

exbio

DryFlowEx TBNK 6-color 50 test | Kat. No. ED7736



Kullanım Kılavuzu (TR)

Versiyon: ED7736_IFU_v5_TR

Yayın Tarihi: 17-04-2025

Cihaz etiketlemesinde kullanılan semboller

	İn Vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz		Sıcaklık sınırı
	CE uygunluk işareti Onaylanmış Kuruluş Kimlik Numarası		Güneş ışığından uzak tutun
	Üretici		Kuru Yerde Tutun Yağmurdan uzak tutun
	Benzersiz Cihaz Tanımlayıcısı		Dikkat
	Kullanım talimatlarına bakın		Yeniden kullanmayın
	İçeriği <n> test için yeterlidir		Tek kullanımlık test için <n> tüp içerir
	Katalog numarası		İçindekiler
	Parti kodu		UKCA işareti
	Son kullanma tarihi		

1. Kullanım Amacı

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

Tespit edilen ve/veya ölçülen nedir?

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

Cihazın işlevi

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

Fizyolojik veya patolojik durumun kapsamı

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

- HIV izlemede CD3+/CD4+ yardımcı/indükleyici T hücreleri (1, 5, 9, 11)
- Viral enfeksiyonlarda ve kalıtsal immün yetmezliklerde CD3+/CD8+ sitotoksik T hücreleri (3, 4, 13, 14, 17, 19)
- Otoimmün hastalıklarda CD3-/CD19+ B hücreleri (6, 8)
- Doğuştan gelen immünite ve immünolojik bozuklukta CD3-/CD16+56+ NK hücreleri (15, 16)

Test türü

Otomatik değil

Nicel

Gereken örnek türü

İnsan antikoagüle periferik tam kan örneği

Test popülasyonu

Belirli bir popülasyon için tasarlanmamıştır.

2. Hedef kullanıcı

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

Yeterliliğe ilişkin gereklilikler

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

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

3. Test prensibi

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

4. Sağlanan reaktif/reaktifler

İçindekiler

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

TBNK 6-color ED7736-1 (10 paket). Her bir paket, test tüplerinin dibinde (12 x 75 mm) bir tabaka olarak stabilize edici bileşenlerle kurutulmuş florokrom etiketli reaktiflerin önceden karıştırılmış kombinasyonunu içeren 5 kapaklı tek kullanımlık tüpten oluşur, bakınız Tablo 1.

TBNK 6-color Compensation Set ED7736-2 (1 kutu), her bir tüpün dibinde (12 x 75 mm) katman hâlinde stabilize edici bileşenlerle kurutulmuş tek bir florokrom etiketli reaktif bulunan (bkz. Tablo 1) 6 adet kapaklı tek kullanımlık tüpten oluşur.

DİKKAT: TBNK 6-color Compensation Set sadece dengeleme kurulumu için tasarlanmıştır. Tek florokrom etiketli reaktifler (bkz. Tablo 1) kolay ve doğru dengeleme prosedürüne olanak tanır.

Bileşim

Tablo 1 TBNK 6-color aktif bileşenlerin tanımı

Antijen	Florokrom	Klon	İzotip
CD3	FITC	UCHT1	IgG1
CD16	PE	3G8	IgG1
CD56	PE	LT56	IgG2a
CD45	PerCP-Cy™5.5	MEM-28	IgG1
CD4	PE-Cy™7	MEM-241	IgG1
CD19	APC	LT19	IgG1
CD8	APC-Cy™7	LT8	IgG1

5. Gereken ancak sağlanmayan malzemeler

Eritrosit lizis solüsyonu EXCELLYSE Easy, Kat. No. ED7066

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

Fosfat tamponlu salin (1X PBS), pH 7,2 – 7,4

6. Gerekli ekipman

Örnek pipetleme için tek kullanımlık uçlara (20 - 100 µl) sahip otomatik pipet

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

PBS'yi dağıtmak için tek kullanımlık uçlara (0,2 – 0,5 ml) sahip sıvı dispenser veya pipet

Vorteks mikser

12 x 75 mm yuvarlak tabanlı tüpler için uygun rotor adaptörlerine sahip santrifüj

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

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

Tablo 2 Cihazda kullanılan florokromların spektral özelliği

Florokrom	Eksitasyon [nm]	Emisyon [nm]
FITC	488	525
PE	488	576
PerCP-Cy™5.5	488	695
PE-Cy™7	488	780
APC	630 – 640	660
APC-Cy™7	630 - 640	780

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

7. Depolama ve taşıma

20 – 30°C sıcaklıkta muhafaza edin.

Uzun süre ışığa maruz bırakmaktan kaçının.

Kuru yerde tutun.

DİKKAT: Neme karşı hassas ürün. Folyo paketi ilk kullanım anına kadar açmayın.



İlk açmadan sonra, kalan kullanılmayan tüplerin saklanması için folyo paketi fermuarlı kilitle iyice kapatın.

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

8. Uyarılar, önlemler ve kullanım kısıtlamaları

GHS Tehlike Sınıflandırması

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

Biyolojik Tehlike

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

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

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

Bozulma belirtisi

Sağlanan reaktif normalde tüpün dibinde şeffaf ve kurumuş bir tabaka hâlinde görünür. Görünümünde herhangi bir değişiklik olduğunu, örneğin tüpün içinde nem olduğunu gözlemlerseniz reaktifi kullanmayın.

Kullanım kısıtlamaları

Ürün etiketlerinde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.

Test tüplerini yeniden kullanmayın.

9. Örnek

Antikoagülan EDTA ile tıbbi cihaz olarak sınıflandırılan örnek kabına alınan venöz periferik kanı kullanın.

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

WBC sayısı 40×10^3 hücre/ μ l'yi aşan kan örneği, numunenin işlenmesinden önce PBS ile seyreltilmelidir.

