

# exbio

## KOMBITEST T Cell 4-color 50 Tests | Kat. Nr. ED7734



### Gebrauchsanweisung (DE)

Version: ED7734\_IFU\_v1\_DE

Ausgabedatum: 13-12-2022

In der Gerätekennzeichnung verwendete Symbole

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

## 1. Verwendungszweck

KOMBITEST T Cell 4-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 T Cell 4-color erkennt und misst den relativen Anteil und die absolute Anzahl menschlicher T-Zellen (CD3+), 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) <sup>(1, 4, 6, 8)</sup>
- erbliche Immundefekte <sup>(2, 3, 4, 10, 11, 12, 14)</sup>
- Autoimmunkrankheiten <sup>(5)</sup>

### 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 T Cell 4-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 / CD45 PerCP / CD4 APC / CD8 PE, 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	APC	MEM-241	IgG1	1.5
CD8	PE	LT8	IgG1	0.6
CD45	PerCP	MEM-28	IgG1	5

## 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	488	677
APC	630 – 640	660

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

## 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](http://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 T Cell 4-color allein ist keine Zählung der absoluten Zellzahlen möglich.

Blutproben mit einer Anzahl an weißen Blutkörperchen von mehr als  $40 \times 10^3$  Zellen/ $\mu\text{l}$  müssen vor der Probenverarbeitung mit PBS verdünnt werden.

Verarbeiten Sie die Blutprobe spätestens 24 Stunden nach der Entnahme.

## 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 Flüssigkeitsspende 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 T Cell 4-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 T Cell 4-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 Blutausrich 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 T Cell 4-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.

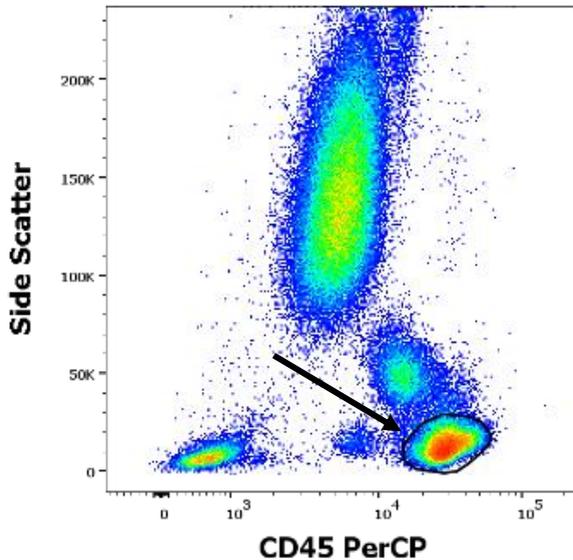
Kompensieren Sie Fluoreszenzsignale zwischen den Detektoren vor oder nach der Datenerfassung. Die Daten können falsch interpretiert werden, wenn die Fluoreszenzsignale nicht richtig kompensiert oder die Gates nicht richtig positioniert sind.

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 T Cell 4-color gefärbten Probe

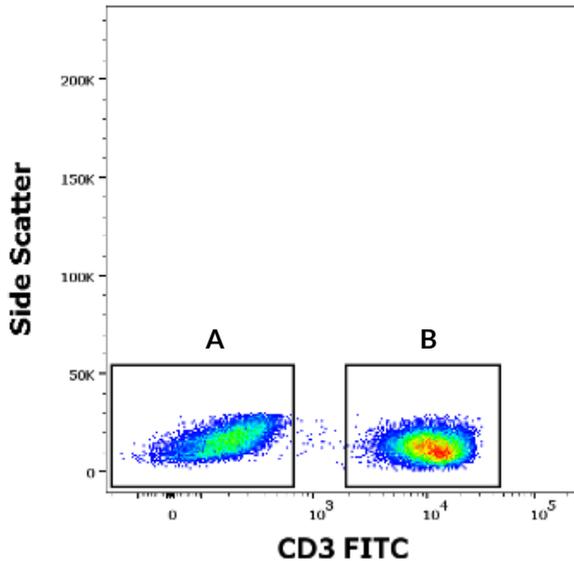
Lassen Sie sich Seitwärtsstreuung (SSC) gegen CD45 PerCP der kompensierten Daten anzeigen. Setzen Sie das Gate für die CD45+-Lymphozytenpopulation wie in Abbildung 1 gezeigt.

