

exbio

KOMBITEST TBNK 6-color 50 testov | Kat. č. ED7733

IVD **CE** 2265

Návod na použitie (SK)

Verzia: ED7733_IFU_v4_EN

Dátum vydania: 17-04-2025

Symbody použité na označení pomôcky

IVD	Diagnostická zdravotnícka pomôcka in vitro		Teplotný limit
CE 2265	Označenie zhody CE Identifikačné číslo notifikovanej osoby		Uchovávajte mimo dosahu slnečného žiarenia
	Výrobca	UKCA	Označenie UKCA
UDI	Jedinečný identifikátor pomôcky		
	Pozri návod na použitie		
	Obsahuje dostatočné množstvo na <n> testov		
REF	Katalógové číslo		
LOT	Číslo šarže		
	Dátum použiteľnosti		

1. Určené použitie

KOMBITEST TBNK 6-color je určený na detekciu a stanovenie počtu populácií a subpopulácií lymfocytov v ľudskej plnej krvi metódou prietokovej cytometrie.

Čo sa zisťuje a/alebo meria

Pomôcka KOMBITEST TBNK 6-color zisťuje a meria relatívne percentá a absolútne počty ľudských T-lymfocytov (CD3+), B-lymfocytov (CD3-CD19+), NK buniek (CD3-CD16+56+), pomocných/induktorových (CD3+CD4+) a supresorových/cytotoxických (CD3+CD8+) subpopulácií T-lymfocytov.

Funkcia pomôcky

Pomôcka je určená na použitie pri imunologickom hodnotení bežných pacientov a môže napomôcť diagnostike pacientov, ktorí majú alebo sú podozriví z imunitnej nedostatočnosti.

Súvislosť s fyziologickým alebo patologickým stavom

Frekvencie populácií lymfocytov namerané pomôckou môžu byť ovplyvnené rôznymi patologickými stavmi a hodnotenie ich percent a počtov možno využiť pri posudzovaní:

- CD3+/CD4+ pomocných/induktorových T-lymfocytov pri monitorovaní HIV ^(1, 4, 7, 9)
- CD3+/CD8+ cytotoxických T-lymfocytov pri vírusových infekciách a dedičných imunodeficienciách ^(2, 3, 4, 11, 12, 15, 17)
- CD3-/CD19+ B-lymfocytov pri autoimunitných ochoreniach ^(5, 6)
- CD3-/CD16+56+ NK buniek pri vrodenej imunite a imunologickom deficite ^(13, 14)

Typ testu

Neautomatizovaný

Kvantitatívny

Požadovaný typ vzorky

Vzorka ľudskej periférnej plnej krvi s antikoagulantom

Testovaná populácia

Nie je určená pre konkrétnu populáciu.

2. Určený používateľ

Pomôcka je určená výlučne na profesionálne laboratórne použitie. Nie je určená na testovanie v blízkosti pacienta ani na samotestovanie.

Požiadavky na kvalifikáciu

Určený používateľ musí mať aktuálne odborné znalosti v analýze ľudských buniek prietokovou cytometriou, štandardných laboratórnych technikách vrátane pipetovania a bezpečnej a správnej manipulácie so vzorkami ľudského pôvodu.

Určený používateľ musí spĺňať požiadavky normy EN ISO 15189 alebo iných platných národných noriem.

3. Princíp testu

Princíp testu je založený na detekcii väzby monoklonálnej protilátky na špecifickú molekulu (antigén) exprimovanú určitými ľudskými krvnými bunkami. Monoklonálne protilátky použité v teste sú označené rôznymi fluorochrómmi, ktoré sú excitované laserovým lúčom z prietokového cytometra počas získavania vzorky krvi zafarbenej protilátkou. Následná fluorescencia (emisía svetla) z každého fluorochrómu prítomného na získanej krvnej bunke je zaznamenaná a analyzovaná prístrojom. Intenzita fluorescencie je priamo úmerná hustote expresie antigénu v bunke, čo umožňuje rozlíšenie rôznych subpopulácií buniek.

4. Dodaná reagentia (reagencie)

Obsah

Pomôcka KOMBITEST TBNK 6-color postačuje na 50 testov a je dodávaná s nasledujúcou reagentiou:

1 liekovka (1 ml) obsahujúca vopred zmiešanú kombináciu monoklonálnych protilátok značených fluorochrómom CD3 FITC / CD16 PE + CD56 PE / CD45 PerCP-CyTM5.5 / CD4 PE-CyTM7 / CD19 APC / CD8 APC-CyTM7, zriedených na optimálne koncentrácie v stabilizujúcom fosfátovom pufovanom fyziologickom roztoku (PBS) obsahujúcom 15 mM azidu sodného a 0,2 % hovädzieho sérového albumínu (BSA).

Zloženie

Tabuľka 1 Opis aktívnych zložiek

Antigén	Fluorochróm	Klon	Izotyp	Koncentrácia (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. Materiály potrebné, ale nedodávané

Skúmavky s okrúhlym dnom (12 x 75 mm)

Lyzačný roztok erytrocytov (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., kat. č. ED7066 alebo CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, kat. č. BD303500)

Deionizovaná voda (kvalita pre reagentie)

Procesné kontrolné bunky (Streck CD-Chex Plus®, kat. č. 213323 alebo ekvivalentná lyzovateľná bunková kontrola)

6. Potrebné vybavenie

Automatická pipeta s jednorazovými špičkami (20-100 µl) na pipetovanie vzorky a reagencií

Dávkovač kvapaliny alebo pipeta s jednorazovými špičkami (0,5-2 ml) na dákovanie lyzačného roztoku erytrocytov

Vortex mixér

Hematologický analyzátor (na absolútne počty buniek) schopný počítať leukocyty (WBC) a lymfocyty na µl vzorky

Prietokový cytometer s dvoma laserovými excitačnými zdrojmi (488 nm a ~635 nm), detektormi rozptýleného svetla, optickými filtermi a emisnými detektormi vhodnými na zber signálov z fluorochrómov uvedených v Tabuľke 2.

