KOMBITEST TBNK 6-color
50 pruebas | Cat. N° ED7733

IVD CE

Instrucciones de uso (ES)

Versión: ED7733_IFU_v2_ES

Fecha de emisión: 13-02-2024

Símbolos utilizados en el etiquetado del dispositivo

IVD	Producto sanitario para diagnóstico IN VITRO		Límite de temperatura
CE	Marca CE		Mantener apartado de la luz del sol
	Fabricante	UK CA	Marca UKCA
UDI	Identificador único de dispositivo		
	Consulte las instrucciones de uso		
Σ	Contiene suficientes para <n> pruebas		
REF	Número de catálogo		
LOT	Código de lote		
	Fecha de caducidad		

1. Objetivo previsto

KOMBITEST TBNK 6-color está diseñado para la detección y enumeración de poblaciones y subconjuntos de linfocitos en sangre total humana mediante citometría de flujo.

Qué se detecta y/o mide

El dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color detecta y mide porcentajes relativos y cifras absolutas de linfocitos T humanos (CD3+), linfocitos B (CD3-CD19+), linfocitos T citotóxicos (CD3-CD16+56+), linfocitos T cooperadores/auxiliares (CD3+CD4+) y subconjuntos de linfocitos T supresores/citotóxicos (CD3+CD8+).

Función del dispositivo

El dispositivo está diseñado para su uso en la evaluación inmunológica de pacientes normales y podría ayudar en el diagnóstico de pacientes que tienen, o se sospecha que tienen, inmunodeficiencia.

Contexto de un estado fisiológico o patológico

Las frecuencias de las poblaciones de linfocitos medidas por el dispositivo pueden verse afectadas por diversas condiciones patológicas, y la evaluación de sus porcentajes y cifras puede utilizarse para evaluar lo siguiente:

- progresión de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) [1, 4, 7, 9]
- inmunodeficiencias hereditarias [2, 3, 4, 11, 12, 15, 17]
- enfermedades autoinmunitarias [5, 6]
- defectos en la defensa inmunitaria innata [13, 14]

Tipo de ensayo

No automatizado

Cuantitativo

Tipo de muestra requerida

Muestra de sangre total periférica anticoagulada humana

Población sometida a pruebas

No apta para una población específica.

2. Usuario previsto

El aparato está destinado exclusivamente a un uso profesional en laboratorio. No para pruebas cercanas al paciente o autodiagnóstico.

Requisitos de cualificación

El usuario previsto deberá poseer los conocimientos más avanzados en análisis de citometría de flujo de células humanas, técnicas de laboratorio estándar, incluidas

habilidades de pipeteo, y manipulación segura y adecuada de muestras derivadas del cuerpo humano.

El usuario previsto deberá cumplir la norma EN ISO 15189 u otras disposiciones nacionales, en su caso.

3. Principio de prueba

El principio de la prueba se basa en la detección de la unión de anticuerpos monoclonales a una molécula específica (antígeno) expresada por ciertos glóbulos sanguíneos humanos. Los anticuerpos monoclonales utilizados en la prueba se marcan con diferentes fluorocromos que se agitan con un rayo láser de un citómetro de flujo durante la adquisición de una muestra de sangre teñida con anticuerpos. El instrumento recolecta y analiza la fluorescencia subsiguiente (emisión de luz) de cada fluorocromo presente en un glóbulo adquirido. La intensidad de la fluorescencia es directamente proporcional a la densidad de extracción del antígeno en una célula, lo que permite la separación de diferentes subconjuntos de células.

4. Reactivo(s) suministrado(s)

Contenido

El dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color es apropiado para 50 pruebas y se suministra con el siguiente reactivo:

1 ampolla (1 ml) que contiene una combinación premezclada de anticuerpos monoclonales marcados con fluorocromo CD3 FITC / CD16 PE + CD56 PE/CD45 PerCP-Cy™5.5/CD4 PE-Cy™7/CD19 APC/CD8 APC-Cy™7, diluida a concentraciones óptimas en una solución salina amortiguada con fosfato (PBS) estabilizadora que contiene 15 mm de azida de sodio.

Composición

Tabla 1 Descripción de los componentes activos

Antígeno	Fluorocromo	Clon	Isotipo	Concentración (µg/ml)
CD3	FITC	TB3	IgG2b	2
CD4	PE-Cy™7	MEM-241	IgG1	1.5
CD8	APC-Cy™7	LT8	IgG1	1.8
CD16	PE	3G8	IgG1	1.5
CD56	PE	LT56	IgG2a	1.5
CD19	APC	LT19	IgG1	2
CD45	PerCP-Cy™5.5	MEM-28	IgG1	3

5. Materiales necesarios pero no proporcionados

Tubos de ensayo de fondo redondo de 12 x 75 mm

Solución de lisis de eritrocitos (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., cat. N.° ED7066 o CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, cat. N.° BD303500)

Agua desionizada (de calidad reactiva)

Células de control de procesos (Streck CD-Chex Plus®, cat. N.° 213323 o control de células lisables equivalente)

6. Equipamiento necesario

Pipeta automática con puntas desechables (20 - 100 µl) para pipetear muestras y reactivos

Dispensador de líquido o pipeta con puntas desechables (0.5 – 2 ml) para dispensar solución de lisis de eritrocitos

Mezclador vórtex

Analizador de hematología (para cifras absolutas de glóbulos) que pueda realizar conteos de glóbulos blancos (WBC) y linfocitos por µl de muestra

Citómetro de flujo con dos fuentes de agitación láser (488 nm y ~635 nm), detectores de luz dispersa, filtros ópticos y detectores de emisión adecuados para recolectar las señales de los fluorocromos que se proporcionan en la tabla 2.

