

ADAMII™ - CD34 Kit

REF CD34K-025

- English
- German
- Italian
- Spanish
- French
- Portuguese

ADAMII™-CD34 Kit

Hematopoietic Stem Cell Counting System

REF CD34K-025

IVD For *in vitro* diagnostic use only

1. INTENDED USE

ADAMII™ CD34 System includes the ADAMII™-CD34 Kit which is designed for use with ADAMII™ instrument, a benchtop image-based fluorescence cell counter. ADAMII™ CD34 System provides enumeration of viable CD34+ cells, viable CD45+ cells, and calculates percentage of viable CD34+ cell out of viable CD45+ cells. ADAMII™ CD34 System can be used for mobilized peripheral blood (MPB) collected in Na-Heparin or EDTA, hematopoietic progenitor cell – apheresis (HPC-A) collected in ACD or ACD+ Heparin, fresh cord blood (FCB) collected in CPD, and thawed frozen cord blood (TFCB) collected in CPD and stored with 10% DMSO, 1% Dextran 40. ADAMII™ CD34 System is intended for use in clinical laboratories and for *in vitro* diagnostic use only. It is not intended for use in point-of-care settings.

2. SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST

Myeloablative and non-myeloablative allogeneic stem cell transplants are curative options for many patients with hematologic malignancy. The number of both autologous and allogeneic transplants has been steadily rising over the last two decades. Mobilized peripheral blood (MPB) stem cells and hematopoietic progenitor cell- apheresis (HPC-A) are used as a preferred source of stem cells for autologous and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.^{1,2} Umbilical cord blood (CB) has been an alternative

hematopoietic stem cell source, especially for patients without an appropriate marrow or mobilized peripheral blood donor.³

CD34 antigen, a single chain transmembrane glycoprotein expressed on primitive blood and bone marrow-derived progenitor cells, is a well-known marker for hematopoietic and endothelial progenitors.⁴ Accurate measurement of CD34+ cell number is very important in clinical practice as the hematopoietic transplantation protocols have specific dose requirements and the effect of mobilizing agents may be different in normal donors and cancer patients.^{5,6,7} Flow cytometric determination of CD34+ cells has rapidly become the tool of choice for quantitating circulating hematopoietic progenitors, for establishing their minimum number to ensure the engraftment and the optimal timing of apheresis.^{8,9,10}

Despite the reliability of flow cytometric assay, inter-laboratory variation has been reported with flow cytometric methods for determining the percentage and absolute numbers of CD34+ cells.¹¹ ADAMII™ CD34 Stem Cell Counting System provides an accurate and precise CD34+ cell counts, and ratios of CD34+ and CD45+ cells with rapid turnaround, and minimal input from an operator.¹² High degree of precision of ADAMII™ CD34 Stem Cell Counting System is due in part to simplified sample preparation steps, and elimination of washing steps which may cause cell loss and could be prone to human error. In addition, ADAMII™ CD34 Stem Cell Counting System uses a customized software which does not require post-measurement interpretation steps.

3. PRINCIPLE OF THE ASSAY

ADAMII™-CD34 assay starts with adding an appropriate volume of a sample to a test tube and mixing with reagent containing fluorescence-labeled antibodies and nucleic acid staining dye. Fluorescence-labeled antibodies bind specifically to CD34 and/or CD45 markers expressed on cell surfaces. Nucleic acid staining dye binds specifically to nucleus of dead cells. In ADAMII™-CD34 Kit, CD34 antibodies (clone 8G12) recognize CD34 marker expressed on hematopoietic stem cells, CD45 antibodies (clone 2D1) recognize CD45 marker expressed on leukocytes.

After a sample is incubated with reagent for 20 minutes, RBC Lysis Buffer is added to lyse red blood cells. After completion of RBC lysis, sample preparation is complete and is ready to be measured. Prepared sample is loaded into a disposable plastic slide and loaded slide is placed on precision stage in ADAMII™ instrument.

In ADAMII™ CD34 software, user is expected to adjust focusing using either manual focusing buttons or autofocusing button. After good focuses have been found, user presses "Run Sample" button to start image acquisition.


While images are being taken, ADAMII™ CD34 software analyzes images to produce measurement results. After completion of image acquisition, final results will be shown on screen and automatically saved.

Final results include (1) Viable CD34+ cells/ μ L, (2) Viable CD45+ cells/ μ L, (3) Total CD34+ cells/ μ L, (4) Total CD45+ cells/ μ L, (5) CD34 Viability (%), (6) CD45 Viability (%), (7) the ratio of Viable CD34+ out of Viable CD45 (%).

CD34 antibody recognizes a 105-120-kilodalton (kDa) single-chain transmembrane glycoprotein. Clone 8G12 recognizes an epitope on CD34 distinct from the one recognized by clone My10; at least three epitopes have been identified. The CD34 antibody (clone 8G12) is composed of mouse IgG1 heavy chains and kappa light chains. Excitation is at 496nm/ Emission: 578nm.

4. MATERIAL PROVIDED

Q'ty	Contents	Catalogue number
1	ADAMII™ CD34 Reagent (25 Tests)	A34R-001
1	ADAMII™ 10X RBC Lysis Buffer (4 mL)	A34L-001
1	ADAMII™ Calibration Beads (25 Tests)	A2CB-001
1	ADAMII™ Assay Slide (a pack of 25 slides)	A2AS-025
1	ADAMII™ CD34-Kit Package Insert	-
1	ADAMII™ 10X RBC Lysis Buffer (for Control Material)	ACL-001

 **Note:** 10X RBC lysis buffer for control material is offered separately in an aluminum pouch.

One Reagent solution CD34 Reagent contains:

- PE-conjugated anti-CD34 antibody
- PerCP-conjugated anti-CD45 antibody
- Nucleic acid staining dye

5. MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Reagent-grade (deionized) water
- EDTA blood collection tubes or equivalent
- Microcentrifuge tube
- 1X PBS (without Calcium and Magnesium) if sample dilution is necessary.
- Pipettes and pipette tips(5 μ L, 20 μ L, 35 μ L, 100 μ L, 250 μ L, 1,000 μ L)
- Vortex mixer
- Timer
- Ice bucket filled with shredded ice if a refrigerator is not available nearby
- Personal protective equipment
- Biohazard waste disposal containers.
- Control material

6. WARNING AND PRECAUTIONS

- For in vitro diagnostic use only
- Do not use the reagent or Assay Slide if you observe any change in appearance.
- Do not decontaminate ammonium chloride lysed samples with bleach.
- To achieve accurate results, it is critical to add a precise volume specimen to an empty tube and mix it with a precise volume of CD34 reagent solution containing antibodies and nucleic acid stains.
** Use the method of reverse pipetting or a positive displacement pipette to aliquot samples. See the pipette manufacturer's instructions for more information.*
- Ammonium chloride lysing solution is harmful if swallowed (R22) and irritating to the eyes (R36). Wear suitable protective clothing, eyewear, and gloves. Dispose of in accordance with federal, state, and local regulations.
- All biological specimens and materials coming in contact with them are considered biohazards. Handle as if capable of transmitting infection. Handle as if capable of transmitting infection and dispose of it with proper precautions in accordance with federal, state, and local regulations. Never pipette by mouth.
- When using RBC lysis buffer, use after dilution.
- After using Calibration Beads, close the cap tightly

7. STORAGE AND STABILITY

All unopened/opened materials are stable until the expiration date on the label when stored at the specified temperature. Reagent stability has been demonstrated for 12 months from the date of manufacture. The expiration date is clearly indicated on the product box, pouch, tube, and bottle.