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

Endojen İnterferans

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

Tablo 3 Cihazın Endojen İnterferansı

Endojen interferans	Etki	Referans
Albümin	Albümin, bağlanma ve büyük miktarlarda ligand salma kabiliyeti nedeniyle yüksek konsantrasyonlarda girişime neden olabilir.	20, 21, 37
Bilirubin (sarılık) (konjuge olmayan)	Bilirubin, yüksek otofloresansı nedeniyle hücrelerin floresan arka planını artırabilir.	24, 26, 30
Hücre debris (lizis sonrası)	Hücre debris yanlış hücre sayımlarına neden olabilir ve cihaz içindeki antikor tüketebilir.	23, 27
Eritrositler	Yetersiz lizis, numunede bulunan kırmızı kan hücreleri hatalı hücre sayımına neden olabilir.	28
Hemoglobin	Hemolize numuneler hatalı sonuçlar verebilir.	25
İnsan anti-murin antikorları	Monoklonal antikor tedavisi hatalı sonuçlar verebilir (hücre yüzeyi antijenlerine bağlanma kabiliyeti).	22, 32, 33, 34, 35, 36
İmmüoglobülinler	Tek platform yönteminde yıkanamaz ve hatalı lenfosit alt küme sayısına neden olabilir.	23
Romatoid faktörler	RF'nin varlığı MIA (multipleks immünoassaylar) ile girişime neden olur.	29
Trigliseridler	Dolaşımdaki yüksek lipid seviyeleri, belirli kan hücresi popülasyonlarının akış sitometrisi analizini etkileyebilir.	31

Eksojen İnterferans

24 saatten daha eski örnekler hatalı sonuçlar verebilir.

Soğutulmuş örnekler hatalı sonuçlar verebilir.

Yanlış eritrosit lizis solüsyonu hazırlığı hatalı sonuçlar verebilir. Cihazın kullanım talimatlarını izleyin.

10. Prosedür

Sağlanan reaktifin/reaktiflerin hazırlanması

TBNK 6-color

Reaktif hazırlamaya gerek olmayıp sadece tek kullanımlık test tüplerinde sağlanır.

DİKKAT: Neme karşı hassas ürün. Folyo paketi ilk kullanım anına kadar açmayın.



Her bir poşet 5 adet kapaklı tek kullanımlık TBNK 6-color tüpten oluşmaktadır. Her açmadan sonra, kalan kullanılmayan tüplerin saklanması için folyo paketi fermuarlı kilitle iyice kapatın.
İlk açılıştan sonra kalan TBNK 6-color tüpleri 30 gün içinde kullanın.

Gereken ancak sağlanmayan malzemelerin hazırlanması

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

Dengeleme kurulumu

TBNK 6-color boyalı tüplerin analizinden önce aynı akış sitometresi kurulumunu kullanarak Dengeleme Seti tüplerini edinin.

DİKKAT: TBNK 6-color ve TBNK 6-color Compensation Set aynı tip örnek gerektirir.

TBNK 6-color dengeleme tüpleri

1. 50 µl iyi karıştırılmış kan örneğini her bir tek renkli dengeleme tüpünün dibine pipetleyin.
2. 7-10 saniye kuvvetlice karıştırın ve karanlıkta oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edin.
3. Her dengeleme tüpüne 1 ml seyreltilmiş (1X) eritrosit lizis solüsyonu ekleyin.
4. Karıştırın ve karanlıkta oda sıcaklığında 10 dakika boyunca inkübe edin.
5. 300×g'de 5 dakika boyunca santrifüjleyin, süpernatantı atın ve hücre pelletini 0,2 ml 1X PBS içinde yeniden süspanse edin.
6. Boyalı örnek analizinden önce ilgili floresan dedektörlerindeki gerilimleri ayarlayın. PMT dedektöründeki gerilim yeterli düzeyde yüksek ayarlanmalı, böylece en az negatif boyalı olay floresan eksenindeki 0. kanalla etkileşime girmelidir. PMT dedektörü gerilimi de pozitif olayların sağ eksene baskılandığı değerleri aşmamalıdır.

7. Akış sitometresi kullanarak boyalı numuneyi hemen alın.

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

Şekil 1'e göre her bir dengeleme tüpü için pozitif ve negatif popülasyonlara yönelik geçitleri belirleyin.

Dengeleme matrisini, üretici tarafından geliştirilen sitometre yazılımında veya çevrim dışı sitometri veri analizine özel yazılımda hesaplayın. Bu dengeleme matrisini, bu TBNK 6-color lotunun tüm test tüpleri için kullanın.

DİKKAT: Belirli bir TBNK 6-color lotuna ayarlandıktan sonra, aynı dengeleme matrisi alım ayarlarını ve dengeleme sonuçlarını korumak için floresan dedektör ayarlarını değiştirmeyin.

Kalite kontrolü

Cihazın amaçlandığı gibi uygun performansını sağlamak için pozitif prosedür kontrolü olarak Streck CD-Chex Plus® veya eşdeğeri stabilize kan kullanın. Streck CD-Chex Plus®, klinik olarak ilgili iki CD4+ hücre seviyesi dâhil olmak üzere T hücreleri, B hücreleri, granülositler, monositler ve NK hücrelerinin yüzde pozitif ve mutlak sayımları için belirlenmiş değerler sağlar.

Kontrol kanını, Kullanım Talimatında belirtildiği gibi numune işlemeye göre TBNK 6-color test tüpü kullanarak boyayın. Elde edilen sonuçların (%Pozitif Hücreler) kullanılan kontrol hücresi lotu için bildirilen Beklenen aralıkta olduğunu doğrulayın.

Örnek boyama

1. TBNK 6-color tüpü uygun numune tanımlaması ile etiketleyin.

2. 50 µl iyi karıştırılmış kan örneğini TBNK 6-color tüpün altına pipetleyin.

DİKKAT: Test tüpünün yan tarafına kan pipetlemekten kaçının. Tüpün kenarında kan lekesi veya damlacık kalırsa reaktifle boyanmayabilir veya eritrositler çözünmeyebilir ve test sonucu doğru olmayabilir.

