 14)

Typ testu

Není automatizovaný

Kvantitativní

Typ požadovaného vzorku

Vzorek lidské antikoagulované periferní plné krve

Testovací populace

Není určeno pro testování konkrétní populace.

2. Účel použití

Produkt je určen pouze pro profesionální použití v laboratoři.

Požadavky na kvalifikaci

Uživatel musí mít současné odborné znalosti v oblasti průtokové cytometrie, ovládat standardní laboratorní techniky, včetně pipetování, manipulovat bezpečně a správně se vzorky z lidského těla.

3. Princip testu

Princip testu je založen na detekci vazby monoklonální protilátky na specifickou molekulu (antigen) exprimovanou na lidských krevních buňkách. Použité monoklonální protilátky jsou značené různými fluorochromy, které jsou excitovány laserovým paprskem z průtokového cytometru během akvizice zpracovaného krevního vzorku. Fluorescence (emise světla) zachycená z každého fluorochromu

na naznačené krevní buňce je následně analyzována cytometrem. Intenzita fluorescence je přímo úměrná hustotě exprese antigenu v detekované buňce, což umožňuje rozlišení různých buněčných subpopulací.

4. Poskytované materiály

Obsah

Produkt KOMBITEST TBNK 6-color vystačí na provedení 50 testů a je dodáván ve formátu:

1 lahvička (1 ml) obsahující kombinaci fluorescenčně značených monoklonálních protilátek CD3 FITC / CD16 PE + CD56 PE / CD45 PerCP-CyTM5.5 / CD4 PE-CyTM7 / CD19 APC / CD8 APC-CyTM7, naředěných na optimální koncentrace ve stabilizačním fosfátovém pufru (PBS) s obsahem 15mM azidu sodného.

Složení

Tabulka 1 Popis aktivních složek

Antigen	Fluorochrom	Klon	Izotyp	Koncentrace (µg/ml)
CD3	FITC	TB3	IgG2b	2
CD4	PE-Cy TM 7	MEM-241	IgG1	1,5
CD8	APC-Cy TM 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 TM 5.5	MEM-28	IgG1	3

5. Nutné, ale neposkytované materiály

12 x 75 mm testovací zkumavky s kulatým dnem

Lyzační roztok (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s.)

Deionizovaná voda

Kontrolní buňky (Streck CD-Chex Plus®, Kat. č. 213323 nebo ekvivalentní lyzovatelné buněčné kontroly)

6. Nutná zařízení

Automatická pipeta s jednorázovými špičkami (20 - 100 µl) pro pipetování vzorků a činidel

Dávkořač kapalin nebo pipeta s jednorázovými řpičkami (0,5 – 2 ml) pro dávkování lyzačního roztoku

Vortex

Hematologický analyzátor (pro stanovení absolutního počtu buněk) schopný měřit počty bílých krvinek (WBC) a lymfocytů na μl vzorku

Průtokový cytometr vybavený dvěma laserovými excitačními zdroji (488 nm a ~ 635 nm), detektory pro rozptýlené světlo, optickými filtry a emisními detektory vhodnými pro sběr signálů z fluorochromů uvedených v tabulce 2.

Tabulka 2 Spektrální charakteristika fluorochromů použitých v produktu

Fluorochrom	Excitace [nm]	Emise [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

POZNÁMKA: Produkt byl testován na průtokových cytometrech BD FACSCanto™ II (BD Biosciences), BD FACSLytic™ (BD Biosciences), Navios EX (Beckman Coulter), DxFLEX (Beckman Coulter) a Sysmex™ XF-1600 (Sysmex Corporation).

7. Skladování a manipulace

Składujte při teplotě 2-8 °C.

Chraňte před přímým slunečním světlem.

Nezamrazujte.

Informace o stabilitě po prvním otevření a době použitelnosti po prvním otevření, spolu s podmínkami skladování a stabilitou pracovních roztoků (v případě potřeby) naleznete v části 10 Postup (Příprava reagičii).