Material	Catalogue number
Refrigerator temperature storage (2~8 °C)	
ADAMII™ CD34 Reagent	A34R-001
ADAMII™ Calibration Beads	A2CB-001
ADAMII™ 10X RBC Lysis buffer (4 mL)	A34L-001
ADAMII™ 10X RBC Lysis Buffer (for Control Material)	ACL-001
Ambient temperature storage (2~25 °C)	
ADAMII Assay Slide	A2AS-025

8. SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

- Keep undiluted specimens stored at 2~8°C.
- Laboratory should validate pre-analytical sample with the storage conditions.
- Stain the fresh specimens (MPB and HPC-A) within 24 hours of collection. Stain fresh cord blood within 48 hours of collection. Stain frozen specimens immediately after thawing.
- Do not use previously fixed samples.
- Do not use fresh MPB or HPC-A samples that have been stored for more than 24 hours.
- Do not use fresh cord blood samples that have been stored for more than 48 hours.
- Reject clotted, or clumped specimens.
- After completion of RBC lysis, store prepared samples on ice. Fresh MPB, fresh HPC-A and fresh cord blood samples can be measured within 1hr after completion of RBC lysis. Frozen cord blood should be measured immediately after completion of RBC lysis.
- Before staining for CD34 counting in the ADAMII™, the HPC-A products (collected in ACD or ACD+Heparin), MPB samples (collected in Na-Heparin), and fresh cord blood samples (collected in CPD) and

thawed frozen cord blood samples need to be transferred into EDTA anticoagulant tubes to reduce cell clumping.

- HPC-A sample: Before starting a sample preparation, adjust the number of total white blood cells (WBC) in a the sample to be below 150,000 cells/ μ L by diluting the sample with 1X PBS.
- MPB sample: After completion of RBC lysis, further dilute a prepared sample if the number of total white blood cells (WBC) in the original sample is over 35,000 cells/ μ L by diluting the prepared sample with 1X RBC Lysis buffer.

9. PROCEDURE

Calibration

The Calibration Beads for the ADAMII™ instrument included in each kit are fluorescent particles with specific sizes and fluorescence dyes, which enable users to check if ADAMII™ instrument is in a good condition in terms of optic alignments and capabilities of acquiring images and analyzing them. It is recommended that the calibration is done regularly or at least once a week. Refer to ADAMII™ Instrument User Manual for complete instructions.

Quality control

In accordance with the Good Laboratory Practice and laboratory regulations, running two levels of cellular control material (procedural control) is recommended. These control materials should be processed like patient samples to monitor the performance of the entire analytic processes.

Each laboratory should establish its own practice to run quality controls. Quality controls should be prepared following same procedures for patient samples. Each laboratory may determine when or how often to run quality controls in consideration of followings:

- (1) at least once a month
- (2) when receiving ADAMII CD34 kits from a new lot
- (3) when there is new operator
- (4) when problems in ADAMII CD34 instrument or kits are identified
- (5) when problems during shipping or delivery of ADAMII CD34 kits are identified
- (6) when it is required by laboratory's standard QC procedures.

Commercial controls provide established values for absolute counts of CD34+ cells and percentage of CD34+ cells out of CD45+ cells. Commercial controls are available from a few manufacturers. Streck CD-Chex CD34 controls have been tested extensively with ADAMII CD34.

▪ Quality control procedure

- (1) Label an empty tube and a ADAMII™ Assay Slide.
- (2) Transfer 20 µL of well-mixed control material to the empty tube and add 5 µL of ADAMII™ CD34 Reagent solution. Then, cap the tube and mix well by vortexing or finger flicking.



Note: *Vortex ADAMII™ CD34 Reagent before use.*

- (3) Incubate for 20 minutes in a dark space at room temperature (66~77°F, 20~25°C).
- (4) Dilute ADAMII™ 10x RBC lysis buffer for control material (this is provided separately) to a new empty tube to prepare 1x RBC lysis buffer for control material.



Note: *1x RBC lysis buffer for control material should be prepared enough for use each day. Prepare by diluting 1 part of 10x RBC lysis buffer for control material with 9 parts of ultrapure water. Store and use at room temperature (66~77°F, 20~25°C)*

- (5) Add 35 µL of 1x RBC lysis buffer for control material to the tube and vortex for 2-3 seconds.
- (6) Incubate for 10 minutes in a dark space at room temperature (66~77°F, 20~25°C).
- (7) After vortexing the prepared control material for a few seconds, load 25 µL of the prepared control material onto an ADAMII™ Assay Slide.



Caution: *Make sure to add fluid slowly. Fast injection may cause spill-over.*

- (8) Wait for 3 minutes so that cells can settle down
- (9) Insert the loaded ADAMII™ Assay Slide into the ADAMII™ instrument and select 'Control' for sample type.
- (10) Please refer to ADAMII user manual for running measurements.

Specimen processing

1. Preparation


- HPC-A/MPB specimen

- (1) Label an empty tube and an ADAMII™ Assay Slide for the sample identification.
- (2) Transfer 20 µL of a well-mixed specimen to the empty tube and add 5 µL of ADAMII™ CD34 Reagent solution. Then, cap the tube and mix well by vortexing or finger flicking.



Note: *Vortex ADAMII™ CD34 Reagent before use.*

- (3) Incubate for 20 minutes in a dark space at room temperature (66~77°F, 20~25°C).
- (4) Dilute ADAMII™ 10x RBC lysis buffer that is included in the kit to a new empty tube to prepare 1x RBC lysis buffer.

