

exbio

KOMBITEST TBNK 6-color 50 testów | Nr kat. ED7733



Instrukcja użycia (PL)

Wersja: ED7733_IFU_v4_PL
Data wydania: 17.04.2025 r.

Symbole stosowane w oznakowaniu urządzeń

	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro		Ograniczenie temperatury
	Znak zgodności CE Numer identyfikacyjny organu notyfikowanego		Przechowywać poza zasięgiem światła słonecznego
	Producent		Znak UKCA
	Unikalny identyfikator urządzenia		
	Zapoznaj się z instrukcją użycia		
	Zawiera ilość wystarczającą na <n> testów		
	Numer katalogowy		
	Kod partii		
	Termin przydatności do użycia		

1. Przeznaczenie

KOMBITEST TBNK 6-color jest przeznaczony do wykrywania i zliczania populacji i podzbiorów limfocytów w ludzkiej krwi pełnej metodą cytometrii przepływowej.

Co jest wykrywane i/lub mierzone

Urządzenie KOMBITEST TBNK 6-color wykrywa i mierzy względne wartości procentowe i bezwzględne liczby ludzkich komórek T (CD3+), komórek B (CD3-CD19+), komórek NK (CD3-CD16+56+), komórek T pomocniczych/indukujących (CD3+CD4+) i supresorowych/cytotoksycznych (CD3+CD8+).

Funkcja urządzenia

Urządzenie jest przeznaczone do oceny immunologicznej zdrowych pacjentów i może pomóc w diagnozowaniu pacjentów z niedoborem odporności lub z podejrzeniem tego niedoboru.

Kontekst stanu fizjologicznego lub patologicznego

Na częstości populacji limfocytów mierzone przez urządzenie mogą mieć wpływ różne stany patologiczne, a ocena ich odsetka i liczby może być wykorzystana do oceny:

- Limfocyty T pomocnicze/indukujące CD3+/CD4+ w monitorowaniu HIV^(1, 4, 7, 9)
- Limfocyty T cytotoksyczne CD3+/CD8+ w zakażeniach wirusowych i dziedzicznych niedoborach odporności ^(2, 3, 4, 11, 12, 15, 17)
- Limfocyty B CD3-/CD19+ w chorobach autoimmunologicznych ^(5, 6)
- Komórki NK CD3-/CD16+56+ w odporności wrodzonej i wadzie immunologicznej ^(13, 14)

Rodzaj testu

Nie zautomatyzowany

Ilościowy

Wymagany rodzaj próbki

Próbka ludzkiej pełnej krwi obwodowej z antykoagulantem

Populacja testowa

Nie jest przeznaczony dla określonej populacji.

2. Użytkownik

Urządzenie jest przeznaczone wyłącznie do profesjonalnego użytku laboratoryjnego. Nie służy do badań przyłóżkowych ani do samodzielnych badań.

Wymagania dotyczące kwalifikacji

Docelowy użytkownik powinien posiadać najnowszą wiedzę specjalistyczną w zakresie analizy cytometrii przepływowej komórek ludzkich, standardowych technik laboratoryjnych, w tym umiejętności pipetowania oraz bezpiecznego i

właściwego obchodzenia się z próbkami pobranymi z organizmu ludzkiego.

Docelowy użytkownik musi przestrzegać normy EN ISO 15189 lub innych norm krajowych jeśli takowe istnieją.

3. Zasada testu

Zasada testu opiera się na wykrywaniu przeciwciała monoklonalnego wiążącego się ze specyficzną cząsteczką (antygenem) ekspresjonowaną przez określone ludzkie krwinki. Przeciwciała monoklonalne użyte w teście są znakowane różnymi fluorochromami, które są wzbudzane wiązką laserową z cytometru przepływowego podczas pobierania próbki krwi barwionej przeciwciałami. Późniejsza fluorescencja (emisja światła) każdego fluorochromu obecnego w pobranej komórce krwi jest zbierana i analizowana przez urządzenie. Intensywność fluorescencji jest wprost proporcjonalna do gęstości ekspresji antygeny w komórce, co pozwala na rozdzielenie różnych podzbiorów komórek.

4. Dostarczone odczynniki

Zawartość

Urządzenie KOMBITEST TBNK 6-color wystarcza na 50 testów i jest dostarczane z następującym odczynnikiem:

1 fiołka (1 ml) zawierająca wstępnie zmieszaną kombinację przeciwciał monoklonalnych znakowanych fluorochromem CD3 FITC / CD16 PE + CD56 PE / CD45 PerCP-CyTM5.5 / CD4 PE- CyTM7 / CD19 APC / CD8 APC-CyTM7, rozcieńczonych do optymalnych stężeń w stabilizującym roztworze soli fizjologicznej buforowanej fosforanami (PBS) zawierającym 15 mM azotanu sodu i 0,2% albuminy surowicy bydlęcej (BSA).

Skład

Tabela 1 Opis składników aktywnych

Antygen	Fluorochrom	Klon	Izotyp	Stężenie (µg/ml)
CD3	FITC	TB3	IgG2b	2
CD4	PE-Cy TM 7	MEM-241	IgG1	1,5
CD8	APC-Cy TM 7	LT8	IgG1	1,8
CD16	PE	3G8	IgG1	1,5
CD56	PE	LT56	IgG2a	1,5
CD19	APC	LT19	IgG1	2
CD45	PerCP-Cy TM 5.5	MEM-28	IgG1	3

5. Materiały wymagane, nie będące w zestawie

Probówki okrągłodenne (12 x 75 mm)

Roztwór do lizy erytrocytów (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., nr kat. ED7066 or CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, nr. kat. BD303500)

Woda dejonizowana (do odczytników)

Komórki kontroli procesu (Streck CD-Chex Plus® , nr kat. 213323 lub równoważna kontrola komórek ulegających lizie)

6. Wymagany sprzęt

Pipeta automatyczna z jednorazowymi końcówkami (20 - 100 µl) do pipetowania próbek i odczytników

Dozownik lub pipeta do płynów z jednorazowymi końcówkami (0,5 – 2 ml) do dozowania roztworu do lizy erytrocytów

Mieszadło wirowe

Analizator hematologiczny (do bezwzględnego zliczania krwinek) zdolny do oznaczania liczby białych krwinek (WBC) i limfocytów na µl próbki

Cytometr przepływowy z dwoma laserowymi źródłami wzbudzenia (488 nm i ~635 nm), detektorami światła rozproszonego, filtrami optycznymi i detektorami emisji odpowiednimi do zbierania sygnałów z fluorochromów przedstawionych w tabeli 2.