8. Výstrahy, opatření a omezení

GHS klasifikace nebezpečnosti

Úplné informace o rizicích, která představují chemické látky a směsi obsažené v tomto výrobku a o tom, jak s nimi zacházet a jak je likvidovat, naleznete v Bezpečnostním listu (SDS), který je k dispozici na www.exbio.cz.

Biologické riziko

Lidské biologické vzorky, krevní vzorky a jakékoliv materiály, které s nimi přicházejí do kontaktu, jsou vždy považovány za infekční.

Používejte osobní ochranné a bezpečnostní pomůcky, abyste zabránili kontaktu s kůží, očima a sliznicemi.

Dodržujte všechny platné zákony, předpisy a postupy pro manipulaci a likvidaci infekčních materiálů.

Projevy znehodnocení produktu

Normální vzhled dodané reagensie je čirá kapalina. Nepoužívejte, pokud pozorujete jakoukoli změnu vzhledu, např. zákal nebo známky precipitace.

Omezení použití

Nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti uvedené na štítcích výrobku.

9. Vzorek

Použijte žilní periferní krev odebranou do zkumavky klasifikované jako zdravotnický prostředek s antikoagulantem EDTA.

POZNÁMKA: Stanovte absolutní počet bílých krvinek a počet lymfocytů v odebraném vzorku krve pomocí hematologického analyzátoru. KOMBITEST TBNK 6-color neposkytuje absolutní počty buněk.

Krevní vzorek s WBC přesahující počet 40×10^3 buněk/ μl bude před zpracováním vyžadovat naředění pomocí PBS.

Vzorek krve zpracujte nejpozději do 24 hodin po odběru.

10. Postup

Příprava reagensí

Není nutná žádná příprava reagensie.

Před použitím vytemperujte reagensii na pokojovou teplotu. Primární obal udržujte v suchu.

Použijte reagensii přímo z původního obalu. Doba, po kterou je reagensie používána (vystavena světlu a zvýšené teplotě), nesmí přesáhnout 4 hodiny denně.

Po prvním otevření si reagensie zachovává své funkční charakteristiky až do data expirace, pokud je skladována za uvedených podmínek v originálním primárním obalu.

UPOZORNĚNÍ: Reagensii neřeďte.

Příprava nutných, ale neposkytovaných materiálů

Podle pokynů výrobce nařeďte koncentrovaný lyzační roztok na pracovní roztok deionizovanou vodou. Pracovní roztok (1X) je stabilní po dobu 1 měsíce při

skladování v dávkovači kapalin nebo uzavřené nádobě při pokojové teplotě.

Kontrola kvality

Použijte Streck CD-Chex Plus® nebo ekvivalentní kontrolní materiál, abyste ověřili správnou funkci produktu. Streck CD-Chex Plus® poskytuje stanovené hodnoty relativního a absolutního počtu T buněk, B buněk, granulocytů, monocytů a NK buněk, včetně dvou klinicky relevantních hladin CD4+ buněk.

Obarvěte kontrolní buňky pomocí KOMBITEST TBNK 6-color podle postupu Značení vzorku. Ověřte, že získané výsledky (počty pozitivních buněk) jsou v očekávaném rozsahu uvedeném pro použitou šarži kontrolního materiálu.

Značení vzorku

1. Označte každou testovací zkumavku 12 x 75 mm s kulatým dnem identifikačním údajem vzorku.
2. Pipetujte 20 µl KOMBITEST TBNK 6-color na dno testovací zkumavky 12 x 75 mm s kulatým dnem.
3. Pipetujte 50 µl dobře promíchaného krevního vzorku na dno zkumavky.

UPOZORNĚNÍ: Vyvarujte se pipetování krve na stěnu zkumavky. Pokud stopy nebo kapky krve ulpí na stěně zkumavky, nemusí být obarveny reagensy nebo nemusí dojít k lýzi erytrocytů a výsledek testu nemusí být platný.