 **Note:** 1x RBC lysis buffer should be prepared enough for use each day. Prepare by diluting 1 part of 10x RBC lysis buffer with 9 parts of ultrapure water. Store and use at room temperature (66~77°F, 20~25°C)


- (5) Add 35 µL (for MPB sample) or 250 µL (for HPC-A) of 1X RBC Lysis buffer to the tube and vortex for 2-3 seconds.
- (6) Incubate for 10 minutes in a dark space at room temperature (66~77°F, 20~25°C).

- Fresh Cord Blood/ Frozen Cord Blood specimen

- (1) Label an empty tube and an ADAMII™ Assay Slide for the sample identification.
- (2) Transfer 50 µL of a well-mixed specimen to the empty tube and add 5 µL of ADAMII™ CD34 Reagent solution. Then, cap the tube and mix well by vortexing or finger flicking.

 **Note:** Vortex ADAMII™ CD34 Reagent before use.

- (3) Incubate for 20 minutes in a dark space at room temperature (66~77°F, 20~25°C).
- (4) Dilute ADAMII™ 10x RBC lysis buffer that is included in the kit to a new empty tube to prepare 1x RBC lysis buffer.


 **Note:** 1x RBC lysis buffer should be prepared enough for use each day. Prepare by diluting 1 part of 10x RBC lysis buffer with 9 parts of ultrapure water. Store and use at room temperature (66~77°F, 20~25°C)


- (5) Add 200 µL of 1X RBC Lysis buffer to the tube and vortex for 2-3 seconds.
- (6) Incubate for 10 minutes in a dark space at room temperature (66~77°F, 20~25°C).

Sample type	Sample (μL)	ADAMII-CD34 reagent (μL)	RBC Lysis buffer
Control material	20	5	35 (for control material)
MPB	20	5	35
HPC-A	20	5	250
Cord blood (FCB, TFCB)	50	5	200

2. Assay procedure

- Load 25 μL of the prepared sample onto an ADAMII™ Assay Slide.

 **Caution:** Vortex the tube thoroughly, at low speed, to mix well before loading the prepared sample on an Assay slide.

 **Caution:** Make sure to add fluid slowly. Fast injection may cause spill-over.
- Wait for 3 minutes so that cells can settle down.
- Insert the loaded ADAMII™ Assay Slide into the ADAMII™ instrument and select a corresponding sample type.
- Please refer to ADAMII™ user manual for running measurements

10. PROCEDURAL NOTES

- To minimize errors and variations during sample preparation, it is highly recommended to use reverse pipetting technique.
- It is highly recommended to mix samples, reagents, and test tubes well at every steps.
- Laboratory must establish their own CD34+ viability requirements for each sample types.
- Avoid bubbles at all times.
- Erroneous measurements can be made if tubes are exposed to bright lights or sun lights.
- Erroneous measurements can be made if prepared samples are not stored on ice after completion of RBC lysis, or if prepared samples have been kept for more than one hour before being measured.
- Fixed specimens should be avoided.
- Avoid using hemolyzed, clotted, or clumped specimens.

11. CALCULATION OF RESULTS

ADAMII™ instrument performs all image acquisition and analysis automatically. Measurement results include (1) Viable CD34+ counts (cells/ μ L), (2) Viable CD45+ counts (cells/ μ L), (3) Total CD34+ counts (cells/ μ L), (4) Total CD45+ counts (cells/ μ L), (5) the ratio of Viable CD34 out of Viable CD45 (%), (6) CD34 Viability (%), and (7) CD45 Viability (%).

Detection range


The detection range is as follows:

CD34: 1~1000 cells/ μ L

12. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Method comparison

Viable CD34+ counts [cells/ μ L], viable CD45+ counts [1000 cells/ μ L], and the ratio of Viable CD34 out of Viable CD45 [%] were measured using ADAMII™-CD34 Kits for mobilized peripheral blood samples (MPB collected in EDTA OR Na-Heparin), leukapheresis samples (HPC-A collected in ACD or ACD+Heparin), fresh cord blood (FCB collected in CPD) samples, and thawed frozen cord blood (TFCB collected in CPD and stored with 10% DMSO and 1% Dextran 40) samples. These results were compared to a predicate assay (BD Stem Cell Enumeration Kit used in FACSCalibur or FACSLytic). Result from two methods were compared using regression analysis (slope, intercept and R2) and 95% confidence intervals.

 **Note:** ADAMII™-CD34 Kits have been qualified for these sample types; MPB collected in EDTA or Na-Heparin, HPC-A collected in ACD or ACD+Heparin, FCB collected in CPD, and TFCB collected in CPD and stored with 10% DMSO and 1% Dextran 40.

Regression Analysis

Table 1. Regression Analysis of ADAMI™ CD34 Kit compared to a predicate assay

	N	R ²	Slope/95% CI	Intercept/95% CI
MPB (pooled)				
Viable CD34 (cells/μL)	248	0.99	0.997 (0.985 - 1.009)	0.317 (-0.017 - 0.641)
Ratio of viable CD34 in viable CD45	248	0.99	1.000 (0.968 - 1.000)	0 (0 - 0.003)
Viable CD45 (1000 cells/μL)	248	0.99	1.018 (1.008 - 1.030)	0.111 (-0.072 - 0.249)
HPC-A (pooled)				
Viable CD34 (cells/μL)	382	0.99	0.998 (0.989 - 1.007)	2.237 (-2.033 - 6.029)
Ratio of viable CD34 in viable CD45	382	0.98	1.000 (0.983 - 1.007)	0.010 (0.006 - 0.013)
Viable CD45 (1000 cells/μL)	382	0.99	0.982 (0.972 - 0.992)	0.760 (0 - 1.495)
Fresh cord blood (pooled)				
Viable CD34 (cells/μL)	124	0.99	0.994 (0.980 - 1.009)	-0.115 (-0.725 - 0.316)
Ratio of viable CD34 in viable CD45	124	0.99	1.033 (1.013 - 1.056)	-0.02 (-0.03 - -0.01)
Viable CD45 (1000 cells/μL)	124	0.98	0.945 (0.919 - 0.968)	0.222 (0.067 - 0.401)
Thawed frozen cord blood (pooled)				
Viable CD34 (cells/μL)	159	0.99	0.983 (0.964 - 1.001)	0.519 (-0.080 - 1.210)
Ratio of viable CD34 in viable CD45	159	0.96	0.995 (0.959 - 1.029)	-0.01 (-0.02 - 0.01)
Viable CD45 (1000 cells/μL)	159	0.95	0.993 (0.962 - 1.023)	0.203 (-0.029 - 0.571)

