

KOMBITEST™ CD3 FITC / CD4 PE-Cy™7 / CD8 APC-Cy™7 / CD16+CD56 PE / CD19 APC / CD45 PerCP-Cy™5.5

Cat. No. / Kat. č.: ED7075

ENGLISH

1. Manufacturer

EXBIO Praha, a.s.
Nad Safinou II 341
252 42 Vestec, Czech Republic
Tel: +420 261 090 666
Fax: +420 261 090 660
E-mail: orders@exbio.cz
www.exbio.cz

2. Specification

Content	50 tests, 1 ml						
Usage	20 µl per test						
Specificity	CD3	CD4	CD8	CD16	CD56	CD19	CD45
Clone	UCHT1	MEM-241	MEM-31	3G8	LT56	LT19	MEM-28
Isotype (mouse)	IgG1	IgG1	IgG2s	IgG1	IgG2a	IgG1	IgG1
Fluorochrome	FITC	PE-Cy™7	APC-Cy™7	PE		APC	PerCP-Cy™5.5
λ. excitation	488 nm	488 nm	633 nm	488 nm		633 nm	488 nm
Emission maximum	525 nm	780 nm	780 nm	575 nm		660 nm	692 nm

3. Intended use

The KOMBITEST™ CD3 FITC / CD4 PE-Cy™7 / CD8 APC-Cy™7 / CD16+CD56 PE / CD19 APC / CD45 PerCP-Cy™5.5 is designed for identification and enumeration of mature human T, B, and NK lymphocytes as well as helper/inducer (CD3+CD4+) and suppressor/cytotoxic (CD3+CD8+) T lymphocyte subsets in erythrocyte-lyzed whole blood using Flow Cytometry.

4. Principle

This test is based on the specific binding of monoclonal antibodies to the antigenic determinants expressed on the surface of leukocytes. The monoclonal antibodies are labeled with different fluorochromes which are excited via laser beam from a flow cytometer during analysis. Subsequent emissions of light from the fluorochromes of each cell are collected and analyzed by a flow cytometer. The fluorescence intensity differences enable the separation of cell subsets based on the expression of analyzed antigens.

The specific staining of blood cells is performed by the incubation of blood samples with the reagent followed by a lysis of red blood cells. Afterwards, unaffected leukocytes are subjected to analysis by a flow cytometer.

5. Reagent provided

The reagent contains premixed combination of mouse monoclonal antibody against human CD3 antigen (clone UCHT1) labeled with Fluorescein isothiocyanate (FITC), mouse monoclonal antibody against human CD4 antigen (clone MEM-241) labeled with tandem dye PE-Cy™7, mouse monoclonal antibody against human CD8 antigen (clone MEM-31) labeled with tandem dye APC-Cy™7, mouse monoclonal antibody against human CD16 antigen (clone 3G8) labeled with R-phycoerythrin (PE), mouse monoclonal antibody against human CD56

antigen (clone LT56) labeled with R-phycoerythrin (PE), mouse monoclonal antibody against human CD19 antigen (clone LT19) labeled with Allophycocyanin (APC), and mouse monoclonal antibody against human CD45 antigen (clone MEM-28) labeled with tandem dye PerCP-Cy™5.5. Labeled antibodies are diluted at optimum concentration in stabilizing phosphate buffered saline (PBS) solution containing 15mM sodium azide. The content of a vial (1 ml) is sufficient for 50 tests.

6. Storage

Store vial in the dark at 2-8°C. Do not freeze.

7. Evidence of deterioration

In case of reagent deterioration or if obtained data show any performance alteration, please contact manufacturer using following e-mail address: technical@exbio.cz

8. Precautions

- Intended for In Vitro Diagnostic use in laboratories outside USA and Canada. This CE-IVD reagent is in conformity with the European In Vitro Diagnostic Medical Device Directive 98/79/EC.
- Do not use after expiration date stamped on vial label.
- Avoid prolonged exposure to light.
- The content of the vial must not freeze.
- Avoid contamination of the reagent.
- The flow cytometer should be calibrated on a routine basis using fluorescent microbeads to ensure stable sensitivity of detectors.
- Any non-performance of the staining protocol may produce false results.
- The reagent contains sodium azide (NaN₃) which is highly toxic in pure form. However, the concentration in the reagent (15mM) is not considered as hazardous. When disposing the reagent, flush the sink with a large volume of water.
- Blood samples are considered as potentially infectious and must be handled with care. Avoid all contact of the sample with the skin, eyes and mucosa.

9. Necessary material not supplied

Test tubes for staining of blood samples (e.g. 12 × 75 mm), automatic pipettes with disposable tips, vortex mixer, EXCELLYSE Easy lysing solution (Cat.No. ED7066), flow cytometer with two lasers (488 nm and 633 or 635 nm).

10. Blood specimen

The peripheral blood in a sterile tube with an anticoagulant (Heparin or EDTA) must be stored at room temperature and stained within 48 hours of drawing.

11. Staining protocol

- Add 20 µl of KOMBITEST™ CD3 FITC / CD4 PE-Cy™7 / CD8 APC-Cy™7 / CD16+CD56 PE / CD19 APC / CD45 PerCP-Cy™5.5 reagent to a test tube.
- Add 50 µl of blood sample to the tube. Vortex the tube.
- Incubate the tube for 15-20 minutes at room temperature in the dark.
- Perform lysis of red cells using EXCELLYSE Easy lysing solution (Cat.No. ED7066) or any other commercial lysing

solution containing formaldehyde as a fixative. Follow the instructions of the lysing solution manufacturer.

- Analyze the sample immediately using a flow cytometer or store sample at 2-8°C in the dark and analyze within 24 hours provided that cells were fixed.

12. Flow cytometry

Analyze stained samples using a flow cytometer equipped with two excitation lasers (488 nm and 633 or 635 nm) and proper filters. Compensate fluorescent signals prior to or after data acquisition.

13. Data analysis

Visualize compensated data on the side-scatter (SSC) versus CD45 PerCP-Cy[™]5.5 plot. Set the gate for CD45+ lymphocyte population as shown in figure 1 (chapter 18).

Visualize CD45+ lymphocytes on the side-scatter (SSC) versus CD3 FITC plot as shown in figure 2 (chapter 18). Separate CD3+ and CD3- lymphocytes using appropriate gates. Calculate the percentage of T lymphocytes (CD3+).

Then plot the gated CD3- lymphocytes as CD19 APC versus CD16+CD56 PE as shown in figure 3 (chapter 18). Set appropriate gates and calculate the percentage of B lymphocytes (CD16-CD56-CD19+) and natural killer (NK) lymphocytes (CD16+CD56+CD19-). Please note, calculate the frequency of grandparent to get relative numbers in lymphocyte population.