Tabla 2 Características espectrales del fluorocromo utilizado en el dispositivo

Fluorocromo	Excitación [nm]	Emisión [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

AVISO: El dispositivo se probó en citómetros de flujo BD FACSCanto™ II (BD Biosciences), DxFLEX (Beckman Coulter) y Sysmex XF-1600™ (Sysmex Corporation).

7. Almacenamiento y manipulación

Almacenar a 2-8 °C.

Evitar la exposición prolongada a la luz.

No congelar.

Consulte la Sección 10 Procedimiento (Preparación del reactivo) para obtener información sobre la estabilidad en uso y la vida útil tras la primera apertura, junto con las condiciones de almacenamiento y la estabilidad de las soluciones de trabajo (si procede).

8. Advertencias, precauciones y limitaciones de uso

Clasificación de peligrosidad del SGA

Consulte la Ficha de Datos de Seguridad (FDS) disponible en la página del producto en www.exbio.cz para obtener toda la información sobre los riesgos que plantean las sustancias y mezclas químicas contenidas en el Producto y cómo deben manipularse y eliminarse.

Peligro biológico

Las muestras biológicas humanas y los especímenes sanguíneos, así como cualquier material que entre en contacto con ellos, se consideran siempre materiales infecciosos.

Utilizar equipo de protección personal y de seguridad para evitar el contacto con la piel, los ojos y las mucosas.

Siga todas las leyes, reglamentos y procedimientos aplicables para la manipulación y eliminación de materiales infecciosos.

Evidence of deterioration

La apariencia normal del reactivo proporcionado es la de un líquido claro. No use el reactivo si observa algún cambio en la apariencia, por ejemplo, turbidez o signos de precipitación.

Limitación de uso

No utilizar después de la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del producto.

9. Muestra

Utilice sangre venosa periférica recolectada en un receptáculo para muestras clasificado como dispositivo médico, con el anticoagulante EDTA.

> **AVISO:** Determine la cifra absoluta de WBC y la de linfocitos en la muestra de sangre recolectada mediante un analizador de hematología. El dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color por sí solo no enumera las cifras absolutas de

glóbulos.

Las muestras de sangre con una cifra de WBC superior a 40×10^3 células/µl requerirán una dilución con PBS antes del procesamiento de la muestra.

Procese la muestra de sangre a más tardar 24 horas después de la recolección. Conservar la muestra a temperatura de laboratorio (20 °C - 25°C). No refrigere la muestra.

Interferencias endógenas

En la Tabla 3 se identifican las fuentes de interferencia endógenas basándose en la investigación bibliográfica.

Tabla 3 Interferencias endógenas del aparato

Interferencias endógenas	Impacto	Referencia
Albúmina	La albúmina puede interferir en altas concentraciones debido a su capacidad para unirse, así como para liberar grandes cantidades de ligandos.	18, 19, 35
Bilirrubina (ictericia) (no conjugado)	La bilirrubina puede aumentar el fondo de fluorescencia de las células debido a su elevada autofluorescencia.	22, 24, 28
Restos celulares (después de la lisis)	Los restos celulares pueden proporcionar recuentos celulares inexactos y agotar el anticuerpo dentro del dispositivo.	21, 25
Eritrocitos	Una lisis insuficiente, los glóbulos rojos presentes en la muestra pueden dar lugar a un recuento celular erróneo.	26
Hemoglobina	Las muestras hemolizadas pueden dar resultados erróneos.	23
Anticuerpos antimurinos humanos	El tratamiento con anticuerpos monoclonales puede dar resultados erróneos (capacidad de unión a antígenos de la superficie celular).	20, 30, 31, 32, 33, 34
Inmunoglobulinas	No puede lavarse con el método de plataforma única y puede dar lugar a un recuento erróneo de subconjuntos de linfocitos.	21
Factores reumatoides	La presencia de RF interfiere con los inmunoensayos multiplex (MIA).	27
Triglicéridos	Los niveles circulantes elevados de lípidos pueden afectar al análisis por citometría de flujo de determinadas poblaciones de	29

	células sanguíneas.	

Interferencias exógenas

Las muestras de más de 24 horas pueden dar resultados erróneos.

Las muestras refrigeradas pueden dar resultados erróneos.

Preparación incorrecta de la solución de lisis eritrocitaria (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., Cat. N.º ED7066 o CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, Cat. BD303500) puede dar resultados erróneos. Siga las instrucciones del fabricante para el uso de la solución de lisis eritrocitaria.

10. Procedimiento

Preparación de reactivo(s) suministrado(s)

No es necesaria la preparación de reactivos.

Lleve el reactivo a temperatura ambiente antes de utilizarlo. Mantenga seco el recipiente principal del dispositivo.

Utilice el reactivo directamente desde su envase primario original. El tiempo de uso del reactivo (expuesto a la luz y a temperatura elevada) no debe exceder las 4 horas por día.

Después de la primera apertura, el reactivo conserva sus características de funcionalidad hasta la fecha de caducidad cuando se almacena en las condiciones indicadas en el envase primario original.

PRECAUCIÓN: No diluya el reactivo.

Se necesita la preparación de materiales, pero no se proveen

Diluya la solución de lisis de eritrocitos concentrada con agua desionizada de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La solución de lisis de eritrocitos diluida (1X) se mantiene estable durante 1 mes cuando se almacena en un dispensador de líquidos o en un recipiente cerrado a temperatura ambiente.

Control de calidad

Use Streck CD-Chex Plus® o células de control equivalentes como control de procedimiento positivo para garantizar el rendimiento adecuado del dispositivo según lo previsto. Streck CD-Chex Plus® proporciona valores establecidos para porcentajes positivos y cifras absolutas de linfocitos T, linfocitos B, granulocitos, monocitos y linfocitos T citotóxicos, incluidos dos niveles clínicamente relevantes de linfocitos CD4+.