Regression Plots

Figure 1. Pooled data CD34 cells/ μ L

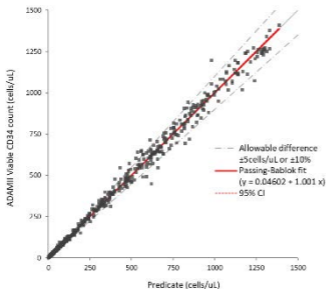


Figure 2. Pooled data %CD34 of CD45

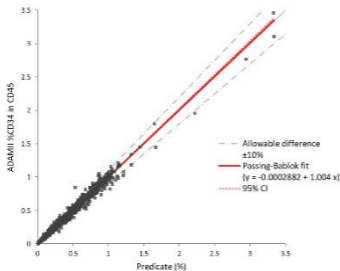
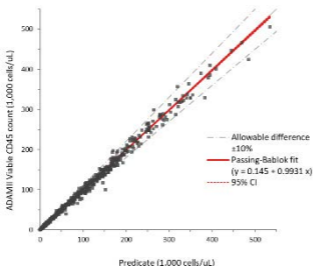


Figure 3. Pooled data CD45 (1000 cells/ μ L)



Precision

- Study 1

Estimates of assay precision were assessed at the NanoEntek Research laboratory using two levels of control material with ranges of:

- Med : $22.3 < \text{CD34+ counts (cells}/\mu\text{L)} \leq 36.3$
- High : $86.8 < \text{CD34+ counts (cells}/\mu\text{L)} \leq 126.8$

Two replicates on two separate runs for 20 days were assessed for Repeatability (within-run), between-run, between-day, and within-laboratory precision.

Table 2. Study 1 Results

CD34 Count Mean (cells/ μ L)	Repeatability		Between-Run		Between-Day		Within-Laboratory	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
31.614	2.987	9.4%	0.000	0.0%	2.187	6.9%	3.702	11.7%
106.220	5.557	5.2%	0.000	0.0%	6.537	6.2%	8.580	8.1%

- **Study 2**

An additional single site study was conducted at the NanoEntek Research laboratory using a lower control (CD34+ count range: $9.7 < \text{CD34+ counts (cells/}\mu\text{L)} \leq 17.7$). Two replicates on two separate runs per day for 21 days were assessed.

Table 3. Study 2 Results

CD34 Count Mean (cells/ μL)	Repeatability		Between-Run		Between-Day		Within-Laboratory	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
12.615	1.620	12.8%	1.006	8.0%	0.005	2.9%	1.942	15.4%
%CD34 of CD45 Mean	Repeatability		Between-Run		Between-Day		Within-Laboratory	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
0.181	0.025	13.6%	0.016	8.6%	0.005	2.9%	0.030	16.4%
CD45 Count Mean (cells/ μL)	Repeatability		Between-Run		Between-Day		Within-Laboratory	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
6985.959	224.878	3.2%	140.769	2.0%	140.306	2.0%	300.120	4.3%

- **Study 3**

An additional single-site study was conducted at the NanoEntek Research laboratory using 3lots of reagents, 3 operators, and 3 instruments using 3 levels of control.

Table 4. Study 3 Results

	CD34 cells/ μL	CD34%	Cd45 cells/ μL
Low	9.2-17.2	0.13-0.27	5600-7600
Med	25.6-39.6	0.39-0.59	5700-7700
High	92.2-132.2	1.32-1.92	5900-7900

Table 5(a) Study 3 Results by Instrument**Instrument to Instrument**

Sample	Mean	N	Repeatability		Between-Days	
			SD	%CV	SD	%CV
Low CD34 cells/ μ L	12.15	252	2.15	17.68	0.00	0.00
Low CD34% of CD45	0.18	252	0.03	18.08	0.00	0.00
Low CD45 cells/ μ L	6912.70	252	73.91	1.07	0.00	0.00
Med CD34 cells/ μ L	32.20	252	3.33	10.34	0.71	2.21
Med CD34% of CD45	0.46	252	0.05	10.90	0.01	2.46
Med C045 cells/ μ L	6922.56	252	56.08	0.81	29.45	0.43
High CD34 cells/ μ L	110.99	252	7.17	6.46	0.00	0.00
High CD34% of CD45	1.61	252	0.10	6.41	0.01	0.41
High CD45 cells/ μ L	6907.84	252	63.51	0.92	8.18	0.12

Table 5(b). Study 3 Results by Instrument**Instrument to Instrument**

Sample	Mean	N	Between-Run		Between-Instrument		Reproducibility	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Low CD34 cells/ μ L	12.15	252	0.15	1.26	0.00	0.00	0.15	1.26
Low CD34% of CD45	0.18	252	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Low CD45 cells/ μ L	6912.70	252	15.06	0.22	0.00	0.00	15.06	0.22
Med CD34 cells/ μ L	32.20	252	0.44	1.37	0.46	1.43	0.95	2.96
Med CD34% of CD45	0.46	252	0.00	0.52	0.01	1.17	0.01	2.78
Med CD45 cells/ μ L	6922.56	252	16.77	0.24	7.80	0.11	34.78	0.50
High CD34 cells/ μ L	110.99	252	0.00	0.00	0.24	0.21	0.24	0.21
High CD34% of CD45	1.61	252	0.00	0.00	0.01	0.47	0.01	0.62
High CD45 cells/ μ L	6907.84	252	7.45	0.11	2.43	0.04	11.33	0.16

Table 6(a). Study 3 Results by Lot**Lot to Lot**

Sample	Mean	N	Repeatability		Between-Days	
			SD	%CV	SD	%CV
Low CD34 cells/ μ L	11.62	252	1.90	16.34	0.31	2.65
Low CD34% of CD45	0.17	252	0.03	16.92	0.00	2.76
Low CD45 cells/ μ L	6959.24	252	95.34	1.37	22.08	0.32
Med CD34 cells/ μ L	34.09	252	3.45	10.12	0.00	0.00
Med CD34% of CD45	0.50	252	0.05	10.44	0.00	0.00
Med CD45 cells/ μ L	6875.40	252	112.45	1.64	27.11	0.39
High CD34 cells/ μ L	114.52	252	6.60	5.77	0.77	0.68
High CD34% of CD45	1.66	252	0.10	6.04	0.01	0.47
High CD45 cells/ μ L	6897.47	252	110.69	1.60	28.06	0.41

