

exbio

DryFlowEx TBNK 6-color 50 testů | Kat. č. ED7736

IVD **CE**₂₂₆₅

Návod k použití (CS)

Verze: ED7736_IFU_v5_CS

Datum vydání: 17-04-2025

Symbody použité k označení prostředku

IVD	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>		Omezení teploty
CE ₂₂₆₅	Označení shody CE ID číslo notifikované osoby		Chránit před slunečním zářením
	Výrobce		Chránit před vlhkem
UDI	Jedinečná identifikace prostředku (UDI)		Pozor
	Čtěte návod k použití		Nepoužívat opakovaně
	Obsah postačuje pro <n> testů	TUBE	Obsahuje <n> zkumavek na jedno použití
REF	Katalogové číslo	CONTENTS	Obsah
LOT	Kód dávky	UK CA	Označení shody UKCA
	Použít do data		

1. Určený účel prostředku

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

Co se zjišťuje a/nebo měří

DryFlowEx 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.

Funkce prostředku

Prostředek je určen k posouzení imunitního stavu normálních pacientů a může pomoci při diagnostice pacientů s imunodeficitem nebo podezřením na nějaký typ imunodeficitu.

Souvislost s fyziologickým nebo patologickým stavem

Frekvence populací lymfocytů měřené pomocí prostředku mohou být ovlivněny různými patologickými stavy a lze je využít při posouzení:

- CD3+/CD4+ pomocných/indukujících T buněk při sledování HIV (1, 5, 9, 11)
- CD3+/CD8+ cytotoxických T buněk u virových infekcí a dědičných imunodeficiencí (3, 4, 13, 14, 17, 19)
- CD3-/CD19+ B buněk u autoimunitních onemocnění (6, 8)
- CD3-/CD16+56+ NK buněk u vrozené poruchy imunity a imunologických defektů (15, 16)

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

Prostředek je určen pouze pro profesionální použití v laboratoři. Prostředek není určen pro vyšetření v blízkosti pacienta nebo přímo u pacienta a není určen pro sebetestování.

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.

Uživatel musí splňovat normu EN ISO 15189, případně jiné národní legislativní

normy.

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

4. Poskytované materiály

Obsah

Prostředek DryFlowEx TBNK 6-color vystačí na provedení 50 testů a je dodáván ve formátu:

TBNK 6-color ED7736-1 (10 sáčků). Každý sáček se skládá z 5 uzavřených zkumavek na jedno použití obsahující kombinaci sušených fluorescenčně značených reagensů se stabilizačními složkami na dně testovacích zkumavek (12 x 75 mm), viz tabulka 1.

TBNK 6-color Kompenzační Set ED7736-2 (1 sáček) obsahující 6 uzavřených zkumavek na jedno použití, z nichž každá obsahuje jednu sušenou fluorescenčně značenou monoklonální protilátku (viz tabulka 1) se stabilizačními složkami na dně testovací zkumavky (12 x 75 mm).

UPOZORNĚNÍ: TBNK 6-color Kompenzační Set je určen pouze k nastavení kompenzace. Jednotlivé fluorescenčně značené reagensie (tabulka 1) umožňují snadný a přesný postup kompenzace.

Složení

Tabulka 1 Popis aktivních složek TBNK 6-color

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

5. Nutné, ale neposkytované materiály

Lyzační roztok EXCELLYSE Easy, Kat. č. ED7066

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

Fosfátový pufr (1X PBS), pH 7,2 – 7,4

6. Nutná zařízení

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

Dávkočap kapaliny nebo pipeta s jednorázovými špičkami (0,5 – 2 ml) pro dávkování lyzačního roztoku

Dávkočap kapaliny nebo pipeta s jednorázovými špičkami (0,2 – 0,5 ml) pro dávkování fosfátového pufru

Vortex

Centrifuga s příslušnými adaptéry rotoru na zkumavky s kulatým dnem 12 x 75 mm

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 prostředí

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

7. Skladování a manipulace

Skladujte při teplotě 20-30 °C.

Vyhněte se dlouhodobé expozici na světlo.

Udržujte v suchu.

UPOZORNĚNÍ: Produkt citlivý na vlhkost. Fóliový sáček otevírejte bezprostředně před prvním použitím.



Po prvním otevření důkladně uzavřete fóliový sáček se zipovým uzávěrem pro uložení zbývajících nepoužitých zkumavek.

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 reagentů).

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 prostředku

Normální vzhled dodané reagentie je průhledná vysušená vrstva na dně zkumavky. Nepoužívejte, pokud pozorujete jakoukoli změnu vzhledu, např. přítomnost vlhkosti uvnitř zkumavky.

Omezení použití

Nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti uvedené na štítcích výrobku. Nepoužívejte zkumavky opakovaně.

9. Vzorek

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

Vzorek krve v odběrové zkumavce musí být skladován při laboratorní teplotě. Neuchovávejte v chladničce.

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

Krevní vzorek s WBC přesahující počet 40×10^3 buněk/ μ l bude před zpracováním vyžadovat naředění pomocí 1X PBS.

Vzorek krve zpracujte nejpozději do 24 hodin po odběru. Vzorek skladujte při laboratorní teplotě (20 – 25°C). Neuchovávejte vzorek v chladničce.

Endogenní interference

Na základě výzkumu vědecké literatury jsou zdroje endogenní interference identifikovány v tabulce 3.

Tabulka 3 Endogenní interference prostředku

Endogenní interference	Vliv	Odkazy
Albumin	Albumin může interferovat ve vysokých koncentracích díky své schopnosti vázat a také uvolňovat velká množství ligandů.	20, 21, 37
Bilirubin (žloutenka) (nekonjugovaný)	Bilirubin může zvýšit fluorescenční pozadí buněk díky své vysoké autofluorescenci.	24, 26, 30
Zbytky buněk (po lýze)	Zbytky buněk mohou poskytovat nepřesné počty buněk a vyčerpat protilátky v zařízení.	23, 27
Erytrocyty	Nedostatečná lýza, červené krvinky přítomné ve vzorku mohou vést k chybnému počítání buněk.	28
Hemoglobin	Hemolyzované vzorky mohou poskytovat chybné výsledky.	25
Lidské anti-myší protilátky	Léčba monoklonálními protilátkami může vést k chybným výsledkům (schopnost vázat se na antigeny buněčného povrchu).	22, 32, 33, 34, 35, 36
Imunoglobuliny	Nelze promývat metodou na jedné platformě a může vést k chybnému počtu podskupin lymfocytů.	23
Revmatoidní faktory	Přítomnost RF interferuje s MIA (multiplexní imunoanalýzy).	29
Triglyceridy	Vysoké cirkulující hladiny lipidů mohou ovlivnit analýzu průtokovou cytometrií určitých populací krevních buněk.	31

Exogenní interference

Vzorek starší než 24 hodin může poskytovat chybné výsledky.