Finally, plot T lymphocytes (CD3+) as CD4 PE-Cy[™]7 versus CD8 APC-Cy[™]7 as shown in figure 4 (chapter 18). Set appropriate gates and calculate the percentage of helper/inducer T lymphocytes (CD4+CD8-) and suppressor/cytotoxic T lymphocytes (CD4-CD8+). Please note, calculate the frequency of grandparent to get relative numbers in lymphocyte population.

14. Expected values

Results obtained in different laboratories may vary. Each laboratory should establish a normal range of cell subsets using its own test conditions. Results obtained in our laboratory are given in the table below.

Lymphocyte Subset	Unit	n	Mean	95% Range
CD3+	%	108	71	52-83
	cells/ μ l	54	1480	886-2341
CD3+CD8+	%	108	25	13-46
	cells/ μ l	54	503	208-1031
CD3+CD4+	%	108	44	25-64
	cells/ μ l	54	939	473-1524
CD16+CD56+	%	108	15	6-34
	cells/ μ l	54	319	121-536
CD19+	%	108	13	5-24
	cells/ μ l	54	242	87-445

15. Performance characteristics

Specificity

The antibody UCHT1 recognizes the CD3 antigen of the TCR/CD3 complex on mature human T cells. The UCHT1 antibody reacts with the epsilon chain of the CD3 complex.

HLDA I; WS Code T 3

HLDA III; WS Code T 126

HLDA III; WS Code T 471

HLDA VI; WS Code T 6T-CD3.1

The antibody MEM-241 recognizes CD4 co-receptor, a 55 kDa transmembrane glycoprotein of immunoglobulin family expressed on subsets of T lymphocytes (such as "helper" T cells, CD4+ regulatory T cells or CD4+CD8+ double-positive T cells) and also on monocytes, tissue macrophages and granulocytes.

HLDA VIII (HCDM); WS Code M241

The antibody MEM-31 recognizes a conformationally-dependent epitope of CD8, a cell surface glycoprotein that mediates efficient cell-cell interactions within the immune system. CD8 is a disulfide-linked dimer (each monomer approx. 32-34 kDa) and exists as a CD8 α /

homodimer on subsets of memory T cells, intraepithelial lymphocytes, NK cells and dendritic cells, or as a CD8 α / β heterodimer on majority of MHC I-restricted cytotoxic T cells and thymocytes.

HLDA III; WS Code T 575

The antibody 3G8 recognizes CD16, a low affinity receptor for aggregated IgG (Fc γ RIII antigen). CD16 exists in two different isoforms: CD16a (Fc γ RIIIA; 50-65 kDa; expressed on NK-cells, monocytes and macrophages) and CD16b (Fc γ RIIIB; 48 kDa; mainly expressed on neutrophils).

HLDA V; WS Code NK80

The antibody LT56 reacts with a 180 kDa isoform of CD56 (NCAM) characteristic for leukocytes. CD56 is a single transmembrane glycoprotein of immunoglobulin supergene family; the molecular weights of different isoforms ranging from 135 to 220 kDa.

The antibody LT19 recognizes CD19 (B4), a 95 kDa type I transmembrane glycoprotein of immunoglobulin superfamily, expressed on B lymphocytes and follicular dendritic cells; it is lost on plasma cells.

The antibody MEM-28 reacts with all alternative forms of human CD45 phosphotyrosine phosphatase (Leukocyte Common Antigen), a 180-220 kDa single chain type I transmembrane protein expressed at high level on all cells of hematopoietic origin, except from erythrocytes and platelets.

HLDA III; WS Code NL 833a

Accuracy

The accuracy of the method was studied by the comparison of KOMBITEST[™] CD3 FITC / CD4 PE-Cy[™]7 / CD8 APC-Cy[™]7 / CD16+CD56 PE / CD19 APC / CD45 PerCP-Cy[™]5.5 with competitor's product in parallel staining of blood samples. Samples were analyzed using BD FACSCanto[™] Flow Cytometer. The regression parameters are given in the table below.

Lymphocyte Subset	Unit	n	Slope	Intercept	r ²	Range
CD3+	%	109	0.987	2.26	0.949	48-86
	cells/ μ l	54	0.967	109	0.920	768-3081
CD3+CD8+	%	109	1.029	0.62	0.960	7.9-42
	cells/ μ l	54	1.064	9.32	0.950	203-1296
CD3+CD4+	%	109	0.956	2.87	0.954	25-66
	cells/ μ l	54	0.904	114	0.899	439-1813
CD16+CD56+	%	109	0.981	0.06	0.977	2.8-45
	cells/ μ l	54	1.047	-8.49	0.963	104-1099
CD19+	%	109	0.984	-0.26	0.951	2.1-27
	cells/ μ l	54	1.001	2.15	0.925	72-441

Linearity

The linearity of the method was verified on 10 serial dilutions of leukocyte-enriched blood sample (buffy coat). Cell samples were stained by KOMBITEST[™] CD3 FITC / CD4 PE-Cy[™]7 / CD8 APC-Cy[™]7 / CD16+CD56 PE / CD19 APC / CD45 PerCP-Cy[™]5.5 in triplicates. Measured data were observed to be linear across the tested range 50-25000 lymphocytes/ μ l. Cell subsets were in following ranges.

Lymphocyte Subset	Range (cells/ μ l)
CD3+	37-19028
CD3+CD8+	12-6156
CD3+CD4+	23-11996
CD16+CD56+	9-4804
CD19+	3-1646

Repeatability

The repeatability of the assay was measured on one blood sample in twelve tubes in parallel. Coefficients of variation (CV) are given in the table below.

Lymphocyte Subset	Unit	n	Average	SD	CV
CD3+	%	12	71.1	0.80	1.13
	cells/ μ l	12	2007	209	10.4
CD3+CD8+	%	12	27.0	0.97	3.59
	cells/ μ l	12	762	94	12.2
CD3+CD4+	%	12	42.6	0.91	2.14
	cells/ μ l	12	1203	122	10.1
CD16+CD56+	%	12	16.3	0.80	4.92
	cells/ μ l	12	461	62	13.4
CD19+	%	12	11.0	0.48	4.38
	cells/ μ l	12	310	27	8.67

Reproducibility

The reproducibility of the assay was measured on stabilized blood sample (Immuno-Troll™ Cells, Beckman-Coulter) under the same conditions for one month. Coefficients of variation (CV) are given in the table below.