4. Vortexujte a následně inkubujte testovací zkumavku po dobu 20 minut při pokojové teplotě ve tmě.
5. Přidejte 500 µl pracovního roztoku lyzačního činidla (1X) do testovací zkumavky.
6. Vortexujte a následně inkubujte testovací zkumavku po dobu 10 minut při pokojové teplotě ve tmě.

Obarvený vzorek ihned měřte průtokovým cytometrem. V případě, že obarvený vzorek nebude okamžitě změřen, uchovávejte v temnu při 2-8 °C a analyzujte do 24 hodin.

UPOZORNĚNÍ: Bezprostředně před akvizicí průtokovým cytometrem vzorek vortexujte, aby se zabránilo tvorbě agregátů.

Analýza průtokovým cytometrem

Průtokový cytometr vybraný k použití s produktem KOMBITEST TBNK 6-color musí být rutinně kalibrován pomocí fluorescenčních mikrokuliček podle pokynů výrobce cytometru, aby byla zajištěna stabilní citlivost detektorů.

Při nesprávné údržbě může průtokový cytometr poskytovat falešné výsledky.

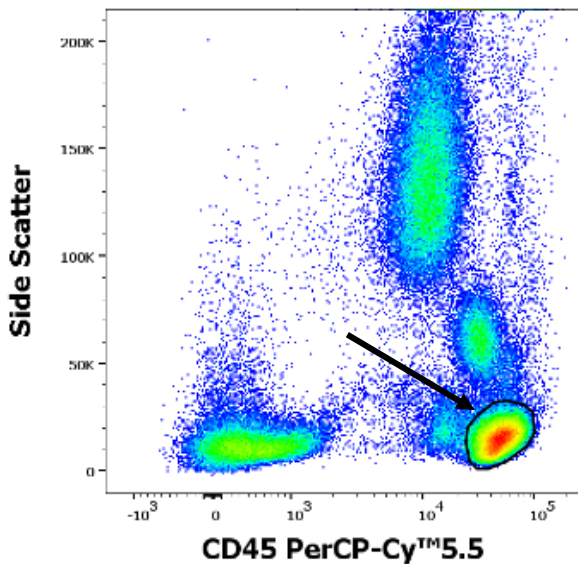
V sekci 6 Nutná zařízení jsou uvedeny potřebné specifikace cytometru pro lasery a

fluorescenční detektory podle excitačních a emisních charakteristik fluorochromů. Před analýzou obarveného vzorku nastavte napětí na požadovaných fluorescenčních detektorech. Napětí na fotonásobiči by mělo být nastaveno dostatečně vysoko, aby minimum negativních událostí bylo zaznamenáno v nultém kanálu na ose fluorescence. Napětí na fotonásobiči by také nemělo překročit hodnoty, při kterých jsou pozitivní události natlačeny k pravé ose. Kompenzujte fluorescenční signály mezi detektory před nebo po sběru dat. Pokud jsou fluorescenční signály nesprávně kompenzovány nebo pokud jsou regiony (gates) umístěny nepřesně, mohou být data nesprávně interpretována. Pro analýzu naměřených dat je možné použít software vyvinutý výrobcem cytometru nebo software určený pro offline analýzu cytometrických dat (např. FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