Chlazený vzorek může poskytovat chybné výsledky.

Nesprávná příprava roztoku pro lýzu erytrocytů může vést k chybným výsledkům.

Dodržujte pokyny výrobce pro použití roztoku pro lýzu erytrocytů.

10. Postup

Příprava reagensí

TBNK 6-color

Není nutná žádná příprava reagensie. Reagensie se dodává ve zkumavkách na jedno použití.

UPOZORNĚNÍ: Produkt citlivý na vlhkost. Fóliový sáček otevírejte až při prvním použití.



Každý sáček se skládá z 5 uzavřených zkumavek TBNK 6-color na jedno použití. Po každém otevření důkladně uzavřete fóliový sáček se zipovým uzávěrem pro uložení zbývajících nepoužitých zkumavek.

Po prvním otevření spotřebujte zbývajících zkumavky TBNK 6-color do 30 dnů.

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 laboratorní teplotě.

Nastavení kompenzace

Změřte zkumavky TBNK 6-color Kompenzačního Setu pomocí stejného nastavení průtokového cytometru jako v případě obarvených zkumavek TBNK 6-color.

UPOZORNĚNÍ: TBNK 6-color a TBNK 6-color kompenzační set vyžadují stejný typ vzorku.

TBNK 6-color kompenzační zkumavky

1. Pipetujte 50 µl dobře promíchaného krevního vzorku na dno každé jednobarevné kompenzační zkumavky.
2. Intenzivně vortexujte po dobu 7 - 10 sekund a inkubujte po dobu 20 minut při laboratorní teplotě ve tmě.
3. Přidejte 1 ml pracovního roztoku lyzačního činidla (1X) do každé kompenzační zkumavky.

4. Vortexujte a následně inkubujte po dobu 10 minut při laboratorní teplotě ve tmě.
5. Centrifugujte po dobu 5 minut při 300×g, odstraňte supernatant a resuspendujte buněčný pelet v 0,2 ml 1X PBS.
6. 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.
7. Obarvené vzorky ihned měřte průtokovým cytometrem.

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 každou kompenzační zkušavku nastavte regiony (gaty) pro pozitivní a negativní populaci podle obrázku 1.

Vypočítejte kompenzační matici buď v softwaru vyvinutém výrobcem cytometru nebo v softwaru určeném pro offline analýzu cytometrických dat. Tuto kompenzační matici použijte pro všechny zkušavky této šarže TBNK 6-color.

UPOZORNĚNÍ: Po nastavení pro konkrétní šarži neměňte nastavení fluorescenčních detektorů, abyste zachovali stejné nastavení kompenzační matice a výsledky kompenzace.

Kontrola kvality

Použijte Streck CD-Chex Plus® nebo ekvivalentní kontrolní materiál, abyste ověřili správnou funkci prostředku. 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 TBNK 6-color testové zkušavky 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 TBNK 6-color zkušavku identifikačním údajem vzorku.
2. Pipetujte 50 µl dobře promíchaného krevního vzorku na dno TBNK 6-color zkušavky.

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

3. Intenzivně vortexujte po dobu 7 – 10 sekund a inkubujte po dobu 20 minut při laboratorní teplotě ve tmě.

UPOZORNĚNÍ: Zkrácení doby vortexování může ovlivnit výsledky testu.

4. Přidejte 1 ml pracovního roztoku lyzačního činidla (1X) do TBNK 6-color zkumavky.
5. Vortexujte a následně inkubujte po dobu 10 minut při laboratorní teplotě ve tmě.
6. Centrifugujte zkumavku TBNK 6-color 5 minut při 300×g.
7. Odstraňte supernatant bez narušení buněčné pelety a přidejte 0,2 ml 1X PBS do testovací zkumavky.
8. Krátce vortexujte, aby se buněčná peleta resuspendovala.
9. 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 prostředkem DryFlowEx 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.

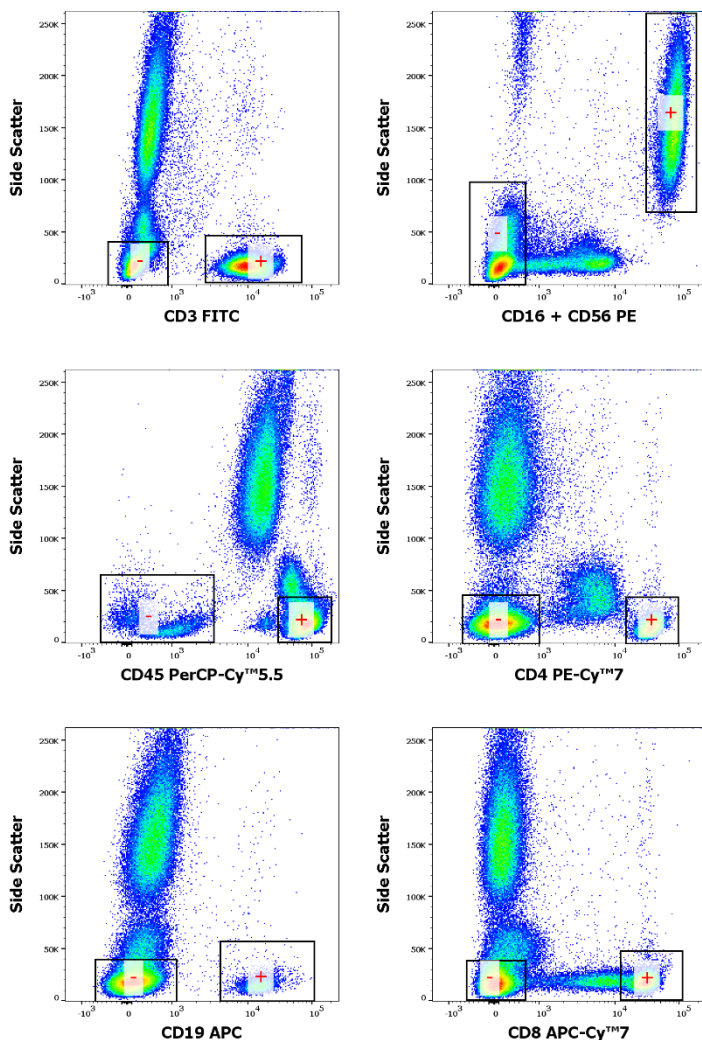
V sekci 6 Nutná zařízení jsou uvedeny potřebné specifikace cytometru pro lasery a fluorescenční detektory podle excitačních a emisních charakteristik fluorochromů.