Tabuľka 2 Spektrálne charakteristiky fluorochrómov použitých v pomôcke

Fluorochróm	Excitácia [nm]	Emisia [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

UPOZORNENIE: Pomôcka bola testovaná na prietokových cytometroch BD FACSCanto™ II (BD Biosciences), DxFLEX (Beckman Coulter) a Sysmex XF-1600™ (Sysmex Corporation).

7. Skladovanie a manipulácia

Skladujte pri 2-8 °C.

Zabráňte dlhodobému vystaveniu svetlu.

Nezmrazujte.

Pozri Časť 10 Postup (Príprava reagentie) pre informácie o stabilite počas

používania a dobe použiteľnosti po prvom otvorení, spolu s podmienkami skladovania a stabilitou pracovných roztokov (ak sa uplatňuje).

8. Upozornenia, preventívne opatrenia a obmedzenia použitia

Klasifikácia nebezpečnosti podľa GHS

Pozrite si kartu bezpečnostných údajov (KBÚ) dostupnú na stránke produktu na www.exbio.cz, kde nájdete úplné informácie o rizikách spôsobených chemickými látkami a zmesami obsiahnutými v Produkte a o tom, ako sa má s nimi manipulovať a ako sa majú likvidovať.

Biologické nebezpečenstvo

Ľudské biologické vzorky a vzorky krvi, ako aj akékoľvek materiály, ktoré sa s nimi dostali do kontaktu, sa vždy považujú za infekčný materiál.

Používajte osobné ochranné a bezpečnostné pomôcky, aby ste zaohraničili kontakt s pokožkou, očami a sliznicami.

Dodržiavajte všetky platné zákony, predpisy a postupy pri manipulácii s infekčným materiálom a jeho likvidácii.

Známky znehodnotenia

Normálny vzhľad dodanej reagentie je číra kvapalina. Nepoužívajte reagentiu, ak spozorujete akúkoľvek zmenu vzhľadu, napríklad zákal alebo známky zrážania.

Obmedzenia použitia

Nepoužívajte po uplynutí dátumu použiteľnosti uvedeného na štítkoch produktu.

9. Vzorka

Použite periférnu venóznú krv odobratú do nádoby na vzorky klasifikovanej ako zdravotnícka pomôcka, s antikoagulantom EDTA.

UPOZORNENIE: Stanovte absolútny počet leukocytov (WBC) a počet lymfocytov v odobratej vzorke krvi pomocou hematologického analyzátoru. Samotná pomôcka KOMBITEST TBNK 6-color neposkytuje stanovenie absolútnych počtov buniek.

Vzorka krvi s počtom WBC presahujúcim 40×10^3 buniek/ μl si vyžiada zriedenie PBS pred spracovaním vzorky.

Spracujte vzorku krvi najneskôr do 24 hodín od odberu. Uchovávajte vzorku pri laboratórnej teplote (20-25 °C). Vzorka sa nesmie chladiť.

Endogénna interferencia

Na základe výskumu vedeckej literatúry sú zdroje endogénnej interferencie identifikované v Tabuľke 3.

Tabuľka 3 Endogénna interferencia pomôcky

Endogénna interferencia	Vplyv	Referencia
Albumín	Albumín môže interferovať pri vysokých koncentráciách vďaka svojej schopnosti viazať, ako aj uvoľňovať veľké množstvá ligandov.	18, 19, 35
Bilirubín (ikterus) (nekonjugovaný)	Bilirubín môže zvýšiť fluorescenčné pozadie buniek v dôsledku svojej vysokej autofluorescencie.	22, 24, 28
Bunkové zvyšky (po lýze)	Bunkové zvyšky môžu poskytnúť nepresné počty buniek a znížiť množstvo protilátky v pomôcke.	21, 25
Erytrocyty	Nedostatočná lýza, prítomnosť červených krviniek vo vzorke môže spôsobiť chybné počítanie buniek.	26
Hemoglobín	Hemolyzované vzorky môžu poskytnúť chybné výsledky.	23
Ľudské protilátky proti myšacím antigénom	Liečba monoklonálnou protilátkou môže poskytnúť chybné výsledky (schopnosť viazať sa na antigény na povrchu buniek).	20, 30, 31, 32, 33, 34
Imunoglobulíny	Nemôžu byť premyté v metóde s jednou platformou a môžu poskytnúť chybný počet subpopulácií lymfocytov.	21
Reumatoidné faktory	Prítomnosť RF interferuje s MIA (multiplex imunoanalýzy).	27
Triglyceridy	Vysoké cirkulujúce hladiny lipidov môžu ovplyvniť analýzu prietokovou cytometriou určitých populácií krvných buniek.	29

Exogénna interferencia

Vzorka staršia ako 24 hodín môže poskytnúť chybné výsledky.

Chladená vzorka môže poskytnúť chybné výsledky.

Nesprávna príprava lyzačného roztoku erytrocytov (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., kat. č. ED7066 alebo CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, kat. č. BD303500) môže poskytnúť chybné výsledky. Postupujte podľa pokynov výrobcu na použitie lyzačného roztoku erytrocytov.

10. Postup

Príprava dodanej reagencie (reagencií)

Príprava reagencie nie je potrebná.

Pred použitím nechajte reagentiu vytemperovať na izbovú teplotu. Primárny obal pomôcky uchovávajte suchý.

Používajte reagentiu priamo z jej pôvodného primárneho obalu. Čas, počas ktorého sa reagentia používa (vystavená svetlu a zvýšenej teplote), by nemal presiahnuť 4 hodiny denne.

Po prvom otvorení si reagentia zachováva svoje výkonnostné vlastnosti až do dátumu použiteľnosti, ak sa skladuje za uvedených podmienok v pôvodnom primárnom obale.

POZOR: Reagentiu nezriedajte.

Príprava potrebných, ale nedodávaných materiálov

Zriedte koncentrovaný lyzačný roztok erytrocytov deionizovanou vodou podľa pokynov výrobcu. Zriedený (1X) lyzačný roztok erytrocytov je stabilný 1 mesiac, ak sa skladuje v dávkovači kvapaliny alebo uzavretej nádobe pri izbovej teplote.