Tiña las células de control con el reactivo KOMBITEST TBNK 6-color de acuerdo con el procesamiento de la muestra como se especifica en las instrucciones de uso. Verifique que los resultados obtenidos (% de células positivas) estén dentro del rango esperado que se informó para el lote usado de células de control.

Tinción de muestras

1. Para cada muestra, etiquete un tubo de ensayo de fondo redondo de 12×75 mm con la identificación de muestra adecuada.
2. Pipetee 20 µl de reactivo KOMBITEST TBNK 6-color en el fondo del tubo de ensayo de 12×75 mm.
3. Pipetee 50 µl de muestra de sangre bien mezclada en el fondo del tubo de ensayo.

   PRECAUCIÓN: Evite pipetear sangre en el costado del tubo de ensayo. Si quedan gotas o manchas de sangre en el costado del tubo, es posible que no se tiñan con el reactivo o que los eritrocitos no se lisen y que el resultado de la prueba sea inválido.
4. Mezcle bien e incube el tubo de ensayo durante 20 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad.
5. Agregue 500 µl de solución de lisis (1X) diluida en el tubo de ensayo.
6. Mezcle bien e incube el tubo de ensayo durante 10 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad.

Tome la muestra teñida inmediatamente en el citómetro de flujo. Si la muestra teñida no se tomará inmediatamente, almacene a 2 – 8 °C en la oscuridad y analícela en un plazo de 24 horas.

PRECAUCIÓN: Agitar la muestra teñida inmediatamente antes de la adquisición en el citómetro de flujo para evitar agregados.

Análisis por citometría de flujo

El citómetro de flujo seleccionado para su uso con el dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color se calibrará de forma rutinaria utilizando microperlas fluorescentes para garantizar una sensibilidad estable de los detectores de acuerdo con las instrucciones del fabricante del citómetro.

Si no se mantiene adecuadamente, el citómetro de flujo puede producir resultados falsos.

Consulte las especificaciones del fabricante del citómetro para láseres y detectores de fluorescencia según las características de excitación y emisión de los fluorocromos en la Sección 6 Equipo necesario.

Ajuste los voltajes en los detectores de fluorescencia de interés antes del análisis de la muestra teñida. El voltaje en un detector PMT debe ajustarse lo suficientemente alto, para que el mínimo de eventos teñidos negativamente interfieran con el canal 0 en el eje de fluorescencia. Además, el voltaje del detector PMT no debe exceder los valores en los que los eventos positivos se presionan

hacia el eje derecho.

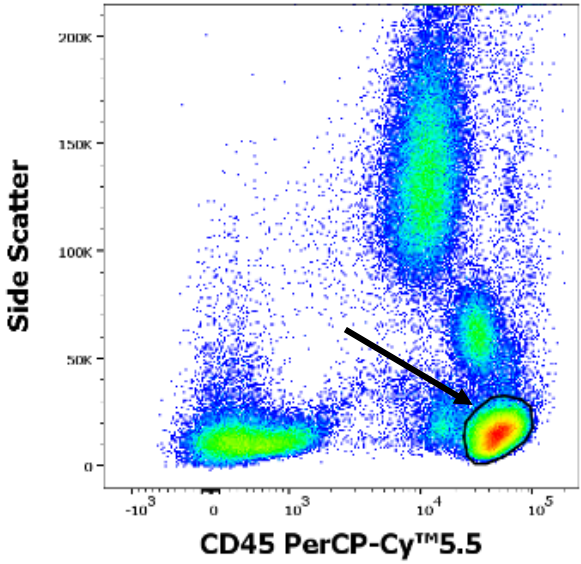
Compense las señales de fluorescencia entre los detectores antes o después de la adquisición de datos. Los datos pueden interpretarse de manera incorrecta si las señales de fluorescencia no se compensan bien o si las ventanas de adquisición se colocan mal.

Para el análisis de datos medidos, es posible utilizar software de citómetro desarrollado por el fabricante, o software dedicado para el análisis de datos de citometría fuera de línea (por ejemplo FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

Análisis de datos de la muestra teñida de KOMBITEST TBNK 6-color

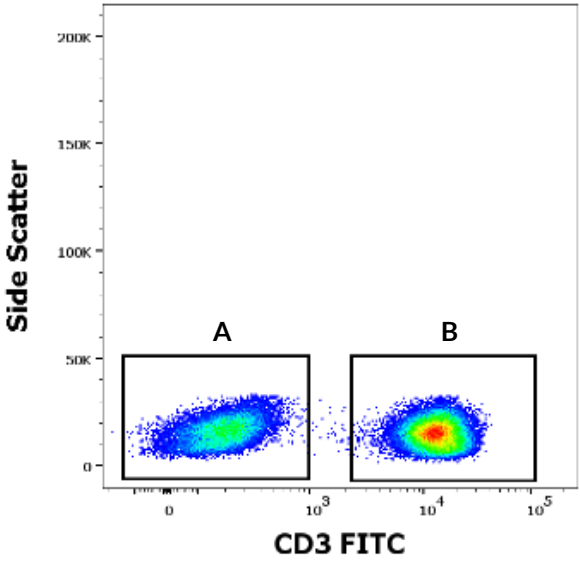
Visualice los datos compensados en un diagrama de dispersión lateral (SSC) frente al diagrama de CD45 PerCP-Cy™5.5. Establezca la ventana para la población de linfocitos CD45+ como se muestra en la figura 1.

Figura 1 Delineación de la población de linfocitos CD45+ (datos adquiridos en BD FACSCanto™ II)



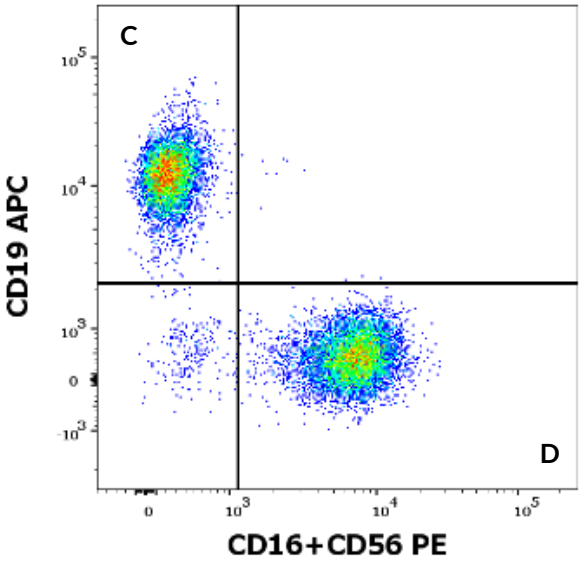
Trace los linfocitos CD45+ controlados en un diagrama de dispersión lateral (SSC) frente a un diagrama de CD3 FITC como se muestra en la figura 2. Separe los linfocitos CD3+ y CD3- utilizando las ventanas de dispersión adecuadas. Calcule el porcentaje de linfocitos T (CD3+; región B de la figura 2) de todos los linfocitos.

Figura 2 Separación de linfocitos CD3+ y CD3- (datos adquiridos en BD FACSCanto™ II)



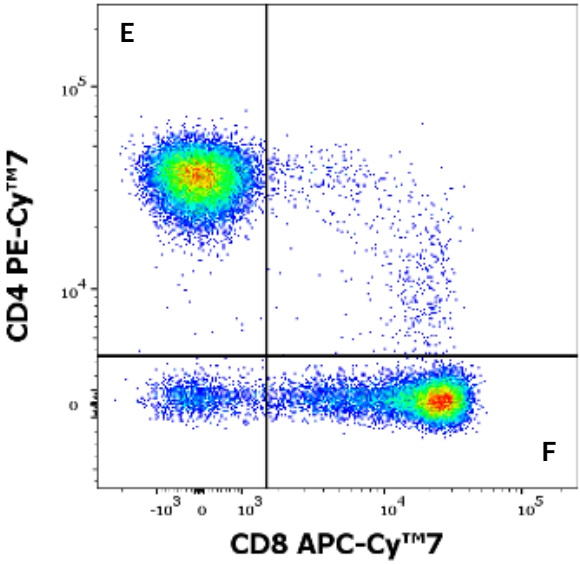
Trace los linfocitos CD3- seleccionados (región A de la figura 2) como CD19 APC frente a CD16+CD56 PE como se muestra en la figura 3. Establezca las ventanas adecuadas y calcule el porcentaje de linfocitos B (CD16-CD56-CD19+; región C de la figura 3) y los linfocitos T citotóxicos (NK) (CD16+CD56+CD19-; región D de la figura 3) de todos los linfocitos.

Figura 3 Linfocitos CD3- en un gráfico de puntos CD19 APC frente a CD16+CD56 PE (datos adquiridos en BD FACSCanto™ II)



Trace los linfocitos T seleccionados (CD3+; región B de la figura 2) como CD4 PE-Cy™7 frente a CD8 APC-Cy™7 como se muestra en la figura 4. Establezca las ventanas adecuadas y calcule el porcentaje de linfocitos T cooperadores/auxiliares (CD4+CD8-; región E de la figura 4) y los linfocitos T supresores/citotóxicos (CD4-CD8+; región F de la figura 4) de todos los linfocitos.

Figura 4 Linfocitos CD3+ en un gráfico de puntos CD4 PE-Cy™7 frente a CD8 APC-Cy™7 (datos adquiridos en BD FACSCanto™ II)



Cálculo e interpretación de resultados analíticos

Para obtener cifras absolutas, use la cifra absoluta de linfocitos determinada mediante analizador de hematología. Consulte las instrucciones del fabricante del analizador de hematología. Utilice las siguientes ecuaciones para la enumeración de la cifra absoluta del subconjunto de linfocitos necesario.

$$\mathrm{A\ x}\ \frac{B\ (\%)}{100\ (\%)} = Cifra\ absoluta\ de\ subconjunto\ de\ linfocitos$$

A = cifra absoluta de linfocitos (datos del analizador de hematología; linfocitos/µl)

B = porcentajes relativos del subconjunto de linfocitos necesario de todos los

linfocitos (datos del citómetro de flujo; %)

11. Rendimiento analítico

AVISO: Todos los datos de rendimiento analítico se midieron utilizando la solución de lisis de eritrocitos EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., cat. N.° ED7066).

Especificidad

El anticuerpo TB3 reconoce el antígeno CD3 humano del complejo TCR/CD3. La especificidad del anticuerpo ha sido confirmada por HCDM Council (taller HLDA XI).

El anticuerpo MEM-241 reconoce el antígeno CD4 humano (glucoproteína de superficie de linfocitos T CD4). La especificidad del anticuerpo ha sido confirmada por HCDM Council (taller HLDA VIII).

El anticuerpo LT8 reconoce el antígeno CD8 humano (dímero unido por disulfuro expresado como dos homodímeros de cadena α CD8 o heterodímeros de cadena α/β CD8). La especificidad del anticuerpo ha sido confirmada por los talleres HLDA (taller HLDA V[16] y taller HLDA VII[8]).

El anticuerpo 3G8 reconoce el antígeno CD16 humano (receptor Fcγ de tipo III de inmunoglobulina de baja afinidad). La especificidad del anticuerpo ha sido confirmada por el taller HLDA (taller HLDA V[16]).