Analýza dat obarveného vzorku KOMBITEST TBNK 6-color

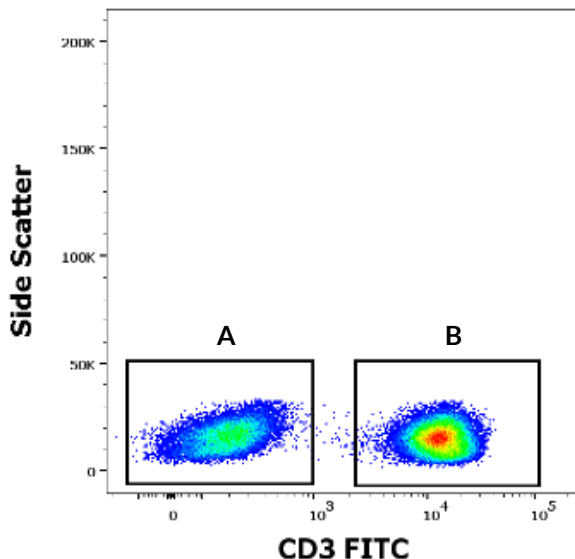
Naměřená kompenzovaná data zobrazte v grafu side-scatter (SSC) versus CD45PerCP-Cy™5.5. Ohraničte populaci CD45+ lymfocytů, jak je znázorněno na obrázku 1.

Obrázek 1 Ohraničení CD45+ lymfocytů



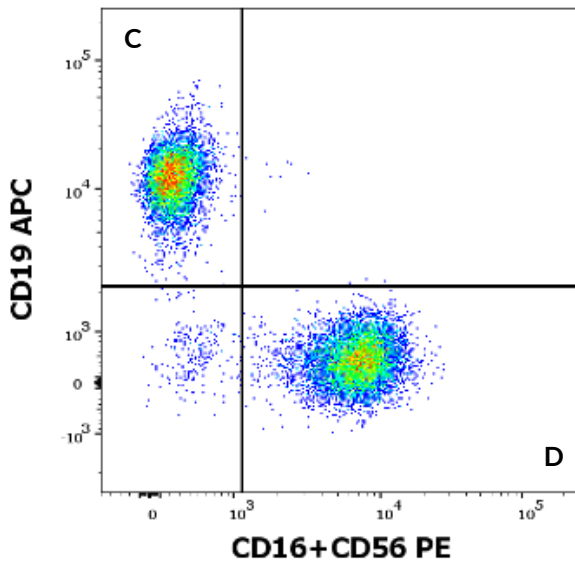
Poté zobrazte ohraničené CD45+ lymfocyty v grafu side-scatter (SSC) versus CD3 FITC, jak je znázorněno na obrázku 2. Rozdělte CD3+ a CD3- lymfocyty pomocí vhodně nastavených regionů (gatů). Vypočítejte procentuální zastoupení T-lymfocytů (CD3+; oblast B na obrázku 2) ze všech lymfocytů.

Obrázek 2 Rozdělení CD3+ a CD3- lymfocytů



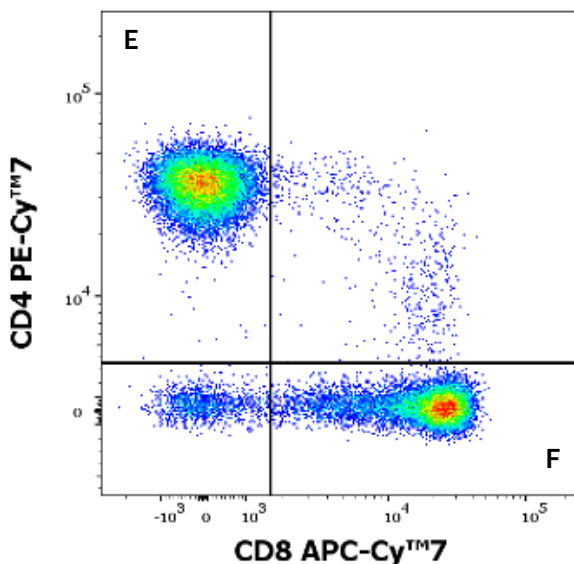
Ohraničené CD3- lymfocyty (oblast A na obrázku 2) zobrazte v grafu CD19 APC versus CD16+CD56 PE, jak je znázorněno na obrázku 3. Nastavte vhodný region (gate) a vypočítejte procentuální zastoupení B-lymfocytů (CD16-CD56-CD19+; oblast C na obrázku 3) a NK buněk (CD16+CD56+CD19-; oblast D na obrázku 3) ze všech lymfocytů.

