

exbio

KOMBITEST TBNK 6-color

50 test | Kat. No. ED7733



Kullanım Kılavuzu (TR)

Versiyon: ED7733_IFU_v2_TR

Yayın Tarihi: 13/02/2024

Cihaz etiketlemesinde kullanılan semboller

	İn Vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz		Sıcaklık sınırı
	CE uygunluk işareteti		Güneş ışığından uzak tutun
	Üretici		UKCA işareteti
	Benzersiz Cihaz Tanımlayıcısı		
	Kullanım talimatlarına bakın		
	İçeriği <n> test için yeterlidir		
	Katalog numarası		
	Parti kodu		
	Son kullanma tarihi		

1. Kullanım Amacı

KOMBITEST TBNK 6-color, akış sitometrisi ile insan tam kanında lenfosit popülasyonlarının ve alt kümelerinin tespiti ve sayımı için tasarlanmıştır.

Tespit edilen ve/veya ölçülen nedir?

KOMBITEST TBNK 6-color cihazı, insan T hücrelerinin (CD3+), B hücrelerinin (CD3-CD19+), NK hücrelerinin (CD3-CD16+56+), yardımcı/indükleyici (CD3+CD4+) ve baskılayıcı/sitotoksik (CD3+CD8+) T hücresi alt kümelerinin göreceli yüzdelerini ve mutlak sayılarını tespit eder ve ölçer.

Cihazın İşlevi

Cihaz, normal hastaların immünolojik değerlendirmesinde kullanılmak üzere tasarlanmıştır ve immün yetmezliği olan veya olduğundan şüphelenilen hastalara tanı konulmasına yardımcı olabilir.

Fizyolojik veya patolojik durumun kapsamı

Cihaz tarafından ölçülen lenfosit popülasyonlarının frekansları çeşitli patolojik durumlardan etkilenebilir ve bunların yüzdelerinin ve sayılarının değerlendirilmesi aşağıdakilerin değerlendirmesinde kullanılabilir:

- insan immün yetmezliği virüsü (HIV) enfeksiyonunun ilerlemesi ^(1, 4, 7, 9)
- kalıtsal immün yetmezlikleri ^(2, 3, 4, 11, 12, 15, 17)
- otoimmün hastalıklar ^(5, 6)
- doğuştan gelen immün savunmasındaki bozukluklar ^(13, 14)

Test türü

Otomatik değil

Nicel

Gereken örnek türü

İnsan antikoagüle periferik tam kan örneği

Test popülasyonu

Belli bir popülasyon için tasarlanmamıştır.

2. Hedef kullanıcı

Cihaz yalnızca profesyonel laboratuvar kullanımı için tasarlanmıştır. Hasta başı testleri veya kendi kendine yapılan testler için uygun değildir.

Yeterliliğe ilişkin gereklilikler

Hedef kullanıcı, insan hücrelerinin akış sitometrisi analizi, pipetleme becerileri dahil olmak üzere standart laboratuvar teknikleri, insan vücudundan elde edilen örneklerin güvenli ve uygun şekilde işlenmesi konularında son teknolojiye uygun uzmanlığa sahip olmalıdır.

Hedef kullanıcı EN ISO 15189 standardına veya varsa diğer ulusal standartlara uymalıdır.

3. Test prensibi

Test prensibi, belirli insan kan hücreleri tarafından ifade edilen spesifik bir moleküle (antijen) bağlanan monoklonal antikorun tespitine dayanmaktadır. Testte kullanılan monoklonal antikorlar, antikorla boyanmış kan örneğinin alınmasında bir akış sitometresinden çıkan lazer ışını ile uyarılan farklı florokromlarla etiketlenir. Alınan bir kan hücresi üzerinde bulunan her florokromdan gelen sonraki floresan (ışık emisyonu) cihaz tarafından toplanır ve analiz edilir. Floresan yoğunluğu, bir hücredeki antijen ekspresyon yoğunluğuyla doğru orantılıdır ve farklı hücre alt kümelerinin birbirinden ayrılması sağlar.

4. Sağlanan reaktif/reaktifler

İçindekiler

KOMBITEST TBNK 6-color cihazı ile 50 test yapılabilir ve aşağıdaki reaktifle birlikte sağlanır:

15 mM sodyum azid içeren stabilize edici fosfat tamponlu salin (PBS) çözeltisi içinde optimum konsantrasyonlarda seyreltilmiş, florokrom etiketli monoklonal CD3 FITC/CD16 PE+CD56 PE/CD45 PerCP-Cy™5.5/CD4 PE-Cy™7/CD19 APC/CD8 APC-Cy™7 antikorlarının önceden karıştırılmış bir kombinasyonunu içeren 1 flakon (1 ml).

Bileşim

Tablo 1 Aktif bileşenlerin açıklaması

Antijen	Florokrom	Klon	İzotip	Konsantrasyon ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
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. Gereken ancak sağlanmayan malzemeler

Yuvarlak tabanlı test tüpleri (12 x 75 mm)

Eritrosit lizis solüsyonu (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., Kat. No. ED7066 veya CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, Kat. No. BD303500)

Deionize su (Reaktif dereceli)

Proses kontrol hücreleri (Streck CD-Chex Plus®, Kat. No. 213323 veya eşdeğer çözünebilir hücre kontrolü)

6. Gerekli ekipman

Örnek ve reaktiflerin pipetlenmesi için tek kullanımlık uçlara sahip otomatik pipet (20 - 100 µl)

Eritrosit lizis solüsyonunu dağıtmak için sıvı dispenseseri veya tek kullanımlık uçlara sahip pipet (0,5 – 2 ml)

Vortex mikser

Örnek µl'si başına beyaz kan hücresi (WBC) ve lenfosit sayımı yapabilen hematoloji analizörü (mutlak hücre sayımı için)

İki lazer eksitasyon kaynağı (488 nm ve ~635 nm), saçılıan ışık için dedektörler, optik filtreler ve Tablo 2'de verilen florokromlardan sinyal toplamak için uygun emisyon dedektörlerine sahip akış sitometresi.