Tabela 2 Charakterystyka widmowa fluorochromów zastosowanych w urządzeniu

Fluorochrom	Wzbudzenie [nm]	Emisja [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

UWAGA: Urządzenie zostało przetestowane na cytometrach przepływowych BD FACSCanto™ II (BD Biosciences), DxFLEx (Beckman Coulter) i Sysmex XF-1600™ (Sysmex Corporation).

7. Przechowywanie

Przechowywać w temperaturze 2–8°C.

Unikać długotrwałej ekspozycji na światło.

Nie zamrażać.

Patrz punkt 10 Procedura (Przygotowanie odczynników), aby uzyskać informacje na temat stabilności podczas użycia i okresu ważności po pierwszym otwarciu, a także warunków przechowywania i stabilności roztworów roboczych (jeśli dotyczy).

8. Ostrzeżenia, środki ostrożności i ograniczenia użytkowania

Klasyfikacja zagrożeń GHS

Zapoznaj się z kartą charakterystyki (SDS) dostępną na stronie produktu pod adresem www.exbio.cz, aby uzyskać pełne informacje na temat zagrożeń stwarzanych przez substancje chemiczne i mieszaniny zawarte w produkcie oraz jak należy się z nimi obchodzić i jak je utylizować.

Zagrożenie biologiczne

Ludzkie próbki biologiczne i próbki krwi oraz wszelkie materiały mające z nimi kontakt są zawsze uważane za materiały zakaźne.

Stosować środki ochrony osobistej i bezpieczeństwa, aby uniknąć kontaktu ze skórą, oczami i błonami śluzowymi.

Postępować zgodnie ze wszystkimi obowiązującymi przepisami prawa, regulacjami i procedurami dotyczącymi obchodzenia się z materiałami zakaźnymi i ich usuwania.

Oznaki pogorszenia jakości

Normalny wygląd dostarczonego odczynnika to klarowny płyn. Nie używać odczynnika w przypadku zauważenia jakiegokolwiek zmiany w jego wyglądzie, na przykład zmętnienia lub osadu.

Ograniczenie użytkowania

Nie stosować po upływie daty ważności podanej na etykiecie produktu.

9. Próbka

Stosować żyłą krew obwodową pobraną do pojemnika na próbki sklasyfikowanego jako wyrób medyczny z antykoagulantem EDTA.

UWAGA: określić bezwzględną liczbę krwinek białych i liczbę limfocytów w pobranej próbce krwi za pomocą analizatora hematologicznego. Samo urządzenie KOMBITEST TBNK 6-color nie zapewnia zliczania bezwzględnej liczby komórek.

Próbka krwi z liczbą WBC przekraczającą 40×10^3 komórek/ μ l będzie wymagać rozcieńczenia PBS przed przetwarzaniem próbki.

Próbkę krwi należy poddać obróbce nie później niż 24 godziny po pobraniu. Próbkę przechowywać w temperaturze laboratoryjnej (20–25°C). Nie przechowywać próbki w lodówce.

Interferencja endogenna

Na podstawie badań literatury naukowej w Tabeli 3 przedstawiono endogenne źródła zakłóceń.

Tabela 3 Endogenna interferencja urządzenia

Interferencja endogenna	Wpływ	Odniesienie
Albumina	Albumina może zakłócać działanie w wysokich stężeniach ze względu na swoją zdolność do wiązania i uwalniania dużych ilości ligandów.	18, 19, 35
Bilirubina (żółta) (niesprzężona)	Bilirubina może zwiększać tło fluorescencji komórek ze względu na wysoką autofluorescencję.	22, 24, 28
Pozostałości komórek (po lizie)	Szczątki komórek mogą powodować błędy w liczeniu komórek i wyczerpanie przeciwciał w urządzeniu.	21, 25
Erytrocyty	Niewystarczająca liza, obecność czerwonych krwinek w próbce może skutkować błędnym zliczeniem komórek.	26
Hemoglobina	Próbki zhemolizowane mogą dawać błędne wyniki.	23
Ludzkie przeciwciała przeciw mysim	Leczenie przeciwciałami monoklonalnymi może dawać błędne wyniki (zdolność wiązania się z antygenami powierzchniowymi komórki).	20, 30, 31, 32, 33, 34
Immunoglobuliny	Nie można myć metodą jednoplatformową i może to skutkować błędną liczbą podzbiorów limfocytów.	21
Czynniki reumatoidalne	Obecność RF zakłóca MIA (multipleksowe testy immunologiczne).	27
Trójglicerydy	Wysoki poziom lipidów w krążeniu może wpływać na analizę cytometrii przepływowej niektórych populacji komórek krwi.	29

Zakłócenia egzogenne

Próbka starsza niż 24 godziny może dawać błędne wyniki.

Próbka przechowywana w lodówce może dawać błędne wyniki.

Niewłaściwe przygotowanie roztworu do lizy erytrocytów (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., nr kat. ED7066 lub CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, nr kat. nr BD303500) może dawać błędne wyniki. Postępuj zgodnie z instrukcjami producenta dotyczącymi stosowania roztworu do lizy erytrocytów.

10. Procedura

Przygotowanie dostarczonych odczynników

Przygotowanie odczynnika nie jest konieczne.

Przed użyciem doprowadzić odczynnik do temperatury pokojowej. Utrzymywać główny pojemnik urządzenia w stanie suchym.

Użyć odczynnika bezpośrednio z jego oryginalnego pojemnika podstawowego. Czas użytkowania odczynnika (wystawienie na działanie światła i podwyższonej temperatury) nie powinien przekraczać 4 godzin dziennie.

Po pierwszym otwarciu odczynnik zachowuje swoje właściwości użytkowe do daty ważności, jeśli jest przechowywany w określonych warunkach w oryginalnym pojemniku podstawowym.

UWAGA: nie rozcieńczać odczynnika.

Przygotowanie wymaganych, a nie zawartych w zestawie materiałów

Rozcieńczyć stężony roztwór do lizy erytrocytów wodą dejonizowaną zgodnie z zaleceniami producenta. Rozcieńczony (1X) roztwór do lizy erytrocytów jest stabilny przez 1 miesiąc, jeśli jest przechowywany w dozowniku cieczy lub zamkniętym pojemniku w temperaturze pokojowej.

Kontrola jakości

Użyć Streck CD-Chex Plus® lub równoważnych komórek kontrolnych jako pozytywnej kontroli proceduralnej, aby zapewnić prawidłowe działanie urządzenia zgodnie z przeznaczeniem. Streck CD-Chex Plus® zapewnia ustalone wartości procentowe dodatnich i bezwzględnych zliczeń limfocytów T, limfocytów B, granulocytów, monocytów i komórek NK, w tym dwóch klinicznie istotnych poziomów komórek CD4+.