Obrázek 3 CD3- lymfocyty v dot-plot CD19 APC vs. CD16+CD56 PE



Zobrazte T-lymfocyty (CD3+; oblast B na obrázku 2) v grafu CD4 PE-Cy™7 versus CD8 APC-Cy™7, jak je zobrazeno na obrázku 4. Nastavte vhodný region (gate) a vypočítejte procentuální zastoupení pomocných/induktorových T-lymfocytů (CD4+CD8-; oblast E na obrázku 4) a supresorových/cytotoxických T-lymfocytů (CD4-CD8+; oblast F na obrázku 4) ze všech lymfocytů.

Obrázek 4 CD3+ lymfocyty v dot-plot CD4 PE-Cy™7 vs. CD8 APC-Cy™7



Výpočet a interpretace analytických výsledků

Pro získání absolutních počtů použijte absolutní početní zastoupení lymfocytů stanovené hematologickým analyzátozem. Postupujte podle pokynů výrobce hematologického analyzátozu. Pro výpočet absolutního počtu požadované subpopulace lymfocytů použijte níže uvedenou rovnici.

$$A \times \frac{B (\%)}{100 (\%)} = \text{Absolutní početní zastoupení požadované subpopulace lymfocytů}$$

A = absolutní početní zastoupení lymfocytů

(data z hematologického analyzátozu; buněk / μ l)

B = relativní početní zastoupení požadované subpopulace lymfocytů ze všech lymfocytů (data z průtokového cytometru; %)

11. Vlastnosti analytické funkce

POZNÁMKA: Všechna data pro hodnocení vlastností analytické funkce byla měřena za použití lyzačního roztoku EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., Kat. č. ED7066).

Specifická

Monoklonální protilátka TB3 rozpoznává CD3 antigen TCR/CD3 komplexu. Specifická protilátka byla potvrzena na HCDM Council (HLDA X a HLDA XI workshop).

Monoklonální protilátka MEM-241 rozpoznává CD4 antigen (povrchový glykoprotein T buněk CD4). Specifická protilátka byla potvrzena na HCDM Council (HLDA VIII workshop).

Monoklonální protilátka LT8 rozpoznává CD8 antigen (disulfidicky vázaný dimer exprimovaný jako dva homodimery CD8 alfa řetězce nebo heterodimery CD8 alfa/beta řetězce). Specifická protilátka byla potvrzena na HLDA workshopech (workshop HLDA V ⁽¹⁶⁾ a workshop HLDA VII ⁽⁸⁾).

Monoklonální protilátka 3G8 rozpoznává CD16 antigen (nízkoafinitní imunoglobulin typu III Fc-gama receptor). Specifická protilátka byla potvrzena workshopem HLDA (HLDA V workshop ⁽¹⁶⁾).

Monoklonální protilátka LT56 rozpoznává leukocytární izoformu lidského CD56 antigenu (Molekula adheze nervových buněk 1 - NCAM). Specifická protilátka byla potvrzena na HCDM Council (HLDA X workshop).

Monoklonální protilátka LT19 rozpoznává CD19 antigen (transmembránový glykoprotein B buněk CD19). Specifická protilátka byla potvrzena na HCDM Council (HLDA X workshop).

Monoklonální protilátka MEM-28 rozpoznává všechny leukocytární izoformy CD45 (receptorová protein tyrozin fosfatáza typu C). Specifická protilátka byla potvrzena workshopem HLDA (dílna HLDA III ⁽¹⁰⁾).

Přesnost

Přesnost produktu byla stanovena porovnáním KOMBITEST TBNK 6-color s podobnými výrobky dostupnými na trhu nebo dobře dokumentovanými metodami paralelním barvením 30 zdravých dárců a 134 pacientů s podezřením na patologický stav imunitního systému. Parametry lineární regresní analýzy jsou uvedeny v tabulce 3 a 4.