Kontrola kvality

Použite Streck CD-Chex Plus® alebo ekvivalentné kontrolné bunky ako pozitívnu procedurálnu kontrolu na zabezpečenie správnej funkcie pomôcky podľa určenia. Streck CD-Chex Plus® poskytuje stanovené hodnoty pre percento pozitívnych a absolútne počty T-lymfocytov, B-lymfocytov, granulocytov, monocytov a NK buniek, vrátane dvoch klinicky relevantných úrovní CD4+ buniek.

Zafarbíte kontrolné bunky pomocou reagencie KOMBITEST TBNK 6-color podľa spracovania vzorky uvedeného v návode na použitie. Overte, že získané výsledky (% pozitívnych buniek) sú v rámci očakávaného rozsahu uvedeného pre použitú šaržu kontrolných buniek.

Farbenie vzorky

1. Pre každú vzorku označte skúmavku s okrúhlym dnom (12 × 75 mm) príslušnou identifikáciou vzorky.
2. Napipetujte 20 µl reagencie KOMBITEST TBNK 6-color na dno skúmavky 12 x 75 mm.
3. Napipetujte 50 µl dobre premiešanej vzorky krvi na dno skúmavky.

POZOR: Zabráňte pipetovaniu krvi na stenu skúmavky. Ak na stene skúmavky zostane náter alebo kvapka krvi, nemusí byť zafarbená reagentiou alebo sa erytrocyty nemusia lyzovať a výsledok testu nemusí byť platný.

4. Premiešajte na vortexe a inkubujte skúmavku 20 minút pri izbovej teplote v tme.
5. Pridajte 500 µl zriedeného (1X) lyzačného roztoku do skúmavky.
6. Premiešajte na vortexe a inkubujte skúmavku 10 minút pri izbovej teplote v tme.

Ľhneď zmerajte zafarbenú vzorku na prietokovom cytometri. Ak sa zafarbená vzorka nebude merať okamžite, uchovávajte ju pri 2-8 °C v tme a analyzujte do 24 hodín.

POZOR: Premiešajte zafarbenú vzorku na vortexe bezprostredne pred meraním na prietokovom cytometri, aby ste predišli agregátom.

Analýza prietokovou cytometriou

Prietokový cytometer zvolený na použitie s pomôckou KOMBITEST TBNK 6-color sa musí pravidelne kalibrovať pomocou fluorescenčných mikroguličiek, aby sa zaistila stabilná citlivosť detektorov podľa pokynov výrobcu cytometra.

Ak sa nezachováva správne, prietokový cytometer môže poskytovať nesprávne výsledky.

Pozrite si špecifikácie výrobcu cytometra pre lasery a fluorescenčné detektory podľa excitačných a emisných charakteristík fluorochrómov v Časť 6 Potrebné vybavenie.

Pred analýzou nafarbenej vzorky nastavte napätie na príslušných fluorescenčných detektoroch. Napätie na detektore PMT by malo byť nastavené dostatočne vysoko, aby minimum negatívne nafarbených udalostí zasahovalo do 0. kanála na fluorescenčnej osi. Napätie detektora PMT by tiež nemalo prekročiť hodnoty, pri ktorých sú pozitívne udalosti tlačené k pravej osi.

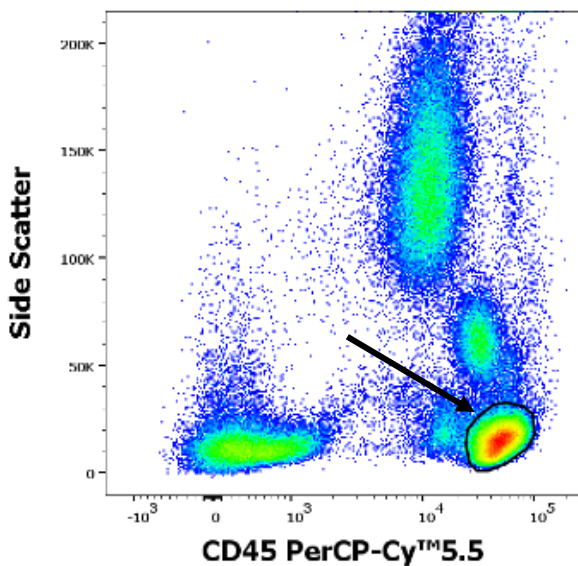
Kompenzujte fluorescenčné signály medzi detektormi pred alebo po zbere dát. Dáta môžu byť nesprávne interpretované, ak sú fluorescenčné signály nesprávne kompenzované alebo ak sú hranice nastavené nepresne.

Na analýzu nameraných dát je možné použiť softvér cytometra vyvinutý výrobcom alebo softvér určený na offline analýzu dát z cytometrie (napríklad FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

Analýza dát KOMBITEST TBNK 6-color zafarbenej vzorky

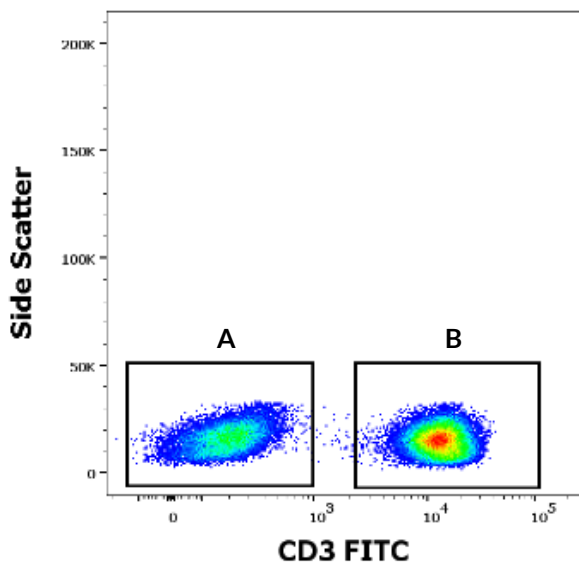
Zobrazte kompenzované dáta v grafe bočného rozptylu (SSC) versus CD45 PerCP-CyTM5.5. Nastavte ohraňenie pre populáciu CD45+ lymfocytov, ako je znázornené na Obrázku 1.