El anticuerpo LT56 reconoce la isoforma leucocitaria del antígeno CD56 humano (molécula de adhesión de células neurales 1). La especificidad del anticuerpo ha sido confirmada por HCDM Council (taller HLDA X).

El anticuerpo LT19 reconoce el antígeno CD19 humano (glucoproteína de superficie de linfocitos B CD19). La especificidad del anticuerpo ha sido confirmada por HCDM Council (taller HLDA X).

El anticuerpo MEM-28 reconoce todas las isoformas leucocitarias del CD45 humano (receptor de proteína tirosina fosfatasa tipo C). La especificidad del anticuerpo ha sido confirmada por el taller HLDA (taller HLDA III[10]).

Exactitud

La precisión del método se midió en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II y se determinó como comparación del dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color con un producto similar disponible en el mercado BD Multitest™ 6-Color TBNK Reagent (Cat. N.º 644611) mediante tinción paralela de 30 donantes de sangre sanos.

En los citómetros de flujo Beckman Coulter DxFLEX y Sysmex XF-1600™, la precisión del método se determinó comparando los resultados del análisis de las mismas muestras de sangre de 39 donantes de sangre sanos teñidas con el dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color en los citómetros de flujo BC DxFLEX y BD FACSCanto™ II, respectivamente, y en los citómetros de flujo

Sysmex XF-1600™ y BD FACSCanto™ II.

La precisión del método se ha visto respaldada por la tinción paralela de 134 pacientes (véase la Tabla 7) sospechosos de padecer una afección patológica del sistema inmunitario. Los parámetros del análisis de regresión lineal figuran en las Tablas 4 - 7.

Tabla 4 Análisis de regresión lineal para subconjuntos de linfocitos en donantes sanos (comparación del dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color con el producto reactivo IVD BD Multitest™ 6-Color TBNK [cat. N.° 644611])

Subconjunto de linfocitos	Unidad	n	Pendiente	Intersección	R^2	Intervalo
CD3+	%	30	1.00	-0.006	0.9942	49.03 – 84.87
	linfocitos/µl	30	0.99	5.464	0.9986	608 – 2137
CD3+CD8+	%	30	0.98	0.003	0.9957	10.43 – 40.17
	linfocitos/µl	30	0.97	8.959	0.9981	145 - 1016
CD3+CD4+	%	30	0.99	0.004	0.9939	29.70 – 56.37
	linfocitos/µl	30	0.99	6.588	0.9975	321 - 1407
CD3-CD16+CD56+	%	30	1.01	-0.002	0.9968	5.15 – 38.93
	linfocitos/µl	30	1.02	-6.186	0.9985	97 - 1036
CD3-CD19+	%	30	1.00	0.003	0.9948	5.42 – 25.00
	linfocitos/µl	30	1.02	1.611	0.9925	74 - 352

n = número de muestras de sangre

Tabla 5 Análisis de regresión lineal para subconjuntos de linfocitos en donantes sanos (comparación de las muestras de sangre de análisis teñidas por el dispositivo ED7733 en el Beckman Coulter DxFLEX con BD FACSCanto™ II)

Precisión de la medición de ED7733 en el Beckman Coulter DxFLEX						
Citómetro de flujo Beckman Coulter DxFLEX frente a citómetro de flujo BD FACSCanto™ II						
Veracidad de la medición						
Subconjunto de linfocitos	**Unidad**	**n**	**Pendiente**	**Intersección**	**R^2**	**Intervalo**
CD3+	%	39	0.9822	0.0145	0.9879	52.7 - 83.8
	linfocitos/µl	39	0.9792	-24.255	0.9811	439 - 2406
CD3+CD8+	%	39	1.0171	0.0052	0.9829	13.7 - 41.8
	linfocitos/µl	39	1.0478	-3.0975	0.9930	131 - 1170
CD3+CD4+	%	39	0.9789	-0.001	0.9857	11.7 - 62.7
	linfocitos/µl	39	0.9768	-1.499	0.9929	128 - 1429
CD3-CD16+ CD56+	%	39	0.9727	0.0054	0.9815	3.53 - 34.4
	linfocitos/µl	39	0.9699	10.484	0.9886	85 - 673
CD3-CD19+	%	39	1.0212	-0.0047	0.9757	5.11 - 19.8
	linfocitos/µl	39	0.9767	-0.0385	0.9825	77 - 386

n = número de muestras de sangre

Tabla 6 Análisis de regresión lineal para subconjuntos de linfocitos en donantes sanos (comparación de las muestras de sangre de análisis teñidas por el dispositivo ED7733 en el Sysmex XF-1600™ con BD FACSCanto™ II)

Precisión de la medición de ED7733 en el Sysmex XF-1600™						
Citómetro de flujo Sysmex XF-1600™ frente a citómetro de flujo BD FACSCanto™ II						
Trueness of measurement						
Subconjunto de linfocitos	**Unidad**	**n**	**Pendiente**	**Intersección**	**R^2**	**Intervalo**
CD3+	%	39	1.0058	0.0105	0.9918	53.7 - 86.4
	linfocitos/µl	39	1.0174	4.2861	0.9991	425 - 2446
CD3+CD8+	%	39	1.0134	0.0015	0.9924	13.1 - 41.9
	linfocitos/µl	39	1.0346	-11.555	0.9976	121 - 1099
CD3+CD4+	%	39	1.0017	0.0103	0.9963	12.9 - 64.5
	linfocitos/µl	39	1.0043	17.382	0.9981	116 - 1474
CD3-CD16+ CD56+	%	39	0.9889	-0.0039	0.9868	3.2 - 33.6
	linfocitos/µl	39	0.972	-3.4422	0.9903	77 - 660
CD3-CD19+	%	39	1.0162	-0.0039	0.9852	5.14 - 19.0
	linfocitos/µl	39	0.9777	0.1994	0.9898	78 - 395

n = número de muestras de sangre

Tabla 7 Análisis de regresión lineal para subconjuntos de linfocitos en pacientes con sospecha de enfermedades del sistema inmunitario (comparación del dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color con el sistema de citometría de flujo AQUIOS CL, Beckman Coulter, Inc., y el método interno de un laboratorio clínico acreditado: un cóctel de anticuerpos conjugados con color de diferentes fabricantes y análisis en BD FACSCanto™ II)

