

exbio

KOMBITEST TBNK 6-color
50 testova | Kat. br. ED7733

IVD CE 2265

Upute za uporabu (HR)

Verzija: ED7733_IFU_v4_EN
Datum izdavanja: 17-04-2025

Simboli korišteni na označavanju proizvoda

IVD	Medicinski proizvod za in vitro dijagnostiku		Ograničenje temperature
CE 2265	CE oznaka sukladnosti Identifikacijski broj prijavljenog tijela		Čuvati zaštićeno od sunčeve svjetlosti
	Proizvođač	UKCA	UKCA oznaka
UDI	Jedinstvena identifikacijska oznaka proizvoda		
	Vidjeti upute za uporabu		
	Sadrži dovoljno za <n> testova		
REF	Kataloški broj		
LOT	Broj serije		
	Rok uporabe		

1. Namjena

KOMBITEST TBNK 6-color namijenjen je otkrivanju i brojanju populacija i podskupina limfocita u punoj ljudskoj krvi protočnom citometrijom.

Što se otkriva i/ili mjeri

Proizvod KOMBITEST TBNK 6-color otkriva i mjeri relativne postotke i apsolutne brojeve ljudskih T-stanica (CD3+), B-stanica (CD3-CD19+), NK-stanica (CD3-CD16+56+), pomoćničkih/induktorskih (CD3+CD4+) i supresorskih/citotoksičnih (CD3+CD8+) podskupina T-stanica.

Funkcija proizvoda

Proizvod je namijenjen uporabi u imunološkoj procjeni zdravih bolesnika i može pomoći u dijagnosticiranju bolesnika koji imaju ili se sumnja da imaju imunodeficienciju.

Povezanost s fiziološkim ili patološkim stanjem

Na učestalost populacija limfocita izmjerenih proizvodom mogu utjecati razna patološka stanja, a procjena njihovih postotaka i brojeva može se koristiti u procjeni:

- CD3+/CD4+ pomoćničkih/induktorskih T-stanica u praćenju HIV-a ^(1, 4, 7, 9)
- CD3+/CD8+ citotoksičnih T-stanica u virusnim infekcijama i nasljednim imunodeficiencijama ^(2, 3, 4, 11, 12, 15, 17)
- CD3-/CD19+ B-stanica u autoimunim bolestima ^(5, 6)
- CD3-/CD16+56+ NK-stanica u urođenoj imunosti i imunološkim nedostacima ^(13, 14)

Vrsta testa

Nije automatizirano

Kvantitativno

Potrebna vrsta uzorka

Uzorak pune periferne ljudske krvi s antikoagulansom

Ispitivana populacija

Nije namijenjeno određenoj populaciji.

2. Predviđeni korisnik

Proizvod je namijenjen isključivo za profesionalnu laboratorijsku uporabu. Nije namijenjen za testiranje uz bolesnika ili samotestiranje.

Zahtjevi za kvalifikacije

Predviđeni korisnik mora posjedovati suvremeno stručno znanje u analizi ljudskih stanica protočnom citometrijom, standardnim laboratorijskim tehnikama, uključujući vještine pipetiranja, te sigurnim i pravilnim rukovanjem uzorcima ljudskog podrijetla.

Predviđeni korisnik mora biti u skladu s normom EN ISO 15189 ili drugim primjenjivim nacionalnim normama.

3. Načelo testa

Načelo testa temelji se na otkrivanju vezanja monoklonskog protutijela za specifičnu molekulu (antigen) koju ekspimiraju određene ljudske krvne stanice. Monoklonska protutijela korištena u testu obilježena su različitim fluorokromima koje pobuđuje laserska zraka protočnog citometra tijekom prikupljanja uzorka krvi obojenog protutijelom. Naknadna fluorescencija (emisija svjetlosti) svakog fluorokroma prisutnog na prikupljenoj krvnoj stanici prikuplja se i analizira instrumentom. Intenzitet fluorescencije izravno je proporcionalan gustoći ekspresije antigena u stanici, što omogućuje razdvajanje različitih podskupina stanica.

4. Isporučeni reagens(i)

Sadržaj

Proizvod KOMBITEST TBNK 6-color dostatan je za 50 testova te se isporučuje sa sljedećim reagensom:

1 bočica (1 ml) koja sadrži unaprijed pomiješanu kombinaciju monoklonskih protutijela obilježenih fluorokromom CD3 FITC / CD16 PE + CD56 PE / CD45 PerCP-Cy™5.5 / CD4 PE-Cy™7 / CD19 APC / CD8 APC-Cy™7, razrijeđenih u optimalnim koncentracijama u stabilizirajućoj fosfatno puferiranoj fiziološkoj otopini (PBS) koja sadrži 15 mM natrijevog azida i 0,2% goveđeg serumskog albumina (BSA).