Table 6(b). Study 3 Results by Lot**Lot to Lot**

Sample	Mean	N	Between-Run		Between-Lot		Reproducibility	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Low CD34 cells/ μ L	11.62	252	0.00	0.00	0.00	0.00	0.31	2.65
Low CD34% of CD45	0.17	252	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.76
Low CD45 cells/ μ L	6959.24	252	0.00	0.00	5.57	0.08	22.77	0.33
Med CD34 cells/ μ L	34.09	252	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Med CD34% of CD45	0.50	252	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Med CD45 cells/ μ L	6875.40	252	36.11	0.53	26.61	0.39	52.41	0.76
High CD34 cells/ μ L	114.52	252	1.43	1.25	1.57	1.37	2.26	1.97
High CD34% of CD45	1.66	252	0.02	1.34	0.03	1.61	0.04	2.15
High CD45 cells/ μ L	6897.47	252	0.00	0.00	0.00	0.00	28.06	0.41

Table 7(a). Study 3 Results by Operator

Operator to Operator

Sample	Mean	N	Repeatability		Between-Days	
			SD	%CV	SD	%CV
Low CD34 cells/ μ L	11.93	252	1.93	16.20	0.63	5.25
Low CD34% of CD45	0.17	252	0.03	16.28	0.01	5.61
Low CD45 cells/ μ L	6934.94	252	81.77	1.18	16.61	0.24
Med CD34 cells/ μ L	32.11	252	3.34	10.39	0.00	0.00
Med CD34% of CD45	0.46	252	0.05	10.91	0.00	0.00
Med CD45 cells/ μ L	6911.14	252	70.35	1.02	0.00	0.00
High CD34 cells/ μ L	109.68	252	6.75	6.15	0.00	0.00
High CD34% of CD45	1.58	252	0.10	6.08	0.00	0.00
High CD45 cells/ μ L	6926.21	252	65.69	0.95	28.50	0.41

Table 7(b). Study 3 Results by Operator

Operator to Operator

Sample	Mean	N	Between-Run		Between-Operator		Reproducibility	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Low CD34 cells/ μ L	11.93	252	0.09	0.74	0.00	0.00	0.63	5.30
Low CD34% of CD45	0.17	252	0.00	1.97	0.00	0.00	0.01	5.95
Low CD45 cells/ μ L	6934.94	252	0.00	0.00	11.60	0.17	20.26	0.29
Med CD34 cells/ μ L	32.11	252	0.00	0.00	0.42	1.32	0.42	1.32
Med CD34% of CD45	0.46	252	0.00	0.00	0.01	1.31	0.01	1.31
Med CD45 cells/ μ L	6911.14	252	12.93	0.19	0.00	0.00	12.93	0.19
High CD34 cells/ μ L	109.68	252	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
High CD34% of CD45	1.58	252	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
High CD45 cells/ μ L	6926.21	252	16.11	0.23	1.24	0.02	32.76	0.47

- **Study 4**

A multi-site study was conducted at 3 sites using 3 levels of control material.

Table 8. Range of control material

		% Positive Cell	Expected Range	Absolute Number	Expected Range
Low	CD34 cells/ μ L	0.19	0.12~0.26	13.7	9.7~17.7
Med	CD34 cells/ μ L	0.45	0.36~0.56	32.4	25.4~39.4
High	CD34 cells/ μ L	1.52	1.22~1.82	106	86.0~126.0

Three replicates on two separate runs per day for 5 days were assessed for between days, between runs, between sites, and total reproducibility %CV.

Table 9(a). Study 4 Results

Sample	Mean	N	Repeatability		Between-Days	
			SD	%CV	SD	%CV
Low CD34 cells/ μ L	12	90	1.76	14.5	0.6	4.9
Low CD34% of CD45	0.2	90	0.025	14.4	0.008	4.3
Low CD45 cells/ μ L	6942	90	143.52	2.1	56.78	0.8
Med CD34 cells/ μ L	32	90	3.26	10.2	1.17	3.6
Med CD34% of CD45	0.5	90	0.046	10.0	0.015	3.3
Med CD45 cells/ μ L	6960	90	122.0	1.8	9.50	0.1
High CD34 cells/ μ L	108	90	6.396	5.9	0.000	0.0
High CD34% of CD45	1.6	90	0.097	6.2	0.025	1.6
High CD45 cells/ μ L	6937	90	114.308	1.6	36.779	0.5

Table 9(b). Study 4 Results

Sample	Mean	N	Between-Run		Between-Site		Reproducibility	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Low CD34 cells/ μ L	12	90	0.59	4.8	1.29	10.6	1.54	12.6
Low CD34% of CD45	0.2	90	0.009	4.9	0.018	10.1	0.021	12.0
Low CD45 cells/ μ L	6942	90	0.000	0.0	0.000	0.0	56.8	0.8
Med CD34 cells/ μ L	32	90	0.000	0.0	1.41	4.4	1.83	5.7
Med CD34% of CD45	0.5	90	0.000	0.0	0.020	4.3	0.025	5.5
Med CD45 cells/ μ L	6960	90	0.000	0.0	24.20	0.3	25.99	0.4
High CD34 cells/ μ L	108	90	2.948	2.7	6.862	6.3	7.469	6.9
High CD34% of CD45	1.6	90	0.028	1.8	0.100	6.4	0.106	6.8
High CD45 cells/ μ L	6937	90	40.102	0.6	0.000	0.0	54.414	0.8

- **Study 5**

An Anticoagulant Interference Study was conducted and demonstrated that there were no statistically or clinically relevant differences between sample types/anticoagulants.

Single site testing at 3 sites was conducted using 6 levels of HPC-A ACD clinical samples. One lot of reagent and one operator/instrument per site tested 3 replicates per sample over 6 runs in 24 hours (sample stability limit).

Target concentrations of viable CD34 cells/ μ L:

- 17 CD34 cells/ μ L
- 35 CD34 cells/ μ L
- 75 CD34 cells/ μ L
- 100 CD34 cells/ μ L
- 500 CD34 cells/ μ L
- 1000 CD34 cells/ μ L

Table 10. Study 5 Results, Site1

Target Concentration Viable CD34 cells/ μ L	Site 1				
	Parameters	Total CD34 cells/ μ L	Viable CD34 cells/ μ L	Viable CD45 cells/ μ L	Viable %CD34 of CD45
17 cells/ μ L	Mean	16.96	16.14	3270.04	0.50%
	SD	2.29	2.22	230.65	0.09%
	CV	13.51%	13.76%	7.05%	17.60%
35 cells/ μ L	Mean	37.03	36.78	6455.58	0.57%
	SD	3.34	3.23	443.08	0.05%
	CV	9.01%	8.78%	6.86%	9.49%
68 cells/ μ L	Mean	68.74	68.42	4648.85	1.48%
	SD	4.65	4.66	262.57	0.15%
	CV	6.76%	6.81%	5.65%	9.86%
100 cells/ μ L	Mean	92.90	92.69	5652.53	1.64%
	SD	5.36	5.39	234.42	0.12%
	CV	5.77%	5.82%	4.15%	7.25%
450 cells/ μ L	Mean	471.55	469.43	28077.02	1.67%
	SD	28.27	27.76	1762.08	0.08%
	CV	5.97%	5.91%	6.28%	4.95%
960 cells/ μ L	Mean	904.27	893.36	75292.90	1.18%
	SD	41.01	41.29	2274.17	0.06%
	CV	4.54%	4.62%	3.02%	4.93%