Lymphocyte Subset	Unit	n	Average	SD	CV
CD3+	%	11	70.0	3.98	5.69
	cells/ μ l	11	865	63.4	7.33
CD3+CD8+	%	11	24.4	0.76	3.14
	cells/ μ l	11	301	14.7	4.87
CD3+CD4+	%	11	50.2	0.49	0.98
	cells/ μ l	11	620	20.8	3.35
CD16+CD56+	%	11	11.0	0.62	5.61
	cells/ μ l	11	135	6.63	4.89
CD19+	%	11	12.3	0.69	5.57
	cells/ μ l	11	152	9.58	6.31

16. Limitations

- Concentrations of labeled antibodies in this reagent were optimized to offer the best specific signal/non-specific signal ratio. Therefore, it is important to adhere to the reagent volume/sample volume ratio in every test.
- Flow cytometer may produce false results if the device has not been aligned and maintained appropriately.
- Data may be incorrectly interpreted if fluorescent signals were compensated wrongly or if gates were positioned inaccurately.
- Blood samples from abnormal patients may exhibit abnormal values of positive cells.
- In case of a hyperleukocytose sample, it is recommended to dilute the blood sample with PBS to obtain leukocyte density approximately 5×10^6 leukocytes/ml.

17. Trademarks

Cy™ and CyDye™ are registered trademarks of GE Healthcare. KOMBITEST™ is registered trademark of EXBIO Praha, a.s. BD FACSCanto™ is registered trademark of Becton, Dickinson and Company.

1. Výrobce

EXBIO Praha, a.s.

Nad Safinou II 341

252 42 Vestec, Czech Republic

Tel: +420 261 090 666

Fax: +420 261 090 660

E-mail: orders@exbio.cz

www.exbio.cz

2. Specifikace produktu

Obsah	50 testů, 1 ml						
Použití	20 μ l na test						
Specifická	CD3	CD4	CD8	CD16	CD56	CD19	CD45
Klon	UCHT1	MEM-241	MEM-31	3G8	LT56	LT19	MEM-28
Izotyp (myši)	IgG1	IgG1	IgG2s	IgG1	IgG2a	IgG1	IgG1
Fluorochrom	FITC	PE-Cy™7	APC-Cy™7	PE		APC	PerCP-Cy™5.5
λ excitace	488 nm	488 nm	633 nm	488 nm		633 nm	488 nm
Emisní maximum	525 nm	780 nm	780 nm	575 nm		660 nm	692 nm

3. Použití

KOMBITEST™ CD3 FITC / CD4 PE-Cy™7 / CD8 APC-Cy™7 / CD16+CD56 PE / CD19 APC / CD45 PerCP-Cy™5.5 je reagentie určená pro identifikaci a počítání T lymfocytů, NK lymfocytů a B lymfocytů a také pomocných/induktorových T lymfocytů (CD3+CD4+) a supresorových/cytotoxických T lymfocytů (CD3+CD8+) v lidské periferní krvi pomocí průtokové cytometrie.

4. Princip

Tento test je založen na specifické vazbě monoklonálních protilátek na antigeny, které jsou exprimovány na povrchu leukocytů. Monoklonální protilátky jsou značené odlišnými fluorescenčními značkami, které jsou excitovatelné zdrojem záření. Během analýzy vzorku průtokovým cytometrem je detekována emise fluorescence jednotlivých buněk. Rozdíly v emisí záření fluorochromů umožňují separovat skupiny leukocytů na základě rozdílné exprese analyzovaných antigenů.

Specifické barvení leukocytů probíhá v periferní krvi. Po inkubaci vzorku se značenými protilátkami jsou červené krvinky odstraněny pomocí lyze a leukocyty jsou analyzovány průtokovým cytometrem.

5. Popis reagentie

Reagentie obsahuje směs sedmi myších monoklonálních protilátek: protilátka proti lidskému antigenu CD3 (klon UCHT1) je značená fluorescein isothiokyanátem (FITC), protilátka proti lidskému antigenu CD4 (klon MEM-241) je značená tandemovým fluorochromem PE-Cy™7, protilátka proti lidskému antigenu CD8 (klon MEM-31) je značená tandemovým fluorochromem APC-Cy™7, protilátka proti lidskému antigenu CD16 (klon 3G8) je značená R-phycoerythrinem (PE), protilátka proti lidskému antigenu CD56 (klon LT56) je značená R-phycoerythrinem (PE), protilátka proti lidskému antigenu CD19 (klon LT19) je značená Allophycocyaninem (APC) a protilátka proti lidskému antigenu CD45 (klon MEM-28) je značená tandemovým fluorochromem PerCP-Cy™5.5. Značené protilátky byly naředěny na optimální koncentrace do stabilizačního roztoku, který obsahuje PBS a 15mM azid sodný. Obsah vialky (1 ml reagentie) odpovídá provedení 50 testů.

6. Skladování

Vialku s reagentií uchovávejte v temnu při teplotě 2-8°C. Doba použitelnosti reagentie je vyznačena na štítku vialky.

7. Změny kvality produktu

V případě pozorování jakýchkoliv zhoršení vlastností produktu, prosíme, neprodleně informujte výrobce prostřednictvím e-mailové adresy: technical@exbio.cz

8. Upozornění

- Reagencie je určena pro In vitro diagnostiku a vyhovuje požadavkům NV 56/2015 Sb., které je harmonizováno s evropskou směrnicí pro In vitro diagnostické zdravotnické prostředky 98/79/EC.
- Nepoužívejte reagencii po uplynutí doby použitelnosti.
- Reagencii nevystavujte dlouhodobému působení světla.
- Obsah vialky nesmí zmraznout.
- Chraňte obsah vialky před kontaminací.
- Průtokový cytometr pravidelně kalibrujte pomocí fluorescenčních kuliček, aby byla zajištěna stabilní citlivost detektorů.
- Nedodržení postupu měření může ovlivnit výsledky testu.
- Reagencie obsahuje azid sodný (NaN₃), který je v čistém stavu vysoce toxický, avšak koncentrace, která je v této reagencii (15 mM), není již považována za nebezpečnou. Při likvidaci reagencie obsahující azid splachujte velkým množstvím vody.
- Krevní vzorky jsou považovány za potenciálně infekční materiál, a proto s nimi musí být náležitě nakládáno. Vyvarujte se kontaktu vzorků s pokožkou, očima a sliznicemi.

9. Potřebné vybavení a materiál, který není dodáván

Vhodné zkumavky pro barvení buněk (např. 12 × 75 mm), sada pipet s jednorázovými špičkami, centrifuga, vortex, lyzační roztok EXCELLYSE Easy (Kat. č. ED7066), průtokový cytometr se dvěma excitačními lasery (488 nm a 633 nebo 635 nm).

10. Vzorek krve

Vzorek periferní krve odebraný do sterilní zkumavky s antikoagulantem (heparin nebo EDTA) skladujte před obarvením za laboratorní teploty na kývačce. Krev musí být obarvena do 48 hod od odběru.