Sastav

Tablica 1 Opis aktivnih komponenti

Antigen	Fluorokrom	Klon	Izotip	Koncentracija (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. Materijali potrebni, ali koji nisu isporučeni

Epruvete s okruglim dnom (12 x 75 mm)

Otopina za lizu eritrocita (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., kat. br. ED7066 ili CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, kat. br. BD303500)

Deionizirana voda (kvaliteta za reagense)

Stanice za kontrolu procesa (Streck CD-Chex Plus®, kat. br. 213323 ili ekvivalentna kontrola stanica koje se mogu lizirati)

6. Potrebna oprema

Automatska pipeta s jednokratnim nastavcima (20-100 µl) za pipetiranje uzorka i reagensa

Dozator tekućine ili pipeta s jednokratnim nastavcima (0,5-2 ml) za doziranje otopine za lizu eritrocita

Vorteks mješalica

Hematološki analizator (za apsolutne brojeve stanica) sposoban za brojanje leukocita (WBC) i limfocita po µl uzorka

Protočni citometar s dva izvora laserske pobude (488 nm i ~635 nm), detektorima za raspršeno svjetlo, optičkim filtrima i detektorima emisije prikladnima za prikupljanje signala od fluorokroma navedenih u Tablici 2.

Tablica 2 Spektralne karakteristike fluorokroma korištenih u proizvodu

Fluorokrom	Pobuda [nm]	Emisija [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

NAPOMENA: Proizvod je testiran na protočnim citometrima BD FACSCanto™ II (BD Biosciences), DxFLEX (Beckman Coulter) i Sysmex XF-1600™ (Sysmex Corporation).

7. Skladištenje i rukovanje

Čuvati na 2-8 °C.

Izbjegavati dugotrajno izlaganje svjetlu.

Ne zamrzavati.

Vidjeti Odjeljak 10 Postupak (Priprema reagensa) za informacije o stabilnosti

tijekom uporabe i roku uporabe nakon prvog otvaranja, zajedno s uvjetima skladištenja i stabilnošću radnih otopina (gdje je primjenjivo).

8. Upozorenja, mjere opreza i ograničenja uporabe

GHS klasifikacija opasnosti

Vidjeti sigurnosno-tehnički list (STL) dostupan na stranici proizvođača na www.exbio.cz za potpune informacije o rizicima koje predstavljaju kemijske tvari i smjese sadržane u Proizvodu te o tome kako se njima treba rukovati i kako ih zbrinuti.

Biološka opasnost

Ljudski biološki uzorci i uzorci krvi, kao i svi materijali koji dođu u dodir s njima, uvijek se smatraju zaraznim materijalom.

Koristiti osobnu zaštitnu i sigurnosnu opremu kako bi se izbjegao kontakt s kožom, očima i sluznicama.

Slijediti sve primjenjive zakone, propise i postupke za rukovanje zaraznim materijalom i njegovo zbrinjavanje.

Znakovi propadanja

Normalni izgled isporučenog reagensa je bistra tekućina. Ne koristiti reagens ako se uoči bilo kakva promjena izgleda, primjerice замуćenost ili znakovi taloženja.

Ograničenje uporabe

Ne koristiti nakon isteka roka uporabe navedenog na naljepnicama proizvođača.

9. Uzorak

Koristiti perifernu vensku krv prikupljenu u spremnik za uzorke klasificiran kao medicinski proizvod, s antikoagulantom EDTA.

NAPOMENA: Odredite apsolutni broj leukocita i broj limfocita u prikupljenom uzorku krvi hematološkim analizatorom. Proizvod KOMBITEST TBNK 6-color sam po sebi ne daje brojanje apsolutnih brojeva stanica.

Uzorak krvi s brojem leukocita koji prelazi 40×10^3 stanica/ μ l zahtijeva razrjeđivanje s PBS-om prije obrade uzorka.

Obraditi uzorak krvi najkasnije 24 sata nakon prikupljanja. Čuvati uzorak na laboratorijskoj temperaturi (20-25°C). Uzorak se ne smije hladiti.

Endogena interferencija

Na temelju istraživanja znanstvene literature, izvori endogene interferencije identificirani su u Tablici 3.

Tablica 3 Endogena interferencija proizvoda

Endogena interferencija	Utjecaj	Referenca
Albumin	Albumin može smetati u visokim koncentracijama zbog svoje sposobnosti vezanja i oslobađanja velikih količina liganada.	18, 19, 35
Bilirubin (ikterus) (nekonjugirani)	Bilirubin može povećati fluorescentnu pozadinu stanica zbog svoje visoke autofluorescencije.	22, 24, 28
Stanični otpad (nakon lize)	Stanični otpad može dati netočne brojeve stanica i smanjiti količinu protutijela u proizvodu.	21, 25
Eritrociti	Nedovoljna liza, prisutnost crvenih krvnih stanica u uzorku može dati pogrešno brojanje stanica.	26
Hemoglobin	Hemolizirani uzorci mogu dati pogrešne rezultate.	23
Ljudska anti-mišja protutijela	Liječenje monoklonskim protutijelom može dati pogrešne rezultate (sposobnost vezanja za antigene na površini stanice).	20, 30, 31, 32, 33, 34
Imunoglobulini	Ne mogu se isprati u metodi s jednom platformom i mogu dati pogrešan broj podskupina limfocita.	21
Reumatoidni faktori	Prisutnost RF ometa MIA (multipleksne imunotestove).	27
Trigliceridi	Visoke razine lipida u cirkulaciji mogu utjecati na protočnu citometrijsku analizu određenih populacija krvnih stanica.	29

Egzogena interferencija

Uzorak stariji od 24 sata može dati pogrešne rezultate.

Ohlađeni uzorak može dati pogrešne rezultate.

Nepravilna priprema otopine za lizu eritrocita (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., kat. br. ED7066 ili CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, kat. br. BD303500) može dati pogrešne rezultate. Slijedite upute proizvođača za uporabu otopine za lizu eritrocita.

10. Postupak

Priprema isporučenog reagensa (reagensa)

Priprema reagensa nije potrebna.

Prije uporabe ostaviti reagens da dosegne sobnu temperaturu. Držite primarni spremnik proizvoda suhim.

Koristite reagens izravno iz njegovog izvornog primarnog spremnika. Vrijeme tijekom kojeg je reagens u uporabi (izložen svjetlu i povišenoj temperaturi) ne smije prelaziti 4 sata dnevno.

Nakon prvog otvaranja reagens zadržava svoja radna svojstva do isteka roka uporabe, ako se čuva pod navedenim uvjetima u izvornom primarnom spremniku.

OPREZ: Ne razrjeđivati reagens.

Priprema materijala potrebnih, ali koji nisu isporučeni

Razrijediti koncentriranu otopinu za lizu eritrocita deioniziranom vodom prema uputama proizvođača. Razrijeđena (1X) otopina za lizu eritrocita stabilna je 1 mjesec ako se čuva u dozatoru tekućine ili zatvorenom spremniku pri sobnoj temperaturi.

Kontrola kvalitete

Koristiti Streck CD-Chex Plus® ili ekvivalentne kontrolne stanice kao pozitivnu proceduralnu kontrolu kako bi se osiguralo pravilno funkcioniranje proizvoda kako je predviđeno. Streck CD-Chex Plus® pruža utvrđene vrijednosti za postotak pozitivnih i apsolutne brojeve T-stanica, B-stanica, granulocita, monocita i NK-stanica, uključujući dvije klinički relevantne razine CD4+ stanica.

Obojiti kontrolne stanice reagensom KOMBITEST TBNK 6-color prema obradi uzorka kako je navedeno u uputama za uporabu. Provjeriti jesu li dobiveni rezultati (% pozitivnih stanica) unutar očekivanog raspona navedenog za korištenu seriju kontrolnih stanica.

Bojenje uzorka

1. Za svaki uzorak označite epruvetu s okruglim dnom (12 × 75 mm) odgovarajućom identifikacijom uzorka.
2. Pipetirajte 20 µl reagensa KOMBITEST TBNK 6-color na dno epruvete 12 x 75 mm.
3. Pipetirajte 50 µl dobro izmiješanog uzorka krvi na dno epruvete.

OPREZ: Izbjegavajte pipetiranje krvi na stranu epruvete. Ako razmaz krvi ili kapljica ostane na strani epruvete, možda se neće obojiti reagensom ili se eritrociti možda neće lizirati te rezultat testa možda neće biti valjan.

4. Promiješajte na vorteksu i inkubirajte epruvetu 20 minuta pri sobnoj temperaturi u mraku.
5. Dodajte 500 µl razrijeđene (1X) otopine za lizu u epruvetu.
6. Promiješajte na vorteksu i inkubirajte epruvetu 10 minuta pri sobnoj temperaturi u mraku.

Odmah analizirajte obojeni uzorak na protočnom citometru. Ako se obojeni uzorak neće odmah analizirati, čuvati na 2-8 °C u mraku i analizirati unutar 24 sata.

OPREZ: Promiješajte obojeni uzorak na vorteksu neposredno prije analize na protočnom citometru kako biste izbjegli agregate.

Analiza protočnom citometrijom

Protočni citometar odabran za uporabu s proizvodom KOMBITEST TBNK 6-color mora se redovito baždariti pomoću fluorescentnih mikrokuglica kako bi se osigurala stabilna osjetljivost detektora prema uputama proizvođača citometra.

Ako se ne održava pravilno, protočni citometar može dati lažne rezultate.

Pogledati specifikacije proizvođača citometra za lasere i detektore fluorescencije prema karakteristikama pobude i emisije fluorokroma u Odjeljak 6 Potrebna oprema.

Postaviti napone na relevantnim detektorima fluorescencije prije analize obojenog uzorka. Napon na PMT detektoru treba postaviti dovoljno visoko, tako da minimalan broj negativno obojenih događaja ometa kanal 0 na osi fluorescencije. Također, napon PMT detektora ne smije premašiti vrijednosti pri kojima se pozitivni događaji guraju prema desnoj osi.

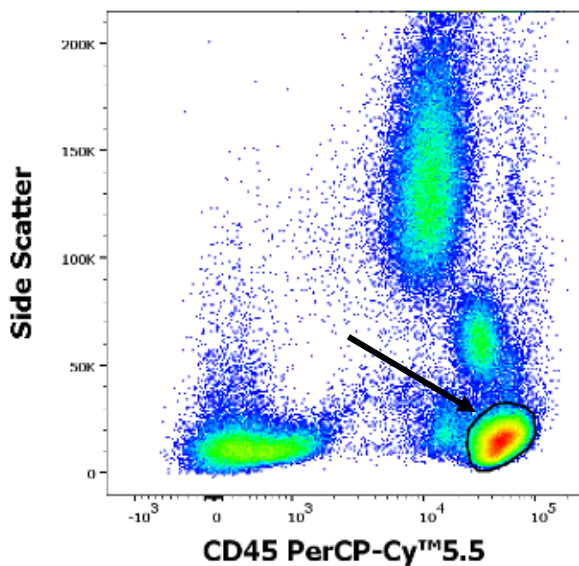
Kompenzirati signale fluorescencije između detektora prije ili nakon prikupljanja podataka. Podaci se mogu pogrešno protumačiti ako su signali fluorescencije nepravilno kompenzirani ili ako su vrata netočno postavljena.