Tablo 2 Cihazda kullanılan florokromların spektral özelliği

Florokrom	Eksitasyon [nm]	Emisyon [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

NOT: Cihaz, BD FACSCanto™ II (BD Biosciences), DxFLEX (Beckman Coulter) ve Sysmex XF-1600™ (Sysmex Corporation) akış sitometrelerinde test edilmiştir.

7. Depolama ve taşıma

2 – 8°C sıcaklıkta muhafaza edin.

Uzun süre ışığa maruz bırakmaktan kaçının.

Dondurmayın.

Çalışma solüsyonlarının (varsı) saklama koşulları ve stabilitesinin yanı sıra ilk açılışından sonraki Kullanım stabilitesi ve raf ömrü hakkında bilgi edinmek için Bölüm 10 Prosedür (Reaktif Hazırlama) kısmına bakın.

8. Uyarılar, önlemler ve kullanım kısıtlamaları

GHS Tehlike Sınıflandırması

Ürünün içерdiği kimyasal maddeler ve karışımların oluşturduğu riskler ve bunların nasıl ele alınması ve imha edilmesi gereği hakkında ayrıntılı bilgi için www.exbio.cz adresindeki ürün sayfasında yer alan Güvenlik Bilgi Formuna (SDS) bakın.

Biyolojik Tehlike

İnsan biyolojik numuneleri ve kan örnekleri ile bunlara temas eden her türlü madde her zaman bulaşıcı madde olarak kabul edilir.

Cilt, göz ve mukoza zarlarıyla temasını önlemek için kişisel koruyucu ekipman ve güvenlik ekipmanları kullanın.

Bulaşıcı maddelerin taşınması ve imha edilmesine ilişkin geçerli tüm yasa, yönetmelik ve prosedürlere uygun.

Bozulma belirtisi

Sağlanan reaktif normalde berrak bir sıvı şeklinde görünür. Görünümünde bulanıklık veya çökelme belirtileri gibi herhangi bir değişiklik olduğunu gözlemlerseniz reaktifi kullanmayın.

Kullanım kısıtlamaları

Ürün etiketlerinde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.

9. Örnek

Antikoagulan EDTA ile tıbbi cihaz olarak sınıflandırılan örnek kabına alınan venöz periferik kani kullanın.

NOT: Toplanan kanörneğindeki WBC mutlak hücre sayısını ve lenfosit sayısını bir hematoloji analizörü ile ölçün. KOMBITEST TBNK 6-color cihazı tek başına mutlak hücre sayılarının sayımını sağlamaz.

WBC sayısı 40×10^3 hücre/ μl 'yi aşan kanörneği, numunenin işlenmesinden önce PBS ile seyreltilmelidir.

Kan örneğini toplandıktan sonra en geç 24 saat içinde işleme alın. Örneği laboratuvar sıcaklığında (20–25 °C) saklayın. Örneği soğutmayın.

Endojen İnterferans

Bilimsel literatür araştırması temel alınarak endojen interferans kaynakları Tablo 3'te tanımlanmıştır.

Tablo 3 Cihazın Endojen İnterferansı

Endojen interferans	Etki	Referans
Albümin	Albümin, bağlanma ve büyük miktarlarda ligand salma kabiliyeti nedeniyle yüksek konsantrasyonlarda girişime neden olabilir.	18, 19, 35
Bilirubin (sarılık) (konjuge olmayan)	Bilirubin, yüksek otofloresansı nedeniyle hücrelerin floresan arka planını artırabilir.	22, 24, 28
Hücre debris (lizis sonrası)	Hücre debris yanlış hücre sayımlarına neden olabilir ve cihaz içindeki antikor tüketebilir.	21, 25
Eritrositler	Yetersiz lizis, numunede bulunan kırmızı kan hücreleri hatalı hücre sayımına neden olabilir.	26
Hemoglobin	Hemolize numuneler hatalı sonuçlar verebilir.	23
İnsan anti-murin antikorları	Monoklonal antikor tedavisi hatalı sonuçlar verebilir (hücre yüzeyi抗原lerine bağlanma kabiliyeti).	20, 30, 31, 32, 33, 34
İmmünoglobülinler	Tek platform yönteminde yıkanamaz ve hatalı lenfosit alt küme sayısına neden olabilir.	21
Romatoid faktörler	RF'nin varlığı MIA (multipleks immunoassaylar) ile girişime neden olur.	27
Triglyceridler	Dolaşımındaki yüksek lipid seviyeleri, belirli kan hacresi popülasyonlarının akış sitometrisi analizini etkileyebilir.	29

Eksojen İnterferans

24 saatten daha eski örnekler hatalı sonuçlar verebilir.

Soğutulmuş örnekler hatalı sonuçlar verebilir.

Eritrosit çözülme solüsyonunun uygun şekilde hazırlanmaması (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., Cat. No. ED7066 veya CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, Cat. No. BD303500) hatalı sonuçlar verebilir. Eritrosit çözülme solüsyonunun kullanımı için üreticinin talimatlarını izleyin.

10. Prosedür

Sağlanan reaktifin/reaktiflerin hazırlanması

Reaktifin hazırlanması gerekmeyez.

Reaktifi kullanmadan önce oda sıcaklığına getirin. Cihazın birincil kabını kuru tutun.

Reaktifi doğrudan orijinal birincil kabından kullanın. Reaktifin kullanımında olduğu (ışığa ve yüksek sıcaklığa maruz kaldığı) süre günde 4 saat geçmemelidir.

İlk açılışından sonra reaktif, orijinal birincil kabında belirtilen koşullarda muhafaza edildiğinde son kullanma tarihine kadar performans özelliklerini korur.

DİKKAT: Reaktifi seyreltmeyin.

Gereken ancak sağlanmayan malzemelerin hazırlanması

Konsantre eritrosit lizis solüsyonunu üreticinin talimatlarına göre deiyonize suyla seyreltin. Seyretilmiş (1X) eritrosit lizis solüsyonu sıvı bir dispenseerde veya kapalı bir kapta oda sıcaklığında muhafaza edildiğinde 1 ay boyunca stabil kalır.

Kalite kontrolü

Cihazın amaçlandığı şekilde düzgün performans gösterdiginden emin olmak için pozitif prosedürel kontrol olarak Streck CD-Chex Plus® veya eşdeğer kontrol hücrelerini kullanın. Streck CD-Chex Plus®, klinik olarak ilgili iki CD4+ hücre seviyesi dahil olmak üzere T hücreleri, B hücreleri, granulositler, monositler ve NK hücrelerinin yüzde pozitif ve mutlak sayıları için belirlenmiş değerler sağlar.

