



Accellix CD64 Gebruiksaanwijzingen patroon

SPC-015 Accellix CD64 Gebruiksaanwijzingen: CE-markering Versie 3.0

Versie opgesteld op 23 Mei 2016

Inhoudsopgave

Beoogd gebruik:	2
Inleiding:.....	2
Testprincipe:.....	3
Inhoud van de verpakking en opslag:.....	4
Opslag:.....	4
Houdbaarheidsperiode:	4
Beschrijving van het patroon:	5
Speciale uitrusting vereist:	5
Monster:	5
Voorzorgsmaatregelen en waarschuwingen:	6
Potentieel gevaarlijke reagensonderdelen:	6
Testprocedure:	7
Resultaten: Principe van de methode & wiskundige benadering.....	9
Kwaliteitscontrole & aanvaardbaarheid van de resultaten:.....	9
Beperkingen:	10
Prestatiekenmerken:	10
Foutmeldingen:	12
Verwijdering:	14
Referenties:.....	14
Index van de symbolen:	16
Klantenondersteuning:	16

Beoogd gebruik:



Het Accellix-CD64-systeem is bedoeld voor gebruik bij het meten van de expressie van leukocyten neutrofiel CD64 en voor gebruik in combinatie met andere laboratoriummaterialen en klinische testen om te helpen in de in-vitrodiagnose van infectie bij IC patiënten.

Inleiding:



Het Accellix-platform is een diagnostisch systeem *in-vitrodiagnostiek*. Het bestaat uit een tafelinstrument en een wegwerpbaar Accellix-CD64-patroon. Het instrument maakt de volledige automatisering van een proces van 3 stappen mogelijk: biochemische monstervoorbereiding (*d.w.z.* de test), lezing van de flowcytometrie en de analytische gegevensverwerking. De volledige test wordt binnen 26 minuten verwerkt en heeft geen setup of aanpassing van de gebruiker nodig. Het bloedmonster van de patiënt wordt door de gebruiker in het testpatroon geladen (capillair laden) en het patroon wordt vervolgens in het instrument geplaatst. Dan zorgt het instrument voor de monstervoorbereiding in het patroon.

Testprincipe:

CD64 is een FCγRI-receptor met hoge affiniteit. Het wordt constitutief uitgedrukt in monocytten, maar de uitdrukking in gezonde neutrofielen is zeer laag (<1000 moleculen/cel). De toename van de uitdrukking van neutrofielen CD64 is een van de snelste tekens van een bacteriële infectieontsteking, uitgedrukt in cellen binnen 4-6 u. Dezelfde verandering wordt waargenomen als reactie op een gedocumenteerde infectie of weefselletsel. Bijgevolg wordt de meting van de expressie van neutrofielen CD64 geacht te correleren met de aanwezigheid van ontstekingen, infecties of weefselletsels.

Het Accellix-CD64-patroon gebruikt een mengsel van vier monoklonale antilichamen met specificiteiten voor CD64, CD45, CD163 en CD15. Het gebruik van twee antilichamen tegen verschillende epitopen van CD64 verhoogt de signaal-ruisverhouding van de test en zorgt voor een mechanisme voor het minimaliseren van de variatie per lot in het fluorescentiesignaal van de reagens. Het antilichaam tegen CD45 bekleedt al het WBC; anti-CD163 en CD15 worden gebruikt voor identificatie van, respectievelijk, monocytten en neutrofielen. Monocytten drukken CD64 constitutief uit en lymfocytten drukken geen CD64 uit. Dus wordt de CD45^{dim}CD15⁺-bevolking geïdentificeerd als neutrofielen, d.w.z. de testbevolking; de CD45⁺CD163⁺ wordt geïdentificeerd als monocytten, die gebruikt worden als intrinsieke positieve controle; en de enkel-CD45⁺-bevolking (lymfocytten) wordt gebruikt als negatieve controle. De Dragon Green (DG)-kralen onderscheiden zich van celpopulaties als DG⁺CD45⁻. Ze worden gebruikt als intrinsieke standaard. Het gebruik van geautomatiseerde software elimineert de variatie die inherent is aan standaardanalyse van de flowcytometrie van de patiënt.