Table 11. Study 5 Results, Site2

Target Concentration Viable CD34 cells/ μ L	Site 2				
	Parameters	Total CD34 cells/ μ L	Viable CD34 cells/ μ L	Viable CD45 cells/ μ L	Viable %CD34 of CD45
17 cells/ μ L	Mean	17.05	16.91	3364.35	0.51%
	SD	2.09	2.05	271.88	0.06%
	CV	12.23%	12.15%	8.08%	12.14%
35 cells/ μ L	Mean	35.51	35.03	6494.72	0.54%
	SD	4.15	3.96	198.25	0.06%
	CV	11.68%	11.29%	3.05%	10.85%
68 cells/ μ L	Mean	66.53	66.41	4036.08	1.65%
	SD	4.55	4.49	210.81	0.17%
	CV	6.84%	6.76%	5.22%	10.58%
100 cells/ μ L	Mean	101.12	100.63	6650.66	1.52%
	SD	5.95	5.92	296.61	0.10%
	CV	5.89%	5.88%	4.46%	6.79%
450 cells/ μ L	Mean	442.64	440.06	28360.64	1.55%
	SD	26.32	24.89	829.78	0.10%
	CV	5.95%	5.66%	2.93%	6.48%
960 cells/ μ L	Mean	982.96	977.56	53124.13	1.84%
	SD	44.27	43.31	1566.41	0.06%
	CV	4.50%	4.43	2.95%	3.36%

Table 12. Study 5 Results, Site3

Target Concentration Viable CD34 cells/ μ L	Site 3				
	Measuring parameters	Total CD34 cells/ μ L	Viable CD34 cells/ μ L	Viable CD45 cells/ μ L	Viable %CD34 of CD45
17 cells/ μ L	Mean	17.07	16.76	3325.93	0.50%
	SD	2.09	2.42	170.27	0.06%
	CV	12.21%	14.47%	5.12%	12.19%
35 cells/ μ L	Mean	32.73	32.05	19447.80	0.54%
	SD	3.22	3.31	1393.72	0.06%
	CV	9.85%	10.32%	7.17%	10.55%
68 cells/ μ L	Mean	74.89	73.41	25862.38	0.28%
	SD	4.44	4.34	1400.05	0.01%
	CV	5.92%	5.91%	5.41%	5.00%
100 cells/ μ L	Mean	100.25	97.08	24993.61	0.39%
	SD	5.64	5.48	1066.57	0.02%
	CV	5.62%	5.65%	4.27%	5.74%
450 cells/ μ L	Mean	447.49	442.49	106235.8	0.40%
	SD	20.94	17.45	6060.55	0.03%
	CV	4.68%	4.13%	5.70%	7.21%
960 cells/ μ L	Mean	1005.11	1002.17	44158.78	2.27%
	SD	24.14	23.76	2044.63	0.10%
	CV	2.40%	2.37%	4.63%	4.28%

Linearity

The ADAMITM-CD34 Kit demonstrated linearity across the claimed ranges:
1-1000 CD34 cells/ μ L

Interference

The effects of substance interference on ADAMITM-CD34 performance were evaluated following the CLSI EP7-A3 protocol. The substances in the table below have been tested and found to have no interference at the concentrations specified in the table.

Substances	Concentration
Hemoglobin	50 mg/dL
Gamma globulin	1 %
Bilirubin	10 mg/dL
Albumin	7.5 mg/mL
G-CSF	60 ng/mL
Intralipid	250 mg/dL
Cyclophosphamide	550 μ g/mL
Doxorubicin	0.25 μ g/mL
Paclitaxel	20 μ g/mL

Sample Stability

Stored sample stabilities and stained sample stability were evaluated at the NanoEntek Research laboratory using mobilized peripheral blood (MPB), leukapheresis (HPC-A), fresh cord blood (FCB) and thawed frozen cord blood (TFCB) specimens. Samples have been stored at the following temperatures.

Stability test	Sample type	Temperature
Stored	FCB	20 to 25°C (Room temperature)
	MPB, HPC-A, TFCB	2 to 8°C
Stained	MPB, HPC-A, FCB, TFCB	2 to 8°C

Based on the results of this study, we recommend starting sample preparation within 24 hours of collection for MPB and HPC-A and within 48 hours of collection for fresh cord blood. We recommend keeping stained samples on wet ice, and analyzing prepared samples within 1 hour of completion of RBC lysis. Frozen cord blood samples should be prepared immediately after thawing and analyzed immediately after completion of RBC lysis.

13. LIMITATIONS


















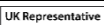


ADAMII-CD34 Kit is designed for use on the ADAMII™ instrument. Refer to the ADAMII™ Instrument User Manual for more information.

Do not use the ADAMII™-CD34 Kit or slides beyond the expiration date.