11. Postup barvení

- Pipetujte 20 µl reagencie KOMBITEST™ CD3 FITC / CD4 PE-Cy™7 / CD8 APC-Cy™7 / CD16+CD56 PE / CD19 APC / CD45 PerCP-Cy™5.5 do zkumavky.
- Přidejte 50 µl promíchané periferní krve a směs promíchejte pomocí vortexu.
- Inkubujte zkumavku 15-20 minut v temnu za laboratorní teploty.
- Proveďte lyzi červených krvinek pomocí lyzačního roztoku EXCELLYSE Easy (kat. č. ED7066) nebo jiného komerčního lyzačního roztoku, který obsahuje formaldehyd fixující buňky. Postupujte podle návodu výrobce lyzačního roztoku.
- Analyzujte vzorek ihned po obarvení pomocí průtokového cytometru. V případě že, byl vzorek fixován formaldehydem, je možné vzorek uskladnit v temnu při 2-8°C a analyzovat do 24 hodin.

12. Cytometrické měření

Analyzujte obarvený vzorek pomocí průtokového cytometru vybaveného dvěma excitačními lasery (488 nm a 633 nebo 635 nm) a vhodnými filtry. Proveďte kompenzaci fluorescenčních signálů naměřených dat.

13. Analýza dat

Kompenzovaná data zobrazte v grafu side-scatter (SSC) versus CD45 PerCP-Cy™5.5. Ohraničte populaci CD45+ lymfocytů, jak je znázorněno na obrázku 1 (kap. 18).

Poté zobrazte ohraničené CD45+ lymfocyty v grafu side-scatter (SSC) versus CD3 FITC. Separujte CD3+ a CD3- lymfocyty pomocí vhodně nastavených regionů, jak je znázorněno na obrázku 2 (kap. 18) a spočítejte procentuelní zastoupení T lymfocytů (CD3+).

Poté zobrazte ohraničené CD3- lymfocyty v grafu CD19 APC versus CD16+CD56 PE. Separujte jednotlivé populace lymfocytů pomocí vhodně nastavených regionů, jak je znázorněno na obrázku 3 (kap. 18) a spočítejte procentuelní zastoupení B lymfocytů (CD16-CD56-CD19+) a NK lymfocytů (CD16+CD56+CD19-). Relativní zastoupení je třeba vztáhnout na celkové lymfocyty (frequency of grandparent).

Nakonec zobrazte ohraničené CD3+ lymfocyty v grafu CD4 PE-Cy™7 versus CD8 APC-Cy™7. Separujte jednotlivé populace T lymfocytů pomocí vhodně nastavených regionů, jak je znázorněno na obrázku 4 (kap. 18) a spočítejte procentuelní zastoupení pomocných/induktorových

T lymfocytů (CD4+CD8-) a supresorových/cytotoxických T lymfocytů (CD4-CD8+). Relativní zastoupení je třeba vztáhnout na celkové lymfocyty (frequency of grandparent).

14. Očekávané hodnoty

Výsledky počtu pozitivních buněk mohou kolísat mezi jednotlivými laboratořemi. Každá laboratoř by si měla ustanovit vlastní rozsah normálních hodnot. Data změřená v naší laboratoři jsou uvedena v následující tabulce.

Subpopulace lymfocytů	jednotka	n	průměr	95% Range
CD3+	%	108	71	52-83
	cells/µl	54	1480	886-2341
CD3+CD8+	%	108	25	13-46
	cells/µl	54	503	208-1031
CD3+CD4+	%	108	44	25-64
	cells/µl	54	939	473-1524
CD16+CD56+	%	108	15	6-34
	cells/µl	54	319	121-536
CD19+	%	108	13	5-24
	cells/µl	54	242	87-445

15. Analytické parametry

Specifická

Monoklonální protilátka UCHT1 rozpoznává CD3 antigen TCR/CD3 komplexu na zralých lidských T lymfocytech. Tato protilátka specificky reaguje s epsilon řetězcem CD3 komplexu. Specifická monoklonální protilátka UCHT1 byla ověřena v rámci mezinárodních pracovních seminářů o lidských leukocytárních diferenciačních antigenech:

HLDA I; WS Code T 3

HLDA III; WS Code T 126

HLDA III; WS Code T 471

HLDA VI; WS Code T 6T-CD3.1

Monoklonální protilátka MEM-241 rozpoznává koreceptor CD4, 55 kDa transmembránový glykoprotein exprimovaný na subpopulacích T lymfocytů, na monocytech, tkáňových makrofázích a granulocytech. Specifická monoklonální protilátka MEM-241 byla ověřena v rámci mezinárodního pracovního semináře o lidských leukocytárních diferenciačních antigenech: *HLDA8 (HCDM) WS Code: M241*.

Monoklonální protilátka MEM-31 rozpoznává konformačně závislý epitop glykoproteinu CD8, který zprostředkovává mezibuněčné interakce v rámci imunitního systému. CD8 (monomer 32-34 kDa) se vyskytuje ve formě homodimeru CD8α/α u paměťových T lymfocytů, intraepiteliálních lymfocytů, přirozených zabíječů (NK) a dendritických buněk, nebo ve formě heterodimeru CD8α/β u většiny cytotoxických T lymfocytů a thymocytů. Specifická monoklonální protilátka MEM-31 byla ověřena v rámci mezinárodního pracovního semináře o lidských leukocytárních diferenciačních antigenech: *HLDA3 WS Code: T 575*.

Monoklonální protilátka 3G8 rozpoznává CD16 antigen (FcγRIII), nízkofinální receptor pro agregovaný imunoglobulin G. CD16 se vyskytuje ve dvou odlišných izoformách: CD16a (FcγRIIIA; 50-65 kDa; exprimována na NK-buňkách, monocytech, makrofázích) a CD16b (FcγRIIIB; 48 kDa; exprimována na neutrofilech). Specifická monoklonální protilátka 3G8 byla ověřena v rámci mezinárodního pracovního semináře o lidských leukocytárních diferenciačních antigenech: *HLDA V; WS Code NK80*.

Monoklonální protilátka LT56 reaguje s izoformou proteinu CD56 (NCAM) o molekulové hmotnosti 180 kDa, charakteristickou pro leukocyty. CD56 je jednoduchý transmembránový glykoprotein patřící do imunoglobulinové rodiny.

Monoklonální protilátka LT19 reaguje s antigenem CD19 (B4), 95 kDa transmembránovým glykoproteinem typu I imunoglobulinové rodiny, který je exprimován B lymfocyty a folikulárními dendritickými buňkami. Plasmatické buňky CD19 již neexprimují.

Monoklonální protilátka MEM-28 reaguje se všemi izoformami molekuly CD45. Fosfotyrosinofatasa CD45 (Leucocyte Common Antigen) je jednořetězcový transmembránový protein o molekulové hmotnosti 180-

220 kDa, exprimovaný ve velkém množství u všech buněk hematopoetického původu kromě erytrocytů a krevních destiček. Specificita monoklonální protilátky MEM-28 byla ověřena v rámci mezinárodního pracovního semináře o lidských leukocytárních diferenačních antigenech: HLDA III; WS Code NL 833a.