Pro analýzu naměřených dat je možné použít software vyvinutý výrobcem cytometru nebo software určený pro offline analýzu cytometrických dat (např. FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

Analýza kompenzačních zkumavek

Zobrazte nekompensovaná data pro každou kompenzační zkumavku v grafu side-scatter (SSC) versus „fluorochrom, který má být kompenzován“. Nastavte regiony pro pozitivní (+) a negativní (-) populace, jak je znázorněno na obrázku 1.

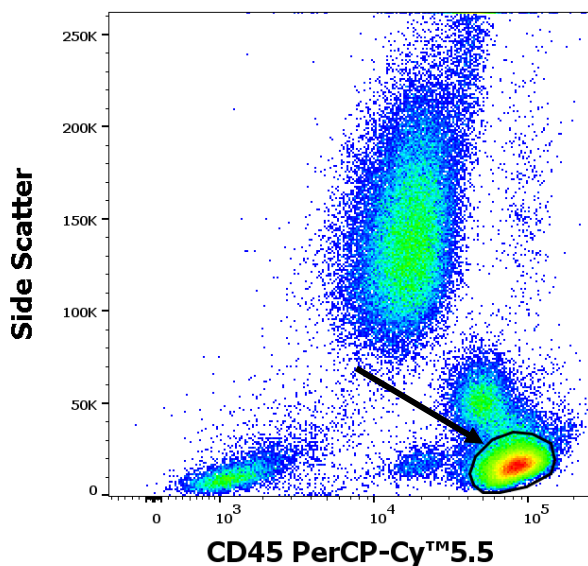
Obrázek 1 Identifikace pozitivních (+) a negativních (-) událostí v kompenzačních zkumavkách (data získaná na cytometru BD FACSCanto™ II)



Analýza obarveného vzorku TBNK 6-color

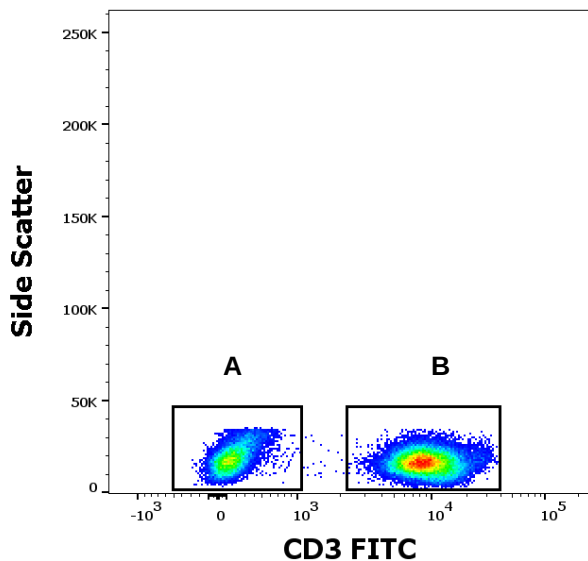
Zobrazte kompenzovaná data v grafu side-scatter (SSC) versus CD45 PerCP-Cy™5.5. Nastavte vhodný region (gate) pro CD45+ lymfocyty, jak je znázorněno na obrázku 2.

Obrázek 2 Ohraničení CD45+ lymfocytů
(data získaná na cytometru BD FACSCanto™ II)



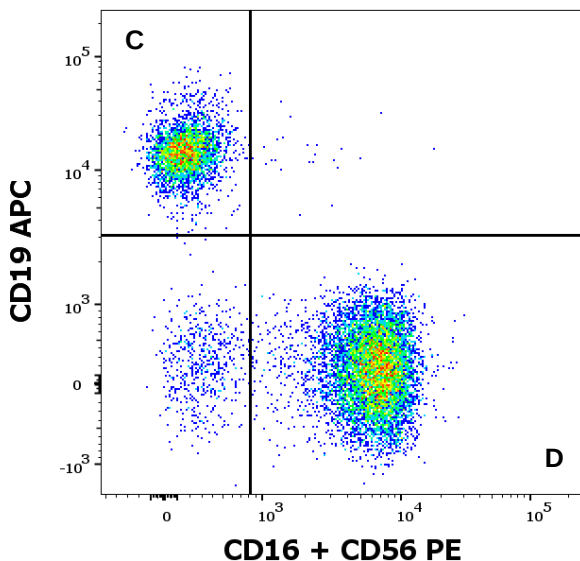
Poté zobrazte ohraničené CD45+ lymfocyty v grafu side-scatter (SSC) versus CD3 FITC, jak je znázorněno na obrázku 3. Rozdělte CD3+ a CD3- lymfocyty pomocí vhodně nastavených regionů (gatů). Vypočítejte procentuální zastoupení T-lymfocytů (CD3+; oblast B na obrázku 3) ze všech lymfocytů.