3. 7-10 saniye kuvvetlice karıştırın ve test tüpünü karanlıkta oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edin.

DİKKAT: Vorteks süresinin kısaltılması test sonuçlarını etkileyebilir.

4. TBNK 6-color tüpe 1 ml seyreltilmiş (1X) eritrosit lizis solüsyonu ekleyin.

5. Karıştırın ve karanlıkta oda sıcaklığında 10 dakika boyunca inkübe edin.

6. TBNK 6-color tüpü 300×g'de 5 dakika santrifüjleyin.

7. Hücre peletini bozmadan süpernatantı atın ve test tüpüne 0,2 ml 1X PBS ekleyin.

8. Hücre peletini yeniden süspanse etmek için kısa süre karıştırın.
9. Boyalı örneği akış sitometresi kullanarak alın. Boyalı örnek hemen alınmayacaksa 2 – 8°C sıcaklıkta karanlık ortamda saklayın ve 24 saat içinde analiz edin.

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

Akış sitometrisi analizi

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

Akış sitometresinin bakımı düzgün yapılmazsa yanlış sonuçlar verebilir.

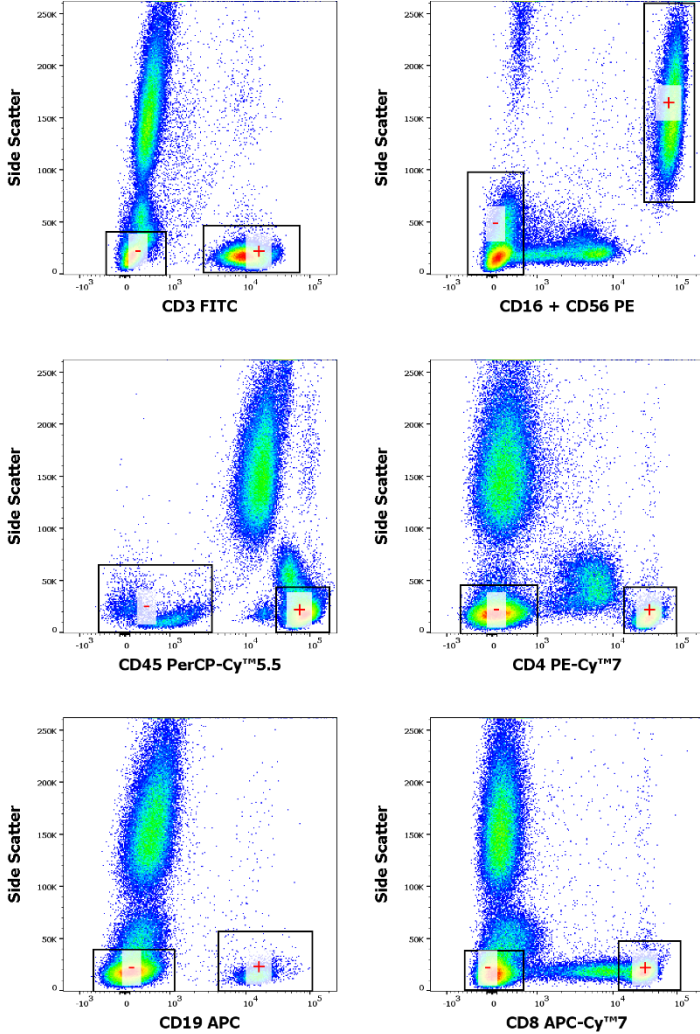
Gerekli ekipman başlıklı Bölüm 6'daki florokromların eksitasyon ve emisyon özelliklerine uygun lazerler ve floresan dedektörleri için üreticinin sitometre spesifikasyonlarına bakın.

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

Dengeleme tüplerinin analizi

Her dengeleme tüpü için dengelenmeyen verileri bir yana saçılım (SSC) ve "dengelenecek florokrom" noktasal grafiğinde görselleştirin. Pozitif (+) ve negatif (-) popülasyonlar için geçitleri Şekil 1'de gösterildiği gibi ayarlayın.

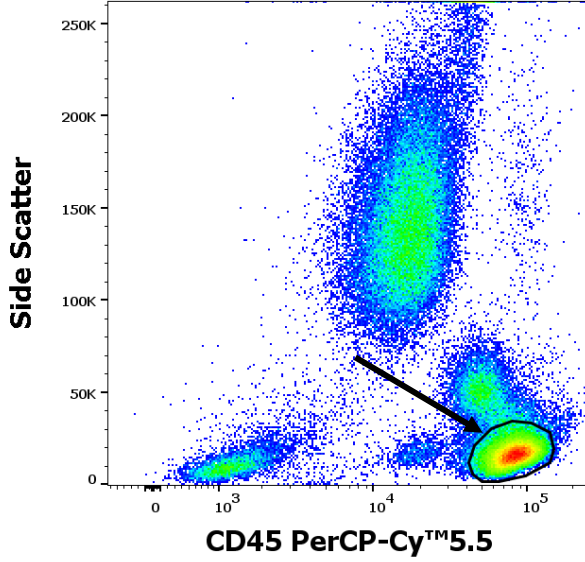
Şekil 1 Dengeleme tüplerinde pozitif (+) ve negatif (-) olayların tanımlanması
(BD FACSCanto™ II'de elde edilen veriler)



TBNK 6-color boyalı örneğin analizi

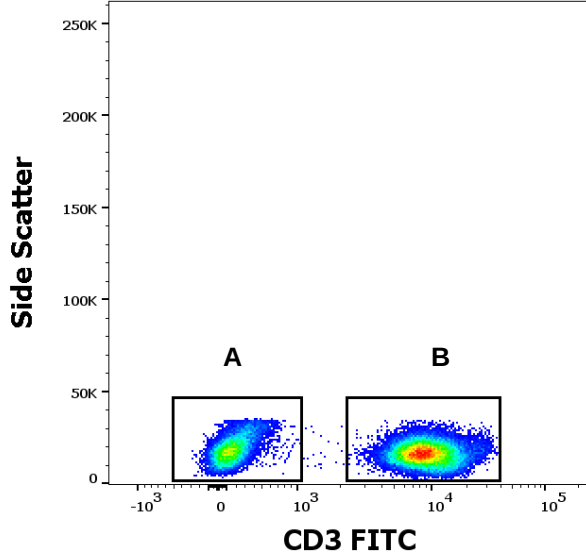
Dengelenmiş verileri yana saçılım (SSC) ve CD45 PerCP-CyTM5.5 grafiğinde görselleştirin. CD45+ lenfosit popülasyonu için geçidi Şekil 2'de gösterildiği gibi ayarlayın.