Wybarwić komórki kontrolne przy użyciu KOMBITEST TBNK 6-color zgodnie z obróbką próbki określoną w instrukcji obsługi. Sprawdzić, czy uzyskane wyniki (% komórek dodatnich) mieszczą się w oczekiwanym zakresie podanym dla używanej serii komórek kontrolnych.

Barwienie próbek

1. Dla każdej próbki oznaczyć okrągłodenną probówkę o wymiarach 12 × 75 mm odpowiednią identyfikacją próbki.
2. Nanieść za pomocą pipety 20 µl KOMBITEST TBNK 6-color na dno probówki o wymiarach 12 x 75 mm.
3. Nanieść za pomocą pipety 50 µl dobrze wymieszanej próbki krwi na dno probówki.

UWAGA: Unikać pipetowania krwi po ściance probówki. Jeśli na boku probówki pozostanie rozmaz krwi lub kropla, może ona nie zostać zabarwiona odczynnikiem lub erytrocyty mogą nie ulec lizie, przez co wynik testu może być nieważny.

4. Wytrząsać i inkubować probówkę przez 20 minut w temperaturze pokojowej w ciemności.
5. Dodać do probówki 500 µl rozcieńczonego (1X) roztworu do lizy.
6. Wytrząsać i inkubować probówkę przez 10 minut w temperaturze pokojowej w ciemności.

Natychmiast pobrać zabarwioną próbkę na cytometr przepływowy. Jeżeli wybarwionej próbki nie da się natychmiast pobrać, przechowywać w ciemności w temperaturze 2–8°C i analizować w ciągu 24 godzin.

UWAGA: wirować zabarwioną próbkę bezpośrednio przed akwizycją w cytometrze przepływowym, aby uniknąć tworzenia się agregatów.

Analiza metodą cytometrii przepływowej

Cytometr przepływowy wybrany do współpracy z urządzeniem KOMBITEST TBNK 6-color należy rutynowo kalibrować przy użyciu mikrokulek fluorescencyjnych, aby zapewnić stabilną czułość detektorów zgodnie z zaleceniami producenta cytometru.

W przypadku nieprawidłowej konserwacji cytometr przepływowy może dawać fałszywe wyniki.

Patrz specyfikacje cytometru producenta dotyczące laserów i detektorów fluorescencyjnych zgodnie z charakterystyką wzbudzenia i emisji fluorochromów w rozdziale 6. Wymagany osprzęt.

Ustawić napięcia na odpowiednich detektorach fluorescencyjnych przed analizą zabarwionej próbki. Napięcie na detektorze PMT powinno być ustawione na tyle wysoko, aby jak najmniej zdarzeń wybarwionych ujemnie zakłócało kanał 0 na osi fluorescencji. Również napięcie detektora PMT nie powinno przekraczać wartości, przy których dodatnie zdarzenia są dociskane do prawej osi.

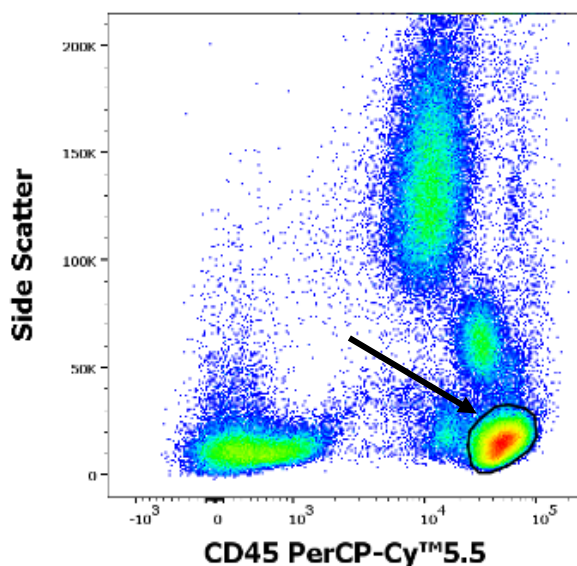
Kompensacja sygnałów fluorescencji między detektorami przed lub po akwizycji danych. Dane mogą być nieprawidłowo interpretowane, jeśli sygnały fluorescencyjne są niewłaściwie kompensowane lub jeśli bramki są ustawione niedokładnie.

Do analizy danych pomiarowych można wykorzystać oprogramowanie cytometryczne opracowane przez producenta lub oprogramowanie dedykowane do analizy danych cytometrycznych offline (np. FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

Analiza danych barwionej próbki KOMBITEST TBNK 6-color

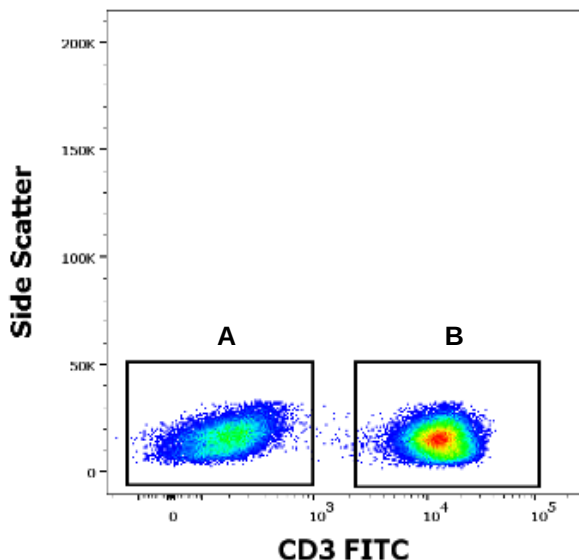
Wizualizować skompensowane dane na wykresie rozproszenia bocznego (SSC) względem CD45 PerCP-CyTM5.5. Ustawić bramkę dla populacji limfocytów CD45+, jak pokazano na rysunku 1.

Rysunek 1 Określenie populacji limfocytów CD45+
(dane zebrane na BD FACSCantoTM II)



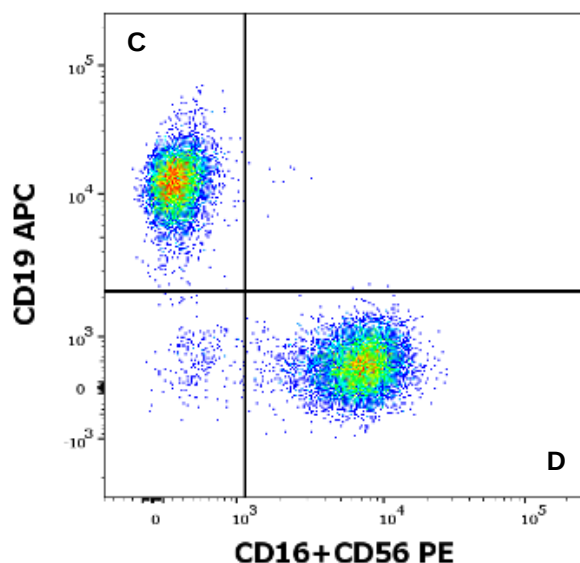
Wykreślić bramkowane limfocyty CD45+ na wykresie rozproszenia bocznego (SSC) względem CD3 FITC, jak pokazano na rysunku 2. Oddzielić limfocyty CD3+ i CD3- za pomocą odpowiednich bramek. Obliczyć procent limfocytów T (CD3+; region B na rysunku 2) ze wszystkich limfocytów.