Abbildung 1 Abgrenzung der CD45+-Lymphozytenpopulation



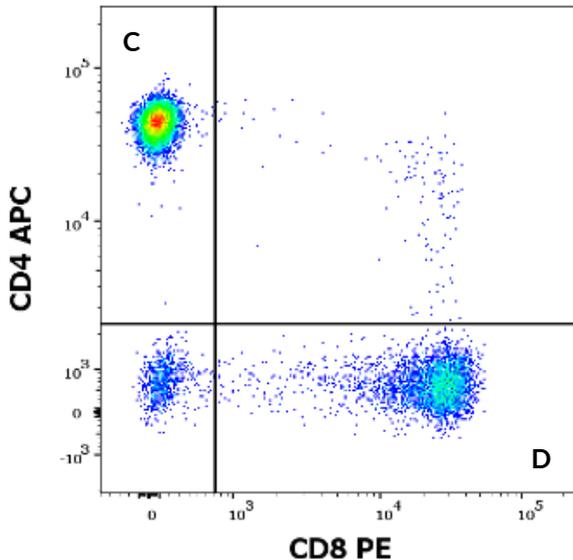
Stellen Sie die löschen CD45+ -Lymphozyten als Seitwärtsstreulicht (SSC) gegen CD3 FITC dar, wie in Abbildung 2 dargestellt. Trennen Sie CD3+ - und CD3- -Lymphozyten mithilfe entsprechender Gates. Berechnen Sie den Prozentsatz der T-Zellen (CD3+; Region B in Abbildung 2) aus allen Lymphozyten.

**Abbildung 2** Trennung von CD3+ - und CD3- -Lymphozyten



Stellen Sie die löschen T-Zellen (CD3+; Region B in Abbildung 2) als CD4 APC gegenüber CD8 PE dar, wie in Abbildung 3 gezeigt. Setzen Sie entsprechende Gates und berechnen Sie den Prozentsatz der Helfer-/Induktor-T-Zellen (CD4+CD8-; Region C in Abbildung 3) und der Suppressor-/zytotoxischen T-Zellen (CD4-CD8+; Region D in Abbildung 3) aus allen Lymphozyten.

**Abbildung 3** CD3+-Lymphozyten in einem Punktdiagramm CD4 APC vs. CD8 PE



### **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.

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

A = absolute Lymphozytenzahl (Daten vom Hämatologie-Analysegerät; Zellen/ $\mu$ l)

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 <sup>(13)</sup> und Workshop HLDA VII <sup>(7)</sup>).

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 <sup>(9)</sup>).

### Genauigkeit

Die Genauigkeit der Methode wurde durch einen Vergleich des Produkts KOMBITEST T Cell 4-color mit ähnlichen auf dem Markt erhältlichen Produkten oder mit anderen ausführlich dokumentierten Methoden durch parallele Färbung von Proben von 44 gesunden Spendern und 104 Patienten mit Verdacht auf eine Erkrankung des Immunsystems ermittelt. Die Parameter der linearen Regressionsanalyse sind in Tabelle 3 und 4 aufgeführt.

**Tabelle 3** Lineare Regressionsanalyse für Lymphozyten-Untergruppen bei gesunden Spendern (Vergleich des Produkts KOMBITEST T Cell 4-color mit dem IVD-Produkt BD Multitest™ CD3/CD8/CD45/CD4 (Kat.- Nr. 342417))

Lymphozyten-Untergruppe	Einheit	n	Steigung	Schnittpunkt	R <sup>2</sup>	Bereich
CD3+	%	44	1.00	-0.005	0.97	49.80 - 84.67
	Zellen/μl	44	0.99	9.320	0.99	620 - 2187
CD3+CD8+	%	44	1.02	0.004	0.98	10.37 - 45.57
	Zellen/μl	44	1.01	-3.216	1.00	151 - 1048
CD3+CD4+	%	44	1.04	-0.018	0.97	26.43 - 60.30
	Zellen/μl	44	0.99	-1.259	0.98	337 - 1633

n = Anzahl Blutproben

**Tabelle 4** Lineare Regressionsanalyse für Lymphozyten-Untergruppen bei Patienten mit Verdacht auf Erkrankungen des Immunsystems (Vergleich von KOMBITEST T Cell 4-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 <sup>2</sup>	Bereich
CD3+	%	104	1.040	-2.593	0.98	23.0 - 93.5
	Zellen/μl	104	1.040	-0.067	0.96	362 - 5161
CD3+CD8+	%	104	1.045	-1.355	0.99	9.0 - 80.7
	Zellen/μl	104	1.094	-0.067	0.95	152 - 3732
CD3+CD4+	%	104	0.985	0.029	0.99	1.4 - 67.0
	Zellen/μl	104	0.980	-0.004	0.99	8 - 2818