14. REFERENCES

- 1) Mijovic A and Pamphilon D. Harvesting, processing and inventory management of peripheral blood stem cells. *Asian J. Transfus Sci.* 2007; 1:16-23
- 2) Powles R Mehta J, Kulkarni S, Treleaven J, Milar B, Marsden J, Shepherd V, Rowand A, Sirohi B, Tait D, Horton C, Long S, and Singhai S. Allogeneic blood and bone-marrow stem-cell transplantation in haematological malignant diseases: a randomized trial. *Lancet* 2000. 355: 1231-1237
- 3) Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med.* (1989) 321:1174-8. 10.1056/NEJM198910263211707
- 4) Nielsen JS and McNagny KM. Novel functions of the CD34 family. *J. CellScience* 2008; 121: 3683-3692.
- 5) Grigg AP, Roberts AW, Raunow H, Houghton S, Layton JE, Boyd AW, McGrath KM, Maher D. Optimizing dose and scheduling of filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor) for mobilization and collection of peripheral blood progenitor cells in normal volunteers. *Blood* 1995; 86: 4437-4445.
- 6) Demirel T, Buckner CD, Appelbaum FR, Petersen FB, Rowley S, Weaver CH, Lilleby K, Sanders J, Chauncey T, Storb R, et al. Rapid engraftment after autologous transplantation utilizing marrow and recombinant granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood stem cells in patients with acute myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 1995; 15: 915-922
- 7) Ho AD, Gluck S, Germond C, Sinoff C, Dietz G, Maruyama M, Corringham RE. Optimal timing for collections of blood progenitor cells following induction chemotherapy and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for autologous transplantation in advanced breast cancer. *Leukemia.* 1993; 7:1738-1746
- 8) Elliot C, Samson DM, Armitage S, Lyttelton MP, McGuigan D, Hargreaves R, Giles C, Abrahamson G, Abboudi Z, Brennan M, Kanfer EJ. When to harvest peripheral-blood stem cells after mobilization therapy: prediction of CD34-positive cell yield by preceding day CD34-positive concentration in peripheral blood. *J Clin Oncol.* 1996; 14: 970-973.
- 9) Shots R, Van Riet I, Damiaens S, Flament J, Lacor P, Staelens Y, Steenssens L, van Camp B, De Waele M. The absolute number of circulating CD34+ cells predicts the number of hematopoietic stem cells that can be collected by apheresis. *Bone Marrow Transplant.* 1996; 17: 509-515.
- 10) Yu J, Leisenring W, Bensinger WI, Holmberg LA, Rowley SD. The predictive value of white cell or CD34 + cell count in the peripheral blood for timing apheresis and maximizing yield. *Transfusion.* 1999; 39: 442-450
- 11) Olivero S, Alario T, Ladaique P, Accoun M, Viens P, Blaise D, Chabannon C. CD34 + cell enumeration in peripheral blood and apheresis samples, using two laboratory diagnostic kits or an institutional protocol. *Bone Marrow Transplant.* 1999; 23: 387-394
- 12) Haein Yu, Jaeeun Yoo, Jung Si Hwang, Mikyung Kim, Kyung Hee Bae, Dong Wook Jekarl, Jong Hyun Oh, Ji Yeon Lee, Sunmi Han, Chanil Chung, Myungsun Kim, Yonggoo Kim. Enumeration of CD34-positive Stem Cells Using the ADAMI Imge-based Fluorescence Cell Counter. *Annals of Laboratory Medicine.* 2019; 39: 388-395

Glossary of Symbols

	Caution, warning, Consult accompanying documents
	Catalogue number/Reference number
	Consult Instructions for Use An electronic instructions for use (eIFU) indicator (website address) may accompany the symbol when used to indicate an instruction to consult an eIFU.
	Lot number/Batch number
	Use by YYYY-MM-DD or YYYY-MM
	Manufacturer
	CE marking
	<i>In vitro</i> diagnostic medical device
	UK Conformity Assessment
	Temperature limitation
	Contains sufficient for <n> tests
	Do not reuse
	Do not use if package is damaged
	For prescription use only CAUTION: Federal (U.S.) law restricts this device to sale by or on order of a physician.
	US Corporation
	European Corporation
	Authorized representative in the European Community
	Authorized representative in United Kingdom
	Authorized representative in Switzerland
	Authorized representative in Brazil

Revised on 2025.04

ADAMII™-CD34 Kit

Zählssystem für hämatopoetische Stammzellen

REF

CD34K-025

IVD

Nur für die professionelle in-vitro-diagnostische Verwendung.

1. VERWENDUNGSZWECK

Das ADAMII™-CD34 System umfasst das ADAMII™-CD34 Kit, das für den Einsatz mit dem ADAMII™-Gerät, einem bildbasierten Fluoreszenz-Zellzähler für den Tischbetrieb, konzipiert ist. Das ADAMII™-CD34-System umfasst das ADAMII™-CD34-Kit, das für die Verwendung mit dem ADAMII™-Gerät, einem bildbasierten Fluoreszenz-Zellzähler als Tischgerät, konzipiert ist. Das ADAMII™-CD34-System ermöglicht die Auszählung von lebensfähigen CD34+-Zellen und lebensfähigen CD45+-Zellen und berechnet den prozentualen Anteil der lebensfähigen CD34+-Zellen an den lebensfähigen CD45+-Zellen. Das ADAMII™ CD34 System kann für mobilisiertes peripheres Blut (MPB), das in Na-Heparin oder EDTA entnommen wurde, für hämatopoetische Vorläuferzellen - Apherese (HPC-A), die in ACD oder ACD+ Heparin entnommen wurden, für frisches Nabelschnurblut (FCB), das in CPD entnommen wurde, und für aufgetautes gefrorenes Nabelschnurblut (TFCB), das in CPD entnommen und mit 10% DMSO, 1% Dextran 40 gelagert wurde, verwendet werden. Das ADAMII™ CD34 System ist ausschließlich für die Verwendung in klinischen Labors und für die In-vitro-Diagnostik bestimmt. Es ist nicht für die Verwendung am Point-of-Care vorgesehen. Das ADAMII™-CD34 System ist ausschließlich für den Einsatz in klinischen Labors und für die In-vitro-Diagnostik bestimmt. Es ist nicht für Point-of-Care-Einsätze vorgesehen.

2. ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG DES TESTS

Für viele Patienten mit hämatologischem Malignom bieten sich myeloablative und nicht-myeloablative allogene Stammzelltransplantationen als Heilungsmöglichkeit an. Die Zahl der durchgeführten autologen und allogenen Stammzelltransplantationen ist in den letzten zwei Jahrzehnten stetig gestiegen. Mobilisierte periphere Blutstammzellen (MPB) und hämatopoetische Progenitorzellen eines autologen Spenders aus Apherese (HPC-A) gelten als bevorzugte Stammzellquellen für die autologe und allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation.^{1,2} Nabelschnurblut (CB) ist eine alternative hämatopoetische Stammzellquelle, insbesondere für Patienten, für die kein geeigneter Spender von Knochenmark oder mobilisiertem peripherem Blut zur Verfügung steht.³

Das CD34-Antigen, ein auf primitiven Progenitorzellen aus Blut und Knochenmark exprimiertes einkettiges Transmembran-Glykoprotein, ist ein bekannter Marker für hämatopoetische und endotheliale Progenitorzellen.⁴ In der klinischen Praxis ist eine schnelle und genaue Messung der CD34+-Zellzahl aufgrund der spezifischen Dosisanforderungen für hämatopoetische Transplantationsprotokolle und der unterschiedlichen Wirkung von Mobilisierungsmitteln bei normalen Spendern und Krebspatienten sehr wichtig.^{5,6,7} Die durchflusszytometrische Bestimmung von CD34+-Zellen ist schnell zum bevorzugten Mittel für die Quantifizierung zirkulierender hämatopoetischer Progenitorzellen und somit für die Bestimmung ihrer Mindestzahl zur Gewährleistung der Transplantation und des optimalen Zeitpunkts der Apherese geworden.^{8,9,10}