Kontrol hücrelerini KOMBITEST TBNK 6-color reaktifini kullanarak kullanım kılavuzunda belirtilen örnek işleme yöntemine göre boyayın. Elde edilen sonuçların (%Pozitif Hücreler) kullanılan kontrol hücresi lotu için bildirilen Beklenen aralıkta olduğunu doğrulayın.

Örnek boyama

1. Her bir örnek için 12×75 mm'lik yuvarlak tabanlı bir test tüpünü uygun örnek tanımlamasıyla etiketleyin.
2. 12×75 mm test tüpünün dibine $20 \mu\text{l}$ KOMBITEST TBNK 6-color reaktifi pipetleyin.
3. Test tüpünün dibine $50 \mu\text{l}$ iyice karıştırılmış kan örneği pipetleyin.

DİKKAT: Test tüpünün yan tarafına kan damlatmaktan kaçının. Tüpün kenarında kan lekesi veya damlacık kalırsa reaktifle boyanmayabilir veya eritrositler çözünmeyecektir ve test sonucu doğru olmayacağından emin olun.

4. Karıştırın ve test tüpünü karanlıkta oda sıcaklığında 20 dakika boyunca inkübe edin.
5. Test tüpüne $500 \mu\text{l}$ seyretilmiş (1X) lizis solüsyonu ekleyin.

6. Karıştırın ve test tüpünü karanlıkta oda sıcaklığında 10 dakika boyunca inkübe edin.

Boyalı örneği anında akış sitometresinden alın. Boyalı örnek hemen alınmayacaksa 2 – 8°C sıcaklıkta karanlık ortamda saklayın ve 24 saat içinde analiz edin.

DİKKAT: Topaklanmaları önlemek için akış sitometresinde görüntü almadan hemen önce boyalı örneği karıştırın.

Akış sitometrisi analizi

KOMBITEST TBNK 6-color cihazı ile kullanılmak üzere seçilen akış sitometresi, sitometre üreticilerinin talimatlarına göre dedektörlerin sabit hassasiyetini sağlamak için floresan mikro boncuklar kullanılarak rutin olarak kalibre edilmelidir.

Akış sitometresinin bakımı düzgün yapılmazsa yanlış sonuçlar verebilir.

Gerekli ekipman başlıklı Bölüm 6'daki florokromların eksitasyon ve emisyon özelliklerine uygun lazerler ve floresan dedektörleri için üreticinin sitometre spesifikasyonlarına bakın.

Boyalı örnek analizinden önce ilgili floresan dedektörlerindeki gerilimleri ayarlayın. PMT dedektöründeki gerilim yeterli düzeyde yüksek ayarlanmalı, böylece en az negatif boyalı olay floresan eksenindeki 0. kanalla etkileşime girmelidir. PMT dedektörü gerilimi de pozitif olayların sağ eksene baskılantıları değerleri aşmamalıdır.

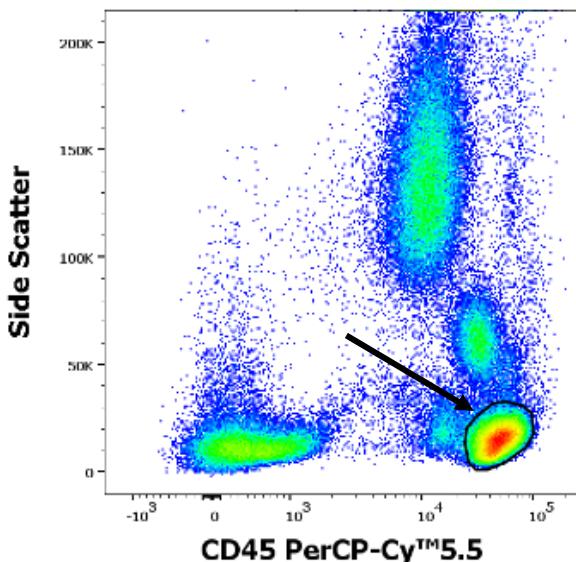
Veri toplamadan önce veya sonra dedektörler arasındaki floresan sinyallerini dengeleyin. Floresan sinyalleri yanlış dengelenirse veya geçitler yanlış konumlandırılsa veriler yanlış yorumlanabilir.

Ölçülen veri analizi için üretici tarafından geliştirilen sitometre yazılımı veya çevrim dışı sitometri veri analizine özel yazılım (örneğin FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™) kullanılabilir.

KOMBİTEST TBNK 6-color boyalı örneğin veri analizi

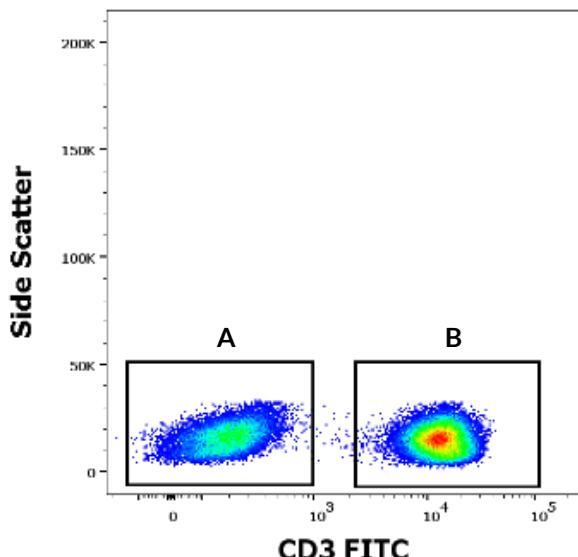
Dengelenmiş verileri yana saçılım (SSC) ve CD45 PerCP-Cy™5.5 grafiğinde gösterleştirir. CD45+ lenfosit popülasyonu için geçidi Şekil 1'de gösterildiği gibi ayarlayın.