Přesnost

Přesnost měření byla ověřena srovnáním produktu KOMBITEST™ CD3 FITC / CD4 PE-Cy™7 / CD8 APC-Cy™7 / CD16+CD56 PE / CD19 APC / CD45 PerCP-Cy™5.5 s konkurenčním produktem paralelním měřením vzorků krve. Obarvené vzorky byly analyzovány pomocí BD FACSCanto™ Flow Cytometer. Výsledky regresní analýzy jsou uvedené v následující tabulce.

Subpopulace lymfocytů	jednotka	n	směrnice	intercept	r ²	rozsah
CD3+	%	109	0,987	2,26	0,949	48-86
	cells/μl	54	0,967	109	0,920	768-3081
CD3+CD8+	%	109	1,029	0,62	0,960	7,9-42
	cells/μl	54	1,064	9,32	0,950	203-1296
CD3+CD4+	%	109	0,956	2,87	0,954	25-66
	cells/μl	54	0,904	114	0,899	439-1813
CD16+CD56+	%	109	0,981	0,06	0,977	2,8-45
	cells/μl	54	1,047	-8,49	0,963	104-1099
CD19+	%	109	0,984	-0,26	0,951	2,1-27
	cells/μl	54	1,001	2,15	0,925	72-441

Linearita

Linearita měření byla ověřena pomocí desetibodové ředící řady krevního vzorku obohaceného o leukocyty (buffy coat). Vzorky ředící řady byly obarveny pomocí KOMBITEST™ CD3 FITC / CD4 PE-Cy™7 / CD8 APC-Cy™7 / CD16+CD56 PE / CD19 APC / CD45 PerCP-Cy™5.5 v triplicátech a analyzovány. Naměřená data byla sledována lineární v celém testovaném rozsahu 50-25000 lymfocytů/μl. Rozsahy sledovaných subpopulací jsou uvedené v následující tabulce.

Subpopulace lymfocytů	rozsah (cells/μl)
CD3+	37-19028
CD3+CD8+	12-6156
CD3+CD4+	23-11996
CD16+CD56+	9-4804
CD19+	3-1646

Opakovatelnost

Opakovatelnost měření byla testována na jednom vzorku krve, který byl za stejných experimentálních podmínek obarven a změřen 12x. Koeficienty variance (CV) pro jednotlivé subpopulace jsou uvedené v následující tabulce.

Subpopulace lymfocytů	jednotka	n	průměr	SD	CV
CD3+	%	12	71,1	0,80	1,13
	cells/μl	12	2007	209	10,4
CD3+CD8+	%	12	27,0	0,97	3,59
	cells/μl	12	762	94	12,2
CD3+CD4+	%	12	42,6	0,91	2,14
	cells/μl	12	1203	122	10,1
CD16+CD56+	%	12	16,3	0,80	4,92
	cells/μl	12	461	62	13,4
CD19+	%	12	11,0	0,48	4,38
	cells/μl	12	310	27	8,67

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost měření byla testována na stabilizovaném krevním vzorku (Immuno-Troll™ Cells, Beckman-Coulter) za stejných experimentálních podmínek po dobu čtyř týdnů. Koeficienty variance (CV) pro jednotlivé subpopulace jsou uvedené v následující tabulce.

Subpopulace lymfocytů	jednotka	n	průměr	SD	CV
CD3+	%	11	70,0	3,98	5,69
	cells/μl	11	865	63,4	7,33
CD3+CD8+	%	11	24,4	0,76	3,14
	cells/μl	11	301	14,7	4,87
CD3+CD4+	%	11	50,2	0,49	0,98
	cells/μl	11	620	20,8	3,35
CD16+CD56+	%	11	11,0	0,62	5,61
	cells/μl	11	135	6,63	4,89
CD19+	%	11	12,3	0,69	5,57
	cells/μl	11	152	9,58	6,31

16. Omezení metody

- Koncentrace značené protilátky v reagenzii byla optimalizována s cíle nejlepšího poměru specifického signálu k nespecifickému signálu. Z tohoto důvodu je důležité dodržovat doporučený poměr objemu reagenzie a objemu vzorku v každém testu.
- Průtokový cytometr může poskytovat špatné hodnoty, pokud není dobře seřízen a udržován.
- Data mohou být špatně interpretována, pokud jsou fluorescenční signály špatně kompenzované, případně pokud jsou regiony buněk špatně umístěné.
- Krevní vzorky od abnormálních pacientů mohou vykazovat abnormální hodnoty procent pozitivních buněk.
- V případě krevního vzorku s abnormálně vysokým počtem leukocytů je třeba vzorek naředit pomocí PBS na hodnotu kolem 5×10^6 leukocytů na ml.

17. Trademarks

Cy™ a CyDye™ jsou registrované značky GE Healthcare. KOMBITEST™ je registrovaná značka společnosti EXBIO Praha, a.s. BD FACSCanto™ je registrovaná značka společnosti Becton, Dickinson and Company.

SLOVENSKY

1. Výrobca

EXBIO Praha, a.s.

Nad Safinou II 341

252 42 Vestec, Czech Republic

Tel: +420 261 090 666

Fax: +420 261 090 660

E-mail: orders@exbio.cz

www.exbio.cz

2. Špecifikácia produktu

Obsah	50 testov, 1 ml						
Použitie	20 μl na test						
Špecifickosť	CD3	CD4	CD8	CD16	CD56	CD19	CD45
Klon	UCHT1	MEM-241	MEM-31	3G8	LT56	LT19	MEM-28
Izotyp (myši)	IgG1	IgG1	IgG2s	IgG1	IgG2a	IgG1	IgG1
Fluorochróm	FITC	PE-Cy™7	APC-Cy™7	PE		APC	PerCP-Cy™5.5
λ. excitácia	488 nm	488 nm	633 nm	488 nm		633 nm	488 nm
Emisné maximum	525 nm	780 nm	780 nm	575 nm		660 nm	692 nm

3. Použitie

Reagenzia KOMBITEST™ CD3 FITC / CD4 PE-Cy™7 / CD8 APC-Cy™7 / CD16+CD56 PE / CD19 APC / CD45 PerCP-Cy™5.5 je *In vitro* diagnostický zdravotnícky prostriedok, ktorý je určený na identifikáciu a počítanie T lymfocytov, NK lymfocytov (prirodzených zabíjačských buniek), B lymfocytov a tiež pomocných/induktorových T lymfocytov (CD3+CD4+) a supresorových/cytotoxických T lymfocytov (CD3+CD8+) v ľudskej periférnej krvi pomocou prietokovej cytometrie.