Tabulka 3 Lineární regresní analýza pro jednotlivé subpopulace lymfocytů u zdravých dárců (srovnání KOMBITEST TBNK 6-color s produktem BD Multitest™ 6-Color TBNK Reagent (kat. č. 644611))

Subpopulace lymfocytů	Jednotky	n	Směrnice	Intercept	R ²	Rozsah
CD3+	%	30	1,00	-0,006	0,99	49,03 – 84,87
	buněk/μl	30	0,99	5,464	1,00	608 – 2137
CD3+CD8+	%	30	0,98	0,003	1,00	10,43 – 40,17
	buněk/μl	30	0,97	8,959	1,00	145 – 1016
CD3+CD4+	%	30	0,99	0,004	0,99	29,70 – 56,37
	buněk/μl	30	0,99	6,588	1,00	321 – 1407
CD3-CD16+CD56+	%	30	1,01	-0,002	1,00	5,15 – 38,93
	buněk/μl	30	1,02	-6,186	1,00	97 – 1036
CD3-CD19+	%	30	1,00	0,003	0,99	5,42 – 25,00
	buněk/μl	30	1,02	1,611	0,99	74 – 352

n = počet krevních vzorků

Tabulka 4 Lineární regresní analýza pro jednotlivé subpopulace lymfocytů u pacientů s podezřením na patologický stav imunitního systému (srovnání KOMBITEST TBNK 6-color s AQUIOS CL Flow Cytometry System - Beckman Coulter, Inc. a akreditovanou klinickou laboratorní „in house“ metodou – směs fluorescenčně značených monoklonálních protilátek od různých výrobců s analýzou na cytometru BD FACSCanto™ II)

Subpopulace lymfocytů	Jednotky	n	Směrnice	Intercept	R ²	Rozsah
CD3+	%	134	1,032	-2,655	0,98	23,9 – 94,5
	cells/μl	134	1,023	-0,047	0,97	140 – 5178
CD3+CD8+	%	134	1,020	-0,803	0,98	9,1 – 80,7
	cells/μl	134	1,055	-0,041	0,96	60 – 3546
CD3+CD4+	%	134	1,014	-0,651	0,98	1,4 – 67,5
	cells/μl	134	0,994	-0,005	0,98	8 – 2826
CD3-CD16+CD56+	%	134	1,064	-0,400	0,98	1,6 – 68,2
	cells/μl	134	1,080	-0,014	0,99	10 – 2612
CD3-CD19+	%	134	1,027	-0,376	0,99	0,0 – 69,7
	cells/μl	134	1,043	-0,010	1,00	0 – 4586

Linearita

Linearita produktu byla ověřena na 10 sériových ředěních vzorku krve obohaceného o leukocyty (buffy coat). Vzorky buněk byly značeny pomocí KOMBITEST TBNK 6-color v hexaplikátech. Vzorky byly analyzovány průtokovými cytometry BD FACSCanto™ II a Beckman Coulter DxFLEX. Naměřená data ukazují, že uvedené subpopulace lymfocytů jsou lineární v rozsahu koncentrace lymfocytů 333 - 9492 buněk/ μ l u cytometru BD FACSCanto™ II a 309 - 8693 buněk/ μ l u cytometru Beckman Coulter DxFLEX. V tabulkách 5 a 6 jsou uvedeny rozsahy koncentrací pro jednotlivé subpopulace buněk, ve kterých bylo jejich početní zastoupení v linearitě.