Rysunek 2 Separacja limfocytów CD3+ i CD3-
(dane zebrane na BD FACSCanto™ II)



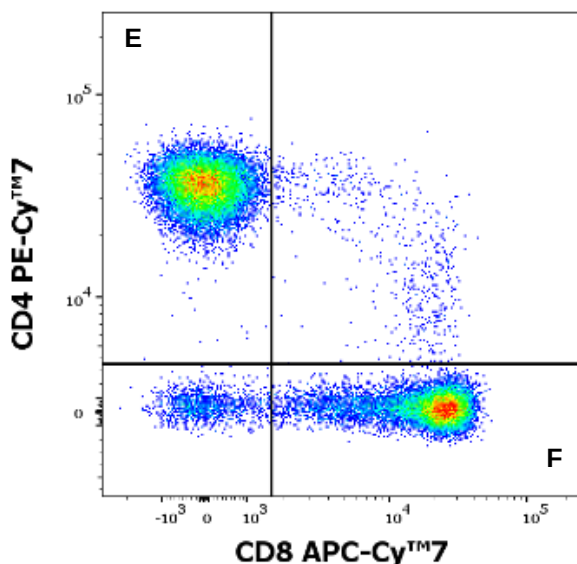
Wykreślić bramkowane limfocyty CD3- (region A na rysunku 2) jako CD19 APC w porównaniu z CD16+CD56 PE, jak pokazano na rysunku 3. Ustawić odpowiednie bramki i obliczyć procent komórek B (CD16-CD56-CD19+; region C na rysunku 3) i komórek NK (CD16+CD56+CD19-; region D na rysunku 3) ze wszystkich limfocytów.

Rysunek 3 Limfocyty CD3- na wykresie punktowym CD19 APC vs. CD16+CD56 PE (dane zebrane na BD FACSCanto™ II)



Nakreślić bramkowane komórki T (CD3+; region B na rysunku 2) jako CD4 PE-CyTM7 w porównaniu z CD8 APC-CyTM7, jak pokazano na rysunku 4. Ustawić odpowiednie bramki i obliczyć procent limfocytów T pomocniczych/indukujących (CD4+CD8-; region E na rysunku 4) i supresorowych/cytotoksycznych limfocytów T (CD4-CD8+; region F na rysunku 4) ze wszystkich limfocytów.

Rysunek 4 Limfocyty CD3+ na wykresie punktowym CD4 PE-CyTM7 vs. CD8 APC-CyTM7 (dane zebrane na BD FACSCantoTM II)



Obliczanie i interpretacja wyników analiz

Aby uzyskać liczbę bezwzględną, należy użyć bezwzględnej liczby limfocytów określonej przez analizator hematologiczny. Patrz instrukcje producenta analizatora hematologicznego. Użyć poniższych równań do bezwzględnego zliczenia wymaganego podzbioru limfocytów.

$$A \times \frac{B (\%) }{100 (\%)} = \text{Bewzględna liczba wymaganego podzbioru limfocytów}$$

A = bezwzględna liczba limfocytów (dane z analizatora hematologicznego; komórki / μ l)

B = względne wartości procentowe wymaganego podzbioru limfocytów ze wszystkich limfocytów (dane z cytometru przepływowego; %)

11. Wydajność analityczna

Specyficzność

Przeciwciało TB3 rozpoznaje ludzki antygen CD3 z kompleksu TCR/CD3. Swoistość przeciwciała została potwierdzona przez Radę HCDM (warsztaty HLDA XI).

Przeciwciało MEM-241 rozpoznaje ludzki antygen CD4 (glikoproteina powierzchniowa CD4 komórek T). Swoistość przeciwciała została potwierdzona przez Radę HCDM (warsztaty HLDA VIII).

Przeciwciało LT8 rozpoznaje ludzki antygen CD8 (dimer połączony mostkiem dwusiarczkowym wyrażany jako dwa homodimery łańcucha alfa CD8 lub heterodimery łańcucha alfa/beta CD8). Swoistość przeciwciała została potwierdzona przez warsztaty HLDA (warsztaty HLDA V ⁽¹⁶⁾ i warsztaty HLDA VII ⁽⁸⁾).

Przeciwciało 3G8 rozpoznaje ludzki antygen CD16 (receptor Fc-gamma immunoglobuliny typu III o niskim powinowactwie). Swoistość przeciwciała została potwierdzona przez warsztat HLDA (warsztat HLDA V ⁽¹⁶⁾).

Przeciwciało LT56 rozpoznaje izoformę leukocytów ludzkiego antygeny CD56 (cząsteczka adhezyjna komórek nerwowych 1). Swoistość przeciwciała została potwierdzona przez Radę HCDM (warsztaty HLDA X).

Przeciwciało LT19 rozpoznaje ludzki antygen CD19 (transbłonowa glikoproteina CD19 komórek B). Swoistość przeciwciała została potwierdzona przez Radę HCDM (warsztaty HLDA X).

Przeciwciało MEM-28 rozpoznaje wszystkie izoformy leukocytów ludzkiego CD45 (receptor białkowej fosfatazy tyrozynowej typu C). Swoistość przeciwciała została potwierdzona przez warsztaty HLDA (warsztaty HLDA III ⁽¹⁰⁾).

Dokładność

Dokładność metody mierzono na cytometrze przepływowym BD FACSCanto™ II i określono poprzez porównanie urządzenia KOMBITEST TBNK 6-color z podobnym produktem dostępnym na rynku BD Multitest™ 6-Color TBNK Reagent (nr kat. 644611) przez równoległe barwienie 30 zdrowych dawców krwi.

Na cytometrach przepływowych Beckman Coulter DxFLEx i Sysmex XF-1600™ dokładność metody określono przez porównanie wyników analizy tych samych próbek krwi od 39 zdrowych dawców barwionych urządzeniem KOMBITEST TBNK 6-Color na cytometrach przepływowych BC DxFLEx i BD FACSCanto™ II oraz na cytometrach przepływowych Sysmex XF-1600™ i BD FACSCanto™ II.

Dokładność metody została potwierdzona równoległym barwieniem próbek od 134 pacjentów (patrz tabela 7) z podejrzeniem stanu patologicznego układu odpornościowego. Parametry analizy regresji liniowej przedstawiono w tabelach 4–7.