Obrázek 3 Rozdělení CD3+ a CD3- lymfocytů
(data získaná na cytometru BD FACSCanto™ II)



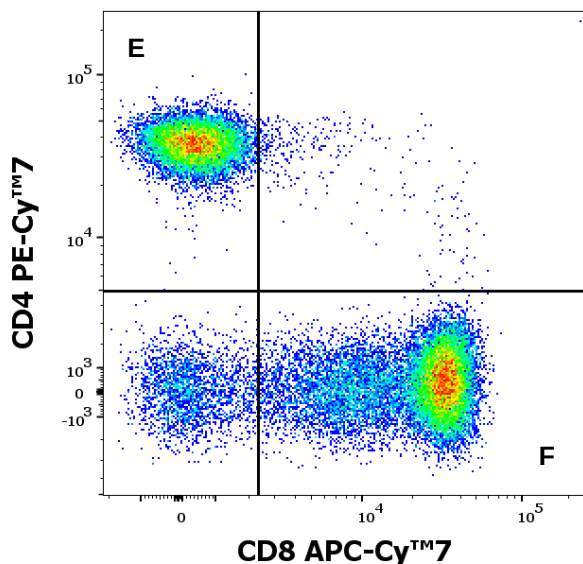
Ohraničené CD3- lymfocyty (oblast A na obrázku 3) zobrazte v grafu CD19 APC versus CD16+CD56 PE, jak je znázorněno na obrázku 4. Nastavte vhodný region (gate) a vypočítejte procentuální zastoupení B-lymfocytů (CD16-CD56-CD19+; oblast C na obrázku 4) a NK buněk (CD16+CD56+CD19-; oblast D na obrázku 4) ze všech lymfocytů.

Obrázek 4 CD3- lymfocyty v dot-plot CD19 APC vs. CD16+CD56 PE
(data získaná na cytometru BD FACSCanto™ II)



Zobrazte T-lymfocyty (CD3+; oblast B na obrázku 3) v grafu CD4 PE-CyTM7 versus CD8 APC-CyTM7, jak je zobrazeno na obrázku 5. Nastavte vhodný region (gate) a vypočítejte procentuální zastoupení pomocných/induktorových T-lymfocytů (CD4+CD8-; oblast E na obrázku 5) a supresorových/cytotoxických T-lymfocytů (CD4-CD8+; oblast F na obrázku 5) ze všech lymfocytů.

Obrázek 5 CD3+ lymfocyty v dot-plot CD4 PE-CyTM7 vs. CD8 APC-CyTM7 (data získaná na cytometru BD FACSCantoTM II)



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

Specifita

Monoklonální protilátka UCHT1 rozpoznává extracelulární epitop na CD3 antigenu komplexu TCR/CD3 na zralých lidských T buňkách. Protilátka UCHT1 reaguje s epsilon řetězcem komplexu CD3. Specifita protilátky byla potvrzena na HCDM Council (HLDA I⁽²⁾, HLDA III⁽¹²⁾ a HLDA VI⁽⁷⁾ workshop).

Monoklonální protilátka MEM-241 rozpoznává CD4 antigen (povrchový glykoprotein T buněk CD4). Specifita protilátky 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). Specifita protilátky byla potvrzena na HLDA workshopech (workshop HLDA V⁽¹⁸⁾ a workshop HLDA VII⁽¹⁰⁾).

Monoklonální protilátka 3G8 rozpoznává CD16 antigen (nízkoafinitní imunoglobulin typu III Fc-gama receptor). Specifita protilátky byla potvrzena workshopem HLDA (HLDA V workshop⁽¹⁸⁾).

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

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

Monoklonální protilátka MEM-28 rozpoznává všechny leukocytární izoformy CD45 (receptorová protein tyrozin fosfatáza typu C). Specifita protilátky byla potvrzena workshopem HLDA (dílna HLDA III⁽¹²⁾).

Přesnost

Přesnost metody byla na průtokovém cytometru BD FACSCanto™ II naměřena a stanovena porovnáním prostředku DryFlowEx TBNK 6-color s podobným produktem dostupným na trhu KOMBITEST TBNK 6-color (kat. č. ED7733) paralelním barvením 118 zdravých dárců krve.

Přesnost metody na průtokových cytometrech Beckman Coulter DxFLEX a Sysmex XF-1600™ byla stanovena porovnáním výsledků analýzy stejných krevních vzorků obarvených prostředkem DryFlowEx TBNK 6-color a analýzou na průtokových cytometrech BC DxFLEX a BD FACSCanto™ II (92 zdravých dárců) a na průtokových cytometrech Sysmex XF-1600™ a BD FACSCanto™ II (71 zdravých dárců).

Přesnost metody byla podpořena paralelním barvením 46 pacientů (viz tabulka 7) s podezřením na patologický stav imunitního systému.

Parametry lineární regresní analýzy jsou uvedeny v tabulkách 4–7.

Tabulka 4 Lineární regresní analýza pro jednotlivé subpopulace lymfocytů u zdravých dárců (srovnání prostředku DryFlowEx TBNK 6-color s IVD produktem KOMBITEST TBNK 6-color (EXBIO, kat. č. ED7733))

Subpopulace lymfocytů	Jednotky	n	Směrnice	Intercept	R ²
CD3+	%	118	0,9850	+0,0054	0,97
	buněk/μl	118	0,9993	-9,0904	1,00
CD3+CD8+	%	118	1,0618	-0,006	0,99
	buněk/μl	118	1,0497	-6,1323	0,99
CD3+CD4+	%	118	1,0067	-0,0015	0,98
	buněk/μl	118	1,0191	-12,603	0,99
CD3-CD16+CD56+	%	118	0,9956	-0,0023	0,99
	buněk/μl	118	0,9943	-3,9727	0,98
CD3-CD19+	%	118	0,9885	-0,0015	0,98
	buněk/μl	118	0,9790	-0,9509	0,99

n = počet krevních vzorků

Tabulka 5 Lineární regresní analýza pro jednotlivé subpopulace lymfocytů u zdravých dárců (srovnání prostředku ED7736 na BD FACSCanto™ II s ED7736 na BC DxFLEx)