Şekil 1 CD45+ lenfosit popülasyonunun grafiği
(BD FACSCanto™ II'de elde edilen veriler)



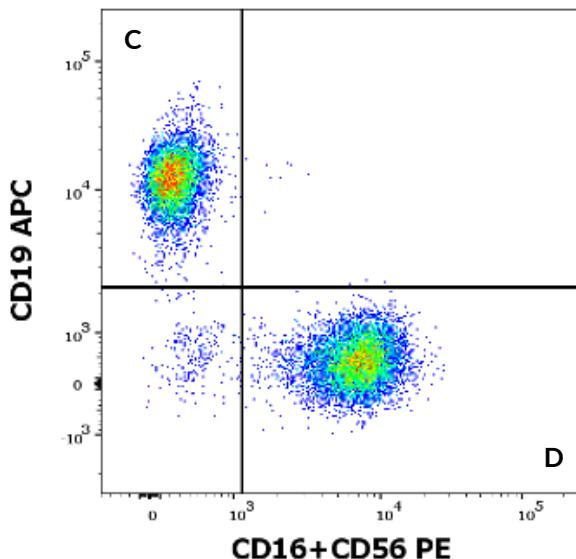
Şekil 2'de gösterildiği üzere geçitli CD45+ lenfositleri yana saçılım (SSC) ve CD3 FITC grafiğine dökün. Uygun geçitleri kullanarak CD3+ ve CD3- lenfositlerini ayıran. Tüm lenfositlerdeki T hücrelerinin (CD3+; Şekil 2'deki B bölgesi) yüzdesini hesaplayın.

Şekil 2 CD3+ ve CD3- lenfositlerinin ayrılması
(BD FACSCanto™ II'de elde edilen veriler)



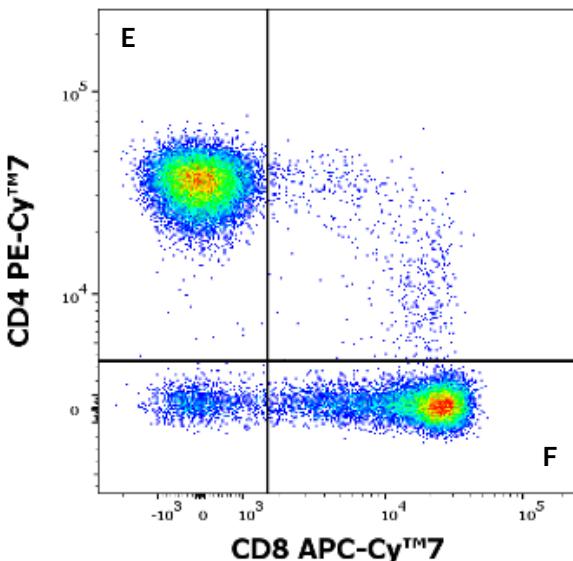
Geçitli CD3- lenfositleri (Şekil 2'deki A bölgesi) Şekil 3'te gösterildiği gibi CD19 APC ve CD16+CD56 PE şeklinde grafiğe dökün. Uygun geçitleri ayarlayın ve tüm lenfositlerdeki B hücrelerinin (CD16-CD56-CD19+; Şekil 3'teki C bölgesi) ve doğal öldürücü (NK) hücrelerin (CD16+CD56+CD19-; Şekil 3'teki D bölgesi) yüzdesini hesaplayın.

Şekil 3 CD3- CD19 APC ve CD16+CD56 PE noktasal grafiğindeki lenfositler
(BD FACSCanto™ II'de elde edilen veriler)



Geçitli T hücrelerini (CD3+; Şekil 2'deki B bölgesi) Şekil 4'te gösterildiği gibi CD4 PE-CyTM7 ve CD8 APC-CyTM7 şeklinde grafiğe dökün. Uygun geçitleri ayarlayın ve tüm lenfositlerdeki yardımcı/indükleyici T hücrelerinin (CD4+CD8-; Şekil 4'teki E bölgesi) ve baskılıyıcı/sitotoksik T hücrelerinin (CD4-CD8+; Şekil 4'teki F bölgesi) yüzdesini hesaplayın.

Şekil 4 CD3+ CD4 PE-CyTM7 ve CD8 APC-CyTM7 noktasal grafiğindeki lenfositler
(BD FACSCantoTM II'de elde edilen veriler)



Analitik sonuçların hesaplanması ve yorumlanması

Mutlak sayılara ulaşmak amacıyla bir hematoloji analizörü tarafından belirlenen mutlak lenfosit sayısını kullanın. Hematoloji analizörü üreticisinin talimatlarına bakın. Gerekli lenfosit alt kümесinin mutlak sayımı için aşağıdaki formülleri kullanın.

$$A \times \frac{B (\%)}{100 (\%)} = \text{Gerekli lenfosit alt kümесinin mutlak sayısı}$$

A = mutlak lenfosit sayısı (hematoloji analizöründen alınan veriler; hücre/ μ l)

B = gerekli lenfosit alt kümесinin tüm lenfositlerden göreceli yüzdeleri
(akış sitometresinden alınan veriler; %)

11. Analitik performans

NOT: Tüm analistik performans verileri eritrosit lizis solüsyonu EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., Kat. No. ED7066) kullanılarak ölçülmüştür.

Özgülük

TB3 antikoru, TCR/CD3 kompleksinin insan CD3抗原ini tanır. Antikorun özgüllüğü HCDM Kurulu tarafından onaylanmıştır (HLDA XI atölyesi).

MEM-241 antikoru, insan CD4抗原ini (T hücresi yüzey glikoproteini CD4) tanır. Antikorun özgüllüğü HCDM Kurulu tarafından onaylanmıştır (HLDA VII atölyesi).

LT8 antikoru insan CD8抗原ini (iki CD8 alfa zinciri homodimeri veya CD8 alfa/beta zinciri heterodimeri olarak ifade edilen disülfit bağlı dimer) tanır.

Antikorun özgüllüğü HLDA atölyeleri (HLDA V atölyesi⁽¹⁶⁾ ve HLDA VII atölyesi⁽⁸⁾) tarafından onaylanmıştır.

3G8 antikoru insan CD16抗原ini (düşük afiniteli immünoglobulin tip III Fc-gama reseptörü) tanır. Antikorun özgüllüğü HLDA atölyesi tarafından onaylanmıştır (HLDA V atölyesi⁽¹⁶⁾).

LT56 antikoru, insan CD56抗原inin (Nöral hücre adezyon molekülü 1) lökosit izoformunu tanır. Antikorun özgüllüğü HCDM Kurulu tarafından onaylanmıştır (HLDA X atölyesi).

LT19 antikoru, insan CD19抗原ini (B hücresi transmembran glikoproteini CD19) tanır. Antikorun özgüllüğü HCDM Kurulu tarafından onaylanmıştır (HLDA X atölyesi).

MEM-28 antikoru, insan CD45抗原inin (Protein tirozin fosfataz reseptörü tip C) tüm lökosit izoformlarını tanır. Antikorun özgüllüğü HDLA atölyesi tarafından onaylanmıştır (HLDA III atölyesi⁽¹⁰⁾).

Doğruluk

Yöntemin doğruluğu, BD FACSCanto™ II akış sitometresinde ölçülmüş ve 6 renkli KOMBITEST TBNK cihazın piyasada bulunan benzer ürün 6 Renkli BD Multitest™ TBNK Reaktifi (Cat. No. 644611) ile karşılaştırılması olarak, 30 sağlıklı kan donörünün paralel boyanması yoluyla belirlenmiştir.

Beckman Coulter DxFLEX ve Sysmex XF-1600™ akış sitometrelerinde, yöntemin doğruluğu, 39 sağlıklı kan donörünün 6 renkli KOMBITEST TBNK cihazı ile boyanan aynı kan örneklerinin analiz sonuçlarının, sırasıyla BC DxFLEX ve BD FACSCanto™ II akış sitometrelerinde ve Sysmex XF-1600™ ve BD FACSCanto™ II akış sitometrelerinde karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir.

Yöntemin doğruluğu, immün sisteminde patolojik bir durum olduğundan şüphelenilen 134 hastanın (bkz. Tablo 7) paralel boyanması ile desteklenmiştir. Doğrusal regresyon analizi parametreleri Tablo 4-7'de verilmiştir.

Tablo 4 Sağlıklı donörlerde lenfosit alt kümeleri için doğrusal regresyon analizi (KOMBITEST TBNK 6-color cihazının IVD ürünü BD Multitest™ 6-Color TBNK Reagent (Kat. No. 644611) ile karşılaştırılması)

Lenfosit Alt Kümesi	Birim	n	Eğim	Kesişme Noktası	R ²	Aralık
CD3+	%	30	1,00	-0,006	0,9942	49,03 - 84,87
	hücre/ μ l	30	0,99	5,464	0,9986	608 - 2137
CD3+CD8+	%	30	0,98	0,003	0,9957	10,43 - 40,17
	hücre/ μ l	30	0,97	8,959	0,9981	145 - 1016
CD3+CD4+	%	30	0,99	0,004	0,9939	29,70 - 56,37
	hücre/ μ l	30	0,99	6,588	0,9975	321 - 1407
CD3-CD16+CD56+	%	30	1,01	-0,002	0,9968	5,15 - 38,93
	hücre/ μ l	30	1,02	-6,186	0,9985	97 - 1036
CD3-CD19+	%	30	1,00	0,003	0,9948	5,42 - 25,00
	hücre/ μ l	30	1,02	1,611	0,9925	74 - 352

n = kan örneklerinin sayısı

Tablo 5 Sağlıklı donörlerde lenfosit alt kümelerinin doğrusal regresyon analizi (ED7733 cihazı ile boyanan analiz kan örneklerinin BD FACSCanto™ II ile Beckman Coulter DxFLEX'te karşılaştırılması)

Beckman Coulter DxFLEX'te ED7733'ün ölçümünün doğruluğu						
Beckman Coulter DxFLEX akış sitometresi ile BD FACSCanto™ II akış sitometresi karşılaştırması						
Ölçümün doğruluğu						
Lenfosit Alt Kümesi	Birim	n	Eğim	Kesişme Noktası	R ²	Aralık
CD3+	%	39	0,9822	0,0145	0,9879	52,7 - 83,8
	hücre/ μ l	39	0,9792	-24,255	0,9811	439 - 2406
CD3+CD8+	%	39	1,0171	0,0052	0,9829	13,7 - 41,8
	hücre/ μ l	39	1,0478	-3,0975	0,9930	131 - 1170
CD3+CD4+	%	39	0,9789	-0,001	0,9857	11,7 - 62,7
	hücre/ μ l	39	0,9768	-1,499	0,9929	128 - 1429
CD3-CD16+ CD56+	%	39	0,9727	0,0054	0,9815	3,53 - 34,4
	hücre/ μ l	39	0,9699	10,484	0,9886	85 - 673
CD3-CD19+	%	39	1,0212	-0,0047	0,9757	5,11 - 19,8
	hücre/ μ l	39	0,9767	-0,0385	0,9825	77 - 386

n = kan örneklerinin sayısı

Tablo 6 Sağlıklı donörlerde lenfosit alt kümelerinin doğrusal regresyon analizi (ED7733 cihazı ile boyanan analiz kan örneklerinin BD FACSCanto™ II ile Sysmex XF-1600™'de karşılaştırılması)

Sysmex XF-1600'de ED7733'ün ölçümünün doğruluğu						
Sysmex XF-1600™ akış sitometresi ile BD FACSCanto™ II akış sitometresi karşılaştırması						
Ölçümün doğruluğu						
Lenfosit Alt Kümesi	Birim	n	Eğim	Kesişme Noktası	R ²	Aralık
CD3+	%	39	1,0058	0,0105	0,9918	53,7 - 86,4
	hücre/ μ l	39	1,0174	4,2861	0,9991	425 - 2446
CD3+CD8+	%	39	1,0134	0,0015	0,9924	13,1 - 41,9
	hücre/ μ l	39	1,0346	-11,555	0,9976	121 - 1099
CD3+CD4+	%	39	1,0017	0,0103	0,9963	12,9 - 64,5
	hücre/ μ l	39	1,0043	17,382	0,9981	116 - 1474
CD3-CD16+ CD56+	%	39	0,9889	-0,0039	0,9868	3,2 - 33,6
	hücre/ μ l	39	0,972	-3,4422	0,9903	77 - 660
CD3-CD19+	%	39	1,0162	-0,0039	0,9852	5,14 - 19,0
	hücre/ μ l	39	0,9777	0,1994	0,9898	78 - 395

n = kan örneklerinin sayısı

Tablo 7 İmmün sistem patolojik durumları olduğundan şüphelenilen hastalarda lenfosit alt kümeleri için doğrusal regresyon analizi (KOMBITEST TBNK 6-color cihazının AQUIOS CL Akış Sitometri Sistemi (Beckman Coulter, Inc. ve akredite klinik laboratuvar kurum içi yöntemi) ile karşılaştırılması, farklı üreticilerin tek renkli konjuge antikorlarından oluşan bir karışımı ve BD FACSCanto™ II üzerinde analizi)

Lenfosit Alt Kümesi	Birim	n	Eğim	Kesişme Noktası	R ²	Aralık
CD3+	%	134	1,032	-2,655	0,98	23,9 - 94,5
	hücre/ μ l	134	1,023	-0,047	0,97	140 - 5178
CD3+CD8+	%	134	1,020	-0,803	0,98	9,1 - 80,7
	hücre/ μ l	134	1,055	-0,041	0,96	60 - 3546
CD3+CD4+	%	134	1,014	-0,651	0,98	1,4 - 67,5
	hücre/ μ l	134	0,994	-0,005	0,98	8 - 2826
CD3-CD16+CD56+	%	134	1,064	-0,400	0,98	1,6 - 68,2
	hücre/ μ l	134	1,080	-0,014	0,99	10 - 2612
CD3-CD19+	%	134	1,027	-0,376	0,99	0,0 - 69,7
	hücre/ μ l	134	1,043	-0,010	1,00	0 - 4586

n = kan örneklerinin sayısı

Doğrusallık

Yöntemin doğrusallığı, lökosit bakımından zenginleştirilmiş bir kan örneğinin (bulutsu katman) 10 kez seri seyreltesi yapılarak doğrulanmıştır. Hücre örnekleri hekzaplikatlarda KOMBITEST TBNK 6-color ile boyanmıştır. Örnekler BD FACSCanto™ II akış sitometresi ve Beckman Coulter DxFLEX ve Sysmex XF-1600™ akış sitometresi kullanılarak analiz edilmiştir. Belirtilen lenfosit alt kümeleri için ölçülen verilerin, BD FACSCanto™ II kullanılarak 333-9492 hücre/ μ l, Beckman Coulter DxFLEX kullanılarak 309-8693 hücre/ μ l ve Sysmex XF-1600™ kullanılarak 86-6822 hücre/ μ l lenfosit aralığında doğrusal olduğu gözlenmiştir. Hücre alt kümeleri Tablo 8-10'da bulunan aralıklarda olmuştur.

Tablo 8 BD FACSCanto™ II ile analiz edilen lenfosit alt gruplarının doğrusal aralıkları

BD FACSCanto™ II	
Lenfosit Alt Kümesi	Aralık (hücre/ μ l)
CD3+	249 - 6594
CD3+CD8+	96 - 2560
CD3+CD4+	136 - 3628
CD3-CD16+CD56+	55 - 1525
CD3-CD19+	44 - 1342

Tablo 9 Beckman Coulter DxFLEX ile analiz edilen lenfosit alt kümelerinin doğrusal aralıkları

Beckman Coulter DxFLEX	
Lenfosit Alt Kümesi	Aralık (hücre/ μ l)
CD3+	243 - 6565
CD3+CD8+	102 - 2652
CD3+CD4+	128 - 3517
CD3-CD16+CD56+	64 - 1588
CD3-CD19+	41 - 1280

Table 10 Sysmex XF-1600™ ile analiz edilen lenfosit alt kümelerinin doğrusal aralıkları

Sysmex XF-1600™	
Lenfosit Alt Kümesi	Aralık (hücre/ μ l)
CD3+	45 - 3513
CD3+CD8+	21 - 1507
CD3+CD4+	22 - 1742
CD3-CD16+CD56+	8 - 700
CD3-CD19+	7 - 567

Tespit limiti/Ölçüm limiti/Tahlil Eşiği

Doğrusallık verileri, tespit limiti (LOD) ve ölçüm limitini (LOQ) belirtmek için kullanılmıştır.

Tespit limiti, her bir lenfosit alt kümesi için sıfır olmayan en düşük mutlak hücre sayısı değeri artı $3 \times SD$ (standart sapma) olarak belirtilmiştir (bkz. Tablo 11–13).

Ölçüm limiti, lenfosit alt kümesi mutlak sayımı olarak sunulan analit konsantrasyonlarının doğrusallık aralığındaki en düşük değer olarak belirtilmiştir, bu değerde altı kopyalı gruptardan gelen varyasyon katsayısı (CV) %10'u geçmemiştir ve geri kazanım %90 - %110 aralığında olmuştur (bkz. Tablo 11–13).

Tahlil sonuçları, tek bir klinik antite için benzersiz bir şekilde tanısal değildir, bu nedenle tahlil eşiği tahmin edilemez.

Tablo 11 BD FACSCanto™ II'de tespit ve ölçüm limitleri

BD FACSCanto™ II				
Lenfosit Alt Kümesi	Sıfır olmayan en düşük hücre sayısı (hücre/ μ l)	3 \times SD (SD)	LOD (hücre/ μ l)	LOQ (hücre/ 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

Tablo 12 Beckman Coulter DxFLEX'te tespit ve ölçüm limitleri

Beckman Coulter DxFLEX				
Lenfosit Alt Kümesi	Sıfır olmayan en düşük hücre sayısı (hücre/ μ l)	3 \times SD (SD)	LOD (hücre/ μ l)	LOQ (hücre/ 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

Tablo 13 Sysmex XF-1600™'de tespit ve ölçüm limitleri

Sysmex XF-1600™				
Lenfosit Alt Kümesi	Sıfır olmayan en düşük hücre sayısı (hücre/ μ l)	3 \times SD (SD)	LOD (hücre/ μ l)	LOQ (hücre/ 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

Tekrarlanabilirlik

Testin tekrarlanabilirliği on kan örneği üzerinde hekzaplikat olarak ölçülmüştür. Numuneler BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEX ve Sysmex XF-1600™ akış sitometreleri kullanılarak analiz edilmiştir. Varyasyon katsayıları (CV) aşağıdaki tablolarda verilmiştir (Tablo 14-16).

Tablo 14 BD FACSCanto™ II'da cihazın tekrarlanabilirliği

BD FACSCanto™ II					
Lenfosit Alt Kümesi	Birim	n	Ortalama	SD	%CV
CD3+	%	10	70,34	0,56	0,91
	hücre/ μ l	10	1396	10,22	
CD3+CD8+	%	10	23,11	0,27	1,25
	hücre/ μ l	10	453	5,23	
CD3+CD4+	%	10	41,06	0,53	1,36
	hücre/ μ l	10	808	9,71	
CD3-CD16+CD56+	%	10	16,35	0,40	2,43
	hücre/ μ l	10	289	7,20	
CD3-CD19+	%	10	11,63	0,25	2,31
	hücre/ μ l	10	227	4,78	

Tablo 15 Beckman Coulter DxFLEX'de cihazın tekrarlanabilirliği

Beckman Coulter DxFLEX					
Lenfosit Alt Kümesi	Birim	n	Ortalama	SD	%CV
CD3+	%	10	70,80	0,61	0,95
	hücre/ μ l	10	1406	11,19	
CD3+CD8+	%	10	23,80	0,32	1,42
	hücre/ μ l	10	468	6,12	
CD3+CD4+	%	10	40,81	0,56	1,47
	hücre/ μ l	10	803	10,52	
CD3-CD16+CD56+	%	10	15,89	0,40	2,72
	hücre/ μ l	10	282	7,23	
CD3-CD19+	%	10	11,68	0,32	2,83
	hücre/ μ l	10	227	5,94	

Tablo 16 Sysmex XF-1600™'de cihazın tekrarlanabilirliği

Sysmex XF-1600™					
Lenfosit Alt Kümesi	Birim	n	Ortalama	SD	%CV
CD3+	%	10	69,15	0,89	1,39
	hücre/ μ l	10	1151	14,62	
CD3+CD8+	%	10	23,12	0,36	1,72
	hücre/ μ l	10	389	6,11	
CD3+CD4+	%	10	41,09	0,70	1,76
	hücre/ μ l	10	680	11,39	
CD3-CD16+CD56+	%	10	18,40	0,56	2,71
	hücre/ μ l	10	313	9,45	
CD3-CD19+	%	10	10,62	0,35	3,37
	hücre/ μ l	10	173	5,56	

Yeniden Üretilme

BD FACSCanto™ II ve Beckman Coulter DxFLEX'teki tahlilin tekrarlanabilirliği, 2 stabilize kan üzerinde (CD-Chex Plus® ve STRECK'ten CD-Chex Plus® CD4 Düşük) ölçülmüştür. Tahlilin Sysmex XF-1600™'teki tekrarlanabilirliği, 4 stabilize kan üzerinde ölçülmüştür (ek olarak CD-Chex Plus® ve CD-ChexPlus® CD4 Düşük ve IMMUNO-TROL Düşük Hücreler ve Beckman Coulter'dan IMMUNO-TROL Hücreler). Numuneler, aynı koşullar altında 15 gün boyunca Cihazdan 3 lot (her biri 5 gün) kullanılarak ölçülmüştür. Varyasyon katsayıları (CV) aşağıdaki tablolarda verilmiştir (Tablo 17-19).

Tablo 17 BD FACSCanto™ II'da cihazın yeniden üretilme

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

Tablo 18 Beckman Coulter DxFLEX'de cihazın yeniden üretilebilirliği

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

Tablo 19 Sysmex XF-1600™'de cihazın yeniden üretilenlikleri

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

Akış sitometrisi analizi için yazılım sürümünü içeren aşağıdaki akış sitometreleri kullanıldı:

BD FACSCanto™ II
Beckman Coulter DxFLEX
Sysmex XF-1600™

BD FACSDiva Yazılımı – sürüm 8.0.2
CytExpert for DxFLEX – sürüm 2.0.2.18
IPU Yazılımı – sürüm 0(0.09-00)

Mutlak hücre sayımları için aşağıdaki spesifikasyonlara sahip çift platformlu hematoloji analizörü kullanıldı:

Sysmex XN-1000™ IPU Yazılımı – sürüm 00-22(164)

Ölçülen verilerin değerlendirilmesi için aşağıdaki analiz platformu kullanıldı:
FlowJo™ (Becton, Dickinson and Company) - sürüm 10.9.0

12. Klinik performans

Prime immün yetmezliği olan hastalar

Ortak Değişken İmmün Yetmezlik (CVID) şüphesi olan 30 hastanın klinik verileri bir klinik sahada toplanmıştır. ED7733 cihazının klinik performansı, eritrosit lizis solüsyonu EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., Kat. No. ED7066) ile kullanılan KOMBITEST TBNK 6-color cihazının akredite klinik No. yöntemiyle (AQUIOS CL Flow Cytometry System - Beckman Coulter, Inc.) karşılaştırılmıştır.

Hastaların immün durum değerlendirme sonuçları immün yetmezliği bağlamında değerlendirilmiştir (Tablo 20).

Tablo 20 KOMBITEST TBNK 6-color cihazının klinik performansı – CVID hastaları

ED7733 KOMBITEST TBNK 6-color cihazı tarafından değerlendirilen immün durumu	Akredite klinik laboratuvar yöntemiyle değerlendirilen immün durum	
	İmmün yetmezliği	Normal durum
İmmün yetmezliği	24 hasta	0 hasta
Normal durum	0 hasta	6 hasta

Edinilmiş immün yetmezliği olan hastalar

İnsan Immün Yetmezliği Virüsü (HIV) enfeksiyonu olduğu onaylanmış 53 hastanın klinik verileri bir klinik sahada toplanmıştır. Cihazın klinik performansı, eritrosit lizis solüsyonu EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., Kat. No. ED7066) ile kullanılan KOMBITEST TBNK 6-color cihazının akredite klinik No. kurum içi yöntemiyle (farklı üreticilerin tek renk konjuge antikorlarından oluşan bir karışım ve BD FACSCanto™ II üzerinde analiz) karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir.

