

exbio

KOMBITEST T Cell 4-color
50 testów | Nr kat. ED7734















Instrukcja użycia (PL)

Wersja: ED7734_IFU_v1_PL

Data wydania: 13.12.2022 r.

Symbole stosowane w oznakowaniu urządzeń

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

1. Przeznaczenie

KOMBITEST T Cell 4-color jest przeznaczony do wykrywania i zliczania populacji i podzbiorów limfocytów w ludzkiej krwi pełnej za pomocą cytometrii przepływowej.

Co jest wykrywane i/lub mierzone

KOMBITEST T Cell 4-color wykrywa i mierzy względne wartości procentowe i bezwzględne liczby ludzkich limfocytów T (CD3+), pomocniczych/indukujących (CD3+CD4+) i supresorowych/cytotoksycznych (CD3+CD8+) podzbiorów limfocytów T.

Funkcja urządzenia

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

Kontekst stanu fizjologicznego lub patologicznego

Mierzone częstotliwości populacji limfocytów mogą być uzależnione od różnych stanów patologicznych, a ocena ich odsetka i liczby może być wykorzystana do oceny:

- progresji zakażenia ludzkim wirusem upośledzenia odporności (HIV) ^(1, 4, 6, 8)
- dziedzicznych niedoborów odporności ^(2, 3, 4, 10, 11, 12, 14)
- chorób autoimmunologicznych ⁽⁵⁾

Rodzaj testu

Nie zautomatyzowany

Ilościowy

Wymagany rodzaj próbki

Próbka ludzkiej pełnej krwi obwodowej z antykoagulantem

Populacja testowa

Nie jest przeznaczony dla określonej populacji.

2. Użytkownik

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

Wymagania dotyczące kwalifikacji

Docelowy użytkownik powinien posiadać najnowszą wiedzę specjalistyczną w zakresie analizy cytometrii przepływowej komórek ludzkich, standardowych technik laboratoryjnych, w tym umiejętności pipetowania oraz bezpiecznego i właściwego obchodzenia się z próbkami pobranymi z organizmu ludzkiego.

Docelowy użytkownik musi przestrzegać normy EN ISO 15189 lub innych norm

krajowych jeśli takowe istnieją.

3. Zasada testu

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

4. Dostarczone odczynniki

Zawartość

KOMBITEST T Cell 4-color wystarcza na 50 testów i jest dostarczany z następującym odczynnikiem:

1 fiolka (1 ml) zawierająca wstępnie zmieszana kombinację znakowanych fluorochromem przeciwciał monoklonalnych CD3 FITC / CD45 PerCP / CD4 APC / CD8 PE, rozcieńczonych do optymalnych stężeń w stabilizującym roztworze soli fizjologicznej buforowanej fosforanami (PBS) zawierającym azydek sodu 15 mM.

Skład

Tabela 1 Opis składników aktywnych

Antygen	Fluorochrom	Klon	Izotyp	Stężenie (µg/ml)
CD3	FITC	TB3	IgG2b	2
CD4	APC	MEM-241	IgG1	1.5
CD8	PE	LT8	IgG1	0.6
CD45	PerCP	MEM-28	IgG1	5

5. Materiały wymagane, nie będące w zestawie

Probówki okrągłodenne (12 x 75 mm)

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

Woda dejonizowana (do odczynników)

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

6. Wymagany osprzęt

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

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

Mieszadło wirowe

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

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

Tabela 2 Charakterystyka widmowa fluorochromów zastosowanych w urządzeniu

Fluorochrom	Wzbudzenie [nm]	Emisja [nm]
FITC	488	525
PE	488	576
PerCP	488	677
APC	630 – 640	660

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

7. Przechowywanie

Przechowywać w temperaturze 2–8°C.

Unikać długotrwałej ekspozycji na światło.

Nie zamrażać.

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

8. Ostrzeżenia, środki ostrożności i ograniczenia użytkowania

Klasyfikacja zagrożeń GHS

Zapoznaj się z kartą charakterystyki (SDS) dostępną na stronie produktu pod adresem www.exbio.cz, aby uzyskać pełne informacje na temat zagrożeń

stwarzanych przez substancje chemiczne i mieszaniny zawarte w produkcie oraz jak należy się z nimi obchodzić i jak je utylizować.