Subpopulace lymfocytů	Jednotky	n	Směrnice	Intercept	R ²
CD3+	%	92	0,9839	0,0106	0,9823
	buněk/μl	92	0,9992	-0,0833	0,9985
CD3+CD8+	%	92	1,0187	-0,0051	0,9864
	buněk/μl	92	1,0083	-5,1608	0,9930
CD3+CD4+	%	92	0,9872	0,0017	0,9935
	buněk/μl	92	0,9869	3,4994	0,9975
CD3-CD16+CD56+	%	92	0,9857	0,0022	0,9904
	buněk/μl	92	0,9784	5,7585	0,9921
CD3-CD19+	%	92	0,9992	-0,0002	0,9900
	buněk/μl	92	1,0031	-1,0160	0,9916

n = počet krevních vzorků

Tabulka 6 Lineární regresní analýza pro jednotlivé subpopulace lymfocytů u zdravých dárců (srovnání ED7736 na BD FACSCanto™ II s ED7736 na Sysmex XF-1600™)

Subpopulace lymfocytů	Jednotky	n	Směrnice	Intercept	R ²
CD3+	%	71	0,9942	0,0051	0,9853
	buněk/μl	71	1,0101	-10,313	0,9990
CD3+CD8+	%	71	0,9718	0,00006	0,9878
	buněk/μl	71	0,9646	2,6825	0,9938
CD3+CD4+	%	71	0,9885	0,0077	0,9955
	buněk/μl	71	1,0178	-7,2726	0,9972
CD3-CD16+CD56+	%	71	0,9905	0,0033	0,9915
	buněk/μl	71	0,9789	8,4040	0,9951
CD3-CD19+	%	71	0,9149	0,0009	0,9652
	buněk/μl	71	0,9128	1,8844	0,9780

n = počet krevních vzorků

Tabulka 7 Lineární regresní analýza pro jednotlivé subpopulace lymfocytů u pacientů s podezřením na patologický stav imunitního systému (srovnání prostředku DryFlowEx TBNK 6-color s AQUIOS CL Flow Cytometry System - Beckman Coulter, Inc.)

Subpopulace lymfocytů	Jednotky	n	Směrnice	Intercept	R ²
CD3+	%	46	1,0027	-0,6999	0,98
	buněk/μl	46	0,9805	17,223	1,00
CD3+CD8+	%	46	1,0033	0,7307	0,94
	buněk/μl	46	1,0595	4,148	0,97
CD3+CD4+	%	46	1,018	-0,9716	0,97
	buněk/μl	46	0,9884	6,4727	0,99
CD3-CD16+CD56+	%	46	1,0469	-0,5117	0,98
	buněk/μl	46	1,0543	-11,577	0,99
CD3-CD19+	%	46	1,0213	0,1708	0,96
	buněk/μl	46	1,036	-0,1163	0,98

n = počet krevních vzorků

Linearita

Linearita prostředku byla ověřena na 10 sériových ředěních vzorku krve obohaceného o leukocyty (buffy coat). Vzorky buněk byly značeny pomocí DryFlowEx TBNK 6-color v hexaplikátech. Vzorky byly analyzovány průtokovými cytometry BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEX a Sysmex XF-1600™. Naměřená data ukazují, že uvedené subpopulace lymfocytů jsou lineární v rozsahu koncentrace lymfocytů 87 - 7031 buněk/μl u cytometru BD FACSCanto™ II a 85 - 6698 buněk/μl u cytometru Beckman Coulter DxFLEX a 175 - 14799 lymfocytů/μl u cytometru Sysmex XF-1600™. V tabulkách 8 až 10 jsou uvedeny rozsahy koncentrací pro jednotlivé subpopulace buněk, ve kterých bylo jejich početní zastoupení v linearitě.

Tabulka 8 Lineární rozsahy subpopulací lymfocytů analyzované pomocí BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II	
Subpopulace lymfocytů	Rozsah (buněk/μl)
CD3+	79 - 6427
CD3+CD8+	16 - 1271
CD3+CD4+	57 - 4749
CD3-CD16+CD56+	15 - 1198
CD3-CD19+	8 - 722

Tabulka 9 Lineární rozsahy subpopulací lymfocytů analyzované pomocí Beckman Coulter DxFLEX

Beckman Coulter DxFLEX	
Subpopulace lymfocytů	Rozsah (buněk/μl)
CD3+	79 - 6251
CD3+CD8+	16 - 1274
CD3+CD4+	57 - 4583
CD3-CD16+CD56+	15 - 1276
CD3-CD19+	8 - 704

Tabulka 10 Lineární rozsahy subpopulací lymfocytů analyzované pomocí Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™	
Subpopulace lymfocytů	Rozsah (buněk/μl)
CD3+	128 – 10391
CD3+CD8+	53 - 4117
CD3+CD4+	67 - 5421
CD3-CD16+CD56+	32 - 2681
CD3-CD19+	14 - 1090

Limit detekce / Limit kvantifikace / Cut-off test

Data z linearity byla použita ke stanovení limitu detekce (LOD) a limitu kvantifikace (LOQ).

Limit detekce byl stanoven jako nejnižší nenulová absolutní hodnota počtu buněk plus $3 \times SD$ (standardní odchylka) pro každou podskupinu lymfocytů (viz tabulky 11 – 13).

Limit kvantifikace byl uveden jako nejnižší hodnota v rozsahu linearity koncentrací analytu prezentovaný jako absolutní počet subpopulace lymfocytů, při kterém CV z hexaplikátů nepřesáhlo 10 % a výtěžnost byla v rozmezí 90 % - 110 % (viz tabulky 11 – 13).

Výsledky testu nejsou vázané na jednoznačnou diagnózu, proto nelze odhadnout Cut-off.

Tabulka 11 Limity detekce a kvantifikace na cytometru BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II				
Subpopulace lymfocytů	Nejnižší nenulový počet buněk (buněk/μl)	$3 \times SD$ (SD)	LOD (buněk/μl)	LOQ (buněk/μl)
CD3+	1	0,6 (0,2)	1,6	3
CD3+CD8+	1	0,6 (0,2)	1,6	2
CD3+CD4+	1	0,6 (0,2)	1,6	2
CD3-CD16+CD56+	2	0,9 (0,3)	2,9	5
CD3-CD19+	1	0,3 (0,1)	1,3	8

Tabulka 12 Limity detekce a kvantifikace na cytometru Beckman Coulter DxFLEX

Beckman Coulter DxFLEX				
Subpopulace lymfocytů	Nejnižší nenulový počet buněk (buněk/μl)	3×SD (SD)	LOD (buněk/μl)	LOQ (buněk/μl)
CD3+	1	0,3 (0,1)	1,3	3
CD3+CD8+	1	0,3 (0,1)	1,3	2
CD3+CD4+	1	0,6 (0,2)	1,6	2
CD3-CD16+CD56+	1	0,3 (0,1)	1,3	2
CD3-CD19+	1	0,6 (0,2)	1,6	8

Tabulka 13 Limity detekce a kvantifikace na cytometru Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™				
Subpopulace lymfocytů	Nejnižší nenulový počet buněk (buněk/μl)	3×SD (SD)	LOD (buněk/μl)	LOQ (buněk/μl)
CD3+	2	0,3 (0,1)	2,3	2
CD3+CD8+	1	0,6 (0,2)	1,6	2
CD3+CD4+	1	0,6 (0,2)	1,6	8
CD3-CD16+CD56+	1	0,6 (0,2)	1,6	11
CD3-CD19+	1	0,3 (0,1)	1,3	14

Opakovatelnost

Opakovatelnost prostředku byla naměřena na deseti vzorcích krve v hexaplikátech. Vzorky byly analyzovány na průtokových cytometrech BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEX a Sysmex XF-1600™. Variační koeficienty (CV) jsou uvedeny v tabulkách níže (Tabulka 14 - 16).

Tabulka 14 Opakovatelnost prostředku na průtokovém cytometru BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II					
Subpopulace lymfocytů	Jednotky	n	Průměr	SD	% CV
CD3+	%	10	72,15	0,27	0,38
	buněk/μl	10	1454	4,9	
CD3+CD8+	%	10	21,05	0,24	1,18
	buněk/μl	10	434	4,8	
CD3+CD4+	%	10	46,68	0,28	0,61
	buněk/μl	10	932	5,1	
CD3-CD16+CD56+	%	10	15,38	0,19	1,28
	buněk/μl	10	294	3,6	
CD3-CD19+	%	10	11,45	0,15	1,34
	buněk/μl	10	217	2,7	

n = počet krevních vzorků

Tabulka 15 Opakovatelnost prostředku na průtokovém cytometru Beckman Coulter DxFLEX

Beckman Coulter DxFLEX					
Subpopulace lymfocytů	Jednotky	n	Průměr	SD	% CV
CD3+	%	10	70,90	0,34	0,48
	buněk/μl	10	1429	6,3	
CD3+CD8+	%	10	20,33	0,33	1,33
	buněk/μl	10	418	5,3	
CD3+CD4+	%	10	45,60	0,27	0,72
	buněk/μl	10	911	6,3	
CD3-CD16+CD56+	%	10	16,13	0,25	1,61
	buněk/μl	10	308	5,0	
CD3-CD19+	%	10	11,24	0,18	1,69
	buněk/μl	10	213	3,3	

n = počet krevních vzorků

Tabulka 16 Opakovatelnost prostředku na průtokovém cytometru Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™					
Subpopulace lymfocytů	Jednotky	n	Průměr	SD	% CV
CD3+	%	10	65,29	1,23	2,22
	buněk/μl	10	1090	20,6	
CD3+CD8+	%	10	22,34	0,41	2,30
	buněk/μl	10	377	6,90	
CD3+CD4+	%	10	38,12	0,98	2,77
	buněk/μl	10	633	16,30	
CD3-CD16+CD56+	%	10	20,92	0,78	3,12
	buněk/μl	10	354	13,10	
CD3-CD19+	%	10	11,96	0,44	3,81
	buněk/μl	10	193	7,10	

n = počet krevních vzorků

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost prostředku na cytometrech BD FACSCanto™ II a Beckman Coulter DxFLEX byla měřena na 2 stabilizovaných vzorcích krve (CD Chex Plus® a CD-Chex Plus® CD4 Low od STRECK). Reprodukovatelnost prostředku na cytometru Sysmex XF-1600™ byla měřena na 4 stabilizovaných vzorcích krve (CD Chex Plus® a CD-Chex Plus® CD4 Low a IMMUNO-TROL Low Cells a IMMUNO-TROL Cells od Beckman Coulter. Vzorky byly měřeny při stejných podmínkách po dobu 15 dnů za použití 3 šarží prostředku (každá šarže 5 dní). Variační koeficienty (CV) jsou uvedeny v tabulkách níže (Tabulka 17 - 19).

Tabulka 17 Reprodukovatelnost prostředku na průtokovém cytometru
BD FACSCanto™ II

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

Tabulka 18 Reprodukovatelnost prostředku na průtokovém cytometru Beckman Coulter DxFLEx

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

Tabulka 19 Reprodukovatelnost prostředku na průtokovém cytometru Sysmex XF-1600™

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

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

Pro analýzu průtokovou cytometrií byly použity následující průtokové cytometry včetně verze softwaru:

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

Pro absolutní počty buněk byl použit dvouplatformový hematologický analyzátor s následujícími specifikacemi:

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

Pro vyhodnocení naměřených dat byla použita následující analytická platforma:

FlowJo™ (Becton, Dickinson and Company) - verze 10.9.0

12. Vlastnosti klinické funkce

Pacienti s podezřením na patologické stavy imunitního systému

Klinická data byla shromážděna pro 46 pacientů s podezřením na patologické stavy imunitního systému. Klinická funkce prostředku ED7736 byla stanovena srovnáním prostředku ED7736 s akreditovanou klinickou laboratorní metodou (AQUIOS CL Flow Cytometry System - Beckman Coulter, Inc.).

Výsledky posouzení imunitního stavu pacienta byly hodnoceny s ohledem na přítomnost imunodeficiency (tabulka 20).

Tabulka 20 Klinická funkce prostředku DryFlowEx TBNK 6-color

		Imunitní stav pacienta stanoven akreditovanou klinickou laboratorní metodou	
		Patologické stavy imunitního systému	Normální stav
Imunitní stav pacienta stanoven prostředkem DryFlowEx TBNK 6-color	Patologické stavy imunitního systému	9 pacientů	0 pacientů
	Normální stav	0 pacientů	37 pacientů

13. Očekávané hodnoty

Referenční interval

Tabulka 21 Referenční intervaly zdravých dárců krve měřené na BD FACSCanto™ II

Subpopulace lymfocytů	n	Jednotky	Rozsah		Medián
			Min	Max	
CD3+	92	%	53,2	84,4	73,2
	92	buněk/μl	731	2550	1298
CD3+CD8+	92	%	6,9	38,3	23,0
	92	buněk/μl	126	1138	427
CD3+CD4+	92	%	27,6	63,3	43,6
	92	buněk/μl	455	1751	774
CD3-CD16+CD56+	92	%	5,3	33,5	13,7
	92	buněk/μl	101	692	255
CD3-CD19+	92	%	3,1	21,2	10,7
	92	buněk/μl	56	412	200

n = počet krevních vzorků

Referenční intervaly uvedené v tabulce 21 byly stanoveny na zdravých pacientech, kteří byli podle legislativy ČR považováni za dárce krve splněním přísných kritérií pro dárce krve pro krevní banku. Data byla měřena na průtokovém cytometru BD FACSCanto™ II.

Konkrétní referenční rozmezí se může lišit v závislosti na regionu a populaci, na které byly hodnoty stanoveny. Z tohoto důvodu musí laboratoře stanovit vlastní normální referenční rozmezí pro podskupiny lymfocytů identifikované pomocí DryFlowEx TBNK 6-color z místní populace normálních dárců z důvodu rozdílů hodnot souvisejících s věkem, pohlavím, klinickými charakteristikami a etnickou příslušností.

14. Omezení

Prostředek DryFlowEx 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.

Prostředek DryFlowEx TBNK 6-color není určen ke screeningu a/nebo fenotypizaci leukemických a lymfomatičtých vzorků.

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

15. 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) Bernard, A et al. *Leucocyte Typing*. Springer, 1984.
- 3) Boldt, A et al. Eight-color immunophenotyping of T-, B-, and NK-cell subpopulations for characterization of chronic immunodeficiencies. *Cytometry B Clin Cytom* 2014 May;86(3):191-206. doi:10.1002/cyto.b.21162.
- 4) de Saint Basile, G et al. Severe combined immunodeficiency caused by deficiency in either the delta or the epsilon subunit of CD3. *J Clin Invest*. 2004 Nov;114(10):1512-7. doi: 10.1172/JCI22588.
- 5) Giorgi, J V. Characterization of T lymphocyte subset alterations by flow cytometry in HIV disease. *Ann N Y Acad Sci*. 1993 Mar 20;677:417-9. doi: 10.1111/j.1749-6632.1993.tb38803.x.
- 6) Iwatani, Y et al. Decreases in alpha beta T cell receptor negative T cells and CD8 cells, and an increase in CD4+ CD8+ cells in active Hashimoto's disease and subacute thyroiditis. *Clin Exp Immunol*. 1992 Mar;87(3):444-9. doi: 10.1111/j.1365-2249.1992.tb03017.x.
- 7) Kishimoto, T et al. *Leucocyte Typing VI*. Garland Publishing, 1997.
- 8) Kucuksezer, U C et al. The Role of Natural Killer Cells in Autoimmune Diseases. *Front Immunol*. 2021 Feb 25;12:622306. doi:

10.3389/fimmu.2021.622306.

- 9) Li, Y et al. AIDS prevention and control in the Yunnan region by T cell subset assessment. *PLoS One*. 2019 Apr 18;14(4):e0214800. doi: 10.1371/journal.pone.0214800.
- 10) Mason, D et al, eds.: *Leucocyte Typing VII: White Cell Differentiation Antigens: Proceedings of the Seventh International Workshop and Conference Held in Harrogate, United Kingdom*: Oxford University Press; 2002.
- 11) McCarty, B et al. Low Peripheral T Follicular Helper Cells in Perinatally HIV-Infected Children Correlate With Advancing HIV Disease. *Front Immunol*. 2018 Aug 24;9:1901. doi: 10.3389/fimmu.2018.01901.
- 12) McMichael AJ, ed. *Leucocyte Typing III: 54 White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1987.
- 13) Monafu, W J et al. A hereditary immunodeficiency characterized by CD8+ T lymphocyte deficiency and impaired lymphocyte activation. *Clin Exp Immunol*. 1992 Dec;90(3):390-3. doi: 10.1111/j.1365-2249.1992.tb05856.x.
- 14) North, M E et al. Primary defect in CD8+ lymphocytes in the antibody deficiency disease (common variable immunodeficiency): abnormalities in intracellular production of interferon-gamma (IFN-gamma) in CD28+ ('cytotoxic') and CD28- ('suppressor') CD8+ subsets. *Clin Exp Immunol*. 1998 Jan;111(1):70-5. doi: 10.1046/j.1365-2249.1998.00479.x.
- 15) Orange, J S. Natural killer cell deficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Sep;132(3):515-525. doi: 10.1016/j.jaci.2013.07.020.
- 16) Orange, J S. How I Manage Natural Killer Cell Deficiency. *J Clin Immunol*. 2020 Jan;40(1):13-23. doi: 10.1007/s10875-019-00711-7.
- 17) Picat, M Q et al. T-cell activation discriminates subclasses of symptomatic primary humoral immunodeficiency diseases in adults. *BMC Immunol*. 2014 Mar 12;15:13. doi: 10.1186/1471-2172-15-13.
- 18) Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, et al, eds.: *Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1995.
- 19) van Dongen, J J M et al. EuroFlow-Based Flowcytometric Diagnostic Screening and Classification of Primary Immunodeficiencies of the Lymphoid System. *Front Immunol*. 2019 Jun 13;10:1271. doi: 10.3389/fimmu.2019.01271.
- 20) Tate J, Ward G. Interferences in immunoassay. *Clin Biochem Rev*. 2004 May;25(2):105-20. PMID: 18458713; PMCID: PMC1904417.
- 21) Selby C. Interference in immunoassay. *Ann Clin Biochem*. 1999 Nov; 36 (Pt 6):704-21. doi: 10.1177/000456329903600603. PMID: 10586307.
- 22) Kricka LJ. Human anti-animal antibody interferences in immunological assays. *Clin Chem*. 1999 Jul;45(7):942-56. Erratum in: *Clin Chem* 2000

Oct;46(10):1722. PMID: 10388468.

- 23) Higgins J, Hill V, Lau K, Simpson V, Roayaei J, Klabansky R, Stevens RA, Metcalf JA, Baseler M. Evaluation of a single-platform technology for lymphocyte immunophenotyping. *Clin Vaccine Immunol*. 2007 Oct;14(10):1342-8. doi: 10.1128/CVI.00168-07. Epub 2007 Aug 29. PMID: 17761524; PMCID: PMC2168127.
- 24) Htun NM, Chen YC, Lim B, et al. Near-infrared autofluorescence induced by intraplaque hemorrhage and heme degradation as marker for high-risk atherosclerotic plaques. *Nat Commun*. 2017;8(1):75. Published 2017 Jul 13. doi:10.1038/s41467-017-00138-x
- 25) de Jonge G, Dos Santos TL, Cruz BR, Simionatto M, Bittencourt JIM, Krum EA, Moss MF, Borato DCK. Interference of in vitro hemolysis complete blood count. *J Clin Lab Anal*. 2018 Jun;32(5):e22396. doi: 10.1002/jcla.22396. Epub 2018 Feb 3. PMID: 29396875; PMCID: PMC6817011.
- 26) Haga Y, Kay HD, Tempero MA, Zetterman RK. Flow cytometric measurement of intracellular bilirubin in human peripheral blood mononuclear cells exposed to unconjugated bilirubin. *Clin Biochem*. 1992 Aug;25(4):277-83. doi: 10.1016/0009-9120(92)80033-d. PMID: 1381998.
- 27) Lam WK, Law YFW, Yip SF. Resolution of platelet count interference due to cytoplasmic fragments of leukaemic cells by flow cytometry in acute myeloid leukaemia. *Int J Lab Hematol*. 2022 Dec;44(6):983-985. doi: 10.1111/ijlh.13859. Epub 2022 May 3. PMID: 35504732.
- 28) Hervé 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](https://doi.org/10.1016/0022-1759(96)00148-2).
- 29) Bartels EM, Falbe Wätjen I, Littrup Andersen E, Danneskiold-Samsøe B, Bliddal H, Ribel-Madsen S. Rheumatoid factor and its interference with cytokine measurements: problems and solutions. *Arthritis*. 2011;2011:741071. doi: 10.1155/2011/741071. Epub 2011 Jun 22. PMID: 22046523; PMCID: PMC3200114.
- 30) XUE Yan, XU Li, DANG Liheng, WANG Chao, CUI Yaqiong, WANG Ping, WANG Ning, ZHANG Xinjie, LIU Yang. Interference of high levels of bilirubin on lymphocyte subset determination in peripheral blood by flow cytometry and its elimination methods[J]. *Laboratory Medicine*, 2022, 37(12): 1169-1173
- 31) van Ierssel SH, Hoymans VY, Van Craenenbroeck EM, Van Tendeloo VF, Vrints CJ, et al. (2012) Endothelial Microparticles (EMP) for the Assessment of Endothelial Function: An In Vitro and In Vivo Study on Possible Interference of Plasma Lipids. *PLOS ONE* 7(2): e31496.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031496>

- 32) Yasmine Van Caeneghem, Stijn De Munter, Paola Tieppo, Glenn Goetgeluk, Karin Weening, Greet Verstichel, Sarah Bonte, Tom Taghon, Georges Leclercq, Tessa Kerre, Reno Debets, David Vermijlen, Hinrich Abken & Bart Vandekerckhove (2017) Antigen receptor-redirected T cells derived from hematopoietic precursor cells lack expression of the endogenous TCR/CD3 receptor and exhibit specific antitumor capacities, *Oncol Immunology*, 6:3, DOI: 10.1080/2162402X.2017.1283460
- 33) Lamia Achour, Mark G. H. Scott, Hamasseh Shirvani, Alain Thuret, Georges Bismuth, Catherine Labbé-Jullié, Stefano Marullo; CD4-CCR5 interaction in intracellular compartments contributes to receptor expression at the cell surface. *Blood* 2009; 113 (9): 1938–1947. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2008-02-141275>
- 34) A. Stronkhorst, G. N. J. Tytgat & S. J. H. Van Deventer (1992) CD4 Antibody Treatment in Crohn's Disease, *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 27:sup194, 61-65, DOI: 10.3109/00365529209096029
- 35) Zinzani, P.L., Minotti, G. Anti-CD19 monoclonal antibodies for the treatment of relapsed or refractory B-cell malignancies: a narrative review with focus on diffuse large B-cell lymphoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 148, 177–190 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00432-021-03833-x>
- 36) Whiteman KR, Johnson HA, Mayo MF, Audette CA, Carrigan CN, LaBelle A, Zukerberg L, Lambert JM, Lutz RJ. Lorvotuzumab mertansine, a CD56-targeting antibody-drug conjugate with potent antitumor activity against small cell lung cancer in human xenograft models. *MAbs*. 2014 Mar-Apr;6(2):556-66. doi: 10.4161/mabs.27756. Epub 2014 Jan 8. PMID: 24492307; PMCID: PMC3984343.
- 37) J Frengen, B Kierulf, R Schmid, T Lindmo, K Nustad, Demonstration and minimization of serum interference in flow cytometric two-site immunoassays, *Clinical Chemistry*, Volume 40, Issue 3, 1 March 1994, Pages 420–425, <https://doi.org/10.1093/clinchem/40.3.420>

16. Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti bude k dispozici v databázi Eudamed na adrese <https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home>. Do té doby je souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti k dispozici na vyžádání.

17. Použití ochranných známek třetích stran

BD FACSCanto™ II, BD FACSLytic™, 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. CyLyse™ FX, Sysmex XN-1000™ a Sysmex XF-1600™ jsou registrované ochranné známky firmy Sysmex Corporation. VenturiOne® je registrovaná ochranná známka firmy Applied Cytometry. Infinicyt™ je registrovaná ochranná známka firmy Cytognos S.L..

18. Historie revizí

Verze 5, ED7736_IFU_v5

Přesnější popis v kapitole 13. Očekávané hodnoty - Referenční interval.

19. 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

20. Zplnomocněný zástupce

N/A

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