Şekil 2 CD45+ lenfosit popülasyonunun grafiği
(BD FACSCantoTM II'de elde edilen veriler)



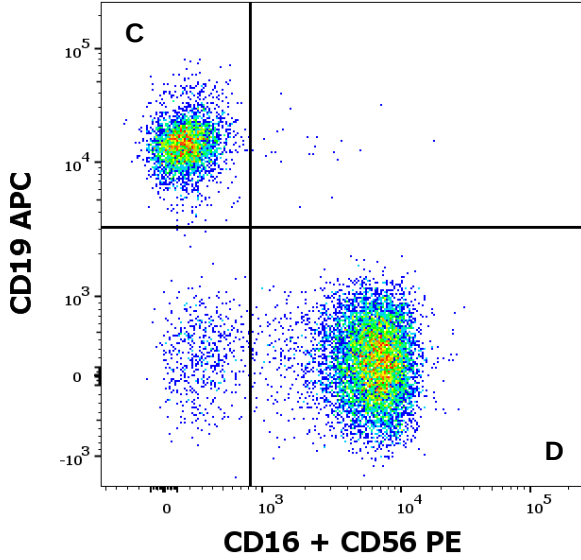
Şekil 3'de gösterildiği üzere geçitli CD45+ lenfositleri yana saçılım (SSC) ve CD3 FITC grafiğine dökün. Uygun geçitleri kullanarak CD3+ ve CD3- lenfositlerini ayırın. Tüm lenfositlerdeki T hücrelerinin (CD3+; Şekil 3'deki B bölgesi) yüzdesini hesaplayın

Şekil 3 CD3+ ve CD3- lenfositlerinin ayrılması
(BD FACSCanto™ II'de elde edilen veriler)



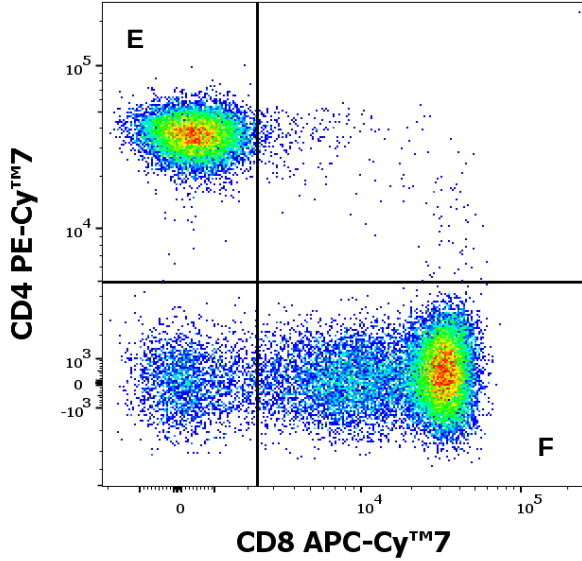
Geçitli CD3- lenfositleri (Şekil 3'deki A bölgesi) Şekil 4'te gösterildiği gibi CD19 APC ve CD16+CD56 PE şeklinde grafiğe dökün. Uygun geçitleri ayarlayın ve tüm lenfositlerdeki B hücrelerinin (CD16-CD56-CD19+; Şekil 4'teki C bölgesi) ve doğal öldürücü (NK) hücrelerinin (CD16+CD56+CD19-; Şekil 4'teki D bölgesi) yüzdesini hesaplayın.

Şekil 4 CD3- CD19 APC ve CD16+CD56 PE noktasal grafiğindeki lenfositler (BD FACSCanto™ II'de elde edilen veriler)



Geçitli T hücrelerini (CD3+; Şekil 3'deki B bölgesi) Şekil 5'te gösterildiği gibi CD4 PE-CyTM7 ve CD8 APC-CyTM7 şeklinde grafiğe dökün. Uygun geçitleri ayarlayın ve tüm lenfositlerdeki yardımcı/indükleyici T hücrelerinin (CD4+CD8-; Şekil 5'teki E bölgesi) ve baskılayıcı/sitotoksik T hücrelerinin (CD4-CD8+; Şekil 5'teki F bölgesi) yüzdesini hesaplayın.

Şekil 5 CD3+ CD4 PE-CyTM7 ve CD8 APC-CyTM7 noktasal grafiğindeki lenfositler (BD FACSCantoTM II'de elde edilen veriler)



Analitik sonuçların hesaplanması ve yorumlanması

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

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

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

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

11. Analitik performans

Özgüllük

UCHT1 antikor, olgun insan T hücrelerindeki TCR/CD3 kompleksinin CD3 antijeni üzerinde ekstraselüler bir epitopu tanır. UCHT1 antikor, CD3 kompleksinin epsilon zinciri ile reaksiyona girer. Antikorum özgüllüğü HCDM Konseyi (HLDA I ⁽²⁾, HLDA III ⁽¹²⁾ ve HLDA VI ⁽⁷⁾ atölyesi) tarafından doğrulanmıştır. MEM-241 antikor, insan CD4 antijenini (T hücresi yüzey glikoproteini CD4) tanır. Antikorum özgüllüğü HCDM Kurulu tarafından onaylanmıştır (HLDA VII atölyesi). LT8 antikor, insan CD8 antijenini (iki CD8 alfa zinciri homodimeri veya CD8 alfa/beta zinciri heterodimeri olarak ifade edilen disülfid bağlı dimer) tanır. Antikorum özgüllüğü HLDA atölyeleri (HLDA V atölyesi⁽¹⁸⁾ ve HLDA VII atölyesi ⁽¹⁰⁾) tarafından onaylanmıştır.