Trotz der Zuverlässigkeit durchflusszytometrischer Tests wurden bei durchflusszytometrischen Methoden zur Bestimmung des Prozentsatzes und der absoluten Anzahl von CD34+-Zellen Unterschiede zwischen den Labors festgestellt.¹¹ Das ADAMII™ CD34-Stammzellzählssystem ermöglicht eine genaue und präzise Zählung der CD34+-Zellen und des Verhältnisses von CD34 + und CD45+-Zellen mit einer schnellen Durchlaufzeit und minimalen Eingaben durch den Anwender.¹² Der hohe Präzisionsgrad des ADAMII™ CD34-Stammzellzählsystems ist zum Teil auf die vereinfachten Probenvorbereitungsschritte und den Wegfall von Waschschritten zurückzuführen, die zu Zellverlusten führen und anfällig für menschliche Fehler sein könnten. Darüber hinaus verwendet das ADAMII™ CD34-Stammzellzählssystem eine maßgeschneiderte Software, die keine Interpretationsschritte nach der Messung erforderlich macht.

3. PRINZIP DES TESTS

Der ADAMII™-CD34-Test beginnt mit der Zugabe eines angemessenen Volumens einer Probe in ein Reagenzglas und dem Mischen mit einem Reagenz, das fluoreszenzmarkierte Antikörper und einen Nukleinsäure-

Farbstoff enthält. Fluoreszenzmarkierte Antikörper binden spezifisch an CD34- und/oder CD45-Marker, die auf Zelloberflächen exprimiert werden. Der Nukleinsäure-Farbstoff bindet spezifisch an die Kerne toter Zellen. Im ADAMII™-CD34-Kit erkennen CD34-Antikörper (Klon 8G12) den auf hämatopoetischen Stammzellen exprimierten CD34-Marker und CD45-Antikörper (Klon 2D1) den auf Leukozyten exprimierten CD45-Marker.

Nach einer 20-minütigen Inkubation der Probe mit dem Reagenz wird RBC-Lysepuffer hinzugefügt, um die roten Blutkörperchen zu lysieren. Nach Abschluss der Lyse der Erythrozyten ist die Probenvorbereitung abgeschlossen und kann gemessen werden. Die vorbereitete Probe wird in einen Einweg-Plastik-Objektträger geladen und der beladene Objektträger wird auf dem Präzisionstisch des ADAMII™-Geräts platziert.


In der ADAMII™ CD34-Software muss der Benutzer die Fokussierung entweder über die manuellen Fokussierungstasten oder die Autofokussierungstaste einstellen. Nachdem eine gute Fokussierung gefunden wurde, drückt der Benutzer die Taste „Run Sample“, um die Bildaufnahme zu starten. Während die Bilder aufgenommen werden, analysiert die ADAMII™ CD34-Software die Bilder, um Messergebnisse zu erstellen. Nach Abschluss der Bildaufnahme werden die Endergebnisse auf dem Bildschirm angezeigt und automatisch gespeichert.

Zu den Endergebnissen gehören (1) lebensfähige CD34+-Zellen/ μL , (2) lebensfähige CD45+-Zellen/ μL , (3) CD34+-Zellen/ μL insgesamt, (4) CD45+-Zellen/ μL insgesamt, (5) CD34-Viabilität (%), (6) CD45-Viabilität (%), (7) das Verhältnis von lebensfähigen CD34+ zu lebensfähigen CD45 (%).

CD34 antibody recognizes a 105-120-kilodalton (kDa) single-chain transmembrane glycoprotein. Clone 8G12 recognizes an epitope on CD34 distinct from the one recognized by clone My10; at least three epitopes have been identified. Der CD34-Antikörper (Klon 8G12) besteht aus Maus-IgG1-Schwerketten und Kappa-Leichtketten. Anregung liegt bei 496 nm / Emission: 578 nm.

4. MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Menge	Inhaltsverzeichnis	Referenznummer
1	ADAMII™-CD34 Reagenz (25 Tests)	A34R-001
1	ADAMII™ Erythrozyten-Lysepuffer, 10 Stk. (4 mL)	A34L-001
1	ADAMII™ Kalibrierungsperlen (25 Tests)	A2CB-001
1	ADAMII™ Test-Reagenzträger (eine Packung mit 25 Dias)	A2AS-025
1	ADAMII™-CD34 Kit Packungsbeilage	-
1	ADAMII™ Erythrozyten-Lysepuffer, 10 Stk. (für Kontrollmaterial)	ACL-001

 **Hinweis:** Das Erythrozyten-Lysepuffer (10 Stk.) für Kontrollmaterial wird separat in einem Aluminiumbeutel angeboten.

Ein CD34-Reagenzlösung enthält:

- PE-konjugierter Anti-CD34-Antikörper
- PerCP-konjugierter Anti-CD45-Antikörper
- Nukleinsäurefarbstoff

5. BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT ENTHALTEN)

- Wasser in Reagenzienqualität (deionisiert)
- EDTA-Blutentnahmeröhrchen oder gleichwertig
- Mikrozentrifugenröhrchen
- 1X PBS (ohne Calcium und Magnesium), falls eine Probenverdünnung erforderlich ist.
- Pipetten und Pipettenspitzen (5 µL, 20 µL, 35 µL, 100 µL, 250 µL, 1.000 µL)
- Vortex-Mischer
- Zeitschaltuhr
- Eiskübel, gefüllt mit geschreddertem Eis, falls kein Kühlschranks in der Nähe ist
- Persönliche Schutzausrüstung
- Behälter für die Entsorgung von Bioabfall.
- Kontrollmaterial

6. VORSICHTSMAßNAHMEN UND WARNHINWEISE

- Nur für die professionelle in-vitro-diagnostische Verwendung.
- Verwenden Sie das Reagenz oder den Test-Reagenzträger nicht, wenn Sie Veränderungen im Aussehen beobachten.
- Mit Ammoniumchlorid lysierte Proben dürfen nicht mit Bleichmittel dekontaminiert werden.
- Für präzise Ergebnisse muss ein genaues Volumen (20 µL) der Probe in ein leeres Reagenzglas gegeben und mit einem genauen Volumen (5 µL) der CD34-Reagenzlösung, die Antikörper und Nukleinsäurefärbungen enthält, gemischt werden.
** Zum Aliquotieren der Proben verwenden Sie die Methode des Rückwärtspipettierens oder eine Direktverdrängungspipette. Weitere Informationen finden Sie in der Anleitung des Pipettenherstellers.*
- Die Ammoniumchlorid-Lysierlösung ist gesundheitsschädlich beim Verschlucken (R22) und reizend für die Augen (R36). Geeignete Schutzkleidung, