

exbio

KOMBITEST TBNK 6-color 50 εξετάσεις | Αρ. κατ. ED7733

IVD **CE**₂₂₆₅

Οδηγίες χρήσης (EL)

Έκδοση: ED7733_IFU_v4_EL

Ημερομηνία Έκδοσης: 17-04-2025

Σύμβολα που χρησιμοποιούνται στην επισήμανση της συσκευής

IVD	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν		Όριο θερμοκρασίας
CE ₂₂₆₅	Σήμα συμμόρφωσης CE Αριθμός ταυτότητας κοινοποιημένου οργανισμού		Να διατηρείται μακριά από το ηλιακό φως
	Κατασκευαστής	UK CA	Σήμα UKCA
UDI	Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής		
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		
	Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις		
REF	Αριθμός καταλόγου		
LOT	Κωδικός παρτίδας		
	Ημερομηνία λήξης		

1. Προβλεπόμενος σκοπός

Το KOMBITEST TBNK 6-color προορίζεται για την ανίχνευση και την απαρίθμηση πληθυσμών και υποσυνόλων λεμφοκυττάρων στο ανθρώπινο ολικό αίμα με κυτταρομετρία ροής.

Τι ανιχνεύεται ή/και μετράται

Η συσκευή KOMBITEST TBNK 6-color ανιχνεύει και μετρά σχετικά ποσοστά και απόλυτες μετρήσεις ανθρώπινων Τ κυττάρων (CD3+), Β κυττάρων (CD3-CD19+), NK κυττάρων (CD3-CD16+56+), βοηθητικών/επαγωγικών (CD3+CD4+) και κατασταλτικών/κυτταροτοξικών (CD3+CD8+) υποσυνόλων Τ κυττάρων.

Λειτουργία συσκευής

Η συσκευή προορίζεται για χρήση στην ανοσολογική αξιολόγηση φυσιολογικών ασθενών και μπορεί να βοηθήσει στη διάγνωση ασθενών που παρουσιάζουν ανοσοανεπάρκεια ή όταν υπάρχουν σχετικές υπόνοιες.

Πλαίσιο φυσιολογικής ή παθολογικής κατάστασης

Οι συχνότητες των πληθυσμών λεμφοκυττάρων που μετρώνται από τη συσκευή μπορούν να επηρεαστούν από διάφορες παθολογικές καταστάσεις και η αξιολόγηση των ποσοστών και των μετρήσεων τους μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση των εξής :

- CD3+/CD4+ βοηθητικά/επαγωγικά Τ κύτταρα στην παρακολούθηση του HIV (1, 4, 7, 9)
- CD3+/CD8+ κυτταροτοξικά Τ κύτταρα σε ιογενείς λοιμώξεις και κληρονομικές ανοσοανεπάρκειες (2, 3, 4, 11, 12, 15, 17)
- CD3-/CD19+ Β κύτταρα σε αυτοάνοσα νοσήματα (5, 6)
- CD3-/CD16+56+ NK κύτταρα στην έμφυτη ανοσία και σε ανοσολογικές ανωμαλίες (13, 14)

Τύπος ανάλυσης

Μη αυτοματοποιημένη

Ποσοτική

Απαιτούμενος τύπος δείγματος

Δείγμα ανθρώπινου αντιπηκτικού περιφερικού ολικού αίματος

Πληθυσμός ελέγχου

Δεν προορίζεται για συγκεκριμένο πληθυσμό.

2. Προβλεπόμενος χρήστης

Η συσκευή παρέχεται αποκλειστικά για επαγγελματική εργαστηριακή χρήση. Δεν παρέχεται για εξετάσεις παρά τον ασθενή ή αυτοέλεγχο.

Απαιτήσεις σχετικά με τα προσόντα

Ο προβλεπόμενος χρήστης πρέπει να διαθέτει εξειδίκευση τελευταίας τεχνολογίας στην ανάλυση κυτταρομετρίας ροής ανθρώπινων κυττάρων, τις τυπικές εργαστηριακές τεχνικές, συμπεριλαμβανομένων των δεξιοτήτων πιπιεταρίσματος και τον ασφαλή και σωστό χειρισμό δειγμάτων που προέρχονται από το ανθρώπινο σώμα.

Ο προβλεπόμενος χρήστης οφείλει να συμμορφώνεται με το πρότυπο EN ISO 15189 ή άλλα εθνικά πρότυπα, όπου ισχύουν.

3. Αρχή εξέτασης

Η αρχή της εξέτασης βασίζεται στην ανίχνευση μονοκλωνικού αντισώματος που δεσμεύεται σε ένα συγκεκριμένο μόριο (αντιγόνο) το οποίο εκφράζεται από συγκεκριμένα ανθρώπινα αιμοσφαίρια. Τα μονοκλωνικά αντισώματα που χρησιμοποιούνται στην εξέταση επισημαίνονται με διαφορετικά φθοριοχρώματα, τα οποία διεγείρονται από μια δέσμη λέιζερ από ένα κυτταρόμετρο ροής κατά τη λήψη ενός δείγματος αίματος που έχει υποβληθεί σε χρώση με αντίσωμα. Ο επακόλουθος φθορισμός (εκπομπή φωτός) από κάθε φθοριόχρωμα που υπάρχει σε ένα λαμβανόμενο αιμοσφαίριο συλλέγεται και αναλύεται από το όργανο. Η ένταση του φθορισμού είναι ευθέως ανάλογη με την πυκνότητα έκφρασης του αντιγόνου σε ένα κύτταρο, επιτρέποντας τον διαχωρισμό διαφορετικών κυτταρικών υποσυνόλων.

4. Παρεχόμενο/-α αντιδραστήριο/-α

Περιεχόμενα

Η συσκευή KOMBITEST TBNK 6-color επαρκεί για 50 εξετάσεις και παρέχεται με το ακόλουθο αντιδραστήριο:

1 φιαλίδιο (1 ml) που περιέχει έναν προαναμεμειγμένο συνδυασμό μονοκλωνικών αντισωμάτων επισημασμένων με φθοριόχρωμα CD3 FITC / CD16 PE + CD56 PE / CD45 PerCP-Cy™ 5.5 / CD4 PE- Cy™7 / CD19 APC / CD8 APC-Cy™7, αραιωμένο στις βέλτιστες συγκεντρώσεις σε σταθεροποιητικό ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών ιόντων (PBS) που περιέχει 15 mM αζίδιο του νατρίου και 0,2% αλβουμίνη ορού βοοειδών (BSA).

Σύνθεση

Πίνακας 1 Περιγραφή ενεργών συστατικών

Αντιγόνο	Φθοριόχρωμα	Κλώνος	Ισότυπος	Συγκέντρωση (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. Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Δοκιμαστικοί σωλήνες στρογγυλού πυθμένα (12 x 75 mm)

Διάλυμα λύσης ερυθροκυττάρων (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., Αρ. κατ. ED7066 ή CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, Αρ. κατ. BD303500)

Απιονισμένο νερό (ποιότητας αντιδραστηρίου)

Κυψελίδες μάρτυρα διεργασιών (Streck CD-Chex Plus®, Αρ. κατ. 213323 ή ισοδύναμος κυτταρικός μάρτυρας με δυνατότητα λύσης)

6. Απαιτούμενος εξοπλισμός

Αυτόματη πιπέτα με αναλώσιμα ρύγχη (20 - 100 μl) για το πιπετάρισμα δειγμάτων και αντιδραστηρίων

Διανομέας υγρού ή πιπέτα με αναλώσιμα ρύγχη (0,5 – 2 ml) για τη διανομή διαλύματος λύσης ερυθροκυττάρων

Μαγνητικός αναδευτήρας

Αιματολογικός αναλυτής (για απόλυτους αριθμούς κυττάρων) με δυνατότητα ανάλυσης λευκών αιμοσφαιρίων (WBC) και λεμφοκυττάρων ανά μl δείγματος

Κυτταρόμετρο ροής με δύο πηγές διέγερσης λέιζερ (488 nm και ~635 nm), ανιχνευτές σκεδαζόμενου φωτός, οπτικά φίλτρα και ανιχνευτές εκπομπής κατάλληλοι για τη συλλογή σημάτων από φθοριοχρώματα που παρέχονται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2 Φασματικό χαρακτηριστικό των φθοριοχρωμάτων που χρησιμοποιούνται στη συσκευή

Φθοριοχρώμα	Διέγερση [nm]	Εκπομπή [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

ΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: Η συσκευή δοκιμάστηκε σε κυτταρόμετρα ροής BD FACSCanto™ II (BD Biosciences), DxFLEx (Beckman Coulter) και Sysmex XF-1600™ (Sysmex Corporation).