Het gebruik van een fluorescentiekraalsuspensie voor de normalisering van de cellulaire CD64-bepaling zorgt voor een mechanisme voor de minimalisering van verschillen per lot in Accellix-CD64-patronen. De resultaten van de Accellix-CD64-patroontest

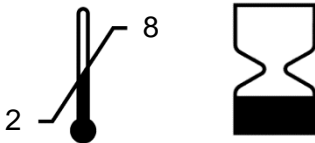
worden gerapporteerd als een PMN CD64-index die correleert met het niveau van neutrofielenactivering met betrekking tot de controlekralen.

Inhoud van de verpakking en opslag:

Wegwerppatronen met blazen die zijn geladen met reagentia:

- Blaas A bevat een mengsel van fluorescent gelabelde monoklonale antilichamen van een muis tegen menselijk CD64, CD45, CD163, en CD15 in de eigen buffer, met daarin 0,255 % runderserumalbumine (BSA) en 0,01 % natriumazide.
- Blaas C bevat controlefluorescentiekralen in de eigen buffer met daarin 0,01% natriumazide en 0,01 % Tween 20.

Opslag:

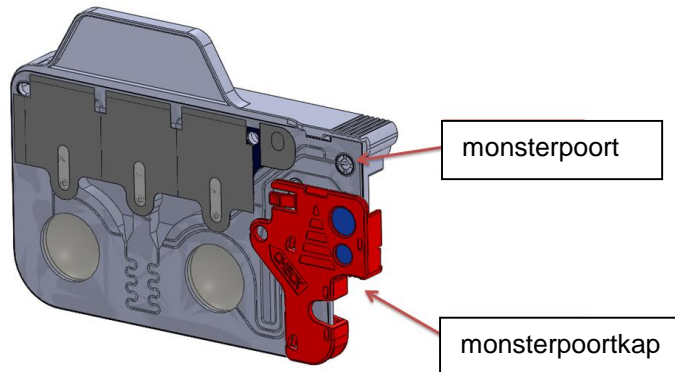


- Bewaar de patronen rechtop bij een temperatuur van 2-8 °C, als ze niet in gebruik zijn.
- Ongeopende patronen zijn stabiel tot de aangegeven vervaldatum.
- Bescherm het patroon tegen vorst, temperaturen boven 30 °C en een langdurige blootstelling aan kamertemperatuur (18-26 °C). Aanbevolen opslagtemperatuur is 2-8 °C.

Houdbaarheidsperiode:

- De houdbaarheidsperiode van het patroon is 1 jaar bij bewaring bij 4°C. De vervaldatum wordt aangegeven op het patroon.

Beschrijving van het patroon:



Door het wegwerpatroon Accellix-CD64 kan het geteste monsters biochemisch worden verwerkt en overgedragen naar de leesbak voor het aflezen van de flowcytometrie. Het patroon is testspecifiek aangezien het in staat is om een enkele test uit te voeren die wordt gedefinieerd door de samenstellingen, volumes en activeringsparameters van de reagens die in de software zijn bepaald. Alle reagentia zijn gedurende de volledige test zelfstandig binnen het patroon. Het patroon bevat een monsterpoort, een monsterpoortkap en een rug met de reagentia en een leesbak.

Speciale uitrusting vereist:

Gebruik een bloedbehandelingsuitrusting die een veilige en betrouwbare levering van een monster van 30 tot 50 μ l EDTA antigeoaguleerd volbloed (pipet, capillair, bloeddruppelaar).

Monster:

Het Accellix-CD64-patroon vereist 30 tot 50 μ l (maximum) EDTA antigeoaguleerd volbloed. Monsters blijven aanvaardbaar als ze gedurende max. 6 uur in een EDTA antigeoaguleerd flesje bij kamertemperatuur (18-22 °C) worden bewaard. Koude opslag van de bloedmonsters wordt niet aanbevolen.