4. Princíp

Tento test je založený na špecifickej väzbe monoklonových protilátok na antigény, ktoré sú exprimované na povrchu leukocytov. Monoklonové protilátky sú označené odlišnými fluorescenčnými značkami, ktoré sú exitovateľné zdrojom žiarenia. V priebehu analýzy vzorky prietokovým cytometrom sa zaznamená fluorescencia jednotlivých buniek. Rozdiely v emisii žiarenia fluorochrómov umožňujú separovať skupiny leukocytov na základe rozdielnej expresie analyzovaných antigénov.

Špecifické značenie leukocytov prebieha v periférnej krvi. Po inkubácii vzorky krvi s označenou protilátkou sú červené krvinky odstránené pomocou lýzy a leukocyty sú analyzované prietokovým cytometrom.

5. Popis reagentie

Reagencia obsahuje zmes siedmich myších monoklonových protilátok: protilátka proti ľudskému antigénu CD3 (klon UCHT1 je označená fluorescein izotiokyanátom (FITC), protilátka proti ľudskému antigénu CD4 (klon MEM-241) je označená tandemovým fluorochrómom PE-Cy™7, protilátka proti ľudskému antigénu CD8 (klon MEM-31) je označená tandemovým fluorochrómom APC-Cy™7, protilátka proti ľudskému antigénu CD16 (klon 3G8) je označená R-phycoerythrinom (PE), protilátka proti ľudskému antigénu CD56 (klon LT56) je označená R-phycoerythrinom (PE), protilátka proti ľudskému antigénu CD19 (klon LT19) je označená Allophycocyaninom (APC) a protilátka proti ľudskému antigénu CD45 (klon MEM-28) je označená tandemovým fluorochrómom PerCP-Cy™5.5. Označené protilátky boli nariadené na optimálnu koncentráciu do stabilizačného roztoku, ktorý obsahuje PBS a 15mM azid sodný. Obsah fľaštičky (1 ml reagentie) odpovedá uskutočneniu 50 testov.

6. Skladovanie

Fľaštičku s reagentiou uschováajte v temne pri teplote 2-8°C. Doba použiteľnosti reagentie je vyznačená na štítku fľaštičky.

7. Zmeny kvality produktu

V prípade spozorovania akýchkoľvek zhoršení vlastností produktu, prosíme, ihneď informujte výrobcu prostredníctvom e-mailovej adresy: technical@exbio.cz

8. Upozornenie

- Reagencia je určená pre In vitro diagnostiku a vyhovuje požiadavkám európskej smernice pre In vitro diagnostické zdravotnícke prostriedky 98/79/EC.
- Nepoužívajte reagentiu po uplynutí doby použiteľnosti.
- Reagenciu nevystavujte dlhodobému pôsobeniu svetla.
- Obsah fľaštičky nesmie zmzrnúť.
- Chráňte obsah fľaštičky pred kontamináciou.
- Prietokový cytometer pravidelne kalibrujte pomocou fluorescenčných guľičiek, pre zaistenie stabilnej citlivosti detektorov.
- Nedodržanie postupu merania môže ovplyvniť výsledky testu.
- Reagencia obsahuje azid sodný (NaN₃), ktorý je v čistom stave vysoko toxický, avšak koncentrácia prítomná v tejto reagentii (15 mM) už nie je považovaná za nebezpečnú. Pri likvidácii reagentie obsahujúcej azid splachujte umývadlo veľkým množstvom vody.
- Krvné vzorky sú považované za potenciálne infekčný materiál a preto sa s nimi musí zaobchádzať opatrne. Vyvarujte sa kontaktu vzoriek s pokožkou, očami a sliznicami.

9. Potrebné vybavenie a materiál, ktorý sa nedodáva

Vhodné skúmavky pre značenie buniek (napr. 12 × 75 mm), sada pipiet s jednorázovými špičkami, centrifúga, vortex, lyzačný roztok EXCELLYSE Easy (Kat. č. ED7066), prietokový cytometer s dvomi exitujúcimi lasermi (488 nm a 633 alebo 635 nm).

10. Vzorky krvi

Vzorku periférnej krvi odobratú do sterilnej skúmavky s antikoagulantom (heparín alebo EDTA) skladujte pred značením pri laboratórnej teplote na kývačke. Krv musí byť značená do 48 hod od odberu.

11. Postup značenia

- Pipetujte 20 µl KOMBITEST™ CD3 FITC / CD4 PE-Cy™7 / CD8 APC-Cy™7 / CD16+CD56 PE / CD19 APC / CD45 PerCP-Cy™5.5 do skúmavky.
- Pridajte 50 µl premiešanej periférnej krvi a zmes premiešajte pomocou vortexu.
- Skúmavku inkubujte 15-20 minút v temne pri laboratórnej teplote.
- Zlyzujte červené krvinky pomocou lyzačného roztoku EXCELLYSE Easy (Kat. č. ED7066) alebo iného komerčného lyzačného roztoku, ktorý obsahuje formaldehyd a fixuje bunky. Postupujte podľa návodu od výrobcu lyzačného roztoku.
- Vzorky analyzujte na prietokovom cytometri ihneď po označení. V prípade, že vzorky boli fixované formaldehydom, je možné tieto vzorky uskladniť v temne pri 2-8°C a analyzovať do 24 hodín.

12. Cytometrické meranie

Analyzujte značenú vzorku krvi pomocou prietokového cytometru vybaveného dvomi excitujúcimi lasermi (488 nm a 633 alebo 635 nm) a vhodnými filtrami. Kompenzujte namerané dáta fluorescenčných signálov.

13. Analýza dát

Kompenzované dáta zobrazte v grafe side-scatter (SSC) versus CD45 PerCP-Cy™5.5. Ohraničte populáciu CD45+ lymfocytov, ako je to znázornené na obrázku 1 (kap. 18).

Potom zobrazte ohraničené CD45+ lymfocyty v grafe side-scatter (SSC) versus CD3 FITC. Separujte CD3+ a CD3- populácie lymfocytov pomocou vhodne nastavených regiónov, ako je to znázornené na obrázku 2 (kap. 18) a spočítajte percentuálne zastúpenie T lymfocytov (CD3+).

Potom zobrazte ohraničené CD3- lymfocyty v grafe CD19 APC versus CD16+CD56 PE. Separujte jednotlivé populácie lymfocytov pomocou vhodne nastavených regiónov, ako je to znázornené na obrázku 3 (kap. 18) a spočítajte percentuálne zastúpenie B lymfocytov (CD16-CD56-CD19+) a NK lymfocytov (CD16+CD56+CD19-). Relatívne zastúpenie je nutné vziať na celkové lymfocyty (frequency of grandparent).

Nakoniec zobrazte ohraničené CD3+ lymfocyty v grafe CD4 PE-Cy™7 versus CD8 APC-Cy™7. Separujte jednotlivé populácie T lymfocytov pomocou vhodne nastavených regiónov, ako je to znázornené na obrázku 4 (kap. 18) a spočítajte percentuálne zastúpenie pomocných/induktorových T lymfocytov (CD4+CD8-) a supresorových/cytotoxických T lymfocytov (CD4-CD8+). Relatívne zastúpenie je nutné vziať na celkové lymfocyty (frequency of grandparent).

14. Očakávané hodnoty

Výsledky počtu pozitívnych buniek môžu kolísať medzi jednotlivými laboratóriami. Každé laboratórium by si malo ustanoviť vlastný rozsah normálnych hodnôt. Dáta namerané v našom laboratóriu sú uvedené v nasledujúcej tabuľke.

Subpopulácie lymfocytov	jednotka	n	priemer	95% Range
CD3+	%	108	71	52-83
	cells/µl	54	1480	886-2341
CD3+CD8+	%	108	25	13-46
	cells/µl	54	503	208-1031
CD3+CD4+	%	108	44	25-64
	cells/µl	54	939	473-1524
CD16+CD56+	%	108	15	6-34
	cells/µl	54	319	121-536
CD19+	%	108	13	5-24
	cells/µl	54	242	87-445

15. Analytické parametre

Špecificnosť

Monoklonová protilátka UCHT1 rozpoznáva CD3 antigén TCR/CD3 komplexu na zreých ľudských T lymfocytoch. Táto protilátka špecificky reaguje s epsilon reťazcom CD3 komplexu. Špecificnosť protilátky bola

overená v rámci medzinárodných pracovných seminárov o ľudských leukocytárných diferenciačných antigénoch (HLDA I WS Code: T 3, HLDA III WS Code: T 126, HLDA III WS Code: T 471, HLDA VI WS Code: T 6T-CD3.1).

Monoklonová protilátka MEM-241 rozpoznáva ko-receptor CD4, 55 kDa transmembránový glykoproteín exprimovaný na subpopuláciách T lymfocytov, na monocytoch, tkanivových makrofágoch a granulocytoch. Špecifičnosť protilátky bola overená v rámci medzinárodného pracovného seminára o ľudských leukocytárných diferenciačných antigénoch (HLDA8 (HCDM) WS Code: M241).

Monoklonová protilátka MEM-31 rozpoznáva konformačne závislý epitop glykoproteínu CD8, ktorý sprostredkúva medzibunkové interakcie v rámci imunitného systému. CD8 (monomér 32-34 kDa) sa vyskytuje vo forme homodiméru CD8 $\alpha\alpha$ u pamäťových T lymfocytov, intraepiteliálnych lymfocytov, prirodzených zabijáčov (NK) a dendritických buniek alebo vo forme heterodiméru CD8 $\alpha\beta$ u väčšiny cytotoxických T lymfocytov a tymocytov. Špecifičnosť protilátky bola overená v rámci medzinárodného pracovného seminára o ľudských leukocytárných diferenciačných antigénoch (HLDA3 WS Code: T 575).

Monoklonová protilátka 3G8 rozpoznáva CD16 antigén (Fc γ RIII), nízkoafinitný receptor pre agregovaný imunoglobulín G. CD16 sa vyskytuje v dvoch odlišných izoformách: CD16a (Fc γ RIIIA; 50-65 kDa; exprimovaná na NK-bunkách, monocytoch, makrofágoch) a CD16b (Fc γ RIIIB; 48 kDa; exprimovaná na neutrofiloch). Špecifičnosť protilátky bola overená v rámci medzinárodného pracovného seminára o ľudských leukocytárných diferenciačných antigénoch (HLDA V; WS Code NK80).

Monoklonová protilátka LT56 reaguje s izoformou proteínu CD56 (NCAM) s molekulovou hmotnosťou 180 kDa, charakteristickou pre leukocyty. CD56 je jednoduchý transmembránový glykoproteín patriaci do rodiny imunoglobulínov.

Monoklonová protilátka LT19 reaguje s antigénom CD19 (B4), 95 kDa transmembránovým glykoproteínom typu I rodiny imunoglobulínov, ktorý je exprimovaný B lymfocytmi a folikulárnymi dendritickými bunkami. Plazmatické bunky CD19 už neexprimujú.

Monoklonová protilátka MEM-28 reaguje so všetkými izoformami molekuly CD45. Fosfotyrozínofatáza CD45 (Leucocyte Common Antigen) je jednoreťazcový transmembránový proteín s molekulovou hmotnosťou 180-220 kDa, exprimovaný vo veľkom množstve u všetkých buniek hematopoetického pôvodu, okrem erytrocytov a krvných doštičiek. Špecifičnosť protilátky bola overená v rámci medzinárodného pracovného seminára o ľudských leukocytárných diferenciačných antigénoch (HLDA3 WS Code: NL 833a).

Presnosť

Presnosť merania bola overená porovnaním produktu KOMBITEST™ CD3 FITC / CD4 PE-Cy™7 / CD8 APC-Cy™7 / CD16+CD56 PE / CD19 APC / CD45 PerCP-Cy™5.5 s konkurenčným produktom paralelným meraním vzoriek krvi. Označené vzorky boli analyzované pomocou BD FACSCanto™ Flow Cytometer. Výsledky regresnej analýzy sú uvedené v nasledujúcej tabuľke.

Subpopulácie lymfocytov	jednotka	n	smernice	intercept	r ²	rozsah
CD3+	%	109	0,987	2,26	0,949	48-86
	cells/ μ l	54	0,967	109	0,920	768-3081
CD3+CD8+	%	109	1,029	0,62	0,960	7,9-42
	cells/ μ l	54	1,064	9,32	0,950	203-1296
CD3+CD4+	%	109	0,956	2,87	0,954	25-66
	cells/ μ l	54	0,904	114	0,899	439-1813
CD16+CD56+	%	109	0,981	0,06	0,977	2,8-45
	cells/ μ l	54	1,047	-8,49	0,963	104-1099
CD19+	%	109	0,984	-0,26	0,951	2,1-27
	cells/ μ l	54	1,001	2,15	0,925	72-441

Lineárnosť

Lineárnosť merania bola overená pomocou desaťbodovej riediacej rady krvnej vzorky obohatenej o leukocyty (buffy coat). Vzorky riediacej rady boli označené pomocou KOMBITEST™ CD3 FITC / CD4 PE-Cy™7 / CD8 APC-Cy™7 / CD16+CD56 PE / CD19 APC / CD45 PerCP-Cy™5.5

v triplikátoch a podrobené analýze. Namerané dáta boli uznané ako lineárne v celom testovanom rozsahu 50-25000 lymfocytov/ μ l. Rozsahy sledovaných subpopulácií sú uvedené v nasledujúcej tabuľke.