3G8 antikor, insan CD16 antijenini (düşük afiniteli immünoglobulin tip III Fc-gama reseptörü) tanır. Antikorum özgüllüğü HLDA atölyesi tarafından onaylanmıştır (HLDA V atölyesi ⁽¹⁸⁾).

LT56 antikor, insan CD56 antijeninin (Nöral hücre adezyon molekülü 1) lökosit izoformunu tanır. Antikorum özgüllüğü HCDM Kurulu tarafından onaylanmıştır (HLDA X atölyesi).

LT19 antikor, insan CD19 antijenini (B hücresi transmembran glikoproteini CD19) tanır. Antikorum özgüllüğü HCDM Kurulu tarafından onaylanmıştır (HLDA X atölyesi).

MEM-28 antikor, insan CD45 antijeninin (Protein tirozin fosfataz reseptörü tip C) tüm lökosit izoformlarını tanır. Antikorum özgüllüğü HDLA atölyesi tarafından onaylanmıştır (HLDA III atölyesi ⁽¹²⁾).

Doğruluk

Yöntemin doğruluğu BD FACSCanto™ II akış sitometresinde ölçülmüş ve DryFlowEx TBNK 6-color cihazının, piyasada bulunan benzer bir ürün olan KOMBITEST TBNK 6-color (Kat. No. ED7733) ile 118 sağlıklı kan bağışçısının paralel şekilde boyanarak karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir.

Beckman Coulter DxFLEX ve Sysmex XF-1600™ akış sitometrelerinde yöntemin doğruluğu, DryFlowEx TBNK 6-color cihaz ile boyanan aynı kan örneklerinin sırasıyla BC DxFLEX ve BD FACSCanto™ II (92 sağlıklı bağışçı) akış sitometrelerindeki ve Sysmex XF-1600™ ve BD FACSCanto™ II (71 sağlıklı bağışçı) akış sitometrelerindeki analiz sonuçları karşılaştırılarak belirlenmiştir.

Yöntemin doğruluğu, immün sistem patolojik durumu olduğundan şüphelenilen 46 hastanın (bkz. Tablo 7) paralel boyanması ile desteklenmiştir.

Doğrusal regresyon analizi parametreleri Tablo 4 – 7'de verilmiştir.

Tablo 4 Sağlıklı kan bağışçılarındaki lenfosit alt kümeleri için doğrusal regresyon analizi (DryFlowEx TBNK 6-color cihazın IVD ürünü KOMBITEST TBNK 6-color ile karşılaştırması (EXBIO, Kat. No. ED7733))

Lenfosit Alt Kümesi	Birim	n	Eğim	Kesişme Noktası	R ²
CD3+	%	118	0,9850	+0,0054	0,9696
	hücre/µl	118	0,9993	-9,0904	0,9958
CD3+CD8+	%	118	1,0618	-0,006	0,9858
	hücre/µl	118	1,0497	-6,1323	0,9910
CD3+CD4+	%	118	1,0067	-0,0015	0,9786
	hücre/µl	118	1,0191	-12,603	0,9936
CD3-CD16+CD56+	%	118	0,9956	-0,0023	0,9851
	hücre/µl	118	0,9943	-3,9727	0,9848
CD3-CD19+	%	118	0,9885	-0,0015	0,9794
	hücre/µl	118	0,9790	-0,9509	0,9880

n = kan örneklerinin sayısı

Tablo 5 Sağlıklı kan bağışçılarındaki lenfosit alt kümeleri için doğrusal regresyon analizi (BD FACSCanto™ II'deki ED7736 ile BC DxFLEx'teki ED7736'nın karşılaştırılması)

Lenfosit Alt Kümesi	Birim	n	Eğim	Kesişme Noktası	R ²
CD3+	%	92	0,9839	0,0106	0,9823
	hücre/µl	92	0,9992	-0,0833	0,9985
CD3+CD8+	%	92	1,0187	-0,0051	0,9864
	hücre/µl	92	1,0083	-5,1608	0,9930
CD3+CD4+	%	92	0,9872	0,0017	0,9935
	hücre/µl	92	0,9869	3,4994	0,9975
CD3-CD16+CD56+	%	92	0,9857	0,0022	0,9904
	hücre/µl	92	0,9784	5,7585	0,9921
CD3-CD19+	%	92	0,9992	-0,0002	0,9900
	hücre/µl	92	1,0031	-1,0160	0,9916

n = kan örneklerinin sayısı

Tablo 6 Sağlıklı kan bağışçılarındaki lenfosit alt kümeleri için doğrusal regresyon analizi (BD FACSCanto™ II'deki ED7736 ile Sysmex XF-1600™'deki ED7736'nın karşılaştırılması)

Lenfosit Alt Kümesi	Birim	n	Eğim	Kesişme Noktası	R ²
CD3+	%	71	0,9942	0,0051	0,9853
	hücre/µl	71	1,0101	-10,313	0,9990
CD3+CD8+	%	71	0,9718	0,00006	0,9878
	hücre/µl	71	0,9646	2,6825	0,9938
CD3+CD4+	%	71	0,9885	0,0077	0,9955
	hücre/µl	71	1,0178	-7,2726	0,9972
CD3-CD16+CD56+	%	71	0,9905	0,0033	0,9915
	hücre/µl	71	0,9789	8,4040	0,9951
CD3-CD19+	%	71	0,9149	0,0009	0,9652
	hücre/µl	71	0,9128	1,8844	0,9780

n = kan örneklerinin sayısı

Tablo 7 İmmün sistem patolojik durumlarına sahip olduğundan şüphelenilen hastalarda lenfosit alt kümeleri için doğrusal regresyon analizi (DryFlowEx TBNK 6-color cihazının AQUIOS CL Flow Cytometry System - Beckman Coulter, Inc. ile karşılaştırılması)

Lenfosit Alt Kümesi	Birim	n	Eğim	Kesişme Noktası	R ²
CD3+	%	46	1,0027	-0,6999	0,98
	hücre/µl	46	0,9805	17,223	1,00
CD3+CD8+	%	46	1,0033	0,7307	0,94
	hücre/µl	46	1,0595	4,148	0,97
CD3+CD4+	%	46	1,018	-0,9716	0,97
	hücre/µl	46	0,9884	6,4727	0,99
CD3-CD16+CD56+	%	46	1,0469	-0,5117	0,98
	hücre/µl	46	1,0543	-11,577	0,99
CD3-CD19+	%	46	1,0213	0,1708	0,96
	hücre/µl	46	1,036	-0,1163	0,98

n = kan örneklerinin sayısı

Doğrusallık

Yöntemin doğrusallığı, lökosit bakımından zenginleştirilmiş bir kan örneğinin (bulutsu katman) 10 kez seri seyreltmesi yapılarak doğrulanmıştır. Hücre numuneleri hekzaplikatlarda DryFlowEx TBNK 6-color ile boyanmıştır. Numuneler BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEX ve Sysmex XF-1600™ akış sitometreleri kullanılarak analiz edilmiştir. Belirtilen lenfosit alt kümeleri için ölçülen verilerin, BD FACSCanto™ II kullanılarak 87-7031 lenfosit/μl, Beckman Coulter DxFLEX kullanılarak 85-6698 hücre/μl ve Sysmex XF-1600™ kullanılarak 175 - 14799 lenfosit/μl lenfosit aralığında doğrusal olduğu gözlenmiştir. Hücre alt kümeleri Tablo 8 - 10'da bulunan aralıklarda olmuştur.

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

BD FACSCanto™ II	
Lenfosit Alt Kümesi	Aralık (hücre/μl)
CD3+	79 - 6427
CD3+CD8+	16 - 1271
CD3+CD4+	57 - 4749
CD3-CD16+CD56+	15 - 1198
CD3-CD19+	8 - 722

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

Beckman Coulter DxFLEX	
Lenfosit Alt Kümesi	Aralık (hücre/μl)
CD3+	79 - 6251
CD3+CD8+	16 - 1274
CD3+CD4+	57 - 4583
CD3-CD16+CD56+	15 - 1276
CD3-CD19+	8 - 704

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

Sysmex XF-1600™	
Lenfosit Alt Kümesi	Aralık (hücre/ μ l)
CD3+	128 – 10391
CD3+CD8+	53 - 4117
CD3+CD4+	67 - 5421
CD3-CD16+CD56+	32 - 2681
CD3-CD19+	14 - 1090

Tespit limiti/Ölçüm limiti/Tahlil Eşiği

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

Tespit limiti, her bir lenfosit alt kümesi için sıfır olmayan en düşük mutlak hücre sayısı değeri artı $3 \times SD$ (standart sapma) olarak belirtilmiştir (bkz. Tablo 11–13). Ölçüm limiti, lenfosit alt kümesi mutlak sayımı olarak sunulan analit konsantrasyonlarının doğrusallık aralığındaki en düşük değer olarak belirtilmiştir, bu değerde altı kopyalı gruplardan gelen varyasyon katsayısı (CV) %10'u geçmemiştir ve geri kazanım %90 - %110 aralığında olmuştur (bkz. Tablo 11–13). Tahlil sonuçları, tek bir klinik antite için benzersiz bir şekilde tanısal değildir, bu nedenle tahlil eşiği tahmin edilemez.

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

BD FACSCanto™ II				
Lenfosit Alt Kümesi	Sıfır olmayan en düşük hücre sayısı (hücre/ μ l)	$3 \times SD$ (SD)	LOD (hücre/ μ l)	LOQ (hücre/ μ l)
CD3+	1	0,6 (0,2)	1,6	3
CD3+CD8+	1	0,6 (0,2)	1,6	2
CD3+CD4+	1	0,6 (0,2)	1,6	2
CD3-CD16+CD56+	2	0,9 (0,3)	2,9	5
CD3-CD19+	1	0,3 (0,1)	1,3	8

Tablo 12 Beckman Coulter DxFLEX'te tespit ve ölçüm limitleri

Beckman Coulter DxFLEX				
Lenfosit Alt Kümesi	Sıfır olmayan en düşük hücre sayısı (hücre/μl)	3$\times$SD (SD)	LOD (hücre/μl)	LOQ (hücre/μl)
CD3+	1	0,3 (0,1)	1,3	3
CD3+CD8+	1	0,3 (0,1)	1,3	2
CD3+CD4+	1	0,6 (0,2)	1,6	2
CD3-CD16+CD56+	1	0,3 (0,1)	1,3	2
CD3-CD19+	1	0,6 (0,2)	1,6	8

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

Sysmex XF-1600™				
Lenfosit Alt Kümesi	Sıfır olmayan en düşük hücre sayısı (hücre/μl)	3$\times$SD (SD)	LOD (hücre/μl)	LOQ (hücre/μl)
CD3+	2	0,3 (0,1)	2,3	2
CD3+CD8+	1	0,6 (0,2)	1,6	2
CD3+CD4+	1	0,6 (0,2)	1,6	8
CD3-CD16+CD56+	1	0,6 (0,2)	1,6	11
CD3-CD19+	1	0,3 (0,1)	1,3	14