7. Αποθήκευση και χειρισμός

Φυλάσσεται στους 2-8 °C.

Αποφεύγετε την παρατεταμένη έκθεση στο φως.

Μην καταψύχετε.

Ανατρέξτε στην Ενότητα 10 Διαδικασία (Προετοιμασία αντιδραστηρίου) για πληροφορίες σχετικά με τη σταθερότητα κατά τη χρήση και τη διάρκεια ζωής μετά το πρώτο άνοιγμα, καθώς και για τις συνθήκες αποθήκευσης και τη σταθερότητα των διαλυμάτων εργασίας (όπου ισχύει).

8. Προειδοποιήσεις, προφυλάξεις και περιορισμοί χρήσης

Κατάταξη κινδύνου GHS

Συμβουλευτείτε το Δελτίο Δεδομένων Ασφαλείας (SDS) που διατίθεται στη σελίδα του προϊόντος στη διεύθυνση www.exbio.cz για πλήρεις πληροφορίες σχετικά με τους κινδύνους που ενέχουν οι χημικές ουσίες και τα μείγματα που περιέχονται στο Προϊόν και τον τρόπο χειρισμού και απόρριψής τους.

Βιολογικός κίνδυνος

Τα ανθρώπινα βιολογικά δείγματα και τα δείγματα αίματος και τυχόν υλικά που έρχονται σε επαφή με αυτά θεωρούνται πάντα μολυσματικά υλικά.

Χρησιμοποιείτε μέσα ατομικής προστασίας και εξοπλισμό ασφάλειας για να αποφύγετε την επαφή με το δέρμα, τα μάτια και τις βλεννογόνους.

Τηρείτε όλους τους ισχύοντες νόμους, κανονισμούς και διαδικασίες για τον χειρισμό και την απόρριψη μολυσματικών υλικών.

Ενδείξεις φθοράς

Η κανονική εμφάνιση του παρεχόμενου αντιδραστήριου είναι ένα διαυγές υγρό. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο εάν παρατηρήσετε οποιαδήποτε αλλαγή στην εμφάνιση, για παράδειγμα θολερότητα ή ενδείξεις καθίζησης.

Περιορισμός χρήσης

Να μη χρησιμοποιείται μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στις ετικέτες του προϊόντος.

9. Δείγμα

Χρησιμοποιείτε φλεβικό περιφερικό αίμα που συλλέγεται σε δοχείο δείγματος ταξινομημένο ως ιατροτεχνολογικό προϊόν, με το αντιπηκτικό EDTA.

ΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: Προσδιορίζετε τον απόλυτο αριθμό κυττάρων WBC και τον αριθμό λεμφοκυττάρων στο συλλεγμένο δείγμα αίματος με αιματολογικό αναλυτή. Η συσκευή KOMBITEST TBNK 6-color δεν παρέχει η ίδια απαρίθμηση απόλυτων αριθμών κυττάρων.

Δείγμα αίματος με αριθμό λευκοκυττάρων άνω των 40×10^3 κυττάρων/μl απαιτεί αραίωση με PBS πριν από την επεξεργασία του δείγματος.

Επεξεργαστείτε το δείγμα αίματος το αργότερο 24 ώρες μετά τη συλλογή. Φυλάσσετε το δείγμα σε θερμοκρασία εργαστηρίου (20 – 25°C). Μην ψύχετε το δείγμα.

Ενδογενείς παρεμβολές

Σύμφωνα με την έρευνα της επιστημονικής βιβλιογραφίας, οι πηγές ενδογενών παρεμβολών προσδιορίζονται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3 Ενδογενείς παρεμβολές της συσκευής

Ενδογενείς παρεμβολές	Επίπτωση	Αναφορά
Λευκωματίνη	Η λευκωματίνη μπορεί να παρεμβαίνει σε υψηλές συγκεντρώσεις λόγω της ικανότητάς της να δεσμεύεται καθώς και να απελευθερώνει μεγάλες ποσότητες συνδέτων.	18, 19, 35
Χολερυθρίνη (ίκτερος) (μη συζευγμένο)	Η χολερυθρίνη μπορεί να αυξήσει το υπόβαθρο φθορισμού των κυττάρων λόγω του υψηλού αυτοφθορισμού της.	22, 24, 28
Κυτταρικά υπολείμματα (μετά τη λύση)	Τα κυτταρικά υπολείμματα ενδέχεται να προκαλούν ανακριβή μέτρηση κυττάρων και να εξαντλούν το αντίσωμα εντός της συσκευής.	21, 25
Ερυθροκύτταρα	Ανεπαρκής λύση, τα ερυθρά αιμοσφαίρια που υπάρχουν στο δείγμα ενδέχεται να	26

	αποδώσουν εσφαλμένη μέτρηση κυττάρων.	
Αιμοσφαιρίνη	Τα αιμολυμένα δείγματα ενδέχεται να αποδώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα.	23
Ανθρώπινα αντισώματα αντι-ποντικού	Η θεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα ενδέχεται να αποδώσει λανθασμένα αποτελέσματα (ικανότητα δέσμευσης σε αντιγόνα κυτταρικής επιφάνειας).	20, 30, 31, 32, 33, 34
Ανοσοσφαιρίνες	Δεν μπορεί να πλυθεί με μέθοδο μίας πλατφόρμας και ενδέχεται να αποδώσει λανθασμένο αριθμό υποσυνόλων λεμφοκυττάρων.	21
Ρευματοειδείς παράγοντες	Η παρουσία ραδιοσυχνοτήτων παρεμβαίνει στο MIA (πολλαπλοί ανοσοπροσδιορισμοί).	27
Τριγλυκερίδια	Τα υψηλά κυκλοφορούντα επίπεδα λιπιδίων μπορεί να επηρεάσουν την ανάλυση κυτταρομετρίας ροής συγκεκριμένων πληθυσμών αιμοσφαιρίων.	29

Εξωγενείς παρεμβολές

Δείγμα παλαιότερο των 24 ωρών ενδέχεται να αποδώσει λανθασμένα αποτελέσματα.

Το ψυχόμενο δείγμα ενδέχεται να αποδώσει λανθασμένα αποτελέσματα.

Ακατάλληλη παρασκευή διαλύματος λύσης ερυθροκυττάρων (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., Αρ. κατ. ED7066 ή CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, Αρ. κατ. BD303500) ενδέχεται να αποδώσει λανθασμένα αποτελέσματα. Τηρείτε τις οδηγίες του κατασκευαστή για τη χρήση του διαλύματος λύσης ερυθροκυττάρων.

10. Διαδικασία

Παρέχεται προετοιμασία αντιδραστήριου/-ων.

Δεν απαιτείται προετοιμασία αντιδραστήριου.