Subconjunto de linfocitos	Unidad	n	Pendiente	Intersección	R^2	Intervalo
CD3+	%	134	1.032	-2.655	0.98	23.9 - 94.5
	linfocitos/µl	134	1.023	-0.047	0.97	140 - 5178
CD3+CD8+	%	134	1.020	-0.803	0.98	9.1 - 80.7
	linfocitos/µl	134	1.055	-0.041	0.96	60 - 3546
CD3+CD4+	%	134	1.014	-0.651	0.98	1.4 - 67.5
	linfocitos/µl	134	0.994	-0.005	0.98	8 - 2826
CD3-CD16+CD56+	%	134	1.064	-0.400	0.98	1.6 - 68.2
	linfocitos/µl	134	1.080	-0.014	0.99	10 - 2612
CD3-CD19+	%	134	1.027	-0.376	0.99	0.0 - 69.7
	linfocitos/µl	134	1.043	-0.010	1.00	0 - 4586

n = número de muestras de sangre

Linealidad

La linealidad del método se verificó en 10 diluciones en serie de una muestra de sangre enriquecida con leucocitos (capa leucoplaquetaria). Las muestras de células se tiñeron con KOMBITEST TBNK 6-color en hexaplicados. Las muestras se analizaron con el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II, el citómetro de flujo Beckman Coulter DxFLEX y el citómetro de flujo Sysmex XF-1600™. Se observó que los datos medidos para los subconjuntos de linfocitos indicados eran lineales en todo el intervalo de linfocitos 333 - 9492 células/µl utilizando BD FACSCanto™ II, 309 - 8693 células/µl utilizando Beckman Coulter DxFLEX y 86 - 6822 células/µl utilizando Sysmex XF-1600™. Los subconjuntos celulares se encontraban en los rangos que figuran en las Tablas 8 - 10.

Tabla 8 Intervalos lineales de subconjuntos de linfocitos analizados mediante BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II	
Subconjunto de linfocitos	Intervalo (linfocitos/µl)
CD3+	249 - 6594
CD3+CD8+	96 - 2560
CD3+CD4+	136 - 3628
CD3-CD16+CD56+	55 - 1525
CD3-CD19+	44 - 1342

Tabla 9 Intervalos lineales de subconjuntos de linfocitos analizados mediante Beckman Coulter DxFLEX

Beckman Coulter DxFLEX	
Subconjunto de linfocitos	Intervalo (linfocitos/µl)
CD3+	243 - 6565
CD3+CD8+	102 - 2652
CD3+CD4+	128 - 3517
CD3-CD16+CD56+	64 - 1588
CD3-CD19+	41 - 1280

Table 10 Intervalos lineales de subconjuntos de linfocitos analizados mediante Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™	
Subconjunto de linfocitos	Intervalo (linfocitos/µl)
CD3+	45 - 3513
CD3+CD8+	21 - 1507
CD3+CD4+	22 - 1742
CD3-CD16+CD56+	8 - 700
CD3-CD19+	7 - 567

Límite de detección / Límite de cuantificación / Límite de ensayo

Los datos de linealidad se utilizaron para establecer el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ).
El límite de detección se ha establecido como el valor más bajo de recuento celular absoluto distinto de cero más 3×SD (desviación estándar) para cada subconjunto de linfocitos (véase las Tablas 11 - 13).
El límite de cuantificación se ha establecido como el valor más bajo en el intervalo de linealidad de las concentraciones de analito presentadas como recuento absoluto del subconjunto de linfocitos, en el que el CV de los hexaplicados no superó el 10 % y la recuperación estuvo en el intervalo de 90 % - 110 % (véase las Tablas 11 - 13).
Los resultados del ensayo no son diagnósticos únicos para una única entidad clínica, por lo que no se puede estimar el punto de corte del ensayo.

Tabla 11 Límites de detección y cuantificación en BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II				
Subgrupo de linfocitos	**Recuento celular más bajo distinto de cero (células/µl)**	**3×SD (SD)**	**LOD (células/µl)**	**LOQ (células/µl)**
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

Tabla 12 Límites de detección y cuantificación en Beckman Coulter DxFLEX

Beckman Coulter DxFLEX				
Subgrupo de linfocitos	**Recuento celular más bajo distinto de cero (células/µl)**	**3×SD (SD)**	**LOD (células/µl)**	**LOQ (células/µl)**
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

Tabla 13 Límites de detección y cuantificación en Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™				
Subgrupo de linfocitos	**Recuento celular más bajo distinto de cero (células/µl)**	**3×SD (SD)**	**LOD (células/µl)**	**LOQ (células/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

Repetibilidad

La repetibilidad de la prueba se midió en diez muestras de sangre en hexaplicados. Las muestras se analizaron utilizando citómetros de flujo BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEX y Sysmex XF-1600™. Los coeficientes de variación (CV) figuran en las tablas siguientes (Tablas 14 - 16).