Tekrarlanabilirlik

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

Tablo 14 BD FACSCanto™ II'da cihazın tekrarlanabilirliği

BD FACSCanto™ II					
Lenfosit Alt Kümesi	Birim	n	Ortalama	SD	%CV
CD3+	%	10	72,15	0,27	0,38
	hücre/ μ l	10	1454	4,9	
CD3+CD8+	%	10	21,05	0,24	1,18
	hücre/ μ l	10	434	4,8	
CD3+CD4+	%	10	46,68	0,28	0,61
	hücre/ μ l	10	932	5,1	
CD3-CD16+CD56+	%	10	15,38	0,19	1,28
	hücre/ μ l	10	294	3,6	
CD3-CD19+	%	10	11,45	0,15	1,34
	hücre/ μ l	10	217	2,7	

n = kan örneklerinin sayısı

Tablo 15 Beckman Coulter DxFLEX'de cihazın tekrarlanabilirliği

Beckman Coulter DxFLEX					
Lenfosit Alt Kümesi	Birim	n	Ortalama	SD	%CV
CD3+	%	10	70,90	0,34	0,48
	hücre/ μ l	10	1429	6,3	
CD3+CD8+	%	10	20,33	0,33	1,33
	hücre/ μ l	10	418	5,3	
CD3+CD4+	%	10	45,60	0,27	0,72
	hücre/ μ l	10	911	6,3	
CD3-CD16+CD56+	%	10	16,13	0,25	1,61
	hücre/ μ l	10	308	5,0	
CD3-CD19+	%	10	11,24	0,18	1,69
	hücre/ μ l	10	213	3,3	

n = kan örneklerinin sayısı

Tablo 16 Sysmex XF-1600™'de cihazın tekrarlanabilirliği

Sysmex XF-1600™					
Lenfosit Alt Kümesi	Birim	n	Ortalama	SD	%CV
CD3+	%	10	65,29	1,23	2,22
	hücre/µl	10	1090	20,6	
CD3+CD8+	%	10	22,34	0,41	2,30
	hücre/µl	10	377	6,90	
CD3+CD4+	%	10	38,12	0,98	2,77
	hücre/µl	10	633	16,30	
CD3-CD16+CD56+	%	10	20,92	0,78	3,12
	hücre/µl	10	354	13,10	
CD3-CD19+	%	10	11,96	0,44	3,81
	hücre/µl	10	193	7,10	

n = kan örneklerinin sayısı

Yeniden Üretilirlik

Testin BD FACSCanto™ II ve Beckman Coulter DxFLEx üzerindeki tekrarlanabilirliği 2 stabilize kan numunesinde (STRECK'ten CD-Chex Plus® ve CD-Chex Plus® CD4 Low) ölçülmüştür. Testin Sysmex XF-1600™ üzerindeki tekrarlanabilirliği 4 stabilize kan numunesinde (CD-Chex Plus® ve CD-Chex Plus® CD4 Low ve ayrıca Beckman Coulter'dan IMMUNO-TROL Low Cells ve IMMUNO-TROL Cells) ölçülmüştür. Numuneler, aynı koşullar altında 15 gün boyunca 3 lot Cihaz (her biri 5 gün) kullanılarak ölçülmüştür. Varyasyon katsayıları (CV) aşağıdaki tablolarda verilmiştir (Tablo 17 - 19).

Tablo 17 BD FACSCanto™ II'da cihazın yeniden üretilebilirliği

Lenfosit Alt Kümesi	Malzeme	Birim	Ortalama	SD	%CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	82,07	0,40	0,49
		hücre/ μ l	1659	8,1	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	67,87	0,60	0,89
		hücre/ μ l	917	8,1	
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	25,67	0,43	1,66
		hücre/ μ l	519	8,6	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	47,23	0,80	1,69
		hücre/ μ l	638	10,8	
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	47,20	0,51	1,08
		hücre/ μ l	954	10,3	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	9,56	0,18	1,85
		hücre/ μ l	129	2,4	
CD3-CD16+CD56+	CD-Chex Plus®	%	9,51	0,27	2,87
		hücre/ μ l	192	5,5	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	17,00	0,49	2,89
		hücre/ μ l	230	6,6	
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	7,89	0,17	2,18
		hücre/ μ l	158	3,4	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	14,10	0,18	1,29
		hücre/ μ l	190	2,5	

Tablo 18 Beckman Coulter DxFLEx'de cihazın yeniden üretilebilirliği

Lenfosit Alt Kümesi	Malzeme	Birim	Ortalama	SD	%CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	81,58	0,35	0,43
		hücre/ μ l	1649	7,2	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	67,57	0,32	0,48
		hücre/ μ l	913	4,3	
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	26,57	0,31	1,17
		hücre/ μ l	537	6,3	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	48,73	0,41	0,85
		hücre/ μ l	658	5,6	
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	45,43	0,53	1,17
		hücre/ μ l	918	10,8	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	9,17	0,25	2,73
		hücre/ μ l	124	3,4	
CD3-CD16+ CD56+	CD-Chex Plus®	%	9,77	0,15	1,56
		hücre/ μ l	197	3,1	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	17,21	0,23	1,35
		hücre/ μ l	232	3,1	
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	7,99	0,33	4,10
		hücre/ μ l	161	6,6	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	14,18	0,23	1,63
		hücre/ μ l	192	3,1	

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

Lenfosit Alt Kümesi	Malzeme	Birim	Ortalama	SD	%CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	80,58	0,41	0,51
		hücre/µl	1689	8,5	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	64,19	0,71	1,10
		hücre/µl	866	9,6	
	IMMUNO-TROL Cells	%	73,47	0,39	0,53
		hücre/µl	930	4,9	
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	56,03	0,71	1,26
		hücre/µl	431	5,4	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	23,43	0,60	2,54
		hücre/µl	490	12,5	
	IMMUNO-TROL Cells	%	43,78	0,99	2,26
		hücre/µl	591	13,3	
CD3+CD4+	IMMUNO-TROL Cells	%	24,11	0,26	1,08
		hücre/µl	305	3,3	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	34,74	1,00	2,87
		hücre/µl	267	7,7	
	CD-Chex Plus®	%	51,31	0,74	1,45
		hücre/µl	1073	15,6	
CD3-CD16+ CD56+	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12,14	0,84	6,92
		hücre/µl	164	11,3	
	IMMUNO-TROL Cells	%	45,17	0,51	1,14
		hücre/µl	572	6,5	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	15,83	0,36	2,28
		hücre/µl	122	2,8	
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	8,52	0,28	3,31
		hücre/µl	178	5,9	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	15,53	0,48	3,06
		hücre/µl	209	6,4	
	IMMUNO-TROL Cells	%	10,03	0,28	2,80
		hücre/µl	127	3,6	
CD3-CD19+	IMMUNO-TROL Low Cells	%	21,59	0,59	2,74
		hücre/µl	166	4,6	
	CD-Chex Plus®	%	9,93	0,25	2,48
		hücre/µl	208	5,1	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	18,70	0,31	1,63
		hücre/µl	252	4,1	
CD3-CD19+	IMMUNO-TROL Cells	%	13,03	0,34	2,58
		hücre/µl	165	4,3	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	17,45	0,55	3,14
		hücre/µl	134	4,2	

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

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

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

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

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

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

12. Klinik performans

Bağıışıklık sistemi patolojik durumlarına sahip olduğundan şüphelenilen hastalar

Bağıışıklık sistemi patolojik durumlarından şüphelenilen 46 hastanın klinik verileri klinik bir merkezde toplanmıştır. Klinik performans, DryFlowEx TBNK 6-color cihazın akredite klinik laboratuvar yöntemi (AQUIOS CL Flow Cytometry System - Beckman Coulter, Inc.) ile karşılaştırılması şeklinde belirlenmiştir.

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

Tablo 20 DryFlowEx TBNK 6-color cihazının klinik performansı

		Akredite klinik laboratuvar yöntemiyle değerlendirilen immün durum	
		Bağışıklık sistemi patolojik durumları	Normal durum
DryFlowEx TBNK 6-color cihazı tarafından değerlendirilen immün durumu	Bağışıklık sistemi patolojik durumları	9 hasta	0 hasta
	Normal durum	0 hasta	37 hasta

13. Beklenen değerler

Referans Aralığı

Tablo 21 BD FACSCanto™ II'de ölçülen sağlıklı kan donörlerinin Referans Aralıkları

Lenfosit Alt Kümesi	n	Birim	Aralık		Medyan
			Min	Min	
CD3+	92	%	53,2	84,4	73,2
	92	hücre/µl	731	2550	1298
CD3+CD8+	92	%	6,9	38,3	23,0
	92	hücre/µl	126	1138	427
CD3+CD4+	92	%	27,6	63,3	43,6
	92	hücre/µl	455	1751	774
CD3-CD16+CD56+	92	%	5,3	33,5	13,7
	92	hücre/µl	101	692	255
CD3-CD19+	92	%	3,1	21,2	10,7
	92	hücre/µl	56	412	200

n = kan örneklerinin sayısı

Tablo 21'teki referans aralıkları, bir kan bankasına kan donörlüğü için belirlenen katı kriterleri karşılayan ve Çek Cumhuriyeti mevzuatına göre kan donörü kabul edilen sağlıklı hastalar üzerinde oluşturulmuştur. Veriler BD FACSCanto™ II akış sitometresi ile ölçülmüştür.

Belirli referans aralıkları, değerlerin oluşturulduğu bölgeye ve popülasyona bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Bu nedenle laboratuvarlar; yaş, cinsiyet, klinik özellikler ve etnik kökene bağlı değer farklılıkları nedeniyle normal donörlerin yerel popülasyonundan DryFlowEx TBNK 6-color kullanılarak tanımlanan lenfosit alt kümeleri için kendi normal referans aralıklarını oluşturmalarıdır.

14. Kısıtlamalar

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

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

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

15. Referanslar

- 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) Bernard, A et al. *Leucocyte Typing*. Springer, 1984.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) Kishimoto, T et al. *Leucocyte Typing VI*. Garland Publishing, 1997.
- 8) 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.

- 9) 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.
- 10) 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.*
- 11) 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.
- 12) McMichael AJ, ed. *Leucocyte Typing III: 54 White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1987.
- 13) Monafu, 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.
- 14) 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.
- 15) 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.
- 16) 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.
- 17) 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.
- 18) Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, et al, eds.: *Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1995.
- 19) 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.
- 20) Tate J, Ward G. Interferences in immunoassay. *Clin Biochem Rev*. 2004 May;25(2):105-20. PMID: 18458713; PMCID: PMC1904417.
- 21) Selby C. Interference in immunoassay. *Ann Clin Biochem*. 1999 Nov; 36 (Pt 6):704-21. doi: 10.1177/000456329903600603. PMID: 10586307.
- 22) 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.

- 23) 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.
- 24) 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
- 25) 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.
- 26) 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.
- 27) 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.
- 28) 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).
- 29) 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.
- 30) 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
- 31) 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>

- 32) Yasmine Van Caeneghem, Stijn De Munter, Paola Tieppo, Glenn Goetgeluk, Karin Weening, Greet Verstichel, Sarah Bonte, Tom Taghon, Georges Leclercq, Tessa Kerre, Reno Debets, David Vermijlen, Hinrich Abken & Bart Vandekerckhove (2017) Antigen receptor-redirected T cells derived from hematopoietic precursor cells lack expression of the endogenous TCR/CD3 receptor and exhibit specific antitumor capacities, *Oncolmunology*, 6:3, DOI: 10.1080/2162402X.2017.1283460
- 33) 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>
- 34) 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
- 35) 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>
- 36) 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.
- 37) 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. Güvenlik ve performans özeti

Güvenlik ve performans özeti <https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home> adresindeki Eudamed veritabanında mevcut olacaktır. O zamana kadar güvenlik ve performans özeti talep üzerine temin edilebilir.

17. Üçüncü Taraf Ticari Markaların Kullanımı

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

18. Revizyon Geçmiři

Versiyon 5, ED7736_IFU_v5

13. bölümün daha kesin açıklaması. Beklenen değerler - Referans Aralığı.

19. Üretici

EXBIO Praha, a.s.

Nad Safinou II 341

25250 Vestec

Çek Cumhuriyeti

İletişim Bilgileri

info@exbio.cz

technical@exbio.cz

orders@exbio.cz

www.exbio.cz

20. Yetkili Temsilciler

N/A

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