Φέρτε το αντιδραστήριο σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Διατηρείτε στεγνό τον βασικό περιέκτη της συσκευής.

Χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο απευθείας από τον αρχικό του βασικό περιέκτη. Ο χρόνος για τον οποίο χρησιμοποιείται το αντιδραστήριο (έκθεση στο φως και υψηλή θερμοκρασία) δεν πρέπει να υπερβαίνει τις 4 ώρες την ημέρα.

Μετά το πρώτο άνοιγμα, το αντιδραστήριο διατηρεί τα χαρακτηριστικά απόδοσής του έως την ημερομηνία λήξης, όταν φυλάσσεται υπό τις αναφερόμενες συνθήκες στον αρχικό βασικό περιέκτη του.

ΠΡΟΣΟΧΗ: Μην αραιώνετε το αντιδραστήριο.

Προετοιμασία των υλικών που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Αραιώστε το συμπυκνωμένο διάλυμα λύσης ερυθροκυττάρων με απιονισμένο νερό, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Το αραιωμένο (1X) διάλυμα λύσης ερυθροκυττάρων παραμένει σταθερό για 1 μήνα όταν φυλάσσεται σε διανομέα υγρού ή κλειστό περιέκτη σε θερμοκρασία δωματίου.

Ελεγχος ποιότητας

Χρησιμοποιείτε το Streck CD-Chex Plus® ή αντίστοιχα κύτταρα ελέγχου ως θετικό διαδικαστικό μάρτυρα για να εξασφαλίσετε τη σωστή απόδοση της συσκευής όπως προβλέπεται. Το Streck CD-Chex Plus® παρέχει εδραιωμένες τιμές για το ποσοστό θετικών και απόλυτων μετρήσεων T κυττάρων, B κυττάρων, κοκκιοκυττάρων, μονοκυττάρων και NK κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων δύο κλινικά σχετικών επιπέδων κυττάρων CD4+.

Υποβάλλετε σε χρώση τα κύτταρα μάρτυρα χρησιμοποιώντας αντιδραστήριο KOMBITEST TBNK 6-color σύμφωνα με την επεξεργασία του δείγματος όπως ορίζεται στις οδηγίες. Βεβαιωθείτε ότι τα ληφθέντα αποτελέσματα (% θετικά κύτταρα) εμπίπτουν εντός του Αναμενόμενου εύρους που αναφέρεται για τη χρησιμοποιούμενη παρτίδα κυττάρων μάρτυρα.

Χρώση δείγματος

1. Για κάθε δείγμα, επισημάνετε έναν δοκιμαστικό σωλήνα 12 × 75 mm με στρογγυλό πυθμένα με την κατάλληλη ταυτοποίηση δείγματος.
2. Πιπετάρετε 20 μl αντιδραστήριου KOMBITEST TBNK 6-color στον πυθμένα του δοκιμαστικού σωλήνα 12 x 75 mm.
3. Πιπετάρετε 50 μl καλά αναμεμειγμένου δείγματος αίματος στον πυθμένα του δοκιμαστικού σωλήνα.

ΠΡΟΣΟΧΗ: Αποφεύγετε το πιπετάρισμα αίματος στο πλάι του δοκιμαστικού σωλήνα. Εάν παραμείνει επίχρισμα ή σταγονίδια αίματος στο πλάι του σωλήνα, ενδέχεται να μην πραγματοποιηθεί χρώση με το αντιδραστήριο ή τα ερυθροκύτταρα ενδέχεται να μην υποβληθούν σε λύση και το αποτέλεσμα της εξέτασης ενδέχεται να μην είναι έγκυρο.

4. Αναδεύστε και επώαστε τον δοκιμαστικό σωλήνα για 20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι.
5. Προσθέστε 500 μl αραιωμένου (1X) διαλύματος λύσης στον δοκιμαστικό σωλήνα.
6. Αναδεύστε και επώαστε τον δοκιμαστικό σωλήνα για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι.

Πραγματοποιήστε άμεση λήψη του δείγματος με χρώση στο κυτταρόμετρο ροής. Εάν το δείγμα με χρώση δεν πρόκειται να ληφθεί αμέσως, αποθηκεύστε στους 2-8 °C στο σκοτάδι και αναλύστε το εντός 24 ωρών.

ΠΡΟΣΟΧΗ: Αναδεύστε το δείγμα με χρώση αμέσως πριν από τη λήψη στο κυτταρόμετρο ροής για να αποφύγετε τα συσσωματώματα.

Ανάλυση κυτταρομετρίας ροής

Το κυτταρόμετρο ροής που επιλέγεται για χρήση με τη συσκευή KOMBITEST TBNK 6-color θα βαθμονομείται σε βάση ρουτίνας, με χρήση μικροσφαιριδίων φθορισμού για να διασφαλίζεται σταθερή ευαισθησία των ανιχνευτών, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή του κυτταρομέτρου.

Σε περίπτωση ελλιπούς συντήρησης του κυτταρομέτρου ροής, ενδέχεται να αποδίδονται ψευδή αποτελέσματα.

Ανατρέξτε στις προδιαγραφές του κατασκευαστή του κυτταρομέτρου για λείζερ και ανιχνευτές φθορισμού σύμφωνα με τα χαρακτηριστικά διέγερσης και εκπομπής των φθοριοχρωμάτων στην Ενότητα 6 Απαιτούμενος εξοπλισμός.

Ρυθμίστε τις τάσεις στους ανιχνευτές φθορισμού που σας ενδιαφέρουν πριν από την ανάλυση των δειγμάτων με χρώση. Η τάση σε έναν ανιχνευτή PMT θα πρέπει να ρυθμιστεί σε αρκετά υψηλά επίπεδα, έτσι ώστε να παρεμβαίνει ελάχιστος αριθμός συμβάντων αρνητικής χρώσης στο 0ό κανάλι στον άξονα φθορισμού. Επίσης, η τάση του ανιχνευτή PMT δεν πρέπει να υπερβαίνει τις τιμές στις οποίες τα θετικά συμβάντα πιέζονται στον δεξιό άξονα.

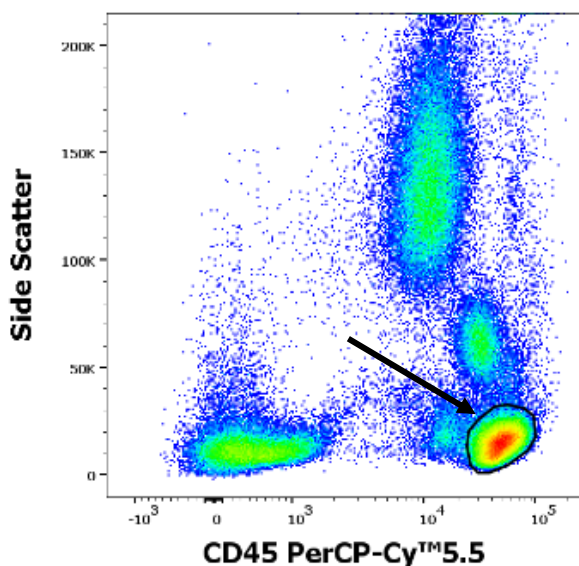
Αντισταθμίστε τα σήματα φθορισμού μεταξύ των ανιχνευτών πριν ή μετά τη λήψη δεδομένων. Τα δεδομένα ενδέχεται να ερμηνεύονται εσφαλμένα εάν τα σήματα φθορισμού αντισταθμίζονται εσφαλμένα ή εάν οι πύλες δεν έχουν τοποθετηθεί σωστά.

Για την ανάλυση δεδομένων μετρήσεων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί λογισμικό κυτταρομέτρου που έχει δημιουργηθεί από τον κατασκευαστή ή λογισμικό που χρησιμοποιείται για ανάλυση δεδομένων κυτταρομετρίας εκτός σύνδεσης (για παράδειγμα FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

Ανάλυση δεδομένων του δείγματος με χρώση του KOMBITEST TBNK 6-color

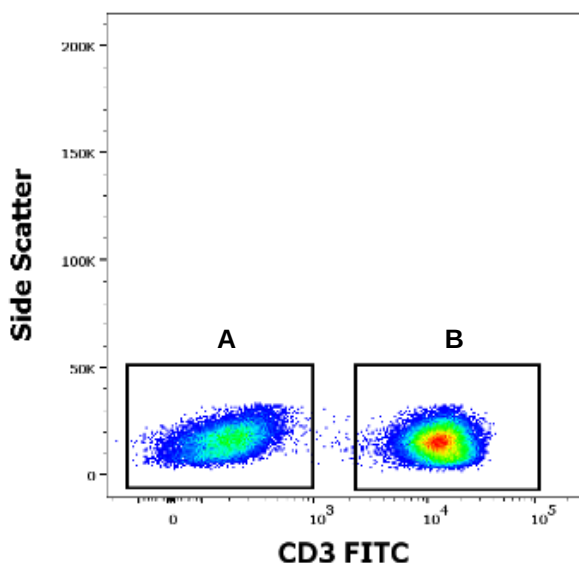
Οπτικοποιήστε τα δεδομένα αντιστάθμισης σε μια γραφική παράσταση πλευρικής διασποράς (SSC) έναντι CD45 PerCP-CyTM5.5. Ρυθμίστε την πύλη για τον πληθυσμό λεμφοκυττάρων CD45+ όπως φαίνεται στην Εικόνα 1.

Εικόνα 1 Οριοθέτηση πληθυσμού λεμφοκυττάρων CD45+ (δεδομένα που αποκτήθηκαν στο BD FACSCantoTM II)



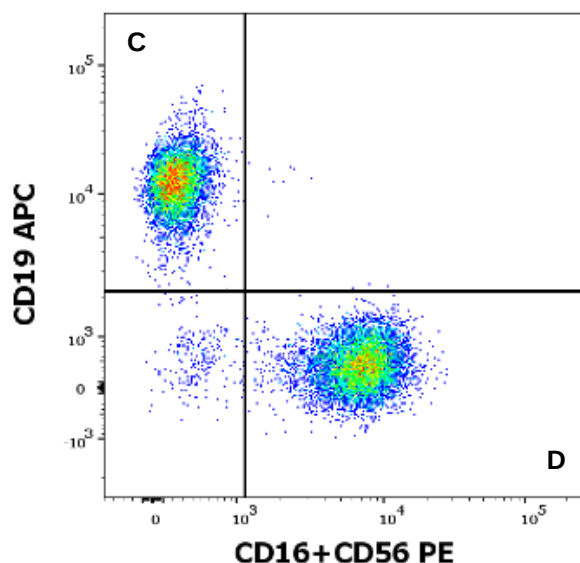
Αποτυπώστε σε διάγραμμα τα επιλεγμένα λεμφοκύτταρα CD45+ σε διάγραμμα πλευρικής διασποράς (SSC) έναντι CD3 FITC, όπως φαίνεται στην Εικόνα 2. Διαχωρίστε τα λεμφοκύτταρα CD3+ και CD3- χρησιμοποιώντας κατάλληλες πύλες. Υπολογίστε το ποσοστό των T κυττάρων (CD3+, περιοχή B στην Εικόνα 2) από όλα τα λεμφοκύτταρα.

Εικόνα 2 Διαχωρισμός CD3+ και CD3- λεμφοκυττάρων (δεδομένα που αποκτήθηκαν στο BD FACSCanto™ II)



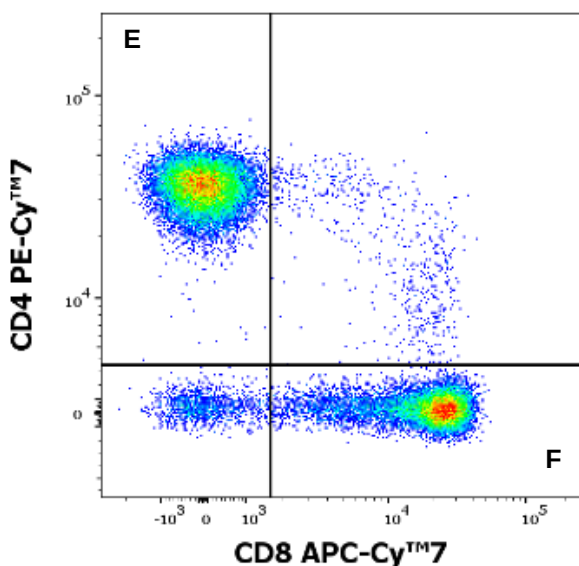
Αποτυπώστε σε διάγραμμα τα επιλεγμένα CD3- λεμφοκύτταρα (περιοχή A στην Εικόνα 2) ως CD19 APC έναντι CD16+CD56 PE όπως φαίνεται στην Εικόνα 3. Ρυθμίστε τις κατάλληλες πύλες επιλογής και υπολογίστε το ποσοστό των B κυττάρων (CD16-CD56-CD19+, περιοχή C στην Εικόνα 3) και των φυσικών φονικών κυττάρων (NK) (CD16+CD56+CD19-, περιοχή D στην Εικόνα 3) από όλα τα λεμφοκύτταρα.

Εικόνα 3 CD3- λεμφοκύτταρα σε διάγραμμα με κουκκίδες CD19 APC έναντι CD16+CD56 PE
(δεδομένα που αποκτήθηκαν στο BD FACSCanto™ II)



Αποτυπώστε σε διάγραμμα τα επιλεγμένα Τ κύτταρα (CD3+, περιοχή Β στην Εικόνα 2) ως CD4 PE-CyTM7 έναντι CD8 APC-CyTM7, όπως φαίνεται στην Εικόνα 4. Ρυθμίστε τις κατάλληλες πύλες επιλογής και υπολογίστε το ποσοστό των βοηθητικών/επαγωγικών Τ κυττάρων (CD4+CD8-, περιοχή Ε στην Εικόνα 4) και των κατασταλτικών/κυτταροτοξικών Τ κυττάρων (CD4-CD8+, περιοχή F στην Εικόνα 4) από όλα τα λεμφοκύτταρα.

Εικόνα 4 CD3+ λεμφοκύτταρα σε διάγραμμα με κουκκίδες CD4 PE-CyTM7 έναντι CD8 APC-CyTM7
(δεδομένα που αποκτήθηκαν στο BD FACSCantoTM II)



Υπολογισμός και ερμηνεία αποτελεσμάτων ανάλυσης

Για να λάβετε απόλυτες μετρήσεις, χρησιμοποιήστε τον απόλυτο αριθμό λεμφοκυττάρων, όπως προσδιορίζεται από έναν αιματολογικό αναλυτή. Ανατρέξτε στις οδηγίες του κατασκευαστή του αιματολογικού αναλυτή. Χρησιμοποιήστε τις παρακάτω εξισώσεις για την απαρίθμηση απόλυτης μέτρησης του απαιτούμενου υποσυνόλου λεμφοκυττάρων.

$$A \times \frac{B (\%)}{100 (\%)} = \text{Απόλυτος αριθμός των απαιτούμενων υποομάδων λεμφοκυττάρων}$$

A = απόλυτη μέτρηση λεμφοκυττάρων (δεδομένα από αιματολογικό αναλυτή, κύτταρα/μl)

B = σχετικά ποσοστά του απαιτούμενου υποσυνόλου λεμφοκυττάρων από όλα τα λεμφοκύτταρα (δεδομένα από κυτταρόμετρο ροής, %)

11. Απόδοση ανάλυσης

Ειδικότητα

Το αντίσωμα TB3 αναγνωρίζει το ανθρώπινο αντιγόνο CD3 του συμπλέγματος TCR/CD3. Η ειδικότητα του αντισώματος έχει επιβεβαιωθεί από το Συμβούλιο HCDM (εργαστήριο HLDA XI).