Obrázok 1 Vymedzenie populácie CD45+ lymfocytov
(dáta získané na BD FACSCantoTM II)



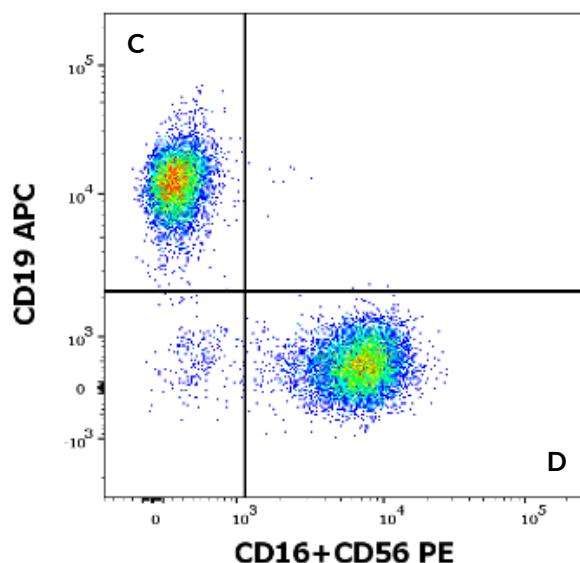
Zobrazte ohraničené CD45+ lymfocyty v grafe bočného rozptylu (SSC) verzus CD3 FITC, ako je znázornené na Obrázku 2. Oddelte CD3+ a CD3- lymfocyty pomocou vhodných ohraničení. Vypočítajte percento T-lymfocytov (CD3+; oblasť B na Obrázku 2) zo všetkých lymfocytov.

Obrázok 2 Oddelenie CD3+ a CD3- lymfocytov
(dáta získané na BD FACSCanto™ II)



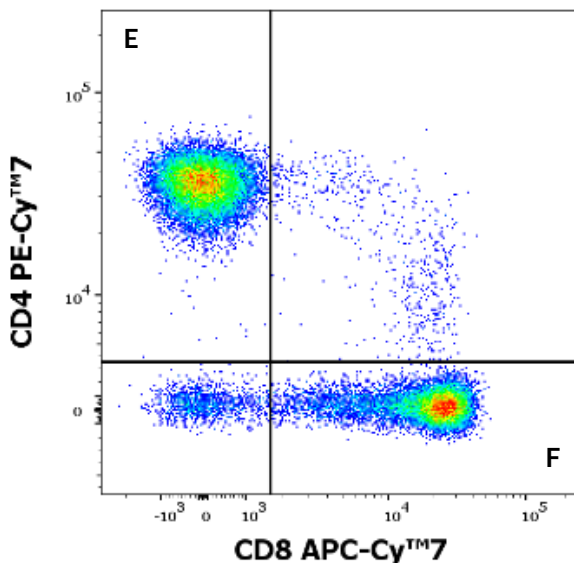
Zobrazte ohraničené CD3- lymfocyty (oblasť A na Obrázku 2) ako CD19 APC verzus CD16+CD56 PE, ako je znázornené na Obrázku 3. Nastavte vhodné hranice a vypočítajte percento B-lymfocytov (CD16-CD56-CD19+; oblasť C na Obrázku 3) a NK buniek (CD16+CD56+CD19-; oblasť D na Obrázku 3) zo všetkých lymfocytov.

Obrázok 3 CD3- lymfocyty v bodovom grafe CD19 APC vs. CD16+CD56 PE (dáta získané na BD FACSCanto™ II)



Zobrazte ohraničené T-lymfocyty (CD3+; oblasť B na Obrázku 2) ako CD4 PE-Cy™7 verus CD8 APC-Cy™7, ako je znázornené na Obrázku 4. Nastavte vhodné hranice a vypočítajte percento pomocných/induktorových T-lymfocytov (CD4+CD8-; oblasť E na Obrázku 4) a supresorových/cytotoxických T-lymfocytov (CD4-CD8+; oblasť F na Obrázku 4) zo všetkých lymfocytov.

Obrázok 4 CD3+ lymfocyty v bodovom grafe CD4 PE-Cy™7 vs. CD8 APC-Cy™7 (dáta získané na BD FACSCanto™ II)



Výpočet a interpretácia analytických výsledkov

Na získanie absolútnych počtov použite absolútny počet lymfocytov stanovený hematologickým analyzátorom. Pozrite si pokyny výrobcu hematologického analyzátora. Na výpočet absolútneho počtu požadovanej subpopulácie lymfocytov použite nasledujúce rovnice.

$$A \times \frac{B (\%)}{100 (\%)} = \text{Absolute count of required lymphocyte subset}$$

A = absolútny počet lymfocytov (dáta z hematologického analyzátora; buniek/ μ l)

B = relatívne percentá požadovanej subpopulácie lymfocytov zo všetkých lymfocytov

(dáta z prietokového cytometra; %)

11. Analytická výkonnosť

Špecifickosť

Protilátka TB3 rozpoznáva ľudský CD3 antigén komplexu TCR/CD3. Špecifickosť protilátky bola potvrdená radou HCDM (workshop HLDA XI).

Protilátka MEM-241 rozpoznáva ľudský CD4 antigén (povrchový glykoproteín T-lymfocytov CD4). Špecifickosť protilátky bola potvrdená radou HCDM (workshop HLDA VIII).

Protilátka LT8 rozpoznáva ľudský CD8 antigén (disulfidicky viazaný dimér exprimovaný ako dva homodiméry alfa reťazca CD8 alebo heterodiméry alfa/beta reťazca CD8). Špecifickosť protilátky bola potvrdená workshopmi HLDA (workshop HLDA V⁽¹⁶⁾ a workshop HLDA VII⁽⁸⁾).

Protilátka 3G8 rozpoznáva ľudský CD16 antigén (imunoglobulínový Fc-gama receptor typu III s nízkou afinitou). Špecifickosť protilátky bola potvrdená workshopom HLDA (workshop HLDA V⁽¹⁶⁾).

Protilátka LT56 rozpoznáva leukocytárnu izoformu ľudského CD56 antigénu (molekula adhézie neurálnych buniek 1). Špecifickosť protilátky bola potvrdená radou HCDM (workshop HLDA X).

Protilátka LT19 rozpoznáva ľudský CD19 antigén (transmemohraničieniový glykoproteín B-lymfocytov CD19). Špecifickosť protilátky bola potvrdená radou HCDM (workshop HLDA X).