Tabla 14 Repetibilidad del dispositivo en BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II					
Subconjunto de linfocitos	Unidad	n	Promedio	SD	% CV
CD3+	%	10	70.34	0.56	0.91
	linfocitos/µl	10	1396	10.22	
CD3+CD8+	%	10	23.11	0.27	1.25
	linfocitos/µl	10	453	5.23	
CD3+CD4+	%	10	41.06	0.53	1.36
	linfocitos/µl	10	808	9.71	
CD3-CD16+CD56+	%	10	16.35	0.40	2.43
	linfocitos/µl	10	289	7.20	
CD3-CD19+	%	10	11.63	0.25	2.31
	linfocitos/µl	10	227	4.78	

Tabla 15 Repetibilidad del dispositivo en Beckman Coulter DxFLEX

Beckman Coulter DxFLEX					
Subconjunto de linfocitos	Unidad	n	Promedio	SD	% CV
CD3+	%	10	70.80	0.61	0.95
	linfocitos/µl	10	1406	11.19	
CD3+CD8+	%	10	23.80	0.32	1.42
	linfocitos/µl	10	468	6.12	
CD3+CD4+	%	10	40.81	0.56	1.47
	linfocitos/µl	10	803	10.52	
CD3-CD16+CD56+	%	10	15.89	0.40	2.72
	linfocitos/µl	10	282	7.23	
CD3-CD19+	%	10	11.68	0.32	2.83
	linfocitos/µl	10	227	5.94	

Tabla 16 Repetibilidad del dispositivo en Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™					
Subconjunto de linfocitos	Unidad	n	Promedio	SD	% CV
CD3+	%	10	69.15	0.89	1.39
	linfocitos/µl	10	1151	14.62	
CD3+CD8+	%	10	23.12	0.36	1.72
	linfocitos/µl	10	389	6.11	
CD3+CD4+	%	10	41.09	0.70	1.76
	linfocitos/µl	10	680	11.39	
CD3-CD16+CD56+	%	10	18.40	0.56	2.71
	linfocitos/µl	10	313	9.45	
CD3-CD19+	%	10	10.62	0.35	3.37
	linfocitos/µl	10	173	5.56	

Reproducibilidad

La reproducibilidad del ensayo en BD FACSCanto™ II y Beckman Coulter DxFLEX se midió con 2 muestras de sangre estabilizada (CD-Chex Plus® y CD-Chex Plus® CD4 Low de STRECK). La reproducibilidad del ensayo en el Sysmex XF-1600™ se midió en 4 muestras de sangre estabilizadas (CD-Chex Plus® y CD-Chex Plus® CD4 Low e IMMUNO-TROL Low Cells e IMMUNO-TROL Cells de Beckman Coulter además). Las muestras se midieron en las mismas condiciones durante 15 días utilizando 3 lotes del dispositivo (5 días cada uno). Los coeficientes de variación (CV) figuran en las tablas siguientes (Tablas 17 - 19).

Tabla 17 Reproducibilidad del dispositivo en BD FACSCanto™ II

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

Tabla 18 Reproducibilidad del dispositivo en Beckman Coulter DxFLEX

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

Tabla 19 Reproducibilidad del dispositivo en Sysmex XF-1600™

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

Para el análisis de citometría de flujo se utilizaron los siguientes citómetros de flujo, incluida la versión de software:

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

Para los recuentos celulares absolutos se utilizó el analizador de hematología con método de plataforma dual con las siguientes especificaciones:

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

Para la evaluación de los datos medidos se utilizó la siguiente plataforma de análisis:
FlowJo™ (Becton, Dickinson and Company) - versión 10.9.0

12. Rendimiento clínico

Pacientes con inmunodeficiencia primaria

En un centro, se tomaron datos clínicos de 30 pacientes con sospecha de inmunodeficiencia variable común (CVID). Se determinó el rendimiento clínico del dispositivo ED7733 en comparación con el dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color mediante el uso de solución de lisis de eritrocitos EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., cat. N.° ED7066) con método de laboratorio clínico acreditado (Sistema de citometría de flujo AQUIOS CL, Beckman Coulter, Inc.).

Se analizaron los resultados de la evaluación de inmunidad del paciente con respecto a la inmunodeficiencia (tabla 20).

Tabla 20 Rendimiento clínico del dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color en pacientes con CVID

		Inmunidad evaluada por método de laboratorio clínico acreditado	
		Deficiencia inmunitaria	**Condición normal**
Inmunidad evaluada mediante el dispositivo ED7733 KOMBITEST TBNK 6-color	**Deficiencia inmunitaria**	24 pacientes	0 pacientes
	Condición normal	0 pacientes	6 pacientes

Pacientes con inmunodeficiencia adquirida

En un centro, se tomaron datos clínicos de 53 pacientes con virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Se determinó el rendimiento clínico del dispositivo en comparación con el dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color mediante el uso de solución de lisis de eritrocitos EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., cat. N.° ED7066) con método interno de laboratorio clínico acreditado (un cóctel de anticuerpos conjugados de un solo color de diferentes fabricantes y análisis de BD FACSCanto™ II).

Se analizaron los resultados de la evaluación de inmunidad del paciente con respecto a la inmunodeficiencia (tabla 21).

Tabla 21 Rendimiento clínico del dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color en pacientes con VIH

		Inmunidad evaluada por método interno de laboratorio clínico acreditado	
		Deficiencia inmunitaria	**Condición normal**
Inmunidad evaluada mediante el dispositivo ED7733 KOMBITEST TBNK 6-color	**Deficiencia inmunitaria**	28 de 29 pacientes*	0 pacientes
	Condición normal	0 pacientes	24 pacientes

PRECAUCIÓN:

* El dispositivo ED7733 KOMBITEST TBNK 6-color mostró una tinción insuficiente para separar claramente las células T (CD3+) en un (1) paciente VIH en estado crítico.

13. Valores previstos

Intervalo de referencia

Los laboratorios deben establecer sus propios intervalos de referencia normales para los subconjuntos de linfocitos identificados mediante KOMBITEST TBNK 6-color a partir de la población local de donantes normales debido a las variaciones de valor relacionadas con la edad, el sexo, las características clínicas y el origen étnico.