Zagrożenie biologiczne

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

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

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

Oznaki pogorszenia jakości

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

Ograniczenie użytkowania

Nie stosować po upływie daty ważności podanej na etykiecie produktu.

9. Próbka

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

UWAGA: określić bezwzględną liczbę krwinek białych i liczbę limfocytów w pobranej próbce krwi za pomocą analizatora hematologicznego. Sam KOMBITEST T Cell 4-color nie zapewnia zliczenia bezwzględnej liczby komórek.

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

Próbkę krwi należy poddać obróbce nie później niż 24 godziny po pobraniu.

10. Procedura

Przygotowanie dostarczonych odczynników

Przygotowanie odczynnika nie jest konieczne.

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

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

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

UWAGA: nie rozcieńczać odczynnika.

Przygotowanie wymaganych, a nie zawartych w zestawie materiałów

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

Kontrola jakości

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

Zabarwić krew kontrolną za pomocą odczynnika KOMBITEST T Cell 4-color zgodnie z przetwarzaniem próbki w sposób określony w instrukcji obsługi. Sprawdzić, czy uzyskane wyniki (% komórek dodatnich) mieszczą się w oczekiwanym zakresie podanym dla używanej serii komórek kontrolnych.

Barwienie próbek

1. Dla każdej próbki oznaczyć okrągłodenną probówkę o wymiarach 12 × 75 mm odpowiednią identyfikacją próbki.
2. Wprowadzić za pomocą pipety 20 µl odczynnika KOMBITEST T Cell 4-color na dno próbki o wymiarach 12 x 75 mm.
3. Nanieść za pomocą pipety 50 µl dobrze wymieszanej próbki krwi na dno próbki.

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

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

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

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

Analiza metodą cytometrii przepływowej

Cytometr przepływowy dobrany do współpracy z KOMBITEST T Cell 4-color należy rutynowo kalibrować przy użyciu mikrokulek fluorescencyjnych, aby zapewnić stabilną czułość detektorów zgodnie z instrukcjami producenta cytometru.

W przypadku nieprawidłowej konserwacji cytometr przepływowy może dawać fałszywe wyniki.

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

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

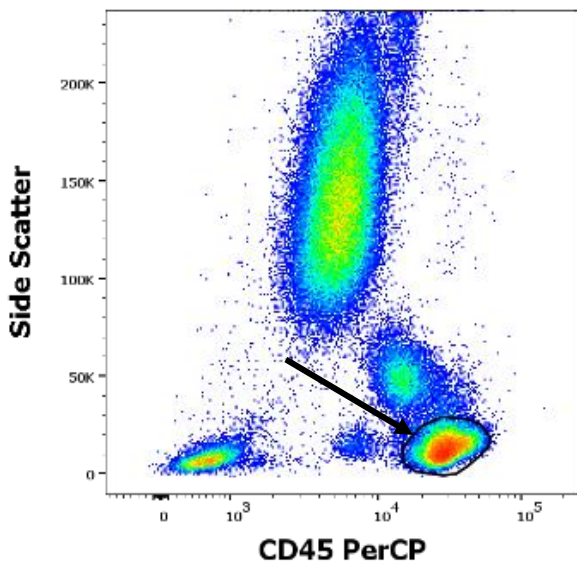
Kompensacja sygnałów fluorescencji między detektorami przed lub po akwizycji danych. Dane mogą być nieprawidłowo interpretowane, jeśli sygnały fluorescencyjne są niewłaściwie kompensowane lub jeśli bramki są ustawione niedokładnie.

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

Analiza danych barwionej próbki KOMBITEST T Cell 4-color

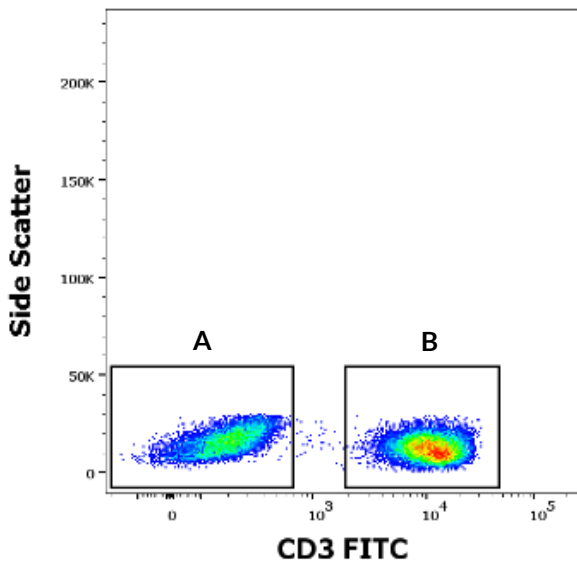
Zwizualizować skompensowane dane na wykresie rozproszenia bocznego (SSC) w porównaniu z CD45 PerCP. Ustawić bramkę dla populacji limfocytów CD45+, jak pokazano na rysunku 1.

Rysunek 1 Określenie populacji limfocytów CD45+



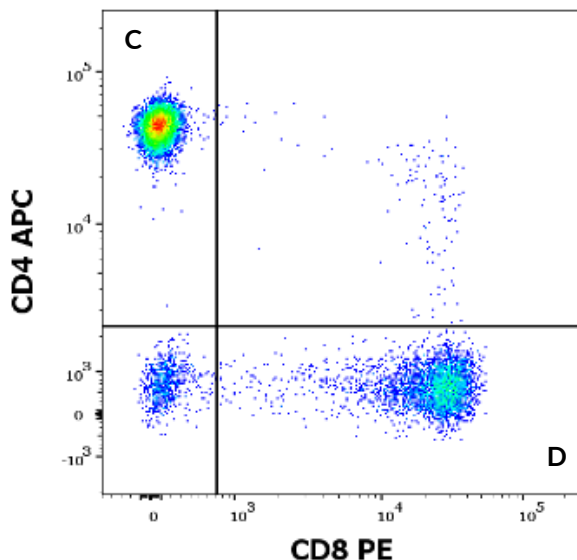
Wykreślić bramkowane limfocyty CD45+ na wykresie rozproszenia bocznego (SSC) względem CD3 FITC, jak pokazano na rysunku 2. Oddzielić limfocyty CD3+ i CD3- za pomocą odpowiednich bramek. Obliczyć procent limfocytów T (CD3+; region B na rysunku 2) ze wszystkich limfocytów.

Rysunek 2 Separacja limfocytów CD3+ i CD3-



Nakreślić bramkowane limfocyty T (CD3+; region B na rysunku 2) jako CD4 APC w porównaniu z CD8 PE, jak pokazano na rysunku 3. Ustawić odpowiednie bramki i obliczyć procent limfocytów T pomocniczych/indukujących (CD4+CD8-; region C na rysunku 3) i supresorowych/cytotoksycznych limfocytów T (CD4-CD8+; region D na rysunku 3) ze wszystkich limfocytów.

Rysunek 3 Limfocyty CD3+ na wykresie punktowym CD4 APC vs. CD8 PE



Obliczanie i interpretacja wyników analiz

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

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

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

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

11. Wydajność analityczna

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

Specyficzność

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

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

Przeciwciało LT8 rozpoznaje ludzki antygen CD8 (dimer połączony mostkiem dwusiarczkowym wyrażany jako dwa homodimery łańcucha alfa CD8 lub heterodimery łańcucha alfa/beta CD8). Specyficzność przeciwciała została potwierdzona przez warsztaty HLDA (warsztaty HLDA V ⁽¹³⁾ i warsztaty HLDA VII ⁽⁷⁾).

Przeciwciało MEM-28 rozpoznaje wszystkie izoformy leukocytów ludzkiego CD45 (receptor białkowej fosfatazy tyrozynowej typu C). Swoistość przeciwciała została potwierdzona przez warsztaty HLDA (warsztaty HLDA III ⁽⁹⁾).