Za analizu izmjerenih podataka moguće je koristiti softver citometra koji je razvio proizvođač ili softver namijenjen izvanmrežnoj analizi podataka citometrije (na primjer FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

Analiza podataka KOMBITEST TBNK 6-color obojenog uzorka

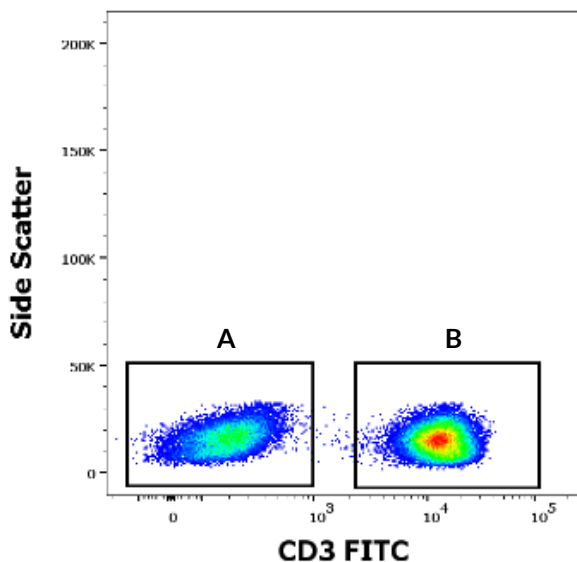
Vizualizirati kompenzirane podatke na dijagramu bočnog raspršenja (SSC) naspram CD45 PerCP-CyTM5.5. Postaviti vrata za populaciju CD45+ limfocita kao što je prikazano na Slici 1.

Slika 1 Razgraničenje populacije CD45+ limfocita
(podaci prikupljeni na BD FACSCantoTM II)



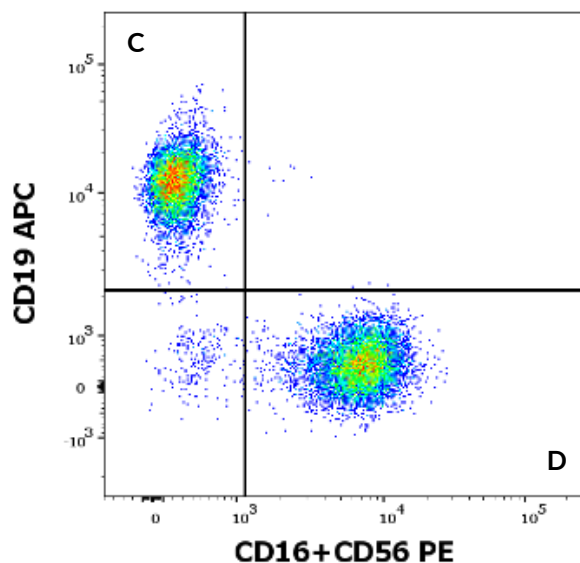
Prikazati gatirane CD45+ limfocite na dijagramu bočnog raspršenja (SSC) naspram CD3 FITC kao što je prikazano na Slici 2. Odvojiti CD3+ i CD3- limfocite pomoću odgovarajućih vrata. Izračunati postotak T-stanica (CD3+; područje B na Slici 2) od svih limfocita.

Slika 2 Odvajanje CD3+ i CD3- limfocita
(podaci prikupljeni na BD FACSCanto™ II)



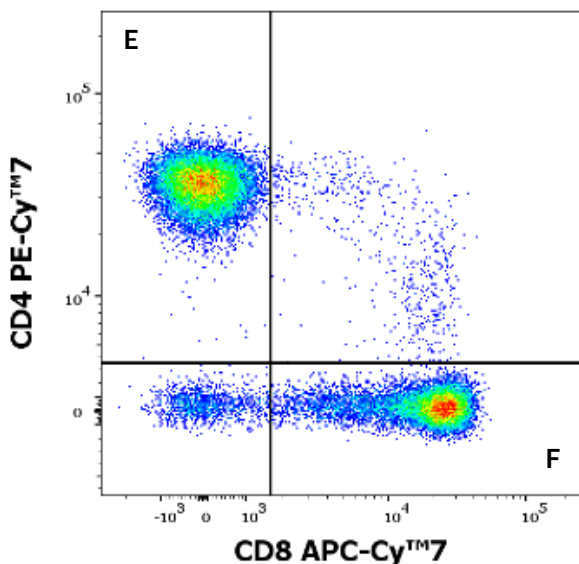
Prikazati gatirane CD3- limfocite (područje A na Slici 2) kao CD19 APC naspram CD16+CD56 PE kao što je prikazano na Slici 3. Postaviti odgovarajuća vrata i izračunati postotak B-stanica (CD16-CD56-CD19+; područje C na Slici 3) i NK-stanica (CD16+CD56+CD19-; područje D na Slici 3) od svih limfocita.

Slika 3 CD3- limfocita na dijagramu točaka CD19 APC nasuprot CD16+CD56 PE (podaci prikupljeni na BD FACSCanto™ II)



Prikazati gatirane T-stanice (CD3+; područje B na Slici 2) kao CD4 PE-Cy™7 naspram CD8 APC-Cy™7 kao što je prikazano na Slici 4. Postaviti odgovarajuća vrata i izračunati postotak pomoćničkih/induktorskih T-stanica (CD4+CD8-; područje E na Slici 4) i supresorskih/citotoksičnih T-stanica (CD4-CD8+; područje F na Slici 4) od svih limfocita.

Slika 4 CD3+ limfocita na dijagramu točaka CD4 PE-Cy™7 nasuprot CD8 APC-Cy™7 (podaci prikupljeni na BD FACSCanto™ II)



Izračun i tumačenje analitičkih rezultata

Za apsolutne brojeve koristite apsolutni broj limfocita utvrđen hematološkim analizatorom. Pogledajte upute proizvođača hematološkog analizatora. Koristite jednadžbe u nastavku za izračun apsolutnog broja željene podskupine limfocita.

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

A = apsolutni broj limfocita (podaci s hematološkog analizatora; stanica/μl)

B = relativni postotak željene podskupine limfocita od svih limfocita
(podaci s protočnog citometra; %)

11. Analitička izvedba

Specifičnost

Protutijelo TB3 prepoznaje ljudski CD3 antigen TCR/CD3 kompleksa. Specifičnost protutijela potvrđena je od strane HCDM vijeća (HLDA XI radionica).

Protutijelo MEM-241 prepoznaje ljudski CD4 antigen (površinski glikoprotein T-stanice CD4). Specifičnost protutijela potvrđena je od strane HCDM vijeća (HLDA VIII radionica).

Protutijelo LT8 prepoznaje ljudski CD8 antigen (dimer povezan disulfidnom vezom eksprimiran kao dva CD8 alfa lančana homodimera ili CD8 alfa/beta lančana heterodimera). Specifičnost protutijela potvrđena je od strane HLDA radionica (HLDA V radionica⁽¹⁶⁾ i HLDA VII radionica⁽⁸⁾).

Protutijelo 3G8 prepoznaje ljudski CD16 antigen (imunoglobulinski Fc-gama receptor tipa III niskog afiniteta). Specifičnost protutijela potvrđena je od strane HLDA radionice (HLDA V radionica⁽¹⁶⁾).

Protutijelo LT56 prepoznaje leukocitni izoformu ljudskog CD56 antigena (molekula adhezije živčanih stanica 1). Specifičnost protutijela potvrđena je od strane HCDM vijeća (HLDA X radionica).

Protutijelo LT19 prepoznaje ljudski CD19 antigen (transmembranski glikoprotein B-stanice CD19). Specifičnost protutijela potvrđena je od strane HCDM vijeća (HLDA X radionica).

Protutijelo MEM-28 prepoznaje sve leukocitne izoforme ljudskog CD45 (receptor protein tirozin fosfataze tipa C). Specifičnost protutijela potvrđena je od strane HLDA radionice (HLDA III radionica⁽¹⁰⁾).

Točnost

Točnost metode izmjerena je na protočnom citometru BD FACSCanto™ II i utvrđena kao usporedba proizvoda KOMBITEST TBNK 6-color sa sličnim proizvodom dostupnim na tržištu BD Multitest™ 6-Color TBNK Reagent (kat. br. 644611) paralelnim bojenjem 30 zdravih davatelja krvi.

Na protočnim citometrima Beckman Coulter DxFLEx i Sysmex XF-1600™, točnost metode utvrđena je usporedbom rezultata analize istih uzoraka krvi od 39 zdravih davatelja krvi obojenih proizvodom KOMBITEST TBNK 6-color na protočnim citometrima BC DxFLEx i BD FACSCanto™ II te na protočnim citometrima Sysmex XF-1600™ i BD FACSCanto™ II.

Točnost metode potkrijepljena je paralelnim bojenjem 134 bolesnika (vidjeti Tablicu 7) kod kojih se sumnjalo na patološko stanje imunosnog sustava. Parametri analize linearne regresije navedeni su u Tablicama 4-7.

Tablica 4 Analiza linearne regresije za podskupine limfocita kod zdravih davatelja (usporedba proizvoda KOMBITEST TBNK 6-color s IVD proizvodom BD Multitest™ 6-Color TBNK Reagent (kat. br. 644611))

Podskupina limfocita	Jedinica	n	Nagib	Odsječak	R ²
CD3+	%	30	1.0030	-0.0059	0.9942
	stanica/ μ l	30	0.9898	5.4635	0.9986
CD3+CD8+	%	30	0.9820	0.0029	0.9957
	stanica/ μ l	30	0.9723	8.959	0.9981
CD3+CD4+	%	30	0.9850	0.0035	0.9939
	stanica/ μ l	30	0.9850	6.5877	0.9975
CD3-CD16+CD56+	%	30	1.0085	-0.0017	0.9968
	stanica/ μ l	30	1.0192	-6.1863	0.9985
CD3-CD19+	%	30	0.9953	0.0033	0.9948
	stanica/ μ l	30	1.0189	1.6105	0.9925

n = broj uzoraka krvi

Tablica 5 Analiza linearne regresije za podskupine limfocita kod zdravih davatelja (usporedba analize uzoraka krvi obojenih proizvodom ED7733 na Beckman Coulter DxFLEx s BD FACSCanto™ II)

Točnost mjerenja ED7733 na Beckman Coulter DxFLEx					
Protočni citometar Beckman Coulter DxFLEx nasuprot protočnom citometru BD FACSCanto™ II					
Istinitost mjerenja					
Podskupina limfocita	Jedinica	n	Nagib	Odsječak	R ²
CD3+	%	39	0.9822	0.0145	0.9879
	stanica/ μl	39	0.9792	-24.255	0.9811
CD3+CD8+	%	39	1.0171	0.0052	0.9829
	stanica/ μl	39	1.0478	-3.0975	0.9930
CD3+CD4+	%	39	0.9789	-0.001	0.9857
	stanica/ μl	39	0.9768	-1.499	0.9929
CD3-CD16+ CD56+	%	39	0.9727	0.0054	0.9815
	stanica/ μl	39	0.9699	10.484	0.9886
CD3-CD19+	%	39	1.0212	-0.0047	0.9757
	stanica/ μl	39	0.9767	-0.0385	0.9825

n = broj uzoraka krvi

Tablica 6 Analiza linearne regresije za podskupine limfocita kod zdravih davatelja (usporedba analize uzoraka krvi obojenih proizvodom ED7733 na Sysmex XF-1600™ s BD FACSCanto™ II)

Točnost mjerenja ED7733 na Sysmex XF-1600™					
Protočni citometar Sysmex XF-1600™ nasuprot protočnom citometru BD FACSCanto™ II					
Istinitost mjerenja					
Podskupina limfocita	Jedinica	n	Nagib	Odsječak	R ²
CD3+	%	39	1.0058	0.0105	0.9918
	stanica/ μl	39	1.0174	4.2861	0.9991
CD3+CD8+	%	39	1.0134	0.0015	0.9924
	stanica/ μl	39	1.0346	-11.555	0.9976
CD3+CD4+	%	39	1.0017	0.0103	0.9963
	stanica/ μl	39	1.0043	17.382	0.9981
CD3-CD16+ CD56+	%	39	0.9889	-0.0039	0.9868
	stanica/ μl	39	0.972	-3.4422	0.9903
CD3-CD19+	%	39	1.0162	-0.0039	0.9852
	stanica/ μl	39	0.9777	0.1994	0.9898

n = broj uzoraka krvi

Tablica 7 Analiza linearne regresije za podskupine limfocita kod bolesnika kod kojih se sumnjalo na patološka stanja imunskog sustava (usporedba proizvoda KOMBITEST TBNK 6-color s AQUIOS CL Flow Cytometry System - Beckman Coulter, Inc. i internom metodom akreditiranog kliničkog laboratorija – koktel jednobožnih konjugiranih protutijela različitih proizvođača i analiza na BD FACSCanto™ II)

Podskupina limfocita	Jedinica	n	Nagib	Odsječak	R ²
CD3+	%	134	1.032	-2.655	0.98
	stanica/ μ l	134	1.023	-0.047	0.97
CD3+CD8+	%	134	1.020	-0.803	0.98
	stanica/ μ l	134	1.055	-0.041	0.96
CD3+CD4+	%	134	1.014	-0.651	0.98
	stanica/ μ l	134	0.994	-0.005	0.98
CD3-CD16+CD56+	%	134	1.064	-0.400	0.98
	stanica/ μ l	134	1.080	-0.014	0.99
CD3-CD19+	%	134	1.027	-0.376	0.99
	stanica/ μ l	134	1.043	-0.010	1.00

n = broj uzoraka krvi

Linearnost

Linearnost metode provjerena je na 10 serijskih razrjeđenja uzorka krvi obogaćenog leukocitima (buffy coat). Uzorci stanica obojeni su proizvodom KOMBITEST TBNK 6-color u šest ponavljanja. Uzorci su analizirani protočnim citometrima BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEX i Sysmex XF-1600™. Utvrđeno je da su izmjereni podaci za navedene podskupine limfocita linearni u rasponu limfocita 333-9492 stanica/ μ l korištenjem BD FACSCanto™ II, 309-8693 stanica/ μ l korištenjem Beckman Coulter DxFLEX i 86-6822 stanica/ μ l korištenjem Sysmex XF--1600™. Podskupine stanica bile su u rasponima navedenim u Tablicama 8-10.

Tablica 8 Linearni rasponi podskupina limfocita analiziranih pomoću BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II	
Podskupina limfocita	Raspon (stanica/μl)
CD3+	249 - 6594
CD3+CD8+	96 - 2560
CD3+CD4+	136 - 3628
CD3-CD16+CD56+	55 - 1525
CD3-CD19+	44 - 1342

Tablica 9 Linearni rasponi podskupina limfocita analiziranih pomoću Beckman Coulter DxFLEx

Beckman Coulter DxFLEx	
Podskupina limfocita	Raspon (stanica/μl)
CD3+	243 - 6565
CD3+CD8+	102 - 2652
CD3+CD4+	128 - 3517
CD3-CD16+CD56+	64 - 1588
CD3-CD19+	41 - 1280

Tablica 10 Linearni rasponi podskupina limfocita analiziranih pomoću Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™	
Podskupina limfocita	Raspon (stanica/μl)
CD3+	45 - 3513
CD3+CD8+	21 - 1507
CD3+CD4+	22 - 1742
CD3-CD16+CD56+	8 - 700
CD3-CD19+	7 - 567

Granica detekcije / granica kvantifikacije / granična vrijednost testa

Podaci o linearnosti korišteni su za navođenje granice detekcije (LOD) i granice kvantifikacije (LOQ).

Granica detekcije navedena je kao najniža vrijednost apsolutnog broja stanica koja nije nula plus $3 \times SD$ (standardna devijacija) za svaku podskupinu limfocita (vidjeti Tablice 11-13).

Granica kvantifikacije navedena je kao najniža vrijednost u rasponu linearnosti koncentracija analita prikazana kao apsolutni broj podskupine limfocita pri kojoj CV iz šest ponavljanja nije prelazio 10%, a povrat je bio u rasponu 90%-110% (vidjeti Tablice 11-13).

Rezultati testa nisu jedinstveno dijagnostički za jedan klinički entitet, stoga se granična vrijednost testa ne može procijeniti.

Tablica 11 Granice detekcije i kvantifikacije na BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II				
Podskupina limfocita	Najniži broj stanica koji nije nula (stanica/ μ l)	$3 \times SD$ (SD)	LOD (stanica/ μ l)	LOQ (stanica/ 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

Tablica 12 Granice detekcije i kvantifikacije na Beckman Coulter DxFLEx

Beckman Coulter DxFLEx				
Podskupina limfocita	Najniži broj stanica koji nije nula (stanica/ μ l)	$3 \times SD$ (SD)	LOD (stanica/ μ l)	LOQ (stanica/ 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

Tablica 13 Granice detekcije i kvantifikacije na Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™				
Podskupina limfocita	Najniži broj stanica koji nije nula (stanica/ μ l)	3 $\times$ SD (SD)	LOD (stanica/ μ l)	LOQ (stanica/ 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

Ponovljivost

Ponovljivost testa izmjerena je na deset uzoraka krvi u šest ponavljanja. Uzorci su analizirani protočnim citometrima BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEx i Sysmex XF-1600™. Koeficijenti varijacije (CV) navedeni su u tablicama u nastavku (Tablice 14-16).

Tablica 14 Ponovljivost proizvoda na BD FACSCanto™ II

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

n = broj uzoraka krvi

Tablica 15 Ponovljivost proizvoda na Beckman Coulter DxFLEX

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

n = broj uzoraka krvi

Tablica 16 Ponovljivost proizvoda na Sysmex XF-1600™

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

n = broj uzoraka krvi

Obnovljivost

Obnovljivost testa na BD FACSCanto™ II i Beckman Coulter DxFLEx izmjerena je na 2 stabilizirana uzorka krvi (CD-Chex Plus® i CD-Chex Plus® CD4 Low tvrtke STRECK). Obnovljivost testa na Sysmex XF-1600™ izmjerena je na 4 stabilizirana uzorka krvi (CD-Chex Plus® i CD-Chex Plus® CD4 Low te dodatno IMMUNO-TROL Low Cells i IMMUNO-TROL Cells tvrtke Beckman Coulter). Uzorci su mjereni pod istim uvjetima 15 dana koristeći 3 serije proizvoda (5 dana svaka). Koeficijenti varijacije (CV) navedeni su u tablicama u nastavku (Tablica 17-19).

Tablica 17 Obnovljivost proizvoda na BD FACSCanto™ II

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

Tablica 18 Obnovljivost proizvoda na Beckman Coulter DxFLEX

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

Tablica 19 Obnovljivost proizvoda na Sysmex XF-1600™

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

NAPOMENA: Svi podaci o analitičkoj izvedbi izmjereni su korištenjem otopine

za lizu eritrocita EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., kat. br. ED7066).

Za analizu protočnom citometrijom korišteni su sljedeći protočni citometri uključujući verziju softvera:

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

Za apsolutne brojeve stanica koristeći metodu dvostruke platforme korišten je hematološki analizator sa sljedećim specifikacijama:

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

Za procjenu izmjerenih podataka korištena je sljedeća analitička platforma:
FlowJo™ (Becton, Dickinson and Company) - verzija 10.9.0

12. Klinička izvedba

Bolesnici s primarnom imunodeficijencijom

Klinički podaci prikupljeni su na kliničkom mjestu na 30 bolesnika sa sumnjom na zajedničku varijabilnu imunodeficijenciju (CVID). Klinička izvedba proizvoda ED7733 utvrđena je kao usporedba proizvoda KOMBITEST TBNK 6-color korištenog s otopinom za lizu eritrocita EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., kat. br. ED7066) s metodom akreditiranog kliničkog laboratorija (AQUIOS CL Flow Cytometry System - Beckman Coulter, Inc.).

Rezultati procjene imunološkog statusa bolesnika procijenjeni su u odnosu na imunodeficijenciju (Tablica 20).

Tablica 20 Klinička izvedba proizvoda KOMBITEST TBNK 6-color – bolesnici s CVID

		Imunološki status procijenjen metodom akreditiranog kliničkog laboratorija	
		Imunodeficijencija	Normalno stanje
Imunološki status procijenjen proizvodom KOMBITEST TBNK 6-color	Imunodeficijencija	24 bolesnika	0 bolesnika
	Normalno stanje	0 bolesnika	6 bolesnika

Bolesnici sa stečenom imunodeficijencijom

Klinički podaci prikupljeni su na kliničkom mjestu na 53 bolesnika s potvrđenom infekcijom virusom humane imunodeficijencije (HIV). Klinička izvedba proizvoda utvrđena je kao usporedba proizvoda KOMBITEST TBNK 6-color korištenog s otopinom za lizu eritrocita EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., kat. br. ED7066) s internom metodom akreditiranog kliničkog laboratorija (koktel jednobojnih konjugiranih protutijela različitih proizvođača i analiza na BD FACSCanto™ II). Rezultati procjene imunološkog statusa bolesnika procijenjeni su u odnosu na imunodeficijenciju (Tablica 21).