Hastaların immün durum değerlendirme sonuçları immün yetmezliği bağlamında değerlendirilmiştir (Tablo 21).

Tablo 21 KOMBITEST TBNK 6-color cihazının klinik performansı – HIV hastaları

ED7733 KOMBITEST TBNK 6-color cihazı tarafından değerlendirilen immün durumu	Akredite klinik laboratuvar tarafından kurum içi yöntemele değerlendirilen immün durum	
	İmmün yetmezliği	Normal durum
İmmün yetmezliği	29 hastadan 28'i*	0 hasta
Normal durum	0 hasta	24 hasta

DİKKAT:

*6 renkli ED7733 KOMBITEST TBNK cihazı, kritik sağlık durumuna sahip bir (1) HIV hastasında T hücrelerinin (CD3+) belirgin bir şekilde ayrılması için yeterli olmayan boyama göstermiştir.

13. Beklenen değerler

Referans Aralığı

Laboratuvarlar; yaş, cinsiyet, klinik özellikler ve etnik kökene bağlı değer değişimleri nedeniyle normal donörlerin yerel popülasyonundan 6 renkli KOMBITEST TBNK kullanılarak tanımlanan lenfosit alt kümeleri için kendi normal referans aralıklarını oluşturmalıdır.

14. Kısıtlamalar

KOMBITEST TBNK 6-color cihazı, heparin veya asit sitrat dekstroz (ACD) antikoagülanları ile toplanan numunelerin bağıl ve mutlak sayımlarının belirlenmesinde kullanım için onaylanmamıştır.

KOMBITEST TBNK 6-color cihazı, lösemi ve lenfoma örneklerinin taraması ve/veya fenotiplendirilmesi için tasarlanmamıştır.

Mutlak sayımlar, çeşitli üreticilerin farklı ekipmanlarını kullanan laboratuvarlar arasında karşılaştırılamaz.

15. Referanslar

- 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, Roayaee J, Klabansky R, Stevens RA, Metcalf JA, Baseler M. Evaluation of a single-platform technology for lymphocyte immunophenotyping. *Clin Vaccine Immunol.* 2007 Oct;14(10):1342-8. doi: 10.1128/CVI.00168-07. Epub 2007 Aug 29. PMID: 17761524; PMCID: PMC2168127.
 - 22) Htun NM, Chen YC, Lim B, et al. Near-infrared autofluorescence induced by intraplaque hemorrhage and heme degradation as marker for high-risk atherosclerotic plaques. *Nat Commun.* 2017;8(1):75. Published 2017 Jul 13.

doi:10.1038/s41467-017-00138-x

- 23) de Jonge G, Dos Santos TL, Cruz BR, Simionatto M, Bittencourt JIM, Krum EA, Moss MF, Borato DCK. Interference of in vitro hemolysis complete blood count. *J Clin Lab Anal.* 2018 Jun;32(5):e22396. doi: 10.1002/jcla.22396. Epub 2018 Feb 3. PMID: 29396875; PMCID: PMC6817011.
- 24) Haga Y, Kay HD, Tempero MA, Zetterman RK. Flow cytometric measurement of intracellular bilirubin in human peripheral blood mononuclear cells exposed to unconjugated bilirubin. *Clin Biochem.* 1992 Aug;25(4):277-83. doi: 10.1016/0009-9120(92)80033-d. PMID: 1381998.
- 25) Lam WK, Law YFW, Yip SF. Resolution of platelet count interference due to cytoplasmic fragments of leukaemic cells by flow cytometry in acute myeloid leukaemia. *Int J Lab Hematol.* 2022 Dec;44(6):983-985. doi: 10.1111/ijlh.13859. Epub 2022 May 3. PMID: 35504732.
- 26) Hervé Lecoeur, Marie-Lise Gougeon, Comparative analysis of flow cytometric methods for apoptosis quantitation in murine thymocytes and human peripheral lymphocytes from controls and HIV-infected persons Evidence for interference by granulocytes and erythrocytes, *Journal of Immunological Methods*, Volume 198, Issue 1, 1996, Pages 87-99, ISSN 0022-1759, [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(96\)00148-2](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, *Oncolmmunology*, 6:3,

DOI: 10.1080/2162402X.2017.1283460

- 31) Lamia Achour, Mark G. H. Scott, Hamasseh Shirvani, Alain Thuret, Georges Bismuth, Catherine Labb  -Julli  , 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. Ticari markalar

BD FACSCanto™ II, BD FACS Lyric™, BD Multitest™ ve FlowJo™; Becton, Dickinson and Company'nin tescilli ticari markalarıdır. CD-Chex Plus®, Streck'in tescilli ticari markasıdır. Cy™, Cytiva'nın tescilli ticari markasıdır. CyLyse™ FX, Sysmex XN-1000™ ve Sysmex XF-1600™, Sysmex Corporation'nin tescilli ticari markalarıdır. VenturiOne®, Applied Cytometry'nin tescilli ticari markasıdır. Infinicyt™, Cytognos S.L.'nin tescilli ticari markasıdır.

17. Revizyon Geçmiş

Versiyon 2, ED7733_IFU_v2

- 1) Cihazın test edildiği güncellenmiş akış sitometreleri.
- 2) Güncellenmiş örnek saklama. Endojen ve eksojen interferans eklendi.
- 3) Doğruluk güncellendi (BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex XF-1600™ akış sitometreleri)
- 4) Doğrusallık güncellendi (BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex

XF-1600™ akış sitometreleri)

5) Tespit limiti/Ölçüm limiti/Tahlil Eşiği güncellendi (BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex XF-1600™ akış sitometreleri)

6) Tekrarlanabilirlik ve çoğaltılabilirlik güncellendi (BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex XF-1600™ akış sitometreleri)

7) Beklenen değerler kaldırıldı

8) Referanslar güncellendi

18. Üretici

EXBIO Praha, a.s.

Nad Safinou II 341

25250 Vestec

Çek Cumhuriyeti

İletişim Bilgileri

info@exbio.cz

technical@exbio.cz

orders@exbio.cz

www.exbio.cz

19. Yetkili Temsilciler

N/A

NOT: Cihaza ilişkin olarak meydana gelen herhangi bir ciddi olay üreticiye ve yerel yetkili makama bildirilmelidir.