14. Limitaciones

El dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color no tiene validación para su uso en muestras recolectadas con anticoagulantes de heparina o ácido citrato dextrosa (ACD) a fin de determinar cifras relativas y absolutas.

El dispositivo KOMBITEST TBNK 6-color no está diseñado para la detección o el fenotipado de muestras de leucemia y linfoma.

Las cifras absolutas no son comparables entre laboratorios que utilizan diferentes equipos de varios fabricantes.

15. Referencias

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

('cytotoxic') and CD28- ('suppressor') CD8+ subsets. Clin Exp Immunol. 1998 Jan;111(1):70-5. doi: 10.1046/j.1365-2249.1998.00479.x.

13) Orange, J S. Natural killer cell deficiency. J Allergy Clin Immunol. 2013 Sep;132(3):515-525. doi: 10.1016/j.jaci.2013.07.020.

14) Orange, J S. How I Manage Natural Killer Cell Deficiency. J Clin Immunol. 2020 Jan;40(1):13-23. doi: 10.1007/s10875-019-00711-7.

15) Picat, M Q et al. T-cell activation discriminates subclasses of symptomatic primary humoral immunodeficiency diseases in adults. BMC Immunol. 2014 Mar 12;15:13. doi: 10.1186/1471-2172-15-13.

16) Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, et al, eds.: Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens. New York, NY: Oxford University Press; 1995.

17) van Dongen, J J M et al. EuroFlow-Based Flowcytometric Diagnostic Screening and Classification of Primary Immunodeficiencies of the Lymphoid System. Front Immunol. 2019 Jun 13;10:1271. doi: 10.3389/fimmu.2019.01271.

18) Tate J, Ward G. Interferences in immunoassay. Clin Biochem Rev. 2004 May;25(2):105-20. PMID: 18458713; PMCID: PMC1904417.

19) Selby C. Interference in immunoassay. Ann Clin Biochem. 1999 Nov; 36 (Pt 6):704-21. doi: 10.1177/000456329903600603. PMID: 10586307.

20) Kricka LJ. Human anti-animal antibody interferences in immunological assays. Clin Chem. 1999 Jul;45(7):942-56. Erratum in: Clin Chem 2000 Oct;46(10):1722. PMID: 10388468.

21) Higgins J, Hill V, Lau K, Simpson V, Roayaei J, Klabansky R, Stevens RA, Metcalf JA, Baseler M. Evaluation of a single-platform technology for lymphocyte immunophenotyping. Clin Vaccine Immunol. 2007 Oct;14(10):1342-8. doi: 10.1128/CVI.00168-07. Epub 2007 Aug 29. PMID: 17761524; PMCID: PMC2168127.

22) Htun NM, Chen YC, Lim B, et al. Near-infrared autofluorescence induced by intraplaque hemorrhage and heme degradation as marker for high-risk atherosclerotic plaques. Nat Commun. 2017;8(1):75. Published 2017 Jul 13. doi:10.1038/s41467-017-00138-x

23) de Jonge G, Dos Santos TL, Cruz BR, Simionatto M, Bittencourt JIM, Krum EA, Moss MF, Borato DCK. Interference of in vitro hemolysis complete blood count. J Clin Lab Anal. 2018 Jun;32(5):e22396. doi: 10.1002/jcla.22396. Epub 2018 Feb 3. PMID: 29396875; PMCID: PMC6817011.

24) Haga Y, Kay HD, Tempero MA, Zetterman RK. Flow cytometric measurement of intracellular bilirubin in human peripheral blood mononuclear cells exposed to unconjugated bilirubin. Clin Biochem. 1992 Aug;25(4):277-83. doi: 10.1016/0009-9120(92)80033-d. PMID: 1381998.

25) Lam WK, Law YFW, Yip SF. Resolution of platelet count interference due to cytoplasmic fragments of leukaemic cells by flow cytometry in acute myeloid leukaemia. Int J Lab Hematol. 2022 Dec;44(6):983-985. doi: 10.1111/ijlh.13859. Epub 2022 May 3. PMID: 35504732.

26) Hervé 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.

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, OncoImmunology, 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. Marcas comerciales

BD FACSCanto™ II, BD FACSLyric™, BD Multitest™ y FlowJo™ son marcas comerciales de Becton, Dickinson and Company, CD-Chex Plus® es una marca registrada de Streck, Cy™ es una marca registrada de Cytiva, CyLyse™ FX, Sysmex XN-1000™ y Sysmex XF-1600™ son marcas comerciales de Sysmex Corporation, VenturiOne® es una marca registrada de Applied Cytometry, Infinicyt™ es una marca registrada de Cytognos S.L.

17. Historial de revisiones

Versión 2, ED7733_IFU_v2

1) Citómetros de flujo actualizados en los que se ha probado el dispositivo.

2) Almacenamiento de muestras actualizado. Se agregaron interferencias endógenas y exógenas.

3) Precisión actualizada (citómetros de flujo BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex XF-1600™)

4) Linealidad actualizada (citómetros de flujo BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex XF-1600™)

5) Límite de detección/Límite de cuantificación/Límite de ensayo actualizado (citómetros de flujo BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex XF-1600™)

6) Repetibilidad y reproducibilidad actualizadas (citómetros de flujo BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex XF-1600™)

7) Valores esperados eliminados

8) Referencias actualizadas

18. Fabricante

EXBIO Praha, a.s.
Nad Safinou II 341
25250 Vestec
Czech Republic

Información de contacto

info@exbio.cz
technical@exbio.cz
orders@exbio.cz
www.exbio.cz

19. Representantes autorizados

N/A

AVISO: Cualquier incidente grave que se haya producido en relación con el producto deberá notificarse al fabricante y a la autoridad local competente.