Tabulka 5 Lineární rozsahy subpopulací lymfocytů analyzované pomocí BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II	
Subpopulace lymfocytů	Rozsah (buněk/ μ l)
CD3+	249 - 6594
CD3+CD8+	96 - 2560
CD3+CD4+	136 - 3628
CD3-CD16+CD56+	55 - 1525
CD3-CD19+	44 - 1342

Tabulka 6 Lineární rozsahy subpopulací lymfocytů analyzované pomocí Beckman Coulter DxFLEX

Beckman Coulter DxFLEX	
Subpopulace lymfocytů	Rozsah (buněk/ μ l)
CD3+	243 - 6565
CD3+CD8+	102 - 2652
CD3+CD4+	128 - 3517
CD3-CD16+CD56+	64 - 1588
CD3-CD19+	41 - 1280

Opakovatelnost

Opakovatelnost produktu byla naměřena na deseti vzorcích krve v hexaplikátech. Vzorky byly analyzovány průtokovými cytometry BD FACSCanto™ II a Beckman Coulter DxFLEX. Variační koeficienty (CV) jsou uvedeny v tabulkách níže (Tabulka 7 a 8).

Tabulka 7 Opakovatelnost produktu na průtokovém cytometru BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II					
Subpopulace lymfocytů	Jednotky	n	Průměr	SD	% CV
CD3+	%	10	70,34	0,56	0,91
	buněk/ μ l	10	1396	10,22	0,91
CD3+CD8+	%	10	23,11	0,27	1,25
	buněk/ μ l	10	453	5,23	1,25
CD3+CD4+	%	10	41,06	0,53	1,36
	buněk/ μ l	10	808	9,71	1,36
CD3-CD16+CD56+	%	10	16,35	0,40	2,43
	buněk/ μ l	10	289	7,20	2,43
CD3-CD19+	%	10	11,63	0,25	2,31
	buněk/ μ l	10	227	4,78	2,31

Tabulka 8 Opakovatelnost produktu na průtokovém cytometru Beckman Coulter DxFLEx

Beckman Coulter DxFLEx					
Subpopulace lymfocytů	Jednotky	n	Průměr	SD	% CV
CD3+	%	10	70,80	0,61	0,95
	buněk/ μ l	10	1406	11,19	0,95
CD3+CD8+	%	10	23,80	0,32	1,42
	buněk/ μ l	10	468	6,12	1,42
CD3+CD4+	%	10	40,81	0,56	1,47
	buněk/ μ l	10	803	10,52	1,47
CD3-CD16+CD56+	%	10	15,89	0,40	2,72
	buněk/ μ l	10	282	7,23	2,72
CD3-CD19+	%	10	11,68	0,32	2,83
	buněk/ μ l	10	227	5,94	2,83

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost produktu byla měřena na 2 stabilizovaných vzorcích krve (CD Chex Plus® a CD-Chex Plus® CD4 Low) při stejných podmínkách po dobu 15 dnů za použití 3 šarží produktu (každá šarže 5 dní). Vzorky byly analyzovány pomocí průtokových cytometrů BD FACSCanto™ II a Beckman Coulter DxFLEX. Variační koeficienty (CV) jsou uvedeny v tabulkách níže (Tabulka 9 a 10).

Tabulka 9 Reprodukovatelnost produktu na průtokovém cytometru BD FACSCanto™ II

Subpopulace lymfocytů	Materiál	Jednotky	Průměr	SD	% CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	76,84	0,18	0,23
		buněk/μl	1896	4,39	0,23
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	60,61	0,32	0,53
		buněk/μl	879	4,65	0,53
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	23,45	0,23	0,97
		buněk/μl	578	5,62	0,97
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	42,17	0,31	0,73
		buněk/μl	612	4,55	0,73
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	48,78	0,45	0,93
		buněk/μl	1203	11,15	0,93
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12,53	0,26	2,11
		buněk/μl	182	3,84	2,11
CD3-CD16+CD56+	CD-Chex Plus®	%	10,76	0,22	2,03
		buněk/μl	265	5,39	2,03
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	19,51	0,38	1,94
		buněk/μl	283	5,49	1,94
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	11,30	0,16	1,45
		buněk/μl	279	4,03	1,45
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	18,05	0,32	1,75
		buněk/μl	262	4,58	1,75

Tabulka 10 Reprodukovatelnost produktu na průtokovém cytometru Beckman Coulter DxFLEx