Voorzorgsmaatregelen en waarschuwingen:

- Breng het pipet nooit naar de mond en vermijd contact met de huid en de slijmvliezen.
- Het Accellix-CD64-patroon mag enkel met het Accellix-leesinstrument worden gebruikt.
- Gebruik een patroon nooit als het patroon zelf of de verpakking is beschadigd.
- Gebruik geen vervallen patroon. De vervaldatum bevindt zich op het patroonetiket.
- Probeer een patroon niet opnieuw te gebruiken.
- Prik de reagensblazen van het patroon nooit lek.
- Hanteer het patroon met de aangewezen handgreep of vanaf de buitenste perimetermuur
- Open de deur van het instrument nooit tijdens de test aangezien het openen van de deur de test zal afbreken en het patroon dat niet meer kan worden gebruikt
- Monsters, gebruikte patronen en alle materialen die in contact komen met de monsters moeten worden beschouwd als potentieel besmettelijk en moeten volgens de geschikte voorzorgsmaatregelen voor biologisch gevaarlijk afval worden verwijderd.

Potentieel gevaarlijke reagensonderdelen:

De reagensblaas bevat natriumazide (<0,1 % w/ v). Dit is een gevaarlijke chemische verbinding in combinatie met zuren en metalen. Behandel het met de juiste zorg. Oplossingen met natriumazide moeten geschikt worden verwijderd.

Testprocedure:

1. Zet het Accellix-instrument aan volgens de gebruikershandleiding van het Accellix-instrument. Druk op de startknop op het touchscreen.

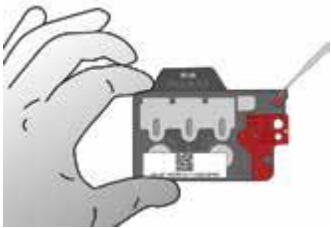


2. Voer het ID van de patiënt in.

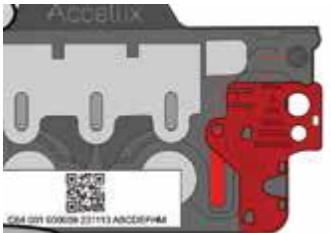


3. Neem een nieuw patroon uit de koude opslag en wacht 10 minuten. Als het patroon is beschadigd, moet u dit weggooien en een nieuw gebruiken. Leg het plat op het werkblad.

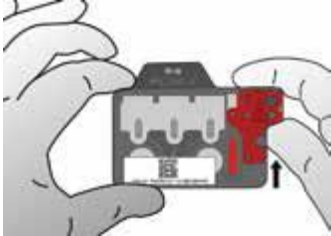
4. Plaats een druppel bloed in de monsterpoort van het patroon.



5. Controleer of het bloed het checkpoint op de kap heeft bereikt.



6. Sluit de patroonkap en verzeker dat er een kliksluiting hoorbaar is. Gebruik het patroon binnen 2 minuten na de toevoeging van het bloed.



7. Plaats het patroon in het instrument.



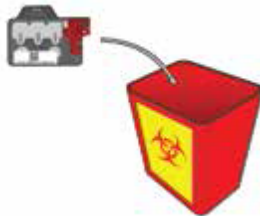
8. Sluit de deur van het apparaat.



9. Wacht 30 minuten terwijl het instrument de test uitvoert. Het resultaat wordt op het scherm weergegeven.



10. Verwijder het patroon en gooi het als biologisch gevaarlijk afval weg.



Resultaten: Principe van de methode & wiskundige benadering

De resultaten van de Accellix-CD64-patroontest worden gerapporteerd als een PMN CD64-activeringsindex die overeenstemt met het niveau van neutrofielen CD64 op basis van fluorsecentie met betrekking tot het fluorescentieniveau van controlekralen.

De waarde wordt berekend als de verhouding van de mediaan van de fluorescentie-intensiteit van de gedetecteerde PMN tot de mediaan van de fluorescentie-intensiteit van de gedetecteerde controlekralen.

$$\text{CD64 PMN-index} = \frac{\text{Mediaan van de fluorescentie-intensiteit van de gedetecteerde PMN}}{\text{Mediaan van de fluorescentie-intensiteit van de gedetecteerde controlekralen}} * \text{Lotcorrectiefactor}$$

Het referentieberek van de PMN CD64-index voor gezonde normale bloedmonsters wordt geanticipeerd op ≤ 1.00 met 95 % zekerheid.

Studies hebben aangetoond dat hoe ernstiger de systemische acute ontstekingsreactie is, hoe hoger de waarde van de PMN CD64-index zal zijn.

De verwachte referentiebereiken voor de monocyt en lymfocyt CD64-indexen zijn niet vastgesteld en worden niet aan de gebruiker bezorgd als resultaten voor deze test.

Kwaliteitscontrole & aanvaardbaarheid van de resultaten:

De test gebruikt autologe celpopulaties binnen het monster van de patiënt voor zowel positieve als negatieve controles waardoor de beoordeling van preanalytische variabelen wordt geoptimaliseerd. De enkel-CD45+-lymfocyt populatie dient als populatie voor een negatieve controle en verzekert de toevoeging van de juiste reagentia en kan de aanwezigheid van fluorescente substanties binnen het

diagnostische monster detecteren. De CD45⁺CD163⁺-monocytpopulatie dient als een positieve controle voor de verzekering van de juiste monsterkleuring met reagentia van Blaas A. Criteria voor slagen/mislukken worden door de software bepaald. De interne testcontroles (inbegrepen voor instrumenttjing en normalisering van de cellulaire CD64-bepaling) en de gegevenscontrolers controleren dus de gegevensintegriteit en de analytische prestaties per test.

Beperkingen:

- Therapeutisch gebruik van interferongamma, G-CSF, of andere middelen die de aangeboren immuunreactie moduleren, is bekend om de up-regulatie van leukocyten CD64 expressie te beïnvloeden en dus zal het de interpretatie van de test beïnvloeden. **De Accellix-CD64-patroonresultaten mogen niet worden gebruikt als enige meting van ontsteking bij deze patiënten, maar kunnen worden gebruikt om het effect van dergelijke behandelingen te controleren.**
- Monsters van ernstig leukopenisch of neutropenisch bloed kunnen niet door de Accellix-software worden geanalyseerd zonder aanzienlijke vermindering van de nauwkeurigheid en precisie van de PMN CD64-index omwille van het laag aantal te meten celtypes. Als het aantal gedetecteerde gebeurtenissen te laag is, zal het instrument geen resultaat geven.

Prestatiekenmerken:

Normaal bereik

Het normale bereik werd vastgelegd voor de predikaatstest Leuko64 die is ontwikkeld door Trillium Diagnostics (Maine, Verenigde Staten)[1, 4]. De CD64-index werd geijkt zodat een gezond individu een waarschijnlijkheid van 95 % heeft om een CD64-index onder 1 te hebben.

LOD (detectielimiet)

Voor de berekening van de **detectielimiet (LOD)** werden het gemiddelde en de standaardafwijking (SD) van gezonde PMN CD64-indexen berekend. De LOD werd berekend als $LOD = LOB + 1.645 \times SD_{gezonde\ PMN-index}$

Volgens deze methode is de **detectielimiet (LOD)** van Accellix CD64-index gelijk aan 0,48.

LOB (leegtelimiet)

Voor de berekening van de **leegtelimiet (LOB)** werden het gemiddelde en de standaardafwijking (SD) van lymfocyten CD64-indexen berekend. De LOB werd berekend als $LOB = gemiddelde_{Lymindex} + 1.645 \times SD_{T-celindex}$

Volgens deze methode is de **leegtelimiet (LOB)** van Accellix CD64-index gelijk aan 0,27.

Methodevergelijking

De Accellix CD64-test werd vergeleken met twee verschillende loten van de prototype Leuko64-test (Trillium Diagnostics). De PMN-indexen gemeten door de CD64-test waren in goede correlatie met de indexen gemeten door beide loten van de Leuko64-test ($R^2 > 0,9$ voor beide loten)

Wijzigingen in de analytische prestaties

Het systeem wordt geijkt zodat de controlekralen op het kanaal voor de test een fluorescentiewaarde van ongeveer 500 A/D hebben. De gegevensanalysesoftware omvat controlecriteria die controleren of de controlekraal MFI zich binnen de steefniveaus bevindt. Dit verzekert dat het systeem zorgt voor de onderschepping van afwijkingen die kunnen voorkomen bij de laserintensiteit, reactievermogen van de detector of uitlijning van het systeem.

Meetprecisie

Herhaalbaarheid: run-to-run-variabiliteit heeft een CV van 10 %

Reproduceerbaarheid: Machine-tot-machine-variabiliteit heeft een CV van 10%

Diagnostische prestaties

Een meta-analyse op CD64 [15] vatte de diagnostische specificiteit samen in een bereik van 70-86 % (mediaan 76 %), en de specificiteiten 85-95 % (mediaan 91 %).

Meetinterval

De prestatiekenmerken werden gevalideerd voor CD64-indexen van 0,48-19,2.

Foutmeldingen:

Foutmeldingen worden in twee groepen onderverdeeld:

1. **Groep 1-fouten**: Herstelbare fouten

Het systeem detecteert dat er een handeling is mislukt en het kan worden hersteld.

Voorbeelden van herstelbare fouten zijn:

- Het systeem werkt niet het patroon streepjescode te herkennen.
- De cartridge is verouderd.
- Analyse van het monster mislukt.

Specifieke instructies voor elk fouttype zijn voorzien op het scherm van het instrument.

2. **Groep 2-fouten**: Mogelijk herstelbare fouten die de zelfcontrole van het instrument vereisen

Het systeem detecteert dat een handeling is mislukt. Het uitvallen kan worden gerelateerd aan een hardwarefout.

- Zal het systeem een foutmelding geven over welke testvoorwaarde niet is vervuld en zal het de gebruiker vragen om een zelfcontrole uit te voeren.

Dit zelfcontroleprogramma is dezelfde geautomatiseerde procedure als de procedure die door het instrument automatisch wordt uitgevoerd bij inschakeling of volgens de planning elke 24 uur als het systeem niet een keer per dag wordt uitgeschakeld. Deze zelfcontroleprocedure controleert kritieke onderdelen (zoals lasers, detectoren, patroonaandrijfmotoren en communicatie tussen interne onderdelen.)

→ Na voltooiing van een succesvolle zelftest:

Het systeem keert terug naar het startscherm, zodat de gebruiker op de proef te herhalen door een andere patroon uit te voeren (met hetzelfde of een nieuw monster).

Het systeem kan nog steeds een foutmelding geven maar die kan betrekking hebben op een specifiek monster dan niet kan worden gemeten voor de betreffende test (Gelieve de gebruiksaanwijzingen voor het patroon voor de specifieke testen te raadplegen voor meer details over testbeperkingen en -interferenties zoals monstertypes en medische omstandigheden die tot mislukking van de test kunnen leiden).

→ Als de zelftest mislukt:

Zal een foutmelding informatie geven over welk onderdeel hiervoor verantwoordelijk is en zal ze de gebruiker vragen om contact op te nemen met de service.

Specifieke instructies voor elk fouttype zijn voorzien op het scherm van het instrument.

Verwijdering:













Monsters, gebruikte patronen en alle materialen die in contact komen met de monsters moeten worden beschouwd als potentieel besmettelijk en moeten volgens de geschikte voorzorgsmaatregelen voor biologisch gevaarlijk afval worden verwijderd, in overeenstemming de plaatselijke voorschriften.

Referenties:

1. Davis BH. Improved diagnostic approaches to infection/sepsis detection. *Expert Rev Mol Diag* 2005;5:193-207.
2. Schiff D, Rae J, et al. Increased phagocyte CD64 expression and improved Fc-receptor mediated phagocytosis following in vivo recombinant human interferon- γ treatment of normal human subjects. *Blood* 1997;90:2987-94.
3. Petroni KC, Shen L, Guyre PM. Modulation of human polymorphonuclear leukocyte IgG Fc receptors and Fc receptor-mediated functions by IFN-gamma and glucocorticoids. *J Immunol* 1988;140:3467-72.
4. Davis BH, Bigelow NC, et al. Neutrophil CD64 expression: potential diagnostic indicator of acute inflammation and therapeutic monitor of interferon- therapy. *Lab Hematol* 1995;1:3-12.
5. Guyre PM, Campbell AS, et al. Monocytes and polymorphonuclear neutrophils of patients with streptococcal pharyngitis express increased numbers of type I IgG Fc receptors. *J Clin Invest* 1990;86:1892-1.
6. Ng PC, Lam HS. Diagnostic markers for neonatal sepsis. *Curr Opin Pediatr* 2006;18:125-31.
7. Davis BH, Bigelow NC. Comparison of neutrophil CD64 expression, manual myeloid immaturity counts, and automated hematology analyzer flags as indicators of infection or sepsis. *Lab Hematol* 2005;11:137- 47.
8. Leino L, Sorvajarvi K, et al. Febrile infection changes the expression of IgG Fc receptors and complement receptors in human neutrophils in vivo. *Clin Exp Immunol* 1997;107:37-43.
9. Davis BH, Olsen S, et al. Neutrophil CD64 is an improved indicator of infection or sepsis in emergency room patients. *Arch Pathol Lab Med* 2006;130(5):654-61.
10. Van der Meer W, Pickkers P, et al. Hematological indices, inflammatory markers and neutrophil CD64 expression: comparative trends during experimental human endotoxemia. *J Endotoxin Res* 2007;13:94-100.

11. Grosej M, Ihan A, Derganc M. *Neutrophil and monocyte CD64 and CD163 expression in critically ill neonates and children with sepsis: comparison of fluorescence intensity and calculated Indexes. Mediators Inflamm* 2008; 2008:202646.
12. Bhandari V, Wang C, et al. *Hematologic profile of sepsis in neonates: neutrophil CD64 as a diagnostic marker. Pediatrics* 2008;121:129-134.
13. Hoffmann JJ. *Neutrophil CD64 as a sepsis biomarker. Biochemica Medica* 2011;21:282-90.
14. Icardi M, Erickson Y, Kilborn S, et al. *CD64 Index provides simple and predictive testing for detection and monitoring of sepsis and bacterial infection in hospital patients. J Clin Microbiol* 2009;47:3914-19.
15. Cid, J., et al. *Neutrophil CD64 expression as marker of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. J Infect.* 2010;60:313-9.

Index van de symbolen:

Symbol	Used for	Symbol	Used for
	Fabrikant		CE-markering
	EU-vertegenwoordiger		Niet Opnieuw Gebruiken
	Te Gebruiken Voor		Bovenste En Onderste Temperatuurlimieten
	Batchcode		Raadpleeg de Gebruiksaanwijzingen
	Medisch Apparaat Voor In-Vitrodiagnostiek		Biologische Risico's

Klantenondersteuning:

	<p>LeukoDx Ltd. 3 HaMarpe St., 3rd Floor, AVX Building Har Hotzvim, Jerusalem 9777403, Israël Tel: +972-2-674-4422 Fax: +972-2-674-4455 E-mail: office@leukodx.com</p>
---	--

	<p>Medpace Medical Device B.V. Maastrichterlaan 127-129 NL 6291 EN Vaals Tel: +31 43 306 3320 Fax: +31 43 306 3338</p>
---	--