KOMBITEST TBNK 6-color

50 Tests | Kat. Nr. **ED7733**

IVD CE

Gebrauchsanweisung (DE)

Version: ED7733_IFU_v2_DE

Ausgabedatum: 13-02-2024

In der Gerätekennzeichnung verwendete Symbole

IVD	Medizinisches Produkt für die In-vitro-Diagnose		Temperaturgrenze
CE	CE-Kennzeichnung		Von Sonneneinstrahlung fernhalten
	Hersteller	UK CA	UKCA-Zeichen
UDI	Eindeutige Gerätekennung	CH REP	Gibt den autorisierten Vertreter in der Schweiz an
	Gebrauchsanweisung beachten		
Σ	Ausreichend für <n> Tests		
REF	Katalognummer		
LOT	Chargencode		
	Verfallsdatum		

1. Verwendungszweck

KOMBITEST TBNK 6-color ist für den Nachweis und die Zählung von Lymphozytenpopulationen und -untergruppen in menschlichem Vollblut mittels Durchflusszytometrie vorgesehen.

Was wird nachgewiesen und/oder gemessen?

Das Produkt KOMBITEST TBNK 6-color erkennt und misst den relativen Anteil und die absolute Anzahl menschlicher T-Zellen (CD3+), B-Zellen (CD3-CD19+), NK-Zellen (CD3-CD16+56+), Helfer- (CD3+CD4+) und Suppressor-/Zytotoxische- (CD3+CD8+) T-Zell-Untergruppen.

Funktion des Produkts

Das Produkt ist für die immunologische Beurteilung unauffälliger Patienten bestimmt und könnte bei der Diagnose einer Immunschwäche oder beim Verdacht auf eine Immunschwäche helfen.

Kontext eines physiologischen oder pathologischen Zustands

Die mit dem Produkt gemessenen Häufigkeiten der Lymphozytenpopulationen können durch verschiedene pathologische Zustände beeinflusst werden, und die Auswertung ihrer Anteile und Zählungen kann zur Beurteilung von Folgendem verwendet werden:

- Fortschreiten einer Infektion mit dem Humanen Immundefizienz-Virus (HIV) [1, 4, 7, 9]
- erbliche Immundefekte [2, 3, 4, 11, 12, 15, 17]
- Autoimmunkrankheiten [5, 6]
- Defekte in der angeborenen Immunabwehr [13, 14]

Art des Tests

Nicht automatisiert

Quantitativ

Art der benötigten Probe

Antikoagulierte periphere Vollblutprobe vom Menschen

Testpopulation

Nicht für eine bestimmte Population bestimmt.

2. Vorgesehener Benutzer

Das Gerät ist nur für den professionellen Einsatz im Labor bestimmt. Nicht für patientennahe Tests oder Selbsttests geeignet.

Anforderungen an die Qualifikation

Der vorgesehene Benutzer muss über aktuelle Fachkenntnisse in der Durchflusszytometrie-Analyse menschlicher Zellen, standardmäßige Labortechniken, einschließlich Pipettieren, sowie den sicheren und korrekten Umgang mit Proben aus dem menschlichen Körper verfügen.

Der vorgesehene Benutzer muss die Norm EN ISO 15189 oder ggf. andere nationale Normen einhalten.

3. Testprinzip

Das Testprinzip beruht auf dem Nachweis der Bindung eines monoklonalen Antikörpers an ein spezifisches Molekül (Antigen), das von bestimmten menschlichen Blutzellen exprimiert wird. Die in dem Test verwendeten monoklonalen Antikörper sind mit verschiedenen Fluorochromen markiert, die durch einen Laserstrahl eines Durchflusszytometers während der Erfassung einer mit Antikörpern gefärbten Blutprobe angeregt werden. Die anschließend erzeugte Fluoreszenz (Lichtemission) der einzelnen Fluorochrome auf einer aufgenommenen Blutzelle wird von dem Gerät erfasst und analysiert. Die Stärke der Fluoreszenz ist direkt proportional zur Dichte der Antigenexpression in einer Zelle und ermöglicht die Trennung verschiedener Zelluntergruppen.

4. Bereitgestellte Reagenzien

Inhalt

KOMBITEST TBNK 6-color reicht für 50 Tests und wird mit dem folgenden Reagenz geliefert:

1 Fläschchen (1 ml) mit einer vorgemischten Kombination von mit Fluorochromen markierten monoklonalen Antikörpern CD3 FITC / CD16 PE + CD56 PE / CD45 PerCP-Cy™5.5 / CD4 PE-Cy™7 / CD19 APC / CD8 APC-Cy™7, die bei optimaler Konzentration in einer stabilisierenden phosphatgepufferten Kochsalzlösung (PBS) mit 15 mM Natriumazid verdünnt wurden.

Zusammensetzung

Tabelle 1 Beschreibung der aktiven Komponenten

Antigen	Fluorochrom	Klon	Isotyp	Konzentration (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. Erforderliche, aber nicht bereitgestellte Materialien

Einmal-Teströhrchen mit 12 × 75 mm und Rundboden

Erythrozytenlyselösung (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., Kat.- Nr. ED7066 oder CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, Kat.- Nr. BD303500)

Deionisiertes Wasser (Reagenzienqualität)

Prozesskontrollzellen (Streck CD-Chex Plus®, Kat.- Nr. 213323 oder gleichwertige lysierbare Zellkontrolle)

6. Erforderliche Ausrüstung

Automatische Pipette mit Einwegspitzen (20–100 µl) zum Pipettieren der Proben und Reagenzien

Flüssigkeitsspender oder Pipette mit Einwegspitzen (0.5–2 ml) für die Abgabe der Erythrozytenlyselösung

Vortex-Mixer

Hämatologie-Analysegerät (für absolute Zellzahlen), das die Anzahl der weißen Blutkörperchen (WBC) und der Lymphozyten pro µl der Probe bestimmen kann

Durchflusszytometer mit 2 Laseranregungsquellen (488 nm und ca. 635 nm), Detektoren für Streulicht, optische Filter und Emissionsdetektoren, die für die Erfassung der Signale der in Tabelle 2 aufgeführten Fluorochrome ausgelegt sind.

Tabelle 2 Spektrumscharakteristik der in dem Gerät verwendeten Fluorochrome

Fluorochrom	Anregung [nm]	Emission [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

HINWEIS: Das Gerät wurde auf den Durchflusszytometern BD FACSCanto™ II (BD Biosciences), DxFLEX (Beckman Coulter) und Sysmex XF-1600™ (Sysmex Corporation) getestet.

7. Lagerung und Handhabung

Bei 2–8 °C aufbewahren.

Längere Lichteinwirkung vermeiden.

Nicht einfrieren.

Informationen zur Stabilität beim Gebrauch und zur Haltbarkeit nach dem ersten Öffnen sowie zu den Lagerungsbedingungen und der Stabilität von Arbeitslösungen (falls zutreffend) sind in Abschnitt 10 „Vorgehensweise (Reagenzienvorbereitung)“ zu finden.

8. Warnhinweise, Vorsichtsmaßnahmen und Einschränkungen bei der Anwendung

GHS-Gefahrenklassifizierung

Beachten Sie das Sicherheitsdatenblatt (Safety Data Sheet/SDS) auf der Produktseite auf www.exbio.cz. Dort finden Sie alle Informationen zu den Risiken, die von den im Produkt enthaltenen chemischen Stoffen und Gemischen ausgehen, und dazu, wie diese gehandhabt und entsorgt werden sollten.

Biologisches Risiko

Menschliche biologische Proben und Blutproben sowie alle damit in Kontakt kommenden Materialien werden immer als infektiöses Material betrachtet.

Verwenden Sie eine persönliche Schutz- und Sicherheitsausrüstung, um den Kontakt mit Haut, Augen und Schleimhäuten zu vermeiden.

Befolgen Sie alle geltenden Gesetze, Vorschriften und Verfahren für den Umgang mit und die Entsorgung von infektiösem Material.

Anzeichen von Verfall

Das mitgelieferte Reagenz ist normalerweise eine klare Flüssigkeit. Verwenden Sie das Reagenz nicht, falls Sie eine Veränderung des Aussehens beobachten, z. B. Trübungen oder Anzeichen von Ausfällungen.

Beschränkung der Verwendung

Das Produkt darf nicht nach dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum verwendet werden.

9. Probe

Verwenden Sie venöses peripheres Blut, das in einem als medizinisches Produkt klassifizierten Probengefäß mit dem Antikoagulans EDTA entnommen wurde.

> **HINWEIS:** Bestimmen Sie die absolute Anzahl der weißen Blutkörperchen und die Anzahl der Lymphozyten in der entnommenen Blutprobe mit einem Hämatologie-Analysegerät. Mit dem Produkt KOMBITEST TBNK 6-color allein ist keine Zählung der absoluten Zellzahlen möglich.

Blutproben mit einer Anzahl an weißen Blutkörperchen von mehr als 40×10^3 Zellen/µl müssen vor der Probenverarbeitung mit PBS verdünnt werden.

Verarbeiten Sie die Blutprobe spätestens 24 Stunden nach der Entnahme. Die Probe bei Labortemperatur (20 – 25 °C) lagern. Die Probe nicht im Kühlschrank aufbewahren.

Endogene Interferenz

Basierend auf wissenschaftlicher Literaturrecherche werden endogene Störquellen in Tabelle 3 identifiziert.

Tabelle 3 Endogene Interferenz des Geräts

Endogene Interferenz	Auswirkungen	Referenz
Albumin	In hohen Konzentrationen kann Albumin aufgrund seiner Fähigkeit, große Mengen an Liganden zu binden und freizusetzen, störend sein.	18, 19, 35
Bilirubin (Ikterus) (unkonjugiert)	Bilirubin kann aufgrund seiner hohen Autofluoreszenz den Fluoreszenzhintergrund von Zellen erhöhen.	22, 24, 28
Zelltrümmer (nach der Lyse)	Zelltrümmer können zu ungenauen Zellzahlen führen und die Antikörper im Gerät schwächen.	21, 25
Erythrozyten	Bei unzureichender Lyse können in der Probe vorhandene rote Blutkörperchen zu	26

	einer fehlerhaften Zellzählung führen.	
Hämoglobin	Hämolysierte Proben können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.	23
Humane Anti-Maus-Antikörper	Die Behandlung mit monoklonalen Antikörpern kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen (Fähigkeit zur Bindung an Zelloberflächenantigene).	20, 30, 31, 32, 33, 34
Immunglobuline	Können nicht mit der Einzelplattformmethode gewaschen werden und zu einer fehlerhaften Anzahl von Lymphozytenuntergruppen führen.	21
Rheumafaktoren	Das Vorhandensein von RF beeinträchtigt MIA (Multiplex-Immunoassays).	27
Triglyceride	Hohe zirkulierende Lipidspiegel können die durchflusszytometrische Analyse bestimmter Blutzellpopulationen beeinträchtigen.	29

Exogene Interferenz

Proben, die älter als 24 Stunden sind, können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

Gekühlte Proben können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

Die unsachgemäße Zubereitung der Erythrozyten-Lyselösung (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., Kat.- Nr. ED7066 oder CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, Kat.-Nr. BD303500) kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Befolgen Sie die Anweisungen des Herstellers zur Verwendung der Erythrozyten-Lyselösung.

10. Vorgehensweise

Vorbereitung der mitgelieferten Reagenzien

Es ist keine Vorbereitung der Reagenzien erforderlich.

Bringen Sie das Reagenz vor der Verwendung auf Raumtemperatur. Halten Sie den Primärbehälter des Produkts trocken.

Verwenden Sie das Reagenz direkt aus seinem ursprünglichen Primärbehälter. Die Zeit, in der das Reagenz verwendet wird (Licht und erhöhter Temperatur ausgesetzt), darf 4 Stunden pro Tag nicht überschreiten.

Nach dem ersten Öffnen behält das Reagenz seine Eigenschaften bis zum Verfallsdatum, wenn es unter den angegebenen Bedingungen in seinem ursprünglichen Primärbehälter gelagert wird.

VORSICHT: Das Reagenz darf nicht verdünnt werden.

Vorbereitung der erforderlichen, aber nicht bereitgestellten Materialien

Verdünnen Sie die konzentrierte Erythrozytenlyselösung mit deionisiertem Wasser gemäß den Anweisungen des Herstellers. Die verdünnte (1X) Erythrozytenlyselösung ist 1 Monat lang haltbar, wenn sie in einem Flüssigkeitsspender oder einem geschlossenen Behälter bei Raumtemperatur aufbewahrt wird.

Qualitätskontrolle

Verwenden Sie Streck CD-Chex Plus® oder gleichwertige Kontrollzellen als positive Verfahrenskontrolle, um die ordnungsgemäße Leistung des Produkts sicherzustellen. Streck CD-Chex Plus® liefert festgelegte Werte für die prozentuale positive und absolute Anzahl von T-Zellen, B-Zellen, Granulozyten, Monozyten und NK-Zellen, einschließlich zweier klinisch relevanter Werte für CD4+-Zellen.

Färben Sie die Kontrollzellen mit dem Reagenz von KOMBITEST TBNK 6-color entsprechend der in der Gebrauchsanweisung angegebenen Probenverarbeitung. Achten Sie darauf, dass die erzielten Ergebnisse (% positive Zellen) innerhalb des für die verwendete Charge von Kontrollzellen angegebenen Erwartungsbereichs liegen.

Färbung der Proben

1. Kennzeichnen Sie für jede Probe ein 12 × 75 mm großes Teströhrchen mit Rundboden mit der entsprechenden Probenbezeichnung.
2. Pipettieren Sie 20 µl des Reagenzes von KOMBITEST TBNK 6-color in den Boden des Röhrchens mit 12 × 75 mm.
3. Pipettieren Sie 50 µl der gründlich gemischten Blutprobe auf den Boden des Röhrchens.

   VORSICHT: Pipettieren Sie das Blut nicht auf die Seiten des Teströhrchens Wenn ein Blutausstrich oder -tropfen an der Seite des Röhrchens verbleibt, wird er möglicherweise nicht mit dem Reagenz gefärbt oder die Erythrozyten werden nicht lysiert und das Testergebnis ist unter Umständen nicht gültig.
4. Vortexen Sie das Röhrchen und inkubieren Sie für 20 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln.
5. Geben Sie 500 µl der verdünnten (1X) Lyselösung in das Röhrchen.
6. Vortexen Sie das Röhrchen und inkubieren Sie für 10 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln.

Messen Sie die gefärbte Probe sofort mit dem Durchflusszytometer. Wird die gefärbte Probe nicht sofort gemessen, lagern Sie sie bei 2–8 °C im Dunkeln und analysieren Sie sie innerhalb von 24 Stunden.

VORSICHT: Vortexen Sie die gefärbte Probe unmittelbar vor der Messung auf dem Durchflusszytometer, um Ansammlungen zu vermeiden.

Durchflusszytometrie-Analyse

Das für die Verwendung mit dem KOMBITEST TBNK 6-color ausgewählte Durchflusszytometer muss routinemäßig mit fluoreszierenden Mikrokügelchen kalibriert werden, um eine stabile Empfindlichkeit der Detektoren gemäß den Anweisungen des Herstellers des Zytometers sicherzustellen.

Bei unsachgemäßer Wartung kann das Durchflusszytometer falsche Ergebnisse liefern.

Beachten Sie die Herstellerangaben des Zytometers für Laser und Fluoreszenzdetektoren entsprechend den Anregungs- und Emissionscharakteristiken der Fluorochrome in Abschnitt 6 „Erforderliche Ausrüstung“.

Stellen Sie vor der Analyse der gefärbten Proben die Spannungen an den entsprechenden Fluoreszenzdetektoren ein. Die Spannung am PMT-Detektor sollte ausreichend hoch eingestellt sein, damit möglichst wenige negativ gefärbte Ereignisse den 0. Kanal auf der Fluoreszenzachse stören. Außerdem sollte die Spannung des PMT-Detektors nicht die Werte überschreiten, bei denen positive Ereignisse auf die rechte Achse gedrückt werden.

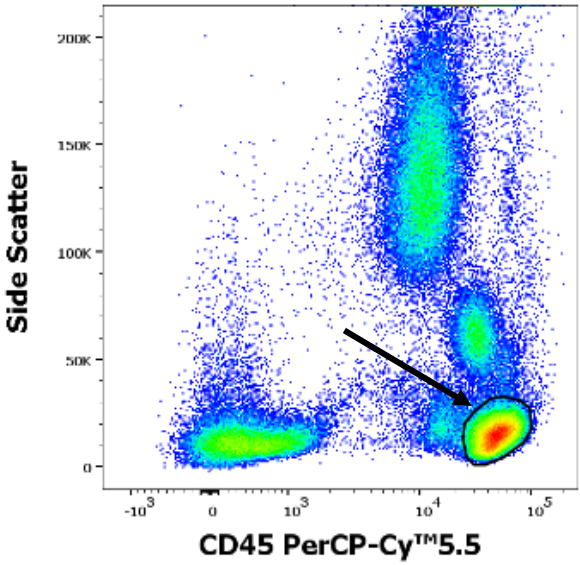
Kompensieren Sie Fluoreszenzsignale zwischen den Detektoren vor oder nach der Datenerfassung. Die Daten können falsch interpretiert werden, wenn die Fluoreszenzsignale nicht richtig kompensiert oder die Gates nicht richtig positioniert sind.

Zur Analyse der Messdaten können die vom Hersteller entwickelte Zytometer-Software oder eine spezielle Software für die Offline-Analyse von Zytometriedaten verwendet werden (z. B. FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

Datenanalyse der mit KOMBITEST TBNK 6-color gefärbten Probe

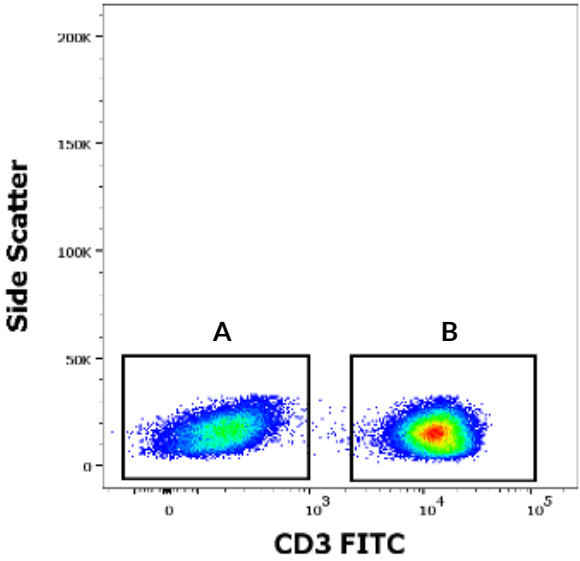
Lassen Sie sich Seitwärtsstreulicht (SSC) gegen CD45 PerCP-Cy™5.5 der kompensierten Daten anzeigen. Setzen Sie das Gate für die CD45+-Lymphozytenpopulation wie in Abbildung 1 gezeigt.

Abbildung 1 Abgrenzung der CD45+-Lymphozytenpopulation (Daten erfasst mit BD FACSCanto™ II)



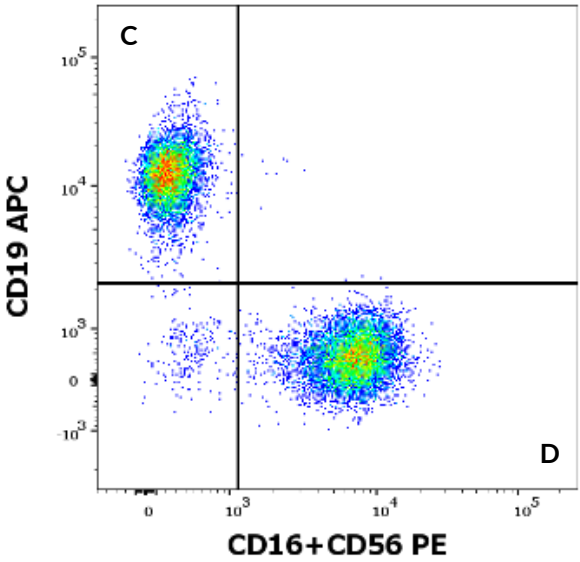
Stellen Sie die löschen CD45+-Lymphozyten als Seitwärtsstreulicht (SSC) gegen CD3 FITC dar, wie in Abbildung 2 dargestellt. Trennen Sie CD3+- und CD3- Lymphozyten mithilfe entsprechender Gates. Berechnen Sie den Prozentsatz der T-Zellen (CD3+; Region B in Abbildung 2) aus allen Lymphozyten.

Abbildung 2 Trennung von CD3+- und CD3- -Lymphozyten (Daten erfasst mit BD FACSCanto™ II)



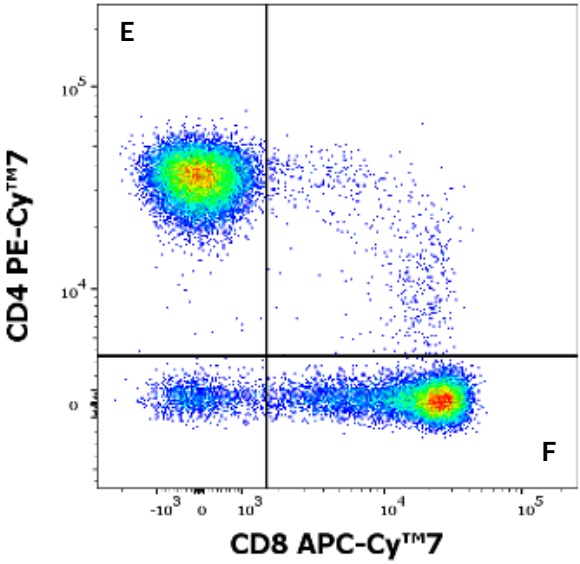
Stellen Sie die löschen CD3- -Lymphozyten (Region A in Abbildung 2) als CD19 APC gegenüber CD16+CD56 PE dar, wie in Abbildung 3 gezeigt. Setzen Sie entsprechende Gates und berechnen Sie den Prozentsatz der B-Zellen (CD16-CD56-CD19+; Region C in Abbildung 3) und der natürlichen Killerzellen (NK) (CD16+CD56+CD19-; Region D in Abbildung 3) aus allen Lymphozyten.

Abbildung 3 CD3- -Lymphozyten in einem Punktdiagramm CD19 APC vs. CD16+CD56 PE (Daten erfasst mit BD FACSCanto™ II)



Stellen Sie die löschen T-Zellen (CD3+; Region B in Abbildung 2) als CD4 PE-Cy™7 gegenüber CD8 APC-Cy™7 dar, wie in Abbildung 4 gezeigt. Setzen Sie entsprechende Gates und berechnen Sie den Prozentsatz der Helfer-/Induktor-T-Zellen (CD4+CD8-; Region E in Abbildung 4) und der Suppressor-/zytotoxischen T-Zellen (CD4-CD8+; Region F in Abbildung 4) aus allen Lymphozyten.

Abbildung 4 CD3+-Lymphozyten in einem Punktdiagramm CD4 PE-Cy™7 vs. CD8 APC-Cy™7 (Daten erfasst mit BD FACSCanto™ II)



Berechnung und Interpretation von Analyseergebnissen

Verwenden Sie für absolute Werte die absolute Lymphozytenzahl, die mit einem Hämatologie-Analysegerät bestimmt wurde. Beziehen Sie sich auf die Anweisungen des Herstellers des Hämatologie-Analysegeräts. Verwenden Sie die nachstehenden Gleichungen für die absolute Zählung der gewünschten Lymphozyten-Untergruppe.

$$\mathrm{A} \times \frac{B\ (\%)}{100\ (\%)} = Absolute\ Zählung\ der\ erforderlichen\ Lymphozyten - Untergruppe$$

A = absolute Lymphozytenzahl (Daten vom Hämatologie-Analysegerät; Zellen/µl)

B = relative Prozentsätze der erforderlichen Lymphozytenuntergruppe von allen Lymphozyten (Daten vom Durchflusszytometer; %)

11. Analytische Leistung

HINWEIS: Alle analytischen Leistungsdaten wurden mit der Erythrozytenlyselösung (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., Kat.- Nr. ED7066) gemessen.

Spezifität

Der Antikörper TB3 erkennt das humane CD3-Antigen des TCR/CD3-Komplexes. Die Spezifität des Antikörpers wurde vom HCDM Council bestätigt (Workshop HLDA XI).

Der Antikörper MEM-241 erkennt das menschliche CD4-Antigen (T-Zell-Oberflächenglykoprotein CD4). Die Spezifität des Antikörpers wurde vom HCDM-Rat bestätigt (Workshop HLDA VIII).

Der Antikörper LT8 erkennt das menschliche CD8-Antigen (disulfid-verknüpftes Dimer, das als 2 CD8-Alpha-Ketten-Homodimere oder CD8-Alpha/Beta-Ketten-Heterodimere exprimiert wird). Die Spezifität des Antikörpers wurde durch HLDA-Workshops bestätigt (Workshop HLDA V [16] und Workshop HLDA VII [8]).

Der Antikörper 3G8 erkennt das humane CD16-Antigen (Fc-Gamma-Rezeptor mit niedriger Affinität für Immunglobuline vom Typ III). Die Spezifität des Antikörpers wurde durch einen HLDA-Workshop bestätigt (Workshop HLDA V [16]).

Der Antikörper LT56 erkennt die Leukozyten-Isoform des menschlichen CD56-Antigens (neurales Zelladhäsionsmolekül 1). Die Spezifität des Antikörpers wurde vom HCDM-Rat bestätigt (Workshop HLDA X).

Der Antikörper LT19 erkennt das menschliche CD4-Antigen (B-Zell-Transmembran-Glykoprotein CD19). Die Spezifität des Antikörpers wurde vom HCDM-Rat bestätigt (Workshop HLDA X).

Der Antikörper MEM-28 erkennt alle Leukozyten-Isoformen des menschlichen CD45 (Protein-Tyrosin-Phosphatase-Rezeptor Typ C). Die Spezifität des Antikörpers wurde durch einen HLDA-Workshop bestätigt (Workshop HLDA III [10]).

Genauigkeit

Die Genauigkeit der Methode wurde auf dem Durchflusszytometer BD FACSCanto™ II gemessen und als Vergleich des Geräts KOMBITEST TBNK 6-color mit einem ähnlichen, auf dem Markt erhältlichen Produkt BD Multitest™ 6-Color TBNK Reagent (Kat.-Nr. 644611) durch parallele Färbung von 30 gesunden Blutspendern bestimmt.

Auf den Durchflusszytometern Beckman Coulter DxFLEX und Sysmex XF-1600™ wurde die Genauigkeit der Methode durch den Vergleich der Ergebnisse der Analyse derselben Blutproben von 39 gesunden Blutspendern, die mit dem Gerät KOMBITEST TBNK 6-color auf den Durchflusszytometern BC DxFLEX und

BD FACSCanto™ II gefärbt wurden, bzw. auf den Durchflusszytometern Sysmex XF-1600™ und BD FACSCanto™ II, ermittelt.

Die Genauigkeit der Methode wurde durch parallele Färbung von 134 Patienten (siehe Tabelle 7) bestätigt, bei denen der Verdacht auf eine Pathologie des Immunsystems bestand. Die Parameter der linearen Regressionsanalyse sind in den Tabellen 4–7 aufgeführt.

Tabelle 4 Lineare Regressionsanalyse für Lymphozyten-Untergruppen bei gesunden Spendern (Vergleich des Produkts KOMBITEST TBNK 6-color mit dem IVD-Produkt BD Multitest™ 6-color TBNK Reagenz (Kat.- Nr. 644611))

Lymphozyten-Untergruppe	Einheit	n	Steigung	Schnittpunkt	R^2	Bereich
CD3+	%	30	1.00	–0.006	0.99	49.03–84.87
	Zellen/µl	30	0.99	5.464	1.00	608–2137
CD3+CD8+	%	30	0.98	0.003	1.00	10.43–40.17
	Zellen/µl	30	0.97	8.959	1.00	145 – 1016
CD3+CD4+	%	30	0.99	0.004	0.99	29.70–56.37
	Zellen/µl	30	0.99	6.588	1.00	321–1407
CD3-CD16+CD56+	%	30	1.01	–0.002	1.00	5.15–38.93
	Zellen/µl	30	1.02	–6.186	1.00	97–1036
CD3-CD19+	%	30	1.00	0.003	0.99	5.42–25.00
	Zellen/µl	30	1.02	1.611	0.99	74–352

n = Anzahl Blutproben

Tabelle 5 Lineare Regressionsanalyse für Lymphozyten-Untergruppen bei gesunden Spendern (Vergleich der Analyseblutproben, die mit dem Gerät ED7733 auf dem Beckman Coulter DxFLEX mit BD FACSCanto™ II gefärbt wurden)

Genauigkeit der Messung von ED7733 auf dem Beckman Coulter DxFLEX						
Durchflusszytometer Beckman Coulter DxFLEX im Vergleich zum Durchflusszytometer BD FACSCanto™ II						
Richtigkeit der Messung						
Lymphozyten-Untergruppe	**Einheit**	**n**	**Steigung**	**Schnittpunkt**	**R^2**	**Bereich**
CD3+	%	39	0.9822	0.0145	0.9879	52.7 - 83.8
	Zellen/µl	39	0.9792	-24.255	0.9811	439 - 2406
CD3+CD8+	%	39	1.0171	0.0052	0.9829	13.7 - 41.8
	Zellen/µl	39	1.0478	-3.0975	0.9930	131 - 1170
CD3+CD4+	%	39	0.9789	-0.001	0.9857	11.7 - 62.7
	Zellen/µl	39	0.9768	-1.499	0.9929	128 - 1429
CD3-CD16+ CD56+	%	39	0.9727	0.0054	0.9815	3.53 - 34.4
	Zellen/µl	39	0.9699	10.484	0.9886	85 - 673
CD3-CD19+	%	39	1.0212	-0.0047	0.9757	5.11 - 19.8
	Zellen/µl	39	0.9767	-0.0385	0.9825	77 - 386

n = Anzahl Blutproben

Tabelle 6 Lineare Regressionsanalyse für Lymphozyten-Untergruppen bei gesunden Spendern (Vergleich der Analyseblutproben, die mit dem Gerät ED7733 auf dem Sysmex XF-1600™ mit BD FACSCanto™ II gefärbt wurden)

Genauigkeit der Messung von ED7733 auf dem Sysmex XF-1600™						
Durchflusszytometer Sysmex XF-1600™ im Vergleich zum Durchflusszytometer BD FACSCanto™ II						
Richtigkeit der Messung						
Lymphozyten-Untergruppe	**Einheit**	**n**	**Steigung**	**Schnittpunkt**	**R^2**	**Bereich**
CD3+	%	39	1.0058	0.0105	0.9918	53.7 - 86.4
	Zellen/µl	39	1.0174	4.2861	0.9991	425 - 2446
CD3+CD8+	%	39	1.0134	0.0015	0.9924	13.1 - 41.9
	Zellen/µl	39	1.0346	-11.555	0.9976	121 - 1099
CD3+CD4+	%	39	1.0017	0.0103	0.9963	12.9 - 64.5
	Zellen/µl	39	1.0043	17.382	0.9981	116 - 1474
CD3-CD16+ CD56+	%	39	0.9889	-0.0039	0.9868	3.2 - 33.6
	Zellen/µl	39	0.972	-3.4422	0.9903	77 - 660
CD3-CD19+	%	39	1.0162	-0.0039	0.9852	5.14 - 19.0
	Zellen/µl	39	0.9777	0.1994	0.9898	78 - 395

n = Anzahl Blutproben

Tabelle 7 Lineare Regressionsanalyse für Lymphozyten-Untergruppen bei Patienten mit Verdacht auf Erkrankungen des Immunsystems (Vergleich von KOMBITEST TBNK 6-color mit AQUIOS CL Flow Cytometry System von Beckman Coulter, Inc., mittels einer anerkannten internen klinischen Labormethode – ein Cocktail aus einfarbigen konjugierten Antikörpern verschiedener Hersteller und Analyse mit dem BD FACSCanto™ II)

Lymphozyten-Untergruppe	Einheit	n	Steigung	Schnittpunkt	R^2	Bereich
CD3+	%	134	1.032	–2.655	0.98	23.9–94.5
	Zellen/µl	134	1.023	–0.047	0.97	140–5178
CD3+CD8+	%	134	1.020	–0.803	0.98	9.1–80.7
	Zellen/µl	134	1.055	–0.041	0.96	60–3546
CD3+CD4+	%	134	1.014	–0.651	0.98	1.4–67.5
	Zellen/µl	134	0.994	–0.005	0.98	8–2826
CD3-CD16+CD56+	%	134	1.064	–0.400	0.98	1.6–68.2
	Zellen/µl	134	1.080	–0.014	0.99	10–2612
CD3-CD19+	%	134	1.027	–0.376	0.99	0.0–69.7
	Zellen/µl	134	1.043	–0.010	1.00	0–4586

n = Anzahl Blutproben

Linearität

Die Linearität der Methode wurde an 10 seriellen Verdünnungen einer mit Leukozyten angereicherten Blutprobe (Buffy Coat) nachgewiesen. Die Zellproben wurden mit KOMBITEST TBNK 6-color in Hexaplikaten gefärbt. Die Proben wurden mit den Durchflusszytometern BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEX und Sysmex XF-1600™ analysiert. Die gemessenen Daten für die angegebenen Lymphozyten-Untergruppen wurden als linear über den Lymphozytenbereich 333–9492 Zellen/µl mit BD FACSCanto™ II, 309–8693 Zellen/µl mit Beckman Coulter DxFLEX und 86–6822 Zellen/µl mit Sysmex XF-1600™ ermittelt. Die Zelluntergruppen lagen in den in den Tabellen 8–10 angegebenen Bereichen.

Tabelle 8 Lineare Bereiche von Lymphozyten-Untergruppen, die mit BD FACSCanto™ II analysiert wurden

BD FACSCanto™ II	
Lymphozyten-Untergruppe	Bereich (Zellen/µl)
CD3+	249–6594
CD3+CD8+	96–2560
CD3+CD4+	136–3628
CD3-CD16+CD56+	55–1525
CD3-CD19+	44–1342

Tabelle 9 Lineare Bereiche von Lymphozyten-Untergruppen, die mit Beckman Coulter DxFLEX analysiert wurden

Beckman Coulter DxFLEX	
Lymphozyten-Untergruppe	Bereich (Zellen/µl)
CD3+	243–6565
CD3+CD8+	102–2652
CD3+CD4+	128–3517
CD3-CD16+CD56+	64–1588
CD3-CD19+	41–1280

Tabelle 10 Lineare Bereiche von Lymphozyten-Untergruppen, die mit Sysmex XF-1600™ analysiert wurden

Sysmex XF-1600™	
Lymphozyten-Untergruppe	Bereich (Zellen/µl)
CD3+	45 - 3513
CD3+CD8+	21 - 1507
CD3+CD4+	22 - 1742
CD3-CD16+CD56+	8 - 700
CD3-CD19+	7 - 567

Nachweisgrenze / Quantifizierungsgrenze / Assay-Cut-Off

Zur Bestimmung der Nachweisgrenze (LOD) und der Bestimmungsgrenze (LOQ) wurden Linearitätsdaten verwendet.
Die Nachweisgrenze wurde als niedrigster absoluter Zellzahlwert ungleich Null plus 3×SD (Standardabweichung) für jede Lymphozytenuntergruppe angegeben (siehe Tabellen 11–13).
Als Quantifizierungsgrenze wurde der niedrigste Wert im Linearitätsbereich der Analytkonzentrationen angegeben, dargestellt als absolute Anzahl der Lymphozyten-Untergruppen, bei dem der CV der Hexaplikate 10 % nicht überschritt und die Wiederfindung im Bereich von 90 % bis 110 % lag (siehe Tabellen 11–13).
Die Testergebnisse sind nicht eindeutig diagnostisch für eine einzelne klinische Einheit, daher kann der Assay-Cut-Off nicht geschätzt werden.

Tabelle 11 Nachweis- und Quantifizierungsgrenzen auf BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II				
Lymphozyten-Untergruppe	**Niedrigste Zellzahl ungleich Null (Zellen/µl)**	**3×SD (SD)**	**LOD (Zellen/µl)**	**LOQ (Zellen/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

Tabelle 12 Nachweis- und Quantifizierungsgrenzen beim Beckman Coulter DxFLEX

Beckman Coulter DxFLEX				
Lymphozyten-Untergruppe	**Niedrigste Zellzahl ungleich Null (Zellen/µl)**	**3×SD (SD)**	**LOD (Zellen/µl)**	**LOQ (Zellen/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

Tabelle 13 Nachweis- und Quantifizierungsgrenzen bei Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™				
Lymphozyten-Untergruppe	**Niedrigste Zellzahl ungleich Null (Zellen/µl)**	**3×SD (SD)**	**LOD (Zellen/µl)**	**LOQ (Zellen/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

Wiederholbarkeit

Die Wiederholbarkeit des Testverfahrens wurde an 10 Blutproben in Hexaplikaten gemessen.mDie Proben wurden mit den Durchflusszytometern BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEX und Sysmex XF-1600™ analysiert. Die Variationskoeffizienten (CV) sind in den folgenden Tabellen aufgeführt (Tabellen 14–16).

Tabelle 14 Wiederholbarkeit des Produkts mit BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II					
Lymphozyten-Untergruppe	Einheit	n	Durchschnitt	SD	% CV
CD3+	%	10	70.34	0.56	0.91
	Zellen/µl	10	1396	10.22	
CD3+CD8+	%	10	23.11	0.27	1.25
	Zellen/µl	10	453	5.23	
CD3+CD4+	%	10	41.06	0.53	1.36
	Zellen/µl	10	808	9.71	
CD3-CD16+CD56+	%	10	16.35	0.40	2.43
	Zellen/µl	10	289	7.20	
CD3-CD19+	%	10	11.63	0.25	2.31
	Zellen/µl	10	227	4.78	

Tabelle 15 Wiederholbarkeit des Produkts mit Beckman Coulter DxFLEX

Beckman Coulter DxFLEX					
Lymphozyten-Untergruppe	Einheit	n	Durchschnitt	SD	% CV
CD3+	%	10	70.80	0.61	0.95
	Zellen/µl	10	1406	11.19	
CD3+CD8+	%	10	23.80	0.32	1.42
	Zellen/µl	10	468	6.12	
CD3+CD4+	%	10	40.81	0.56	1.47
	Zellen/µl	10	803	10.52	
CD3-CD16+CD56+	%	10	15.89	0.40	2.72
	Zellen/µl	10	282	7.23	
CD3-CD19+	%	10	11.68	0.32	2.83
	Zellen/µl	10	227	5.94	

Tabelle 16 Repeatability of the device on Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™					
Lymphozyten-Untergruppe	Einheit	n	Durchschnitt	SD	% CV
CD3+	%	10	69.15	0.89	1.39
	Zellen/µl	10	1151	14.62	
CD3+CD8+	%	10	23.12	0.36	1.72
	Zellen/µl	10	389	6.11	
CD3+CD4+	%	10	41.09	0.70	1.76
	Zellen/µl	10	680	11.39	
CD3-CD16+CD56+	%	10	18.40	0.56	2.71
	Zellen/µl	10	313	9.45	
CD3-CD19+	%	10	10.62	0.35	3.37
	Zellen/µl	10	173	5.56	

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit des Tests mit BD FACSCanto™ II und Beckman Coulter DxFLEX wurde an zwei stabilisierten Blutproben gemessen (CD- Chex Plus® und CD-Chex Plus® CD4 Low von STRECK). Die Reproduzierbarkeit des Assays auf Sysmex XF-1600™ wurde an 4 stabilisierten Blutproben (CD) gemessen (CD-Chex Plus® und CD-Chex Plus® CD4 Low und IMMUNO-TROL Low Cells und zusätzlich IMMUNO-TROL Cells von Beckman Coulter). Die Proben wurden unter den gleichen Bedingungen 15 Tage lang mit 3 Chargen des Geräts (jeweils 5 Tage) gemessen. Die Variationskoeffizienten (CV) sind in den folgenden Tabellen angegeben (Tabelle 17–19).

Tabelle 17 Reproduzierbarkeit des Produkts mit BD FACSCanto™ II

Lymphozyten-Untergruppe	Material	Einheit	Durchschnitt	SD	% CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	76.84	0.18	0.23
		Zellen/µl	1.896	4.39	0.23
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	60.61	0.32	0.53
		Zellen/µl	879	4.65	0.53
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	23.45	0.23	0.97
		Zellen/µl	578	5.62	0.97
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	42.17	0.31	0.73
		Zellen/µl	612	4.55	0.73
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	48.78	0.45	0.93
		Zellen/µl	1.203	11.15	0.93
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12.53	0.26	2.11
		Zellen/µl	182	3.84	2.11
CD3-CD16+CD56+	CD-Chex Plus®	%	10.76	0.22	2.03
		Zellen/µl	265	5.39	2.03
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	19.51	0.38	1.94
		Zellen/µl	283	5.49	1.94
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	11.30	0.16	1.45
		Zellen/µl	279	4.03	1.45
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	18.05	0.32	1.75
		Zellen/µl	262	4.58	1.75

Tabelle 18 Reproduzierbarkeit des Produkts mit Beckman Coulter DxFLEX

Lymphozyten-Untergruppe	Material	Einheit	Durchschnitt	SD	% CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	77.17	0.21	0.27
		Zellen/µl	1.904	5.23	0.27
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	60.85	0.43	0.71
		Zellen/µl	883	6.24	0.71
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	23.87	0.20	0.85
		Zellen/µl	589	4.99	0.85
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	42.81	0.32	0.75
		Zellen/µl	621	4.65	0.75
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	46.47	1.41	3.03
		Zellen/µl	1.146	34.77	3.03
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12.16	0.53	4.37
		Zellen/µl	176	7.71	4.37
CD3-CD16+ CD56+	CD-Chex Plus®	%	10.59	0.20	1.88
		Zellen/µl	261	4.92	1.88
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	19.38	0.32	1.63
		Zellen/µl	281	4.59	1.63
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	11.07	0.17	1.54
		Zellen/µl	273	4.19	1.54
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	17.85	0.35	1.95
		Zellen/µl	259	5.05	1.95