Tablica 21 Klinička izvedba proizvoda KOMBITEST TBNK 6-color – bolesnici s HIV-om

		Imunološki status procijenjen internom metodom akreditiranog kliničkog laboratorija	
		Imunodeficijencija	Normalno stanje
Imunološki status procijenjen proizvodom KOMBITEST TBNK 6-color	Imunodeficijencija	28 od 29 bolesnika*	0 bolesnika
	Normalno stanje	0 bolesnika	24 bolesnika

OPREZ:

*Proizvod KOMBITEST TBNK 6-color pokazao je bojenje koje nije bilo dostatno za jasno razdvajanje T-stanica (CD3+) kod jednog (1) bolesnika s HIV-om u kritičnom zdravstvenom stanju.

13. Očekivane vrijednosti

Referentni interval

Tablica 22 Referentni intervali zdravih davatelja krvi izmjereni na BD FACSCanto™ II

Podskupina limfocita	n	Jedinica	Raspon		Medijan
			Min	Maks	
CD3+	65	%	49.0	84.9	72.4
	65	stanica/ μ l	608	2415	1269
CD3+CD8+	65	%	10.4	40.2	22.2
	65	stanica/ μ l	127	1075	405
CD3+CD4+	65	%	28.1	62.6	43.3
	65	stanica/ μ l	321	1463	785
CD3-CD16+CD56+	65	%	3.5	38.9	15.8
	65	stanica/ μ l	84	1036	266
CD3-CD19+	65	%	5.4	25.0	10.6
	65	stanica/ μ l	74	404	209

n = broj uzoraka krvi

Referentni intervali u Tablici 22 utvrđeni su na zdravim bolesnicima koji su se smatrali davateljima krvi prema zakonodavstvu Češke Republike ispunjavanjem strogih kriterija za davatelja krvi za banku krvi. Podaci su izmjereni na protočnom citometru BD FACSCanto™ II.

Specifični referentni rasponi mogu varirati ovisno o regiji i populaciji na kojoj su vrijednosti utvrđene. Iz tog razloga laboratoriji moraju utvrditi vlastite normalne referentne intervale za podskupine limfocita identificirane pomoću KOMBITEST TBNK 6-color iz lokalne populacije normalnih davatelja zbog varijacija vrijednosti povezanih s dobi, spolom, kliničkim karakteristikama i etničkom pripadnošću.

14. Ograničenja

Proizvod KOMBITEST TBNK 6-color nije validiran za uporabu u uzorcima prikupljenim s antikoagulansima heparinom ili kiselim citratnim dekstrozom (ACD) u određivanju relativnih i apsolutnih brojeva.

Proizvod KOMBITEST TBNK 6-color nije namijenjen za probir i/ili fenotipizaciju uzoraka leukemije i limfoma.

Apsolutni brojevi nisu usporedivi između laboratorija koji koriste različitu opremu različitih proizvođača.

15. Literatura

- 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. Sažetak sigurnosti i učinkovitosti

Sažetak sigurnosti i učinkovitosti bit će dostupan u bazi podataka Eudamed na <https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home>. Do tada je sažetak sigurnosti i učinkovitosti dostupan na zahtjev.

17. Uporaba zaštitnih znakova trećih strana

BD FACSCanto™ II, BD FACSLytic™, BD Multitest™ i FlowJo™ registrirani su

zaštitni znakovi tvrtke Becton, Dickinson and Company. CD-Chex Plus® registrirani je zaštitni znak tvrtke Streck. Cy™ je registrirani zaštitni znak tvrtke Cytiva. CyLyse™ FX, Sysmex XN-1000™ i Sysmex XF-1600™ registrirani su zaštitni znakovi tvrtke Sysmex Corporation. VenturiOne® je registrirani zaštitni znak tvrtke Applied Cytometry. Infinicyt™ je registrirani zaštitni znak tvrtke Cytognos S.L..

18. Povijest revizija

Verzija 4, ED7733_IFU_v4

Ispravak teksta u odjeljku "Povezanost s fiziološkim ili patološkim stanjem".
Precizniji opis poglavlja 13. Očekivane vrijednosti - Referentni interval.

19. Proizvođač

EXBIO Praha, a.s.

Nad Safinou II 341

25250 Vestec

Češka Republika

Kontaktne podaci

info@exbio.cz

technical@exbio.cz

orders@exbio.cz

www.exbio.cz

20. Ovlašteni predstavnici

Odgovorna osoba u Ujedinjenom
Kraljevstvu

Sysmex UK Ltd
Sysmex House
Garamonde Drive
Wymbush
Milton Keynes
MK8 8DF
Ujedinjeno Kraljevstvo
☎ +44 (0)333 3203460
✉ info@sysmex.co.uk

NAPOMENA: Svaki ozbiljan štetni događaj koji se dogodio u vezi s proizvodom mora se prijaviti proizvođaču i lokalnom nadležnom tijelu.