Dokładność

Dokładność metody określono porównując KOMBITEST T Cell 4-color z podobnymi produktami dostępnymi na rynku lub innymi dobrze udokumentowanymi metodami poprzez równoległe barwienie 44 zdrowych dawców i 104 pacjentów podejrzanych o stan patologiczny układu odpornościowego. Parametry analizy regresji liniowej przedstawiono w tabelach 3 i 4.

Tabela 3 Analiza regresji liniowej dla podzbiorów limfocytów u zdrowych dawców (porównanie KOMBITEST T Cell 4-color z produktem IVD BD Multitest™ CD3/CD8/CD45/CD4 (nr kat. 342417))

Podzbiór limfocytów	Jednostka	n	Nachylenie	Przechwyty	R ²	Zakres
CD3+	%	44	1,00	-0,005	0,97	49,80-84,67
	komórek/ μ l	44	0,99	9,320	0,99	620-2187
CD3+CD8+	%	44	1,02	0,004	0,98	10,37-45,57
	komórek/ μ l	44	1,01	-3,216	1,00	151-1048
CD3+CD4+	%	44	1,04	-0,018	0,97	26,43-60,30
	komórek/ μ l	44	0,99	-1,259	0,98	337-1633

n = liczba próbek krwi

Tabela 4 Analiza regresji liniowej dla podzbiorów limfocytów u pacjentów z podejrzeniem stanów patologicznych układu odpornościowego (porównanie KOMBITEST T Cell 4-color za pomocą systemu do cytometrii przepływowego AQUIOS CL – Beckman Coulter. Inc. i metodą wewnętrzną akredytowanego laboratorium klinicznego – koktajl skoniugowanych jednokolorowych przeciwciał różnych producentów i analiza na BD FACSCanto™ II)

Podzbiór limfocytów	Jednostka	n	Nachylenie	Przechwyty	R ²	Zakres
CD3+	%	104	1,040	-2,593	0,98	23,0-93,5
	komórek/ μ l	104	1,040	-0,067	0,96	362-5161
CD3+CD8+	%	104	1,045	-1,355	0,99	9,0-80,7
	komórek/ μ l	104	1,094	-0,067	0,95	152-3732
CD3+CD4+	%	104	0,985	0,029	0,99	1,4-67,0
	komórek/ μ l	104	0,980	-0,004	0,99	8-2818

Liniowość

Liniowość metody zweryfikowano na 10 seryjnych rozcieńczeniach próbki krwi wzbogaconej w leukocyty (kożuszek leukocyтары). Próbki komórek barwiono za pomocą KOMBITEST T Cell 4-color w heksaplikacjach. Próbki analizowano przy użyciu cytometru przepływowego BD FACSCanto™ II i cytometru przepływowego Beckman Coulter DxFLEX. Zaobserwowano, że zmierzone dane dla wskazanych podzbiorów limfocytów były liniowe w zakresie limfocytów 40-10546 komórek/ μ l przy użyciu BD FACSCanto™ II i 15-10519 komórek/ μ l przy użyciu Beckman Coulter DxFLEX. Podzbiory komórek mieściły się w zakresach podanych w tabelach 5 i 6.

Tabela 5 Liniowe zakresy podzbiorów limfocytów analizowane przez BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II	
Podzbiór limfocytów	Zakres (komórki/ μ l)
CD3+	31–7302
CD3+CD8+	9–2182
CD3+CD4+	17–4080

Tabela 6 Liniowe zakresy podzbiorów limfocytów analizowane przez Beckman Coulter DxFLEx

Beckman Coulter DxFLEx	
Podzbiór limfocytów	Zakres (komórki/ μ l)
CD3+	10–7268
CD3+CD8+	3–2297
CD3+CD4+	6–3940

Powtarzalność

Powtarzalność testu mierzono na dziesięciu próbkach krwi w heksaplikacjach. Próbki analizowano przy użyciu cytometru przepływowego BD FACSCanto™ II i cytometru przepływowego Beckman Coulter DxFLEx. Współczynniki zmienności (CV) przedstawiono w poniższych tabelach (tabela 7 i 8).