Το αντίσωμα MEM-241 αναγνωρίζει το ανθρώπινο αντιγόνο CD4 (γλυκοπρωτεΐνη CD4 επιφάνειας T κυττάρων). Η ειδικότητα του αντισώματος έχει επιβεβαιωθεί από το Συμβούλιο HCDM (εργαστήριο HLDA VIII).

Το αντίσωμα LT8 αναγνωρίζει το ανθρώπινο αντιγόνο CD8 (διμερές συνδεδεμένο με δισουλφίδιο που εκφράζεται ως δύο ομοδιμερή αλυσίδας άλφα CD8 ή ετεροδιμερή αλφα/βήτα αλυσίδας CD8). Η ειδικότητα του αντισώματος έχει επιβεβαιωθεί από εργαστήρια HLDA (εργαστήριο HLDA V ⁽¹⁶⁾ και εργαστήριο HLDA VII ⁽⁸⁾).

Το αντίσωμα 3G8 αναγνωρίζει το ανθρώπινο αντιγόνο CD16 (υποδοχέας Fc-γάμα ανοσοσφαιρίνης τύπου III χαμηλής συγγένειας). Η ειδικότητα του αντισώματος έχει επιβεβαιωθεί από το εργαστήριο HLDA (εργαστήριο HLDA V ⁽¹⁶⁾).

Το αντίσωμα LT56 αναγνωρίζει το ισόμορφο λευκοκυττάρων του ανθρώπινου αντιγόνου CD56 (προσκολλητικό μόριο των νευρικών κυττάρων 1). Η ειδικότητα του αντισώματος έχει επιβεβαιωθεί από το Συμβούλιο HCDM (εργαστήριο HLDA X).

Το αντίσωμα LT19 αναγνωρίζει το ανθρώπινο αντιγόνο CD19 (διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη CD19 B κυττάρων). Η ειδικότητα του αντισώματος έχει επιβεβαιωθεί από το Συμβούλιο HCDM (εργαστήριο HLDA X).

Το αντίσωμα MEM-28 αναγνωρίζει όλα τα ισόμορφα λευκοκυττάρων του ανθρώπινου CD45 (υποδοχέας πρωτεϊνικής φωσφατάσης τυροσίνης τύπου C). Η ειδικότητα του αντισώματος έχει επιβεβαιωθεί από το εργαστήριο HLDA (εργαστήριο HLDA III ⁽¹⁰⁾).

Ακρίβεια

Η ακρίβεια της μεθόδου μετρήθηκε στο κυτταρόμετρο ροής BD FACSCanto™ II και προσδιορίστηκε με σύγκριση της συσκευής KOMBITEST TBNK 6-color με παρόμοιο προϊόν διαθέσιμο στην αγορά BD Multitest™ 6-Color TBNK Reagent (Αρ. κατ. 644611) με παράλληλη χρώση 30 υγιών αιμοδοτών.

Στα κυτταρόμετρα ροής Beckman Coulter DxFLEx και Sysmex XF-1600™, η ακρίβεια της μεθόδου προσδιορίστηκε συγκρίνοντας τα αποτελέσματα της ανάλυσης των ίδιων δειγμάτων αίματος 39 υγιών αιμοδοτών που υποβλήθηκαν σε χρώση από τη συσκευή KOMBITEST TBNK 6-color σε κυτταρόμετρα ροής BC DxFLEx και BD FACSCanto™ II αντίστοιχα και σε κυτταρόμετρα ροής Sysmex-XF 1600™ και BD FACSCanto™ II.

Η ακρίβεια της μεθόδου υποστηρίχθηκε από την παράλληλη χρώση 134 ασθενών (βλ. Πίνακα 7) για τους οποίους υπήρχε υποψία ότι πάσχουν από παθολογική κατάσταση του ανοσοποιητικού συστήματος. Οι παράμετροι ανάλυσης γραμμικής παλινδρόμησης παρέχονται στους Πίνακες 4 - 7 .

Πίνακας 4 Ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης για υποσύνολα λεμφοκυττάρων σε υγιείς δότες (σύγκριση της συσκευής KOMBITEST TBNK 6-color με το προϊόν IVD BD Multitest™ 6-Color TBNK Reagent (Αρ. κατ. 644611))

Υποσύνολο λεμφοκυττάρων	Μονάδα	n	Κλίση	Τομή	R ²
CD3+	%	30	1,0030	-0,0059	0,9942
	κύτταρα/μl	30	0,9898	5,4635	0,9986
CD3+CD8+	%	30	0,9820	0,0029	0,9957
	κύτταρα/μl	30	0,9723	8,959	0,9981
CD3+CD4+	%	30	0,9850	0,0035	0,9939
	κύτταρα/μl	30	0,9850	6,5877	0,9975
CD3-CD16+CD56+	%	30	1,0085	-0,0017	0,9968
	κύτταρα/μl	30	1,0192	-6,1863	0,9985
CD3-CD19+	%	30	0,9953	0,0033	0,9948
	κύτταρα/μl	30	1,0189	1,6105	0,9925

n = αριθμός δειγμάτων αίματος

Πίνακας 5 Ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης για υποσύνολα λεμφοκυττάρων σε υγιείς δότες (σύγκριση των δειγμάτων αίματος ανάλυσης που υποβλήθηκαν σε χρώση από τη συσκευή ED7733 στο Beckman Coulter DxFLEX με BD FACSCanto™ II)

Ακρίβεια μέτρησης του ED7733 στο Beckman Coulter DxFLEX					
Κυτταρόμετρο ροής Beckman Coulter DxFLEX έναντι κυτταρόμετρου ροής BD FACSCanto™ II					
Ορθότητα της μέτρησης					
Υποσύνολο Λεμφοκυττάρων	Μονάδα	n	Κλίση	Τομή	R²
CD3+	%	39	0,9822	0,0145	0,9879
	κύτταρα/μl	39	0,9792	-24,255	0,9811
CD3+CD8+	%	39	1,0171	0,0052	0,9829
	κύτταρα/μl	39	1,0478	-3,0975	0,9930
CD3+CD4+	%	39	0,9789	-0,001	0,9857
	κύτταρα/μl	39	0,9768	-1,499	0,9929
CD3-CD16+ CD56+	%	39	0,9727	0,0054	0,9815
	κύτταρα/μl	39	0,9699	10,484	0,9886
CD3-CD19+	%	39	1,0212	-0,0047	0,9757
	κύτταρα/μl	39	0,9767	-0,0385	0,9825

n = αριθμός δειγμάτων αίματος

Πίνακας 6 Ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης για υποσύνολα λεμφοκυττάρων σε υγιείς δότες (σύγκριση των δειγμάτων αίματος ανάλυσης που υποβλήθηκαν σε χρώση από τη συσκευή ED7733 στο Sysmex XF-1600™ με BD FACSCanto™ II)