Protilátka MEM-28 rozpoznáva všetky leukocytárne izoformy ľudského CD45 (receptor tyrozínovej fosfatázy proteínov typu C). Špecifickosť protilátky bola potvrdená workshopom HLDA (workshop HLDA III⁽¹⁰⁾).

Presnosť

Presnosť metódy bola meraná na prietokovom cytometri BD FACSCanto™ II a stanovená ako porovnanie pomôcky KOMBITEST TBNK 6-color s podobným produktom dostupným na trhu BD Multitest™ 6-Color TBNK Reagent (kat. č. 644611) paralelným zafarbením 30 zdravých darcov krvi.

Na prietokových cytometroch Beckman Coulter DxFLEx a Sysmex XF-1600™ bola presnosť metódy stanovená porovnaním výsledkov analýzy tých istých vzoriek krvi od 39 zdravých darcov krvi, zafarbených pomôckou KOMBITEST TBNK 6-color, na prietokových cytometroch BC DxFLEx a BD FACSCanto™ II a na prietokových cytometroch Sysmex XF-1600™ a BD FACSCanto™ II.

Presnosť metódy bola podporená paralelným zafarbením 134 pacientov (pozri Tabuľku 7) s podozrením na patologický stav imunitného systému. Parametre lineárnej regresnej analýzy sú uvedené v Tabuľkách 4-7.

Tabuľka 4 Lineárna regresná analýza pre subpopulácie lymfocytov u zdravých darcov (porovnanie pomôcky KOMBITEST TBNK 6-color s IVD produktom BD Multitest™ 6-Color TBNK Reagent (kat. č. 644611))

Subpopulácia lymfocytov	Jednotka	n	Smernica	Priesečník	R ²
CD3+	%	30	1.0030	-0.0059	0.9942
	buniek/ μ l	30	0.9898	5.4635	0.9986
CD3+CD8+	%	30	0.9820	0.0029	0.9957
	buniek/ μ l	30	0.9723	8.959	0.9981
CD3+CD4+	%	30	0.9850	0.0035	0.9939
	buniek/ μ l	30	0.9850	6.5877	0.9975
CD3-CD16+CD56+	%	30	1.0085	-0.0017	0.9968
	buniek/ μ l	30	1.0192	-6.1863	0.9985
CD3-CD19+	%	30	0.9953	0.0033	0.9948
	buniek/ μ l	30	1.0189	1.6105	0.9925

n = počet vzoriek krvi

Tabuľka 5 Lineárna regresná analýza pre subpopulácie lymfocytov u zdravých darcov (porovnanie analýzy vzoriek krvi zafarbených pomôckou ED7733 na Beckman Coulter DxFLEX s BD FACSCanto™ II)

Presnosť merania ED7733 na Beckman Coulter DxFLEX					
Prietokový cytometer Beckman Coulter DxFLEX vs. prietokový cytometer BD FACSCanto™ II					
Pravdivosť merania					
Subpopulácia lymfocytov	Jednotka	n	Smernica	Priesečník	R²
CD3+	%	39	0.9822	0.0145	0.9879
	buniek/ μl	39	0.9792	-24.255	0.9811
CD3+CD8+	%	39	1.0171	0.0052	0.9829
	buniek/ μl	39	1.0478	-3.0975	0.9930
CD3+CD4+	%	39	0.9789	-0.001	0.9857
	buniek/ μl	39	0.9768	-1.499	0.9929
CD3-CD16+ CD56+	%	39	0.9727	0.0054	0.9815
	buniek/ μl	39	0.9699	10.484	0.9886
CD3-CD19+	%	39	1.0212	-0.0047	0.9757
	buniek/ μl	39	0.9767	-0.0385	0.9825

n = počet vzoriek krvi

Tabuľka 6 Lineárna regresná analýza pre subpopulácie lymfocytov u zdravých darcov (porovnanie analýzy vzoriek krvi zafarbených pomôckou ED7733 na Sysmex XF-1600™ s BD FACSCanto™ II)

Presnosť merania ED7733 na Sysmex XF-1600™					
Prietokový cytometer Sysmex XF-1600™ vs. prietokový cytometer BD FACSCanto™ II					
Pravdivosť merania					
Subpopulácia lymfocytov	Jednotka	n	Smernica	Priesečník	R ²
CD3+	%	39	1.0058	0.0105	0.9918
	buniek/ μl	39	1.0174	4.2861	0.9991
CD3+CD8+	%	39	1.0134	0.0015	0.9924
	buniek/ μl	39	1.0346	-11.555	0.9976
CD3+CD4+	%	39	1.0017	0.0103	0.9963
	buniek/ μl	39	1.0043	17.382	0.9981
CD3-CD16+ CD56+	%	39	0.9889	-0.0039	0.9868
	buniek/ μl	39	0.972	-3.4422	0.9903
CD3-CD19+	%	39	1.0162	-0.0039	0.9852
	buniek/ μl	39	0.9777	0.1994	0.9898

n = počet vzoriek krvi

Tabuľka 7 Lineárna regresná analýza pre subpopulácie lymfocytov u pacientov s podozrením na patologické stavy imunitného systému (porovnanie pomôcky KOMBITEST TBNK 6-color s AQUIOS CL Flow Cytometry System - Beckman Coulter, Inc. a internou metódou akreditovaného klinického laboratória – koktailom jednofarebne konjugovaných protilátok od rôznych výrobcov a analýzou na BD FACSCanto™ II)

Subpopulácia lymfocytov	Jednotka	n	Smernica	Priesečník	R ²
CD3+	%	134	1.032	-2.655	0.98
	buniek/μl	134	1.023	-0.047	0.97
CD3+CD8+	%	134	1.020	-0.803	0.98
	buniek/μl	134	1.055	-0.041	0.96
CD3+CD4+	%	134	1.014	-0.651	0.98
	buniek/μl	134	0.994	-0.005	0.98
CD3-CD16+CD56+	%	134	1.064	-0.400	0.98
	buniek/μl	134	1.080	-0.014	0.99
CD3-CD19+	%	134	1.027	-0.376	0.99
	buniek/μl	134	1.043	-0.010	1.00

n = počet vzoriek krvi

Linearita

Linearita metódy bola overená na 10 sériových riedeniach vzorky krvi obohatenej o leukocyty (buffy coat). Vzorky buniek boli zafarbené pomocou KOMBITEST TBNK 6-color v šiestich replikátoch. Vzorky boli analyzované pomocou prietokových cytometrov BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEX a Sysmex XF-1600™. Namerané dáta pre uvedené subpopulácie lymfocytov boli lineárne v rozsahu lymfocytov 333-9492 buniek/μl pri použití BD FACSCanto™ II, 309-8693 buniek/μl pri použití Beckman Coulter DxFLEX a 86-6822 buniek/μl pri použití Sysmex XF--1600™. Subpopulácie buniek boli v rozsahoch uvedených v Tabuľkách 8-10.