Tabela 7 Powtarzalność urządzenia na BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II					
Podzbiór limfocytów	Jednostka	n	Średnio	SD	%CV
CD3+	%	10	69,27	0,34	0,51
	komórek/ μ l	10	1408	7,30	0,51
CD3+CD8+	%	10	22,40	0,23	1,16
	komórek/ μ l	10	449	4,70	1,16
CD3+CD4+	%	10	42,21	0,28	0,68
	komórek/ μ l	10	864	6,04	0,68

Tabela 8 Powtarzalność urządzenia na Beckman Coulter DxFLEX

Beckman Coulter DxFLEX					
Podzbiór limfocytów	Jednostka	n	Średnio	SD	%CV
CD3+	%	10	68,26	0,43	0,67
	komórek/ μ l	10	1389	10,12	0,67
CD3+CD8+	%	10	22,61	0,23	1,15
	komórek/ μ l	10	454	4,62	1,15
CD3+CD4+	%	10	41,04	0,45	1,09
	komórek/ μ l	10	842	10,09	1,09

Odtwarzalność

Odtwarzalność testu mierzono na 2 ustabilizowanych próbkach krwi (CD-Chex Plus® i CD-Chex Plus® CD4 Low) w tych samych warunkach przez 15 dni przy użyciu 3 partii Urządzenia (5 dni każda). Próbki analizowano przy użyciu cytometru przepływowego BD FACSCanto™ II i cytometru przepływowego Beckman Coulter DxFLEX. Współczynniki zmienności (CV) podano w poniższych tabelach (tabela 9 i 10).

Tabela 9 Odtwarzalność urządzenia na BD FACSCanto™ II

Podzbiór limfocytów	Materiał	Jednostka	Średnio	SD	%CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	76,60	0,35	0,45
		komórek/ μ l	1888	8,55	0,45
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	60,07	0,40	0,67
		komórek/ μ l	872	5,82	0,67
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	23,68	0,24	1,03
		komórek/ μ l	584	5,99	1,03
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	42,19	0,28	0,67
		komórek/ μ l	612	4,09	0,67
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	48,99	0,37	0,75
		komórek/ μ l	1209	9,05	0,75
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12,77	0,26	2,03
		komórek/ μ l	185	3,76	2,03

Tabela 10 Odtwarzalność urządzenia na Beckman Coulter DxFLEx

Podzbiór limfocytów	Materiał	Jednostka	Średnio	SD	%CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	76,67	0,44	0,58
		komórek/ μ l	1891	10,9	0,58
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	60,36	0,39	0,64
		komórek/ μ l	876	5,63	0,64
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	23,79	0,32	1,34
		komórek/ μ l	567	7,85	1,34
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	42,91	0,36	0,84
		komórek/ μ l	623	5,21	0,84
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	48,70	0,40	0,83
		komórek/ μ l	1201	9,95	0,83
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12,59	0,21	1,65
		komórek/ μ l	183	3,02	1,65

12. Wydajność kliniczna

Pacjenci z nabytym niedoborem odporności

Dane kliniczne zebrano w ośrodku klinicznym od 53 pacjentów z potwierdzonym zakażeniem ludzkim wirusem upośledzenia odporności (HIV). Kliniczne działanie urządzenia określono na podstawie porównania urządzenia KOMBITEST T Cell 4-color z roztworem do lizy erytrocytów EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., nr kat. ED7066) z metodą wewnętrzną akredytowanego laboratorium klinicznego (koktajl skoniugowanych jednokolorowych przeciwciał różnych producentów i analiza na BD FACSCanto™ II).

Wyniki oceny statusu immunologicznego pacjentów oceniano pod kątem niedoboru odporności (tabela 11).

Tabela 11 Wydajność kliniczna urządzenia KOMBITEST T Cell 4-color – pacjenci z HIV

		Stan odporności oceniany metodą wewnętrzną akredytowanego laboratorium klinicznego	
		Niedobór odporności	Normalna kondycja
Stan odporności oceniany aparatem ED7734 KOMBITEST T Cell 4-color	Niedobór odporności	28 z 29 pacjentów*	0 pacjentów
	Normalna kondycja	0 pacjentów	24 pacjentów

* Urządzenie ED7734 KOMBITEST T Cell 4-color nie wybarwiło antygeny CD3 na limfocytach T u jednego (1) pacjenta z HIV w stanie krytycznym.