Subpopulácie lymfocytov	rozsah (cells/ μ l)
CD3+	37-19028
CD3+CD8+	12-6156
CD3+CD4+	23-11996
CD16+CD56+	9-4804
CD19+	3-1646

Opakovateľnosť

Opakovateľnosť merania bola testovaná na jednej vzorke krvi, ktorá bola pri rovnakých experimentálnych podmienkach označená a analyzovaná 12x. Koefficienty variácie (CV) pre jednotlivé subpopulácie sú uvedené v nasledujúcej tabuľke.

Subpopulácie lymfocytov	jednotka	n	priemer	SD	CV
CD3+	%	12	71,1	0,80	1,13
	cells/ μ l	12	2007	209	10,4
CD3+CD8+	%	12	27,0	0,97	3,59
	cells/ μ l	12	762	94	12,2
CD3+CD4+	%	12	42,6	0,91	2,14
	cells/ μ l	12	1203	122	10,1
CD16+CD56+	%	12	16,3	0,80	4,92
	cells/ μ l	12	461	62	13,4
CD19+	%	12	11,0	0,48	4,38
	cells/ μ l	12	310	27	8,67

Reprodukovateľnosť

Reprodukovateľnosť merania bola testovaná na stabilizovanej krvnej vzorke (Immuno-Troll™ Cells, Beckman-Coulter) pri rovnakých experimentálnych podmienkach po dobu štyroch týždňov. Koefficienty variácie (CV) pre jednotlivé subpopulácie sú uvedené v nasledujúcej tabuľke.

Subpopulácie lymfocytov	jednotka	n	priemer	SD	CV
CD3+	%	11	70,0	3,98	5,69
	cells/ μ l	11	865	63,4	7,33
CD3+CD8+	%	11	24,4	0,76	3,14
	cells/ μ l	11	301	14,7	4,87
CD3+CD4+	%	11	50,2	0,49	0,98
	cells/ μ l	11	620	20,8	3,35
CD16+CD56+	%	11	11,0	0,62	5,61
	cells/ μ l	11	135	6,63	4,89
CD19+	%	11	12,3	0,69	5,57
	cells/ μ l	11	152	9,58	6,31

16. Obmedzenia metódy

- Koncentrácia značenej protilátky v reagensii bola optimalizovaná s cieľom najlepšieho pomeru špecifického signálu k nešpecifickému signálu. Z tohto dôvodu je dôležité dodržiavať odporúčaný pomer objemu reagensie a objemu vzorky v každom teste.
- Prietokový cytometer môže poskytovať nepresné výsledky, ak nie je dobre nastavený a udržiavaný.
- Dáta môžu byť zle interpretované, ak sú fluorescenčné signály nedostatočne kompenzované alebo ak sú regióny buniek zle umiestnené.
- Krvné vzorky od abnormálnych pacientov môžu vykazovať abnormálne percentuálne hodnoty pozitívnych buniek.
- V prípade krvnej vzorky s abnormálne vysokým počtom leukocytov je potrebné vzorku nariediť pomocou PBS na hodnotu približne 5×10^6 leukocytov na ml.

17. Trademarks

Cy™ a CyDye™ sú registrované značky GE Healthcare. KOMBITEST™ je registrovaná značka spoločnosti EXBIO Praha, a.s. BD FACSCanto™ je registrovaná značka spoločnosti Becton, Dickinson and Company.

18. Example data / Vzorové vyhodnocení / Vzorové vyhodnotenie

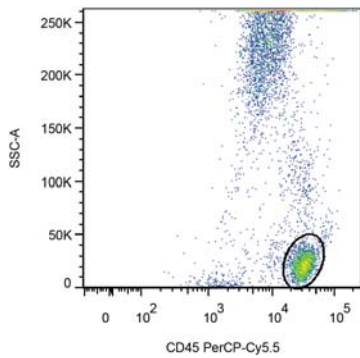


Fig. 1: Delimitation of CD45+ lymphocyte population
Obr. 1: Ohraničení populace CD45+ lymfocytů
Obr. 1: Ohraničenie populácie CD45+ lymfocytov

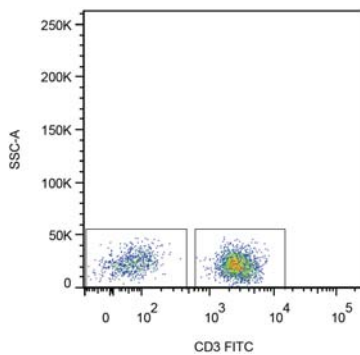


Fig. 2: Separation of CD3+ and CD3- lymphocytes
Obr. 2: Separace CD3+ a CD3- lymfocytů
Obr. 2: Separácia CD3+ a CD3- lymfocytov

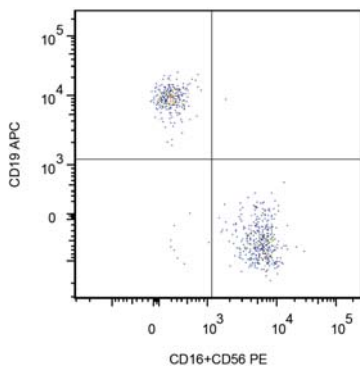


Fig. 3: CD3- lymphocytes in a dot-plot CD19 APC vs. CD16+CD56 PE
Obr. 3: CD3- lymfocyty v grafu CD19 APC vs. CD16+CD56 PE
Obr. 3: CD3- lymfocyty v grafe CD19 APC vs. CD16+CD56 PE

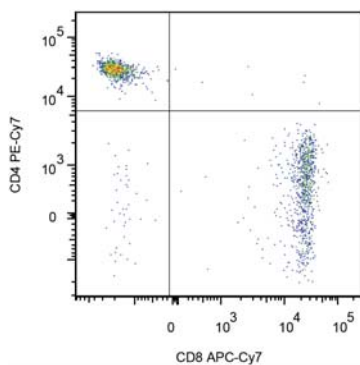


Fig. 4: CD3+ lymphocytes in a dot-plot CD4 PE-Cy™7 vs. CD8 APC-Cy™7
Obr. 4: CD3+ lymfocyty v grafu CD4 PE-Cy™7 vs. CD8 APC-Cy™7
Obr. 4: CD3+ lymfocyty v grafe CD4 PE-Cy™7 vs. CD8 APC-Cy™7

19. References / Literatura / Literatúra

This product has not been published yet.

20. Explanation of symbols / Vysvětlení symbolů / Vysvetlenie symbolov

IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device In vitro diagnostický zdravotnický prostředek In vitro diagnostický zdravotnícky prostriedok
REF	Catalog number Katalogové číslo Katalógové číslo
	Manufacturer identification Výrobce Výrobca
	Consult the manual before use Viz návod k použití Vid' návod na použitie
	Sufficient for N test Lze použít pro N testů Postačujúce na vykonanie N testov
	Store within temperature limits Rozmezí skladovacích teplot Rozmedzie skladovacích teplôt
LOT	Batch code Číslo šarže
	Use by Použitelné do Použitelné do