Tabela 4 Analiza regresji liniowej dla podzbiorów limfocytów u zdrowych dawców
(porównanie urządzenia KOMBITEST TBNK 6-color z odczynnikami produktu IVD
BD Multitest™ 6-Color TBNK (nr kat. 644611))

Podzbiór limfocytów	Jednostka	n	Nachylenie	Przechwyt	R ²
CD3+	%	30	1,0030	-0,0059	0,9942
	komórek/ μ l	30	0,9898	5,4635	0,9986
CD3+CD8+	%	30	0,9820	0,0029	0,9957
	komórek/ μ l	30	0,9723	8,959	0,9981
CD3+CD4+	%	30	0,9850	0,0035	0,9939
	komórek/ μ l	30	0,9850	6,5877	0,9975
CD3-CD16+CD56+	%	30	1,0085	-0,0017	0,9968
	komórek/ μ l	30	1,0192	-6,1863	0,9985
CD3-CD19+	%	30	0,9953	0,0033	0,9948
	komórek/ μ l	30	1,0189	1,6105	0,9925

n = liczba próbek krwi

Tabela 5 Analiza regresji liniowej podzbiorów limfocytów u zdrowych dawców
(porównanie analizowanych próbek krwi barwionych urządzeniem ED7733 na urządzeniu Beckman Coulter DxFLEX z BD FACSCanto™ II)

Dokładność pomiaru ED7733 na Beckman Coulter DxFLEX					
Cytometr przepływowy Beckman Coulter DxFLEX a cytometr przepływowy BD FACSCanto™ II					
Prawdziwość pomiaru					
Podzbiór limfocytów	Jednostka	n	Nachylenie	Przechwyt	R²
CD3+	%	39	0,9822	0,0145	0,9879
	komórek/ μ l	39	0,9792	-24,255	0,9811
CD3+CD8+	%	39	1,0171	0,0052	0,9829
	komórek/ μ l	39	1,0478	-3,0975	0,9930
CD3+CD4+	%	39	0,9789	-0,001	0,9857
	komórek/ μ l	39	0,9768	-1,499	0,9929
CD3-CD16+ CD56+	%	39	0,9727	0,0054	0,9815
	komórek/ μ l	39	0,9699	10,484	0,9886
CD3-CD19+	%	39	1,0212	-0,0047	0,9757
	komórek/ μ l	39	0,9767	-0,0385	0,9825

n = liczba próbek krwi

Tabela 6 Analiza regresji liniowej podzbiorów limfocytów u zdrowych dawców
(porównanie analizowanych próbek krwi barwionych urządzeniem ED7733 na Sysmex
XF-1600™ z BD FACSCanto™ II)

Dokładność pomiaru ED7733 na Sysmex XF-1600™					
Cytometr przepływowy Sysmex XF-1600™ a cytometr przepływowy BD FACSCanto™ II					
Prawdziwość pomiaru					
Podzbiór limfocytów	Jednostka	n	Nachylenie	Przechwyt	R²
CD3+	%	39	1,0058	0,0105	0,9918
	komórek/ μ l	39	1,0174	4,2861	0,9991
CD3+CD8+	%	39	1,0134	0,0015	0,9924
	komórek/ μ l	39	1,0346	-11,555	0,9976
CD3+CD4+	%	39	1,0017	0,0103	0,9963
	komórek/ μ l	39	1,0043	17,382	0,9981
CD3-CD16+ CD56+	%	39	0,9889	-0,0039	0,9868
	komórek/ μ l	39	0,972	-3,4422	0,9903
CD3-CD19+	%	39	1,0162	-0,0039	0,9852
	komórek/ μ l	39	0,9777	0,1994	0,9898

n = liczba próbek krwi

Tabela 7 Analiza regresji liniowej dla podzbiorów limfocytów u pacjentów z podejrzeniem stanów patologicznych układu odpornościowego (porównanie urządzenia KOMBITEST TBNK 6- color z systemem do cytometrii przepływowej AQUIOS CL – Beckman Coulter, Inc. i akredytowaną metodą wewnętrzną laboratorium klinicznego – koktajl skoniugowanych jednobarwnych przeciwciał różnych producentów i analiza na BD FACSCanto™ II)

Podzbiór limfocytów	Jednostka	n	Nachylenie	Przechwyt	R ²
CD3+	%	134	1,032	-2,655	0,98
	komórek/ μ l	134	1,023	-0,047	0,97
CD3+CD8+	%	134	1,020	-0,803	0,98
	komórek/ μ l	134	1,055	-0,041	0,96
CD3+CD4+	%	134	1,014	-0,651	0,98
	komórek/ μ l	134	0,994	-0,005	0,98
CD3-CD16+CD56+	%	134	1,064	-0,400	0,98
	komórek/ μ l	134	1,080	-0,014	0,99
CD3-CD19+	%	134	1,027	-0,376	0,99
	komórek/ μ l	134	1,043	-0,010	1,00

n = liczba próbek krwi

Liniowość

Liniowość metody zweryfikowano na 10 seryjnych rozcieńczeniach próbki krwi wzbogaconej w leukocyty (kożuszek leukocytny). Próbkę komórek barwiono odczynnikami KOMBITEST TBNK 6-color w heksaplikacjach. Próbkę analizowano przy użyciu cytometru przepływowego BD FACSCanto™ II, cytometru przepływowego Beckman Coulter DxFLEx i cytometru przepływowego Sysmex XF-1600™. Zmierzone dane dla wskazanych podzbiorów limfocytów okazały się liniowe w przedziale 333–9492 komórek limfocytów na μ l na urządzeniu BD FACSCanto™ II, w przedziale 309–8693 komórek na μ l na Beckman Coulter DxFLEx i w przedziale 86–6822 komórek na μ l przy użyciu Sysmex XF-1600™. Podzbiory komórek mieściły się w zakresach podanych w tabelach 8–10.

Tabela 8 Liniowe zakresy podzbiorów limfocytów analizowane przez BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II	
Podzbiór limfocytów	Zakres (komórki/ μ l)
CD3+	249 – 6594
CD3+CD8+	96 – 2560
CD3+CD4+	136 – 3628
CD3-CD16+CD56+	55 – 1525
CD3-CD19+	44 – 1342

Tabela 9 Liniowe zakresy podzbiorów limfocytów analizowane przez Beckman Coulter DxFLEx

Beckman Coulter DxFLEx	
Podzbiór limfocytów	Zakres (komórki/ μ l)
CD3+	243 – 6565
CD3+CD8+	102 – 2652
CD3+CD4+	128 – 3517
CD3-CD16+CD56+	64 – 1588
CD3-CD19+	41 – 1280

Tabela 10 Liniowe zakresy podzbiorów limfocytów analizowane przez Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™	
Podzbiór limfocytów	Zakres (komórki/ μ l)
CD3+	45 - 3513
CD3+CD8+	21 - 1507
CD3+CD4+	22 - 1742
CD3-CD16+CD56+	8 - 700
CD3-CD19+	7 - 567

Granica wykrywalności / Granica oznaczalności / Punkt odcięcia testu

Dane dotyczące liniowości wykorzystano do określenia granicy wykrywalności (LOD) i granicy oznaczalności (LOQ).

Granice wykrywalności określono jako najniższą niezerową bezwzględną liczbę komórek plus $3 \times SD$ (odchylenie standardowe) dla każdego podzbioru limfocytów (patrz Tabele 11–13).

Granice oznaczalności określono jako najniższą wartość w zakresie liniowości stężeń analitów przedstawioną jako bezwzględna liczba podzbioru limfocytów, przy której CV z heksaplikatów nie przekraczało 10% a odzysk mieścił się w zakresie 90–110% (patrz Tabele 11–13).

Wyniki testu nie są jednoznacznie diagnostyczne dla pojedynczej jednostki klinicznej, dlatego nie można oszacować wartości odcięcia testu.

Tabela 11 Granice wykrywalności i oznaczalności na BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II				
Podzbiór limfocytów	Najniższa niezerowa liczba komórek (komórki na μ l)	$3 \times SD$ (SD)	LOD (komórki na μ l)	LOQ (komórki na 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

Tabela 12 Granice wykrywalności i oznaczalności na Beckman Coulter DxFLEx

Beckman Coulter DxFLEx				
Podzbiór limfocytów	Najniższa niezerowa liczba komórek (komórki na μ l)	$3 \times SD$ (SD)	LOD (komórki na μ l)	LOQ (komórki na 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

Tabela 13 Granice wykrywalności i oznaczalności na Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™				
Podzbiór limfocytów	Najniższa niezerowa liczba komórek (komórki na μl)	3×SD (SD)	LOD (komórki na μl)	LOQ (komórki na μl)
CD3+	1	0.12 (0.04)	1.12	5
CD3+CD8+	1	0.3 (0.1)	1.3	2
CD3+CD4+	1	0.3 (0.1)	1.3	8
CD3-CD16+CD56+	1	0.6 (0.2)	1.6	3
CD3-CD19+	1	0.3 (0.1)	1.3	7

Powtarzalność

Powtarzalność testu mierzono na dziesięciu próbkach krwi w heksaplikacjach. Próbkę analizowano przy użyciu cytometrów przepływowych BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLX i Sysmex XF-1600™. Współczynniki zmienności (CV) podano w poniższych tabelach (Tabele 14–16).

Tabela 14 Powtarzalność urządzenia na BD FACSCanto™ II

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

n = liczba próbek krwi

Tabela 15 Powtarzalność urządzenia na Beckman Coulter DxFLEx

Beckman Coulter DxFLEx					
Podzbiór limfocytów	Jednostka	n	Średnio	SD	%CV
CD3+	%	10	70,80	0,61	0,95
	komórek/ μ l	10	1406	11,19	
CD3+CD8+	%	10	23,80	0,32	1,42
	komórek/ μ l	10	468	6,12	
CD3+CD4+	%	10	40,81	0,56	1,47
	komórek/ μ l	10	803	10,52	
CD3-CD16+CD56+	%	10	15,89	0,40	2,72
	komórek/ μ l	10	282	7,23	
CD3-CD19+	%	10	11,68	0,32	2,83
	komórek/ μ l	10	227	5,94	

n = liczba próbek krwi

Tabela 16 Powtarzalność urządzenia na Sysmex XF-1600™

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

n = liczba próbek krwi

Odtwarzalność

Powtarzalność testu na BD FACSCanto™ II i Beckman Coulter DxFLEX mierzono na 2 stabilizowanych próbkach krwi (CD-Chex Plus® i CD-Chex Plus® CD4 Low firmy STRECK). Powtarzalność testu Sysmex XF-1600™ mierzono na 4 stabilizowanych próbkach krwi (CD-Chex Plus® i CD-Chex Plus® CD4 Low oraz IMMUNO-TROL Low Cells i IMMUNO-TROL Cells firmy Beckman Coulter dodatkowo). Próbkę mierzono w tych samych warunkach przez 15 dni, używając 3 serii urządzenia (po 5 dni każda). Współczynniki zmienności (CV) podano w poniższych tabelach (Tabele 17–19).

Tabela 17 Odtwarzalność urządzenia na BD FACSCanto™ II

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

Tabela 18 Odtwarzalność urządzenia na Beckman Coulter DxFLEx

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

Table 19 Odtwarzalność urządzenia na Sysmex XF-1600™

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

UWAGA: wszystkie dane dotyczące wydajności analitycznej zostały zmierzone przy użyciu roztworu do lizy erytrocytów EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., nr kat. ED7066).

Do analizy metodą cytometrii przepływowej wykorzystano następujące cytometry przepływowe wraz z wersją oprogramowania:

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

Do bezwzględego zliczenia komórek zastosowano analizator hematologiczny metodą dwuplatformową o następujących parametrach:

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

Do oceny zmierzonych danych wykorzystano platformę analityczną: FlowJo™ (Becton, Dickinson and Company) - wersja 10.9.0

12. Wydajność kliniczna

Pacjenci z pierwotnym niedoborem odporności

Dane kliniczne zebrano w ośrodku klinicznym od 30 pacjentów z podejrzeniem pospolitego zmiennego niedoboru odporności (CVID). Określono skuteczność kliniczną urządzenia ED7733 jako porównanie urządzenia KOMBITEST TBNK 6-color przy użyciu roztworu do lizy erytrocytów EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., nr kat. ED7066) z akredytowaną metodą laboratorium klinicznego (System cytometrii przepływowej AQUIOS CL — Beckman Coulter, Inc.).

Wyniki oceny statusu immunologicznego pacjentów oceniano pod kątem niedoboru odporności (tabela 20).

Tabela 20 Wydajność kliniczna urządzenia KOMBITEST TBNK 6-color – pacjenci z CVID

		Stan odporności oceniany akredytowaną metodą laboratorium klinicznego	
		Niedobór odporności	Normalna kondycja
Stan odporności oceniany za pomocą urządzenia KOMBITEST TBNK 6-color	Niedobór odporności	24 pacjentów	0 pacjentów
	Normalna kondycja	0 pacjentów	6 pacjentów

Pacjenci z nabytym niedoborem odporności

Dane kliniczne zebrano w ośrodku klinicznym od 53 pacjentów z potwierdzonym zakażeniem ludzkim wirusem upośledzenia odporności (HIV). Kliniczne działanie urządzenia określono na podstawie porównania urządzenia KOMBITEST TBNK 6-color z roztworem do lizy erytrocytów EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., nr kat. ED7066) z metodą wewnętrzną akredytowanego laboratorium klinicznego (koktajl skoniugowanych jednokolorowych przeciwciał różnych producentów i analiza na BD FACSCanto™ II).

Wyniki oceny statusu immunologicznego pacjentów oceniano pod kątem niedoboru odporności (tabela 21).

Tabela 21 Wydajność kliniczna urządzenia KOMBITEST TBNK 6-color – pacjenci z HIV

		Stan odporności oceniany metodą wewnętrzną akredytowanego laboratorium klinicznego	
		Niedobór odporności	Normalna kondycja
Stan odporności oceniany za pomocą urządzenia KOMBITEST TBNK 6-color	Niedobór odporności	28 z 29 pacjentów*	0 pacjentów
	Normalna kondycja	0 pacjentów	24 pacjentów

OSTRZEŻENIE:

* Urządzenie KOMBITEST TBNK 6-Color wykazało, że barwienie jest niewystarczające do wyraźnego oddzielenia limfocytów T (CD3+) u jednego (1) pacjenta z HIV w krytycznym stanie.

13. Oczekiwane wartości

Interwał odniesienia

Tabela 22 Interwały odniesienia zdrowych dawców krwi mierzone na urządzeniu BD FACSCanto™ II

Podzbiór limfocytów	n	Jednostka	Zakres		Mediana
			Min	Maks	
CD3+	65	%	49,0	84,9	72,4
	65	komórek/ μ l	608	2415	1269
CD3+CD8+	65	%	10,4	40,2	22,2
	65	komórek/ μ l	127	1075	405
CD3+CD4+	65	%	28,1	62,6	43,3
	65	komórek/ μ l	321	1463	785
CD3-CD16+CD56+	65	%	3,5	38,9	15,8
	65	komórek/ μ l	84	1036	266
CD3-CD19+	65	%	5,4	25,0	10,6
	65	komórek/ μ l	74	404	209

n = liczba próbek krwi

Przedziały referencyjne podane w tabeli 22 ustalono dla zdrowych pacjentów, którzy zgodnie z ustawodawstwem Republiki Czeskiej byli uznawani za dawców krwi, spełniając rygorystyczne kryteria stawiane dawcom krwi dla banku krwi. Dane mierzono przy użyciu cytometru przepływowego BD FACSCanto™ II.

Konkretne zakresy odniesienia mogą się różnić w zależności od regionu i populacji, na podstawie której ustalono wartości. Z tego powodu laboratoria muszą ustalić własne normalne przedziały referencyjne dla podzbiorów limfocytów zidentyfikowanych za pomocą testu KOMBITEST TBNK 6-color na podstawie lokalnej populacji zdrowych dawców ze względu na różnice w wartościach związane z wiekiem, płcią, cechami klinicznymi i pochodzeniem etnicznym.

14. Ograniczenia

Urządzenie KOMBITEST TBNK 6-color nie zostało przetestowane do stosowania w próbkach pobranych z heparyną lub antykoagulantami kwaśnego cytrynianu dekstrozy (ACD) do oznaczania zliczeń względnych i bezwzględnych.

Urządzenie KOMBITEST TBNK 6-color nie jest przeznaczone do badań przesiewowych i/lub fenotypowania próbek białaczki i chłoniaka.

Liczby bezwzględne nie są porównywalne między laboratoriami korzystającymi z różnych urządzeń różnych producentów.

15. Bibliografia

- 1) Bensussan, A et al. Significant enlargement of a specific subset of CD3+CD8+ peripheral blood leukocytes mediating cytotoxic T-lymphocyte activity during human immunodeficiency virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993 15;90(20):9427-30. doi: 10.1073/pnas.90.20.9427.
- 2) Boldt, A et al. Eight-color immunophenotyping of T-, B-, and NK-cell subpopulations for characterization of chronic immunodeficiencies. *Cytometry B Clin Cytom* 2014 May;86(3):191-206. doi:10.1002/cyto.b.21162.
- 3) de Saint Basile, G et al. Severe combined immunodeficiency caused by deficiency in either the delta or the epsilon subunit of CD3. *J Clin Invest*. 2004 Nov;114(10):1512-7. doi: 10.1172/JCI22588.
- 4) Giorgi, J V. Characterization of T lymphocyte subset alterations by flow cytometry in HIV disease. *Ann N Y Acad Sci*. 1993 Mar 20;677:417-9. doi: 10.1111/j.1749-6632.1993.tb38803.x.
- 5) Iwatani, Y et al. Decreases in alpha beta T cell receptor negative T cells and CD8 cells, and an increase in CD4+ CD8+ cells in active Hashimoto's disease and subacute thyroiditis. *Clin Exp Immunol*. 1992 Mar;87(3):444-9. doi: 10.1111/j.1365-2249.1992.tb03017.x.
- 6) Kucuksezer, U C et al. The Role of Natural Killer Cells in Autoimmune Diseases. *Front Immunol*. 2021 Feb 25;12:622306. doi: 10.3389/fimmu.2021.622306.
- 7) Li, Y et al. AIDS prevention and control in the Yunnan region by T cell subset assessment. *PLoS One*. 2019 Apr 18;14(4):e0214800. doi: 10.1371/journal.pone.0214800.
- 8) Mason, D et al, eds.: *Leucocyte Typing VII: White Cell Differentiation Antigens: Proceedings of the Seventh International Workshop and Conference Held in Harrogate, United Kingdom: Oxford University Press; 2002.*
- 9) McCarty, B et al. Low Peripheral T Follicular Helper Cells in Perinatally HIV-Infected Children Correlate With Advancing HIV Disease. *Front Immunol*. 2018 Aug 24;9:1901. doi: 10.3389/fimmu.2018.01901.
- 10) McMichael AJ, ed. *Leucocyte Typing III: 54 White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1987.
- 11) Monafo, W J et al. A hereditary immunodeficiency characterized by CD8+ T lymphocyte deficiency and impaired lymphocyte activation. *Clin Exp Immunol*. 1992 Dec;90(3):390-3. doi: 10.1111/j.1365-2249.1992.tb05856.x.
- 12) North, M E et al. Primary defect in CD8+ lymphocytes in the antibody deficiency disease (common variable immunodeficiency): abnormalities in intracellular production of interferon-gamma (IFN-gamma) in CD28+ ('cytotoxic') and CD28- ('suppressor') CD8+ subsets. *Clin Exp Immunol*. 1998 Jan;111(1):70-5. doi: 10.1046/j.1365-2249.1998.00479.x.

- 13) Orange, J S. Natural killer cell deficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2013 Sep;132(3):515-525. doi: 10.1016/j.jaci.2013.07.020.
- 14) Orange, J S. How I Manage Natural Killer Cell Deficiency. *J Clin Immunol.* 2020 Jan;40(1):13-23. doi: 10.1007/s10875-019-00711-7.
- 15) Picat, M Q et al. T-cell activation discriminates subclasses of symptomatic primary humoral immunodeficiency diseases in adults. *BMC Immunol.* 2014 Mar 12;15:13. doi: 10.1186/1471-2172-15-13.
- 16) Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, et al, eds.: *Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens.* New York, NY: Oxford University Press; 1995.
- 17) van Dongen, J J M et al. EuroFlow-Based Flowcytometric Diagnostic Screening and Classification of Primary Immunodeficiencies of the Lymphoid System. *Front Immunol.* 2019 Jun 13;10:1271. doi: 10.3389/fimmu.2019.01271.
- 18) Tate J, Ward G. Interferences in immunoassay. *Clin Biochem Rev.* 2004 May;25(2):105-20. PMID: 18458713; PMCID: PMC1904417.
- 19) Selby C. Interference in immunoassay. *Ann Clin Biochem.* 1999 Nov; 36 (Pt 6):704-21. doi: 10.1177/000456329903600603. PMID: 10586307.
- 20) Kricka LJ. Human anti-animal antibody interferences in immunological assays. *Clin Chem.* 1999 Jul;45(7):942-56. Erratum in: *Clin Chem* 2000 Oct;46(10):1722. PMID: 10388468.
- 21) Higgins J, Hill V, Lau K, Simpson V, Roayaei J, Klabansky R, Stevens RA, Metcalf JA, Baseler M. Evaluation of a single-platform technology for lymphocyte immunophenotyping. *Clin Vaccine Immunol.* 2007 Oct;14(10):1342-8. doi: 10.1128/CVI.00168-07. Epub 2007 Aug 29. PMID: 17761524; PMCID: PMC2168127.
- 22) Htun NM, Chen YC, Lim B, et al. Near-infrared autofluorescence induced by intraplaque hemorrhage and heme degradation as marker for high-risk atherosclerotic plaques. *Nat Commun.* 2017;8(1):75. Published 2017 Jul 13. doi:10.1038/s41467-017-00138-x
- 23) de Jonge G, Dos Santos TL, Cruz BR, Simionatto M, Bittencourt JIM, Krum EA, Moss MF, Borato DCK. Interference of in vitro hemolysis complete blood count. *J Clin Lab Anal.* 2018 Jun;32(5):e22396. doi: 10.1002/jcla.22396. Epub 2018 Feb 3. PMID: 29396875; PMCID: PMC6817011.
- 24) Haga Y, Kay HD, Tempero MA, Zetterman RK. Flow cytometric measurement of intracellular bilirubin in human peripheral blood mononuclear cells exposed to unconjugated bilirubin. *Clin Biochem.* 1992 Aug;25(4):277-83. doi: 10.1016/0009-9120(92)80033-d. PMID: 1381998.
- 25) Lam WK, Law YFW, Yip SF. Resolution of platelet count interference due to cytoplasmic fragments of leukaemic cells by flow cytometry in acute myeloid leukaemia. *Int J Lab Hematol.* 2022 Dec;44(6):983-985. doi: 10.1111/ijlh.13859. Epub 2022 May 3. PMID: 35504732.

- 26) Hervé Lecoœur, Marie-Lise Gougeon, Comparative analysis of flow cytometric methods for apoptosis quantitation in murine thymocytes and human peripheral lymphocytes from controls and HIV-infected persons Evidence for interference by granulocytes and erythrocytes, *Journal of Immunological Methods*, Volume 198, Issue 1, 1996, Pages 87-99, ISSN 0022-1759, [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(96\)00148-2](https://doi.org/10.1016/0022-1759(96)00148-2).
- 27) Bartels EM, Falbe Wätjen I, Littrup Andersen E, Danneskiold-Samsøe B, Bliddal H, Ribel-Madsen S. Rheumatoid factor and its interference with cytokine measurements: problems and solutions. *Arthritis*. 2011;2011:741071. doi: 10.1155/2011/741071. Epub 2011 Jun 22. PMID: 22046523; PMCID: PMC3200114.
- 28) XUE Yan, XU Li, DANG Liheng, WANG Chao, CUI Yaqiong, WANG Ping, WANG Ning, ZHANG Xinjie, LIU Yang. Interference of high levels of bilirubin on lymphocyte subset determination in peripheral blood by flow cytometry and its elimination methods[J]. *Laboratory Medicine*, 2022, 37(12): 1169-1173
- 29) van Ierssel SH, Hoymans VY, Van Craenenbroeck EM, Van Tendeloo VF, Vrints CJ, et al. (2012) Endothelial Microparticles (EMP) for the Assessment of Endothelial Function: An In Vitro and In Vivo Study on Possible Interference of Plasma Lipids. *PLOS ONE* 7(2): e31496. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031496>
- 30) Yasmine Van Caeneghem, Stijn De Munter, Paola Tieppo, Glenn Goetgeluk, Karin Weening, Greet Verstichel, Sarah Bonte, Tom Taghon, Georges Leclercq, Tessa Kerre, Reno Debets, David Vermijlen, Hinrich Abken & Bart Vandekerckhove (2017) Antigen receptor-redirected T cells derived from hematopoietic precursor cells lack expression of the endogenous TCR/CD3 receptor and exhibit specific antitumor capacities, *Oncol Immunology*, 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. Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania

Podsumowanie bezpieczeństwa i działania będzie dostępne w bazie danych Eudamed pod adresem <https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home>. Do tego czasu podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania jest dostępne na żądanie.

17. Używanie znaków towarowych stron trzecich

BD FACSCanto™ II, BD FACSLytic™, BD Multitest™ i FlowJo™ są zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Becton, Dickinson and Company. CD-Chex Plus® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Streck. Cy™ jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Cytiva. CyLyse™ FX, Sysmex XN-1000™ i Sysmex XF-1600™ są zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Sysmex Corporation. VenturiOne® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Applied Cytometry. Infinicyt™ jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Cytognos S.L.

18. Historia zmian

Wersja 4, ED7733_IFU_v4

Korekta tekstu w sekcji „ Kontekst stanu fizjologicznego lub patologicznego”. Bardziej precyzyjny opis rozdziału 13. Oczekiwane wartości - Interwał odniesienia.

19. Producent

EXBIO Praha, a.s.
Nad Safinou II 341
25250 Vestec
Republika Czeska

Dane kontaktowe

info@exbio.cz

technical@exbio.cz

orders@exbio.cz

www.exbio.cz

20. Upoważnieni przedstawiciele

N/A

UWAGA: każdy poważny incydent, który miał miejsce w związku z urządzeniem, należy zgłosić producentowi i właściwemu organowi lokalnemu.