Subpopulace lymfocytů	Materiál	Jednotky	Průměr	SD	% CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	77,17	0,21	0,27
		buněk/ μ l	1904	5,23	0,27
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	60,85	0,43	0,71
		buněk/ μ l	883	6,24	0,71
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	23,87	0,20	0,85
		buněk/ μ l	589	4,99	0,85
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	42,81	0,32	0,75
		buněk/ μ l	621	4,65	0,75
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	46,47	1,41	3,03
		buněk/ μ l	1146	34,77	3,03
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12,16	0,53	4,37
		buněk/ μ l	176	7,71	4,37
CD3-CD16+ CD56+	CD-Chex Plus®	%	10,59	0,20	1,88
		buněk/ μ l	261	4,92	1,88
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	19,38	0,32	1,63
		buněk/ μ l	281	4,59	1,63
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	11,07	0,17	1,54
		buněk/ μ l	273	4,19	1,54
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	17,85	0,35	1,95
		buněk/ μ l	259	5,05	1,95

12. Očekávané hodnoty

Referenční interval

Referenční intervaly pro KOMBITEST TBNK 6-color byly stanoveny na skupině subjektů za použití lyzačního roztoku EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., Kat. č. ED7066) a průtokového cytometru BD FACSCanto™ II. Subjekty byly zdraví normální dospělí (dárci krve).

Tabulka 11 Reprezentativní referenční intervaly pro KOMBITEST TBNK 6-color

Subpopulace lymfocytů	Jednotky	n	Průměr	95% Rozsah
CD3+	%	30	69,49	50,81 - 88,17
	buněk/ μ l	30	1308	573 - 2043
CD3+CD8+	%	30	22,68	9,29 - 36,07
	buněk/ μ l	30	431	53 - 810
CD3+CD4+	%	30	42,70	27,72 - 57,67
	buněk/ μ l	30	802	352 - 1252
CD3-CD16+CD56+	%	30	18,70	0,60 - 35,53
	buněk/ μ l	30	351	0 - 822
CD3-CD19+	%	30	11,62	2,65 - 20,59
	buněk/ μ l	30	211	72 - 351

UPOZORNĚNÍ: Uvedené hodnoty při použití produktu jsou pouze reprezentativní. Každá laboratoř si musí stanovit své vlastní referenční intervaly od místní populace normálních dárců.

13. Rušivé látky a omezení

KOMBITEST TBNK 6-color nebyl validován pro určování relativních a absolutních počtů při použití ve vzorcích odebraných s heparinem nebo roztokem ACD (Acid Citrat Dextrose) sloužícím jako antikoagulant.

KOMBITEST TBNK 6-color není určen ke screeningu a/nebo fenotypizaci leukemických a lymfomatských vzorků.

Absolutní počty nejsou srovnatelné mezi laboratořemi používajícími různá zařízení od různých výrobců.

14. Odkazy

- 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.

15. Ochranné známky

BD FACSCanto™ II, BD FACSLyric™, BD Multitest™ a FlowJo™ jsou registrované ochranné známky firmy Becton, Dickinson and Company, CD-Chex Plus® je registrovaná ochranná známka firmy Streck, Cy™ je registrovaná ochranná známka firmy Cytiva, Sysmex™ je registrovaná ochranná známka firmy Sysmex Corporation, VenturiOne® je registrovaná ochranná známka firmy Applied Cytometry, Infinicyt™ je registrovaná ochranná známka firmy Cytognos S.L..

16. Historie revizí

Verze 1, ED7766_TDS_v1

První vydání

17. Výrobce

EXBIO Praha, a.s.
Nad Safinou II 341
25250 Vestec
Czech Republic

Kontaktní informace

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

POZNÁMKA: Jakákoli vážná událost, která se vyskytla v souvislosti s produktem, musí být oznámena výrobcí a místnímu příslušnému úřadu.