Tabuľka 8 Lineárne rozsahy subpopulácií lymfocytov analyzovaných BD FACSCanto™ II

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

Tabuľka 9 Lineárne rozsahy subpopulácií lymfocytov analyzovaných Beckman Coulter DxFLX

Beckman Coulter DxFLX	
Subpopulácia lymfocytov	Rozsah (buniek/ μ l)
CD3+	243 - 6565
CD3+CD8+	102 - 2652
CD3+CD4+	128 - 3517
CD3-CD16+CD56+	64 - 1588
CD3-CD19+	41 - 1280

Tabuľka 10 Lineárne rozsahy subpopulácií lymfocytov analyzovaných Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™	
Subpopulácia lymfocytov	Rozsah (buniek/ μ l)
CD3+	45 - 3513
CD3+CD8+	21 - 1507
CD3+CD4+	22 - 1742
CD3-CD16+CD56+	8 - 700
CD3-CD19+	7 - 567

Medza detekcie / Medza kvantifikácie / Hraničná hodnota testu

Dáta o linearite boli použité na stanovenie medze detekcie (LOD) a medze kvantifikácie (LOQ).

Medza detekcie bola stanovená ako najnižšia nenulová hodnota absolútneho počtu buniek plus $3 \times SD$ (smerodajná odchýlka) pre každú subpopuláciu lymfocytov (pozri Tabuľky 11-13).

Medza kvantifikácie bola stanovená ako najnižšia hodnota v rozsahu linearity koncentrácií analytu prezentovaná ako absolútny počet subpopulácie lymfocytov, pri ktorej CV zo šiestich replikátov nepresiahlo 10 % a návratnosť bola v rozsahu 90 %-110 % (pozri Tabuľky 11-13).

Výsledky testu nie sú jedinečne diagnostické pre jednu klinickú jednotku, preto hraničnú hodnotu testu nemožno stanoviť.

Tabuľka 11 Medze detekcie a kvantifikácie na BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II				
Subpopulácia lymfocytov	Najnižší nenulový počet buniek (buniek/ μ l)	$3 \times SD$ (SD)	LOD (buniek/ μ l)	LOQ (buniek/ μ l)
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

Tabuľka 12 Medze detekcie a kvantifikácie na Beckman Coulter DxFLEx

Beckman Coulter DxFLEx				
Subpopulácia lymfocytov	Najnižší nenulový počet buniek (buniek/ μ l)	$3 \times SD$ (SD)	LOD (buniek/ μ l)	LOQ (buniek/ μ l)
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

Tabuľka 13 Medze detekcie a kvantifikácie na Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™				
Subpopulácia lymfocytov	Najnižší nenulový počet buniek (buniek/ μ l)	3 $\times$ SD (SD)	LOD (buniek/ μ l)	LOQ (buniek/ μ l)
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

Opakovateľnosť

Opakovateľnosť testu bola meraná na desiatich vzorkách krvi v šiestich replikátoch. Vzorky boli analyzované pomocou prietokových cytometrov BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEx a Sysmex XF-1600™. Variačné koeficienty (CV) sú uvedené v tabuľkách nižšie (Tabuľky 14-16).

Tabuľka 14 Opakovateľnosť pomôcky na BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II					
Subpopulácia lymfocytov	Jednotka	n	Priemer	SD	%CV
CD3+	%	10	70.34	0.56	0.91
	buniek/ μ l	10	1396	10.22	
CD3+CD8+	%	10	23.11	0.27	1.25
	buniek/ μ l	10	453	5.23	
CD3+CD4+	%	10	41.06	0.53	1.36
	buniek/ μ l	10	808	9.71	
CD3-CD16+CD56+	%	10	16.35	0.40	2.43
	buniek/ μ l	10	289	7.20	
CD3-CD19+	%	10	11.63	0.25	2.31
	buniek/ μ l	10	227	4.78	

n = počet vzoriek krvi

Tabuľka 15 Opakovateľnosť pomôcky na Beckman Coulter DxFLEX

Beckman Coulter DxFLEX					
Subpopulácia lymfocytov	Jednotka	n	Priemer	SD	%CV
CD3+	%	10	70.80	0.61	0.95
	buniek/ μ l	10	1406	11.19	
CD3+CD8+	%	10	23.80	0.32	1.42
	buniek/ μ l	10	468	6.12	
CD3+CD4+	%	10	40.81	0.56	1.47
	buniek/ μ l	10	803	10.52	
CD3-CD16+CD56+	%	10	15.89	0.40	2.72
	buniek/ μ l	10	282	7.23	
CD3-CD19+	%	10	11.68	0.32	2.83
	buniek/ μ l	10	227	5.94	

n = počet vzoriek krvi

Tabuľka 16 Opakovateľnosť pomôcky na Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™					
Subpopulácia lymfocytov	Jednotka	n	Priemer	SD	%CV
CD3+	%	10	69.15	0.89	1.39
	buniek/ μ l	10	1151	14.62	
CD3+CD8+	%	10	23.12	0.36	1.72
	buniek/ μ l	10	389	6.11	
CD3+CD4+	%	10	41.09	0.70	1.76
	buniek/ μ l	10	680	11.39	
CD3-CD16+CD56+	%	10	18.40	0.56	2.71
	buniek/ μ l	10	313	9.45	
CD3-CD19+	%	10	10.62	0.35	3.37
	buniek/ μ l	10	173	5.56	

n = počet vzoriek krvi

Reprodukovateľnosť

Reprodukovateľnosť testu na BD FACSCanto™ II a Beckman Coulter DxFLEx bola meraná na 2 stabilizovaných vzorkách krvi (CD-Chex Plus® a CD-Chex Plus® CD4 Low od STRECK). Reprodukovateľnosť testu na Sysmex XF-1600™ bola meraná na 4 stabilizovaných vzorkách krvi (CD-Chex Plus® a CD-Chex Plus® CD4 Low a navyše IMMUNO-TROL Low Cells a IMMUNO-TROL Cells od Beckman Coulter). Vzorky boli merané za rovnakých podmienok počas 15 dní pomocou 3 šarží pomôcky (po 5 dní každá). Variačné koeficienty (CV) sú uvedené v tabuľkách nižšie (Tabuľka 17-19).

Tabuľka 17 Reprodukovateľnosť pomôcky na BD FACSCanto™ II

Subpopulácia lymfocytov	Materiál	Jednotka	Priemer	SD	%CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	76.84	0.18	0.23
		buniek/ μ l	1896	4.39	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	60.61	0.32	0.53
		buniek/ μ l	879	4.65	
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	23.45	0.23	0.97
		buniek/ μ l	578	5.62	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	42.17	0.31	0.73
		buniek/ μ l	612	4.55	
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	48.78	0.45	0.93
		buniek/ μ l	1203	11.15	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12.53	0.26	2.11
		buniek/ μ l	182	3.84	
CD3-CD16+CD56+	CD-Chex Plus®	%	10.76	0.22	2.03
		buniek/ μ l	265	5.39	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	19.51	0.38	1.94
		buniek/ μ l	283	5.49	
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	11.30	0.16	1.45
		buniek/ μ l	279	4.03	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	18.05	0.32	1.75
		buniek/ μ l	262	4.58	

Tabuľka 18 Reprodukovanosť pomôcky na Beckman Coulter DxFLEx

Subpopulácia lymfocytov	Materiál	Jednotka	Priemer	SD	%CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	77.17	0.21	0.27
		buniek/ μ l	1904	5.23	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	60.85	0.43	0.71
		buniek/ μ l	883	6.24	
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	23.87	0.20	0.85
		buniek/ μ l	589	4.99	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	42.81	0.32	0.75
		buniek/ μ l	621	4.65	
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	46.47	1.41	3.03
		buniek/ μ l	1146	34.77	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12.16	0.53	4.37
		buniek/ μ l	176	7.71	
CD3-CD16+ CD56+	CD-Chex Plus®	%	10.59	0.20	1.88
		buniek/ μ l	261	4.92	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	19.38	0.32	1.63
		buniek/ μ l	281	4.59	
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	11.07	0.17	1.54
		buniek/ μ l	273	4.19	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	17.85	0.35	1.95
		buniek/ μ l	259	5.05	

Tabuľka 19 Reprodukovateľnosť pomôcky na Sysmex XF-1600™

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

UPOZORNENIE: Všetky dáta o analytickej výkonnosti boli merané pomocou lyzačného roztoku erytrocytov EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., kat. č. ED7066).

Na analýzu prietokovou cytometriou boli použité nasledujúce prietokové cytometre vrátane verzie softvéru:

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

Na absolútne počty buniek metódou dvoch platforiem bol použitý hematologický analyzátor s nasledujúcimi špecifikáciami:

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

Na vyhodnotenie nameraných dát bola použitá nasledujúca analytická platforma:

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

12. Klinická výkonnosť

Pacienti s primárnou imunodeficienciou

Klinické dáta boli zozbierané na klinickom pracovisku od 30 pacientov s podozrením na bežnú variabilnú imunodeficienciu (CVID). Klinická výkonnosť pomôcky ED7733 bola stanovená ako porovnanie pomôcky KOMBITEST TBNK 6-color používanej s lyzačným roztokom erytrocytov EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., kat. č. ED7066) s metódou akreditovaného klinického laboratória (AQUIOS CL Flow Cytometry System - Beckman Coulter, Inc.).

Výsledky hodnotenia imunitného stavu pacientov boli vyhodnotené vo vzťahu k imunodeficiencii (Tabuľka 20).

Tabuľka 20 Klinická výkonnosť pomôcky KOMBITEST TBNK 6-color – pacienti s COVID

		Imunitný stav hodnotený metódou akreditovaného klinického laboratória	
		Imunodeficiencia	Normálny stav
Imunitný stav hodnotený pomôckou KOMBITEST TBNK 6-color	Imunodeficiencia	24 pacientov	0 pacientov
	Normálny stav	0 pacientov	6 pacientov

Pacienti so získanou imunodeficienciou

Klinické dáta boli zozbierané na klinickom pracovisku od 53 pacientov s potvrdenou infekciou vírusom ľudskej imunodeficiencie (HIV). Klinická výkonnosť pomôcky bola stanovená ako porovnanie pomôcky KOMBITEST TBNK 6-color, používanej s lyzačným roztokom erytrocytov EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., kat. č. ED7066), s internou metódou akreditovaného klinického laboratória (koktailom jednofarebne konjugovaných protilátok od rôznych výrobcov a analýzou na BD FACSCanto™ II).

Výsledky hodnotenia imunitného stavu pacientov boli vyhodnotené vo vzťahu k imunodeficiencii (Tabuľka 21).

Tabuľka 21 Klinická výkonnosť pomôcky KOMBITEST TBNK 6-color – pacienti s HIV

		Imunitný stav hodnotený internou metódou akreditovaného klinického laboratória	
		Imunodeficiencia	Normálny stav
Imunitný stav hodnotený pomôckou KOMBITEST TBNK 6-color	Imunodeficiencia	28 z 29 pacientov*	0 pacientov
	Normálny stav	0 pacientov	24 pacientov

POZOR:

*Pomôcka KOMBITEST TBNK 6-color vykázala farbenie nedostatočné na jasné oddelenie T-lymfocytov (CD3+) u jedného (1) pacienta s HIV v kritickom zdravotnom stave.

13. Očakávané hodnoty

Referenčný interval

Tabuľka 22 Referenčné intervaly zdravých darcov krvi merané na BD FACSCanto™ II

Subpopulácia lymfocytov	n	Jednotka	Rozsah		Medián
			Min	Max	
CD3+	65	%	49.0	84.9	72.4
	65	buniek/ μ l	608	2415	1269
CD3+CD8+	65	%	10.4	40.2	22.2
	65	buniek/ μ l	127	1075	405
CD3+CD4+	65	%	28.1	62.6	43.3
	65	buniek/ μ l	321	1463	785
CD3-CD16+CD56+	65	%	3.5	38.9	15.8
	65	buniek/ μ l	84	1036	266
CD3-CD19+	65	%	5.4	25.0	10.6
	65	buniek/ μ l	74	404	209

n = počet vzoriek krvi

Referenčné intervaly v Tabuľke 22 boli stanovené u zdravých pacientov, ktorí boli považovaní za darcov krvi podľa legislatívy Českej republiky splnením prísnych kritérií pre darcu krvi pre krvnú banku. Dáta boli merané na prietokovom cytometri BD FACSCanto™ II.

Konkrétne referenčné rozsahy sa môžu líšiť v závislosti od regiónu a populácie, na ktorej boli hodnoty stanovené. Z tohto dôvodu musia laboratória stanoviť vlastné normálne referenčné intervaly pre subpopulácie lymfocytov identifikované pomocou KOMBITEST TBNK 6-color z miestnej populácie normálnych darcov v dôsledku variácií hodnôt súvisiacich s vekom, pohlavím, klinickými charakteristikami a etnicitou.

14. Obmedzenia

Pomôcka KOMBITEST TBNK 6-color nebola validovaná na použitie vo vzorkách odobratých s antikoagulanciami heparínom alebo kyselinou citrónovou dextrózovou (ACD) na stanovenie relatívnych a absolútnych počtov.

Pomôcka KOMBITEST TBNK 6-color nie je určená na skrining a/alebo fenotypizáciu vzoriek leukémie a lymfómu.

Absolútne počty nie sú porovnateľné medzi laborátormi používajúcimi rôzne zariadenia od rôznych výrobcov.

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

10.3389/fimmu.2021.622306.

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

- Clin Chem. 1999 Jul;45(7):942-56. Erratum in: Clin Chem 2000 Oct;46(10):1722. PMID: 10388468.
- 21) Higgins J, Hill V, Lau K, Simpson V, Roayaei J, Klabansky R, Stevens RA, Metcalf JA, Baseler M. Evaluation of a single-platform technology for lymphocyte immunophenotyping. Clin Vaccine Immunol. 2007 Oct;14(10):1342-8. doi: 10.1128/CVI.00168-07. Epub 2007 Aug 29. PMID: 17761524; PMCID: PMC2168127.
 - 22) Htun NM, Chen YC, Lim B, et al. Near-infrared autofluorescence induced by intraplaque hemorrhage and heme degradation as marker for high-risk atherosclerotic plaques. Nat Commun. 2017;8(1):75. Published 2017 Jul 13. doi:10.1038/s41467-017-00138-x
 - 23) de Jonge G, Dos Santos TL, Cruz BR, Simionatto M, Bittencourt JIM, Krum EA, Moss MF, Borato DCK. Interference of in vitro hemolysis complete blood count. J Clin Lab Anal. 2018 Jun;32(5):e22396. doi: 10.1002/jcla.22396. Epub 2018 Feb 3. PMID: 29396875; PMCID: PMC6817011.
 - 24) Haga Y, Kay HD, Tempero MA, Zetterman RK. Flow cytometric measurement of intracellular bilirubin in human peripheral blood mononuclear cells exposed to unconjugated bilirubin. Clin Biochem. 1992 Aug;25(4):277-83. doi: 10.1016/0009-9120(92)80033-d. PMID: 1381998.
 - 25) Lam WK, Law YFW, Yip SF. Resolution of platelet count interference due to cytoplasmic fragments of leukaemic cells by flow cytometry in acute myeloid leukaemia. Int J Lab Hematol. 2022 Dec;44(6):983-985. doi: 10.1111/ijlh.13859. Epub 2022 May 3. PMID: 35504732.
 - 26) Hervé Lecoœur, 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).
 - 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, *Oncolmunology*, 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. Súhrn bezpečnosti a výkonnosti

Súhrn bezpečnosti a výkonnosti bude dostupný v databáze Eudamed na <https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home>. Dovtedy je súhrn bezpečnosti a výkonnosti k dispozícii na požiadanie.

17. Použitie ochranných známk tretích strán

BD FACSCanto™ II, BD FACSLytic™, BD Multitest™ a FlowJo™ sú registrované

ochranné známky spoločnosti Becton, Dickinson and Company. CD-Chex Plus® je registrovaná ochranná známka spoločnosti Streck. Cy™ je registrovaná ochranná známka spoločnosti Cytiva. CyLyse™ FX, Sysmex XN-1000™ a Sysmex XF-1600™ sú registrované ochranné známky spoločnosti Sysmex Corporation. VenturiOne® je registrovaná ochranná známka spoločnosti Applied Cytometry. Infinicyt™ je registrovaná ochranná známka spoločnosti Cytognos S.L..

18. História revízií

Verzia 4, ED7733_IFU_v4

Oprava textu v časti "Súvislosť s fyziologickým alebo patologickým stavom".
Presnejší opis kapitoly 13. Očakávané hodnoty - Referenčný interval.

19. Výrobca

EXBIO Praha, a.s.

Nad Safinou II 341

25250 Vestec

Česká republika

Kontaktné informácie

info@exbio.cz

technical@exbio.cz

orders@exbio.cz

www.exbio.cz

20. Autorizovaní zástupcovia

Zodpovedná osoba v Spojenom
kráľovstve

Sysmex UK Ltd

Sysmex House

Garamonde Drive

Wymbush

Milton Keynes

MK8 8DF

Spojené kráľovstvo

☎ +44 (0)333 3203460

✉ info@sysmex.co.uk

UPOZORNENIE: Akýkoľvek závažný incident, ku ktorému došlo v súvislosti s pomôckou, musí byť nahlásený výrobcovi a miestnemu príslušnému orgánu.