Tabelle 19 Reproduzierbarkeit des Produkts mit Sysmex XF-1600™

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

Für die Durchflusszytometrieanalyse wurden folgende Durchflusszytometer inklusive Softwareversion verwendet:

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

Für die absoluten Zellzahlen unter Verwendung der Dual-Plattform-Methode wurde ein Hämatologieanalysator mit den folgenden Spezifikationen verwendet:

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

Zur Auswertung der Messdaten wurde folgende Analyseplattform verwendet: FlowJo™ (Becton, Dickinson and Company) - version 10.9.0

12. Klinische Leistung

Patienten mit primärer Immundefizienz

Es wurden klinische Daten von 30 Patienten mit Verdacht auf eine allgemeine variable Immundefizienz (Common Variable Immune Deficiency/CVID) in einer klinischen Einrichtung erhoben. Die klinische Leistung des Produkts ED7733 wurde durch einen Vergleich des Produkts KOMBITEST TBNK 6-color mit der Erythrozytenlyselösung EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., Kat.- Nr. ED7066) mittels einer anerkannten klinischen Labormethode (AQUIOS CL Flow Cytometry System – Beckman Coulter, Inc.) ermittelt.

Die Ergebnisse der Untersuchung des Immunstatus der Patienten wurden hinsichtlich der Immunschwäche bewertet (Tabelle 20).

Tabelle 20 Klinische Leistung des Produkts KOMBITEST TBNK 6-color – CVID-Patienten

		Beurteilung des Immunstatus durch eine anerkannte klinische Labormethode	
		Immundefizienz	**Normalzustand**
Immunstatus bewertet mit dem Produkt ED7733 KOMBITEST TBNK 6-color	**Immundefizienz**	24 Patienten	0 Patienten
	Normalzustand	0 Patienten	6 Patienten

Patienten mit erworbener Immundefizienz

Es wurden klinische Daten von 53 Patienten mit einer bestätigten Infektion mit dem Humanen Immundefizienz-Virus (HIV) in einer klinischen Einrichtung erhoben. Die klinische Leistung des Produkts wurde durch einen Vergleich von KOMBITEST TBNK 6-color mit der Erythrozytenlyselösung EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., Kat.- Nr. ED7066) mittels einer anerkannten internen klinischen Labormethode (ein Cocktail aus einfarbigen konjugierten Antikörpern verschiedener Hersteller und Analyse mit dem BD FACSCanto™ II) ermittelt.

Die Ergebnisse der Untersuchung des Immunstatus der Patienten wurden hinsichtlich der Immunschwäche bewertet (Tabelle 21).

Tabelle 21 Klinische Leistung des Produkts KOMBITEST TBNK 6-color – HIV-Patienten

		Beurteilung des Immunstatus durch eine anerkannte interne klinische Labormethode	
		Immundefizienz	**Normalzustand**
Immunstatus bewertet mit dem Produkt ED7733 KOMBITEST TBNK 6-color	**Immundefizienz**	28 von 29 Patienten*	0 Patienten
	Normalzustand	0 Patienten	24 Patienten

VORSICHT:

*Das Gerät ED7733 KOMBITEST TBNK 6-color zeigte bei einem (1) HIV-Patienten in kritischem Gesundheitszustand eine nicht ausreichende Färbung für eine eindeutige Trennung von T-Zellen (CD3+).

13. Erwartete Werte

Referenzintervall

Aufgrund von Wertschwankungen im Zusammenhang mit Alter, Geschlecht, klinischen Merkmalen und ethnischer Zugehörigkeit müssen Labors ihre eigenen normalen Referenzintervalle für die mit KOMBITEST TBNK 6-color identifizierten Lymphozyten-Untergruppen aus der lokalen Population normaler Spender festlegen.

14. Einschränkungen

Das Produkt KOMBITEST TBNK 6-color wurde nicht zur Verwendung in Proben validiert, die mit Heparin oder saurer Zitratdextrose (ACD) als Antikoagulanzien für die Bestimmung der relativen und absoluten Anzahl entnommen wurden.

KOMBITEST TBNK 6-color ist nicht für das Screening und/oder die Phänotypisierung von Leukämie- und Lymphomproben bestimmt.

Absolute Zählungen lassen sich nicht zwischen Laboren vergleichen, die unterschiedliche Geräte von verschiedenen Herstellern verwenden.

15. Referenzen

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 Kingdom: 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. Marken

BD FACSCanto™ II, BD FACSLyric™, BD Multitest™ und FlowJo™ sind eingetragene Marken von Becton, Dickinson and Company. CD-Chex Plus® ist eine eingetragene Marke von Streck. Cy™ ist eine eingetragene Marke von Cytiva. CyLyse™ FX, Sysmex XN-1000™ und Sysmex XF-1600™ sind eingetragene Marken von Sysmex Corporation. VenturiOne® ist eine eingetragene Marke von Applied Cytometry. Infinicyt™ ist eine eingetragene Marke von Cytognos S.L.

17. Revisionsverlauf

Version 2, ED7733_IFU_v2

1) Aktualisierte Durchflusszytometer, an denen das Gerät getestet wurde.

2) Aktualisierte Probenlagerung. Endogene und exogene Interferenz hinzugefügt.

3) Genauigkeit aktualisiert (BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex XF-1600™ Durchflusszytometer)

4) Linearität aktualisiert (BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex XF-1600™ Durchflusszytometer)

5) Nachweisgrenze / Quantifizierungsgrenze / Assay Cut-off aktualisiert (BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex XF-1600™ Durchflusszytometer)

6) Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit aktualisiert (BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex XF-1600™ Durchflusszytometer)

7) Erwartete Werte entfernt

8) Referenzen aktualisiert

18. Hersteller

EXBIO Praha, a.s.
Nad Safinou II 341
25250 Vestec
Tschechische Republik

Kontaktinformationen

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

19. Autorisierte Vertreter

Verantwortliche Person der Schweiz	EUMEDIQ AG Grafenauweg 8 CH-6300 Zug Switzerland www.eumediq.eu

HINWEIS: Alle schwerwiegenden Vorfälle im Zusammenhang mit dem Produkt sind dem Hersteller und der zuständigen Behörde vor Ort zu melden.