13. Oczekiwane wartości

Interwał odniesienia

Przedziały referencyjne dla urządzenia KOMBITEST T Cell 4-color określono w kohorcie osób przy użyciu roztworu do lizy erytrocytów EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., nr kat. ED7066) i cytometru przepływowego BD FACSLyric™. Badani byli zdrowymi, normalnymi dorosłymi (dawcami krwi).

Tabela 12 Reprezentatywne przedziały referencyjne dla KOMBITEST T Cell 4-color

Podzbiór limfocytów	Jednostka	n	Średnia	95% zakresu
CD3+	%	44	70,08	52,47–87,69
	komórek/ μ l	44	1366	616 – 2117
CD3+CD8+	%	44	23,34	7,38 – 39,30
	komórek/ μ l	44	464	18 – 910
CD3+CD4+	%	44	42,57	23,55 – 61,58
	komórek/ μ l	44	820	333 - 1306

UWAGA: wartości podane przy użyciu urządzenia mają charakter wyłącznie reprezentatywny. Każde laboratorium musi ustalić własne przedziały referencyjne na podstawie lokalnej populacji zdrowych dawców.

14. Substancje zakłócające i ograniczenia

Urządzenie KOMBITEST T Cell 4-color nie zostało zatwierdzone do użytku w próbkach pobranych z heparyną lub antykoagulantami kwaśnego cytrynianu dekstrozy (ACD) do oznaczania zliczeń względnych i bezwzględnych.

Urządzenie KOMBITEST T Cell 4-color nie jest przeznaczone do badań przesiewowych i/lub fenotypowania próbek białaczki i chłoniaka.

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

15. Bibliografia

- 1) Bensussan. A et al. Significant enlargement of a specific subset of CD3+CD8+ peripheral blood leukocytes mediating cytotoxic T-lymphocyte activity during human immunodeficiency virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993 15;90(20):9427-30. doi: 10.1073/pnas.90.20.9427.
- 2) Boldt. A et al. Eight-color immunophenotyping of T-, B-, and NK-cell subpopulations for characterization of chronic immunodeficiencies. *Cytometry B Clin Cytom* 2014 May;86(3):191-206. doi:10.1002/cyto.b.21162.
- 3) de Saint Basile. G et al. Severe combined immunodeficiency caused by deficiency in either the delta or the epsilon subunit of CD3. *J Clin Invest.* 2004 Nov;114(10):1512-7. doi: 10.1172/JCI22588.
- 4) Giorgi. J V. Characterization of T lymphocyte subset alterations by flow cytometry in HIV disease. *Ann N Y Acad Sci.* 1993 Mar 20;677:417-9. doi: 10.1111/j.1749-6632.1993.tb38803.x.
- 5) Iwatani. Y et al. Decreases in alpha beta T cell receptor negative T cells and CD8 cells. and an increase in CD4+ CD8+ cells in active Hashimoto's disease and subacute thyroiditis. *Clin Exp Immunol.* 1992 Mar;87(3):444-9. doi: 10.1111/j.1365-2249.1992.tb03017.x.
- 6) 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
- 7) 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.*
- 8) 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.
- 9) McMichael AJ. ed. *Leucocyte Typing III: 54 White Cell Differentiation Antigens.* New York. NY: Oxford University Press; 1987.
- 10) 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.

- 11) 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.
- 12) 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.
- 13) Schlossman SF. Boumsell L. Gilks W. et al. eds.: Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens. New York. NY: Oxford University Press; 1995.
- 14) 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.

16. Znaki towarowe

BD FACSCanto™ II, BD FACSLyric™, BD Multitest™ i FlowJo™ są zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Becton, Dickinson and Company, CD-Chex Plus® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Streck, Sysmex™ jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Sysmex Corporation, VenturiOne® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Applied Cytometry, Infinicyt™ jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Cytognos S.L.

17. Historia zmian

Wersja 1. ED7734_IFU_v1

Pierwsze wydanie

18. Producent

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

Dane kontaktowe

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

www.exbio.cz

19. Upoważnieni przedstawiciele

N/A

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