### Linearität

Die Linearität der Methode wurde an 10 seriellen Verdünnungen einer mit Leukozyten angereicherten Blutprobe (Buffy Coat) nachgewiesen. Die Zellproben wurden mit KOMBITEST T Cell 4-color in Hexaplikaten gefärbt. Die Proben wurden mit den Durchflusszytometern BD FACSCanto™ II und Beckman Coulter DxFLEX analysiert. Die gemessenen Daten für die angegebenen Lymphozyten-Untergruppen wurden als linear über den Lymphozytenbereich 40 - 10546 Zellen/μl mit BD FACSCanto™ II und 15 - 10519 Zellen/μl mit Beckman Coulter DxFLEX ermittelt. Die Zelluntergruppen lagen in den in den Tabellen 5 und 6 angegebenen Bereichen.

**Tabelle 5** Lineare Bereiche von Lymphozyten-Untergruppen, die mit BD FACSCanto™ II analysiert wurden

BD FACSCanto™ II	
Lymphozyten-Untergruppe	Bereich (Zellen/ $\mu$ l)
CD3+	31 - 7302
CD3+CD8+	9 - 2182
CD3+CD4+	17 - 4080

**Tabelle 6** Lineare Bereiche von Lymphozyten-Untergruppen, die mit Beckman Coulter DxFLEX analysiert wurden

Beckman Coulter DxFLEX	
Lymphozyten-Untergruppe	Bereich (Zellen/ $\mu$ l)
CD3+	10 - 7268
CD3+CD8+	3 - 2297
CD3+CD4+	6 - 3940

## Wiederholbarkeit

Die Wiederholbarkeit des Testverfahrens wurde an 10 Blutproben in Hexaplikaten gemessen. Die Proben wurden mit den Durchflusszytometern BD FACSCanto™ II und Beckman Coulter DxFLEX analysiert. Die Variationskoeffizienten (Coefficients of Variation/CV) sind in den folgenden Tabellen aufgeführt (Tabelle 7 und 8).

**Tabelle 7** Wiederholbarkeit des Produkts mit BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II					
Lymphozyten-Untergruppe	Einheit	n	Durchschnitt	SD	% CV
CD3+	%	10	69.27	0.34	0.51
	Zellen/ $\mu$ l	10	1408	7.30	0.51
CD3+CD8+	%	10	22.40	0.23	1.16
	Zellen/ $\mu$ l	10	449	4.70	1.16
CD3+CD4+	%	10	42.21	0.28	0.68
	Zellen/ $\mu$ l	10	864	6.04	0.68

**Tabelle 8** Wiederholbarkeit des Produkts mit Beckman Coulter DxFLEX

Beckman Coulter DxFLEX					
Lymphozyten-Untergruppe	Einheit	n	Durchschnitt	SD	% CV
CD3+	%	10	68.26	0.43	0.67
	Zellen/ $\mu$ l	10	1389	10.12	0.67
CD3+CD8+	%	10	22.61	0.23	1.15
	Zellen/ $\mu$ l	10	454	4.62	1.15
CD3+CD4+	%	10	41.04	0.45	1.09
	Zellen/ $\mu$ l	10	842	10.09	1.09

**Reproduzierbarkeit**

Die Reproduzierbarkeit des Testverfahrens wurde an 2 stabilisierten Blutproben (CD-Chex Plus® und CD-Chex Plus® CD4 Low) unter den gleichen Bedingungen für 15 Tage mit 3 Exemplaren des Geräts (jeweils 5 Tage) gemessen. Die Proben wurden mit den Durchflusszytometern BD FACSCanto™ II und Beckman Coulter DxFLEX analysiert. Die Variationskoeffizienten (CV) sind in den folgenden Tabellen aufgeführt (Tabelle 9 und 10).

**Tabelle 9** Reproduzierbarkeit des Produkts mit BD FACSCanto™ II

Lymphozyten-Untergruppe	Material	Einheit	Durchschnitt	SD	% CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	76.60	0.35	0.45
		Zellen/ $\mu$ l	1888	8.55	0.45
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	60.07	0.40	0.67
		Zellen/ $\mu$ l	872	5.82	0.67
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	23.68	0.24	1.03
		Zellen/ $\mu$ l	584	5.99	1.03
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	42.19	0.28	0.67
		Zellen/ $\mu$ l	612	4.09	0.67
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	48.99	0.37	0.75
		Zellen/ $\mu$ l	1209	9.05	0.75
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12.77	0.26	2.03
		Zellen/ $\mu$ l	185	3.76	2.03

**Tabelle 10** Reproduzierbarkeit des Produkts mit Beckman Coulter DxFLEx

Lymphozyten-Untergruppe	Material	Einheit	Durchschnitt	SD	% CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	76.67	0.44	0.58
		Zellen/ $\mu$ l	1891	10.9	0.58
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	60.36	0.39	0.64
		Zellen/ $\mu$ l	876	5.63	0.64
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	23.79	0.32	1.34
		Zellen/ $\mu$ l	567	7.85	1.34
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	42.91	0.36	0.84
		Zellen/ $\mu$ l	623	5.21	0.84
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	48.70	0.40	0.83
		Zellen/ $\mu$ l	1201	9.95	0.83
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12.59	0.21	1.65
		Zellen/ $\mu$ l	183	3.02	1.65

## 12. Klinische Leistung

### 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 T Cell 4-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 11).

**Tabelle 11** Klinische Leistung des Produkts KOMBITEST T Cell 4-color – HIV-Patienten

		Beurteilung des Immunstatus durch eine anerkannte interne klinische Labormethode	
		Immundefizienz	Normalzustand
Immunstatus bewertet mit dem Produkt ED7734 KOMBITEST T Cell 4-color	Immundefizienz	28 von 29 Patienten*	0 Patienten
	Normalzustand	0 Patienten	24 Patienten

\*Das Produkt ED7734 KOMBITEST T Cell 4-color konnte bei einem (1) HIV-Patienten mit kritischem Gesundheitszustand kein CD3-Antigen auf T-Lymphozyten färben.

## 13. Erwartete Werte

### Referenzintervall

Die Referenzintervalle für das Produkt KOMBITEST T Cell 4-color wurden in einer Probandenkohorte unter Verwendung der Erythrozytenlyselösung (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., Kat.- Nr. ED7066) und dem Durchflusszytometer BD FACSLyric™ ermittelt. Die Probanden waren gesunde, unauffällige Erwachsene (Blutspender).

**Tabelle 12** Repräsentative Referenzintervalle für KOMBITEST T Cell 4-color

Lymphozyten-Untergruppe	Einheit	n	Durchschnitt	95%-Bereich
CD3+	%	44	70.08	52.47 – 87.69
	Zellen/µl	44	1366	616 – 2117
CD3+CD8+	%	44	23.34	7.38 – 39.30
	Zellen/µl	44	464	18 – 910
CD3+CD4+	%	44	42.57	23.55 – 61.58
	Zellen/µl	44	820	333 – 1306

**VORSICHT:** Die mit dem Gerät angegebenen Werte dienen lediglich als Richtwerte. Jedes Labor muss seine eigenen Referenzintervalle anhand der

lokalen Population von unauffälligen Spendern bestimmen.

## 14. Störende Substanzen und Einschränkungen

Das Produkt KOMBITEST T Cell 4-color wurde nicht zur Verwendung in Proben validiert, die mit Heparin oder saurer Zitratdextrose (ACD) als Antikoagulanzen für die Bestimmung der relativen und absoluten Anzahl entnommen wurden.

KOMBITEST T Cell 4-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) 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
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) McMichael AJ. ed. *Leucocyte Typing III: 54 White Cell Differentiation*

Antigens. New York. NY: Oxford University Press; 1987.

- 10) 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.
- 11) 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.
- 12) 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.
- 13) Schlossman SF. Boumsell L. Gilks W. et al. eds.: Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens. New York. NY: Oxford University Press; 1995.
- 14) 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.

## 16. Marken

BD FACSCanto™ II, BD FACSLytic™, BD Multitest™ und FlowJo™ sind eingetragene Marken von Becton, Dickinson and Company. CD-Chex Plus® ist eine eingetragene Marke von Streck. Sysmex™ ist eine eingetragene Marke von Sysmex Corporation. VenturiOne® ist eine eingetragene Marke von Applied Cytometry. Infinicyt™ ist eine eingetragene Marke von Cytognos S.L.

## 17. Revisionsverlauf

Version 1, ED7734\_IFU\_v1

Erste Veröffentlichung

## 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](http://www.eumediq.eu)

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