Ακρίβεια μέτρησης του ED7733 στο Sysmex XF-1600™					
Κυτταρόμετρο ροής Sysmex XF-1600™ έναντι κυτταρόμετρου ροής BD FACSCanto™ II					
Ορθότητα της μέτρησης					
Υποσύνολο Λεμφοκυττάρων	Μονάδα	n	Κλίση	Τομή	R²
CD3+	%	39	1,0058	0,0105	0,9918
	κύτταρα/μl	39	1,0174	4,2861	0,9991
CD3+CD8+	%	39	1,0134	0,0015	0,9924
	κύτταρα/μl	39	1,0346	-11,555	0,9976
CD3+CD4+	%	39	1,0017	0,0103	0,9963
	κύτταρα/μl	39	1,0043	17,382	0,9981
CD3-CD16+ CD56+	%	39	0,9889	-0,0039	0,9868
	κύτταρα/μl	39	0,972	-3,4422	0,9903
CD3-CD19+	%	39	1,0162	-0,0039	0,9852
	κύτταρα/μl	39	0,9777	0,1994	0,9898

n = αριθμός δειγμάτων αίματος

Πίνακας 7 Ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης για υποσύνολα λεμφοκυττάρων σε ασθενείς για τους οποίους υπάρχει υποψία ότι πάσχουν από παθολογικές καταστάσεις του ανοσοποιητικού συστήματος (σύγκριση της συσκευής KOMBITEST TBNK 6-color με σύστημα κυτταρομετρίας ροής AQUIOS CL - Beckman Coulter, Inc. και διαπιστευμένης εσωτερικής μεθόδου κλινικού εργαστηρίου - συνδυασμός συζευγμένων αντισωμάτων ενός χρώματος από διαφορετικούς κατασκευαστές και ανάλυση στο BD FACSCanto™ II)

Υποσύνολο λεμφοκυττάρων	Μονάδα	n	Κλίση	Τομή	R ²
CD3+	%	134	1,032	-2,655	0,98
	κύτταρα/μl	134	1,023	-0,047	0,97
CD3+CD8+	%	134	1,020	-0,803	0,98
	κύτταρα/μl	134	1,055	-0,041	0,96
CD3+CD4+	%	134	1,014	-0,651	0,98
	κύτταρα/μl	134	0,994	-0,005	0,98
CD3-CD16+CD56+	%	134	1,064	-0,400	0,98
	κύτταρα/μl	134	1,080	-0,014	0,99
CD3-CD19+	%	134	1,027	-0,376	0,99
	κύτταρα/μl	134	1,043	-0,010	1,00

n = αριθμός δειγμάτων αίματος

Γραμμικότητα

Η γραμμικότητα της μεθόδου επαληθεύτηκε σε 10 σειριακές αραιώσεις ενός δείγματος αίματος εμπλουτισμένου με λευκοκύτταρα (λευκή στιβάδα). Τα κυτταρικά δείγματα υποβλήθηκαν σε χρώση με KOMBITEST TBNK 6-color σε εξάτυπα. Τα δείγματα αναλύθηκαν με χρήση κυτταρομέτρων ροής BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEx και Sysmex XF-1600™.

Τα δεδομένα μετρήσεων για τα υποδεικνυόμενα υποσύνολα λεμφοκυττάρων παρατηρήθηκαν ως γραμμικά σε όλο το εύρος λεμφοκυττάρων 333 - 9492 κύτταρα/μl με χρήση του BD FACSCanto™ II, 309 - 8693 κύτταρα/μl με χρήση του Beckman Coulter DxFLEx και 86 - 6822 κύτταρα με χρήση του Sysmex XF-1600™. Τα υποσύνολα κυττάρων βρίσκονταν στις περιοχές στους Πίνακες 8 - 10.

Πίνακας 8 Γραμμικές περιοχές υποσυνόλων λεμφοκυττάρων που αναλύθηκαν με BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II	
Υποσύνολο λεμφοκυττάρων	Εύρος (κύτταρα/μl)
CD3+	249 - 6594
CD3+CD8+	96 - 2560
CD3+CD4+	136 - 3628
CD3-CD16+CD56+	55 - 1525
CD3-CD19+	44 - 1342

Πίνακας 9 Γραμμικές περιοχές υποσυνόλων λεμφοκυττάρων που αναλύθηκαν από το Beckman Coulter DxFLEx

Beckman Coulter DxFLEx	
Υποσύνολο λεμφοκυττάρων	Εύρος (κύτταρα/μl)
CD3+	243 - 6565
CD3+CD8+	102 - 2652
CD3+CD4+	128 - 3517
CD3-CD16+CD56+	64 - 1588
CD3-CD19+	41 - 1280

Πίνακας 10 Γραμμικές περιοχές υποσυνόλων λεμφοκυττάρων που αναλύθηκαν από το Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™	
Υποσύνολο λεμφοκυττάρων	Εύρος (κύτταρα/μl)
CD3+	45 - 3513
CD3+CD8+	21 - 1507
CD3+CD4+	22 - 1742
CD3-CD16+CD56+	8 - 700
CD3-CD19+	7 - 567

Όριο ανίχνευσης / Όριο ποσοτικοποίησης / Οριακή τιμή ανάλυσης

Τα δεδομένα γραμμικότητας χρησιμοποιήθηκαν για να δηλώσουν το όριο ανίχνευσης (LOD) και το όριο ποσοτικοποίησης (LOQ).

Το όριο ανίχνευσης έχει δηλωθεί ως η χαμηλότερη μη μηδενική τιμή απόλυτου αριθμού κυττάρων συν $3 \times SD$ (τυπική απόκλιση) για κάθε υποσύνολο λεμφοκυττάρων (βλ. Πίνακες 11 – 13).

Το όριο ποσοτικοποίησης έχει δηλωθεί ως η χαμηλότερη τιμή στο εύρος γραμμικότητας των συγκεντρώσεων του αναλυτή που παρουσιάζεται ως απόλυτος αριθμός υποσυνόλου λεμφοκυττάρων στον οποίο το CV από τα εξάτυπα δεν υπερέβη το 10% και η ανάκτηση ήταν στην περιοχή 90% - 110% (βλ. Πίνακες 11 - 13).

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης δεν είναι ξεχωριστά διαγνωστικά για μία κλινική οντότητα, επομένως η οριακή τιμή ανάλυσης δεν μπορεί να εκτιμηθεί.

Πίνακας 11 Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης στο BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II				
Υποσύνολο λεμφοκυττάρων	Χαμηλότερος μη μηδενικός αριθμός κυττάρων (κύτταρα/μl)	$3 \times SD$ (SD)	LOD (κύτταρα/μl)	LOQ (κύτταρα/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

Πίνακας 12 Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης στο Beckman Coulter DxFLEx

Beckman Coulter DxFLEx				
Υποσύνολο λεμφοκυττάρων	Χαμηλότερος μη μηδενικός αριθμός κυττάρων (κύτταρα/μl)	$3 \times SD$ (SD)	LOD (κύτταρα/μl)	LOQ (κύτταρα/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

Πίνακας 13 Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης στο Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™				
Υποσύνολο λεμφοκυττάρων	Χαμηλότερος μη μηδενικός αριθμός κυττάρων (κύτταρα/μl)	3×SD (SD)	LOD (κύτταρα/μl)	LOQ (κύτταρα/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

Επαναληψιμότητα

Η επαναληψιμότητα της δοκιμασίας μετρήθηκε σε δέκα δείγματα αίματος σε εξάτυπα. Τα δείγματα αναλύθηκαν με χρήση κυτταρομέτρων ροής BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEx και Sysmex XF-1600™.

Συντελεστές διακύμανσης (CV) παρέχονται στους παρακάτω πίνακες (Πίνακες 14 - 16).

Πίνακας 14 Επαναληψιμότητα της συσκευής στο BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II					
Υποσύνολο λεμφοκυττάρων	Μονάδα	n	Μέσος όρος	SD	%CV
CD3+	%	10	70,34	0,56	0,91
	κύτταρα/μl	10	1396	10,22	
CD3+CD8+	%	10	23,11	0,27	1,25
	κύτταρα/μl	10	453	5,23	
CD3+CD4+	%	10	41,06	0,53	1,36
	κύτταρα/μl	10	808	9,71	
CD3-CD16+CD56+	%	10	16,35	0,40	2,43
	κύτταρα/μl	10	289	7,20	
CD3-CD19+	%	10	11,63	0,25	2,31
	κύτταρα/μl	10	227	4,78	

n = αριθμός δειγμάτων αίματος

Πίνακας 15 Επαναληψιμότητα της συσκευής στο Beckman Coulter DxFLEx

Beckman Coulter DxFLEx					
Υποσύνολο λεμφοκυττάρων	Μονάδα	n	Μέσος όρος	SD	%CV
CD3+	%	10	70,80	0,61	0,95
	κύτταρα/μl	10	1406	11,19	
CD3+CD8+	%	10	23,80	0,32	1,42
	κύτταρα/μl	10	468	6,12	
CD3+CD4+	%	10	40,81	0,56	1,47
	κύτταρα/μl	10	803	10,52	
CD3-CD16+CD56+	%	10	15,89	0,40	2,72
	κύτταρα/μl	10	282	7,23	
CD3-CD19+	%	10	11,68	0,32	2,83
	κύτταρα/μl	10	227	5,94	

n = αριθμός δειγμάτων αίματος

Πίνακας 16 Επαναληψιμότητα της συσκευής στο Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™					
Υποσύνολο λεμφοκυττάρων	Μονάδα	n	Μέσος όρος	SD	%CV
CD3+	%	10	69,15	0,89	1,39
	κύτταρα/μl	10	1151	14,62	
CD3+CD8+	%	10	23,12	0,36	1,72
	κύτταρα/μl	10	389	6,11	
CD3+CD4+	%	10	41,09	0,70	1,76
	κύτταρα/μl	10	680	11,39	
CD3-CD16+CD56+	%	10	18,40	0,56	2,71
	κύτταρα/μl	10	313	9,45	
CD3-CD19+	%	10	10,62	0,35	3,37
	κύτταρα/μl	10	173	5,56	

n = αριθμός δειγμάτων αίματος

Αναπαραγωγιμότητα

Η αναπαραγωγιμότητα της ανάλυσης σε BD FACSCanto™ II και Beckman Coulter DxFLEx μετρήθηκε σε 2 σταθεροποιημένα δείγματα αίματος (CD-Chex Plus® και CD-Chex Plus® CD4 Low από την STRECK). Η αναπαραγωγιμότητα της ανάλυσης στο Sysmex XF-1600™ μετρήθηκε σε 4 σταθεροποιημένα δείγματα αίματος (CD-Chex Plus® και CD-Chex Plus® CD4 Low και IMMUNO-TROL Low Cells και IMMUNO-TROL Cells από την Beckman Coulter). Τα δείγματα μετρήθηκαν υπό τις ίδιες συνθήκες για 15 ημέρες χρησιμοποιώντας 3 παρτίδες της Συσκευής (5 ημέρες η καθεμία). Οι συντελεστές διακύμανσης (CV) παρέχονται στους παρακάτω πίνακες (Πίνακας 17 - 19).

Πίνακας 17 Αναπαραγωγιμότητα της συσκευής στο BD FACSCanto™ II

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

Πίνακας 18 Αναπαραγωγιμότητα της συσκευής στο Beckman Coulter DxFLEx

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

Πίνακας 19 Αναπαραγωγιμότητα της συσκευής στο Sysmex XF-1600™

Υποσύνολο λεμφοκυττάρων	Υλικό	Μονάδα	Μέσος όρος	SD	CV (%)
CD3+	CD-Chex Plus®	%	78,50	0,33	0,43
		κύτταρα/μλ	1642	7,0	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	60,51	0,42	0,69
		κύτταρα/μλ	816	5,7	
	IMMUNO-TROL Cells	%	72,30	0,44	0,61
		κύτταρα/μλ	930	5,6	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	53,97	0,79	1,46
		κύτταρα/μλ	450	6,6	
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	22,39	0,20	0,88
		κύτταρα/μλ	468	4,1	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	41,85	0,54	1,29
		κύτταρα/μλ	565	7,3	
	IMMUNO-TROL Cells	%	24,06	0,28	1,14
		κύτταρα/μλ	309	3,5	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	33,99	0,76	2,23
		κύτταρα/μλ	283	6,3	
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	51,87	0,35	0,67
		κύτταρα/μλ	1085	7,2	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12,30	0,44	3,61
		κύτταρα/μλ	166	6,0	
	IMMUNO-TROL Cells	%	44,77	0,42	0,93
		κύτταρα/μλ	576	5,3	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	15,35	0,29	1,90
		κύτταρα/μλ	128	2,4	
CD3-CD16+ CD56+	CD-Chex Plus®	%	9,80	0,16	1,61
		κύτταρα/μλ	205	3,3	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	17,79	0,34	1,91
		κύτταρα/μλ	240	4,6	
	IMMUNO-TROL Cells	%	10,33	0,22	2,11
		κύτταρα/μλ	133	2,8	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	22,35	0,40	1,80
		κύτταρα/μλ	186	3,4	
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	10,06	0,17	1,74
		κύτταρα/μλ	210	3,7	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	19,70	0,31	1,61
		κύτταρα/μλ	260	4,2	
	IMMUNO-TROL Cells	%	12,92	0,32	2,48
		κύτταρα/μλ	166	4,1	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	17,31	0,51	2,97
		κύτταρα/μλ	144	4,3	

ΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: Όλα τα δεδομένα απόδοσης ανάλυσης μετρήθηκαν με χρήση διαλύματος λύσης ερυθροκυττάρων EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., Αρ. κατ. ED7066).

Για ανάλυση κυτταρομετρίας ροής χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα κυτταρόμετρα ροής, συμπεριλαμβανομένης της έκδοσης λογισμικού:

BD FACSCanto™ II	Λογισμικό BD FACSDiva – έκδοση 8.0.2
Beckman Coulter DxFLEx	CytExpert για DxFLEx – έκδοση 2.0.2.18
Sysmex XF-1600™	Λογισμικό IPU – έκδοση 0 (0.09-00)

Για απόλυτες μετρήσεις κυττάρων με χρήση της μεθόδου διπλής πλατφόρμας χρησιμοποιήθηκε αιματολογικός αναλυτής με τις ακόλουθες προδιαγραφές:

Sysmex XN-1000™	Λογισμικό IPU – έκδοση 00-22(164)
-----------------	-----------------------------------

Για την αξιολόγηση των δεδομένων μέτρησης χρησιμοποιήθηκε η ακόλουθη πλατφόρμα ανάλυσης:

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

12. Κλινική απόδοση

Ασθενείς με πρωτοπαθή ανοσοανεπάρκεια

Τα κλινικά δεδομένα συλλέχθηκαν σε κλινικό κέντρο από 30 ασθενείς με υποψία Κοινής Μεταβλητής Ανοσολογικής Ανεπάρκειας (CVID). Η κλινική απόδοση της συσκευής ED7733 προσδιορίστηκε ως σύγκριση της συσκευής KOMBITEST TBNK 6-color με χρήση διαλύματος λύσης ερυθροκυττάρων EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., Αρ. κα. ED7066) με διαπιστευμένη κλινική εργαστηριακή μέθοδο (AQUIOS CL Flow Cytometry System - Beckman Coulter, Inc.).

Τα αποτελέσματα αξιολόγησης της ανοσοποιητικής κατάστασης του ασθενούς αξιολογήθηκαν σε σχέση με την ανοσολογική ανεπάρκεια (Πίνακας 20).

Πίνακας 20 Κλινική απόδοση της συσκευής KOMBITEST TBNK 6-color – ασθενείς με COVID

		Η ανοσολογική κατάσταση αξιολογήθηκε με διαπιστευμένη κλινική εργαστηριακή μέθοδο	
		Ανοσολογική ανεπάρκεια	Κανονική κατάσταση
Η ανοσολογική κατάσταση αξιολογήθηκε από τη συσκευή KOMBITEST TBNK 6-color	Ανοσολογική ανεπάρκεια	24 ασθενείς	0 ασθενείς
	Κανονική κατάσταση	0 ασθενείς	6 ασθενείς

Ασθενείς με επίκτητη ανοσοανεπάρκεια

Τα κλινικά δεδομένα συλλέχθηκαν σε κλινική τοποθεσία σε 53 ασθενείς με επιβεβαιωμένη λοίμωξη από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV). Η κλινική απόδοση της συσκευής προσδιορίστηκε ως σύγκριση της συσκευής KOMBITEST TBNK 6-color με χρήση διαλύματος λύσης ερυθροκυττάρων EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., Αρ. κατ. ED7066) με διαπιστευμένη εσωτερική κλινική εργαστηριακή μέθοδο (συνδυασμός συζευγμένων αντισωμάτων ενός χρώματος από διαφορετικούς κατασκευαστές και ανάλυση στο BD FACSCanto™ II).

Τα αποτελέσματα αξιολόγησης της ανοσοποιητικής κατάστασης του ασθενούς αξιολογήθηκαν σε σχέση με την ανοσολογική ανεπάρκεια (Πίνακας 21).

Πίνακας 21 Κλινική απόδοση της συσκευής KOMBITEST TBNK 6-color – ασθενείς HIV

		Η ανοσολογική κατάσταση αξιολογήθηκε με διαπιστευμένη κλινική εργαστηριακή μέθοδο	
		Ανοσολογική ανεπάρκεια	Κανονική κατάσταση
Η ανοσολογική κατάσταση αξιολογήθηκε από τη συσκευή KOMBITEST TBNK 6-color	Ανοσολογική ανεπάρκεια	28 από 29 ασθενείς*	0 ασθενείς
	Κανονική κατάσταση	0 ασθενείς	24 ασθενείς

ΠΡΟΣΟΧΗ:

*Η συσκευή KOMBITEST TBNK 6-color έδειξε χρώση μη επαρκή για διακριτό διαχωρισμό των T κυττάρων (CD3+) σε έναν (1) ασθενή με HIV σε κρίσιμη κατάσταση υγείας.

13. Αναμενόμενες τιμές

Διάστημα αναφοράς

Πίνακας 22 Διαστήματα αναφοράς υγιών αιμοδοτών που μετρήθηκαν στο BD FACSCanto™ II

Υποσύνολο λεμφοκυττάρων	n	Μονάδα	Εύρος		Διάμεσος
			Ελάχιστο	Μέγιστο	
CD3+	65	%	49,0	84,9	72,4
	65	κύτταρα/μl	608	2415	1269
CD3+CD8+	65	%	10,4	40,2	22,2
	65	κύτταρα/μl	127	1075	405
CD3+CD4+	65	%	28,1	62,6	43,3
	65	κύτταρα/μl	321	1463	785
CD3-CD16+CD56+	65	%	3,5	38,9	15,8
	65	κύτταρα/μl	84	1036	266
CD3-CD19+	65	%	5,4	25,0	10,6
	65	κύτταρα/μl	74	404	209

n = αριθμός δειγμάτων αίματος

Τα διαστήματα αναφοράς του πίνακα 22 καθορίστηκαν σε υγιείς ασθενείς που θεωρούνταν αιμοδότες σύμφωνα με τη νομοθεσία της Τσεχικής Δημοκρατίας, καθώς πληρούσαν τα αυστηρά κριτήρια αιμοδότη για μια τράπεζα αίματος. Τα δεδομένα μετρήθηκαν στο κυτταρόμετρο ροής BD FACSCanto™ II.

Τα συγκεκριμένα εύρη αναφοράς μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με την περιοχή και τον πληθυσμό στον οποίο καθορίστηκαν οι τιμές. Για τον λόγο αυτό, τα εργαστήρια πρέπει να καθορίσουν τα δικά τους φυσιολογικά διαστήματα αναφοράς για τα υποσύνολα λεμφοκυττάρων που προσδιορίζονται με τη χρήση του KOMBITEST TBNK 6-color από τον τοπικό πληθυσμό φυσιολογικών δοτών λόγω των διακυμάνσεων των τιμών που σχετίζονται με την ηλικία, το φύλο, τα κλινικά χαρακτηριστικά και την εθνικότητα.

14. Περιορισμοί

Η συσκευή KOMBITEST TBNK 6-color δεν έχει επικυρωθεί για χρήση σε δείγματα που συλλέγονται με ηπαρίνη ή αντιπηκτικά με κιτρική όξινη δεξτρόζη (ACD) για τον προσδιορισμό των σχετικών και απόλυτων μετρήσεων.

Η συσκευή KOMBITEST TBNK 6-color δεν προορίζεται για διαλογή ή/και προσδιορισμό φαινότυπου δειγμάτων λευχαιμίας και λεμφώματος.

Οι απόλυτες μετρήσεις δεν είναι συγκρίσιμες μεταξύ εργαστηρίων που χρησιμοποιούν διαφορετικό εξοπλισμό από διάφορους κατασκευαστές.

15. Βιβλιογραφία

- 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 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, *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. Περίληψη των χαρακτηριστικών ασφάλειας και των επιδόσεων

Η Περίληψη των χαρακτηριστικών ασφάλειας και των επιδόσεων θα είναι διαθέσιμη στη βάση δεδομένων της Eudamed στη διεύθυνση <https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home>. Μέχρι τότε η περίληψη των χαρακτηριστικών ασφάλειας και των επιδόσεων είναι διαθέσιμη κατόπιν αιτήματος.

17. Χρήση εμπορικών σημάτων τρίτων

Τα BD FASCanto™ II, BD FACSLytic™, BD Multitest™ και FlowJo™ είναι σήματα κατατεθέντα της Becton, Dickinson and Company. το CD-Chex Plus® είναι σήμα κατατεθέν της Streck. το Cy™ είναι σήμα κατατεθέν της Cytiva. τα CyLyse™ FX, Sysmex XN-1000™ και Sysmex XF-1600™ είναι σήματα κατατεθέντα της Sysmex Corporation. το VenturiOne® είναι σήμα κατατεθέν της Applied Cytometry. το Infinicyt™ είναι σήμα κατατεθέν της Cytognos SL.

18. Ιστορικό αναθεώρησης

Έκδοση , ED7733_IFU_v4

Διόρθωση κειμένου στην ενότητα «Πλαίσιο φυσιολογικής ή παθολογικής κατάστασης». Ακριβέστερη περιγραφή του κεφαλαίου 13. Αναμενόμενες τιμές - Διάστημα αναφοράς.

19. Κατασκευαστής

EXBIO Praha, a.s.

Nad Safinou II 341

25250 Vestec

Τσεχική Δημοκρατία

Στοιχεία επικοινωνίας

info@exbio.cz

technical@exbio.cz

orders@exbio.cz

www.exbio.cz

20. Εξουσιοδοτημένοι Αντιπρόσωποι

N/A

ΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: Κάθε σοβαρό περιστατικό που προκύπτει σε σχέση με τη συσκευή θα πρέπει να αναφέρεται στον κατασκευαστή και στην τοπική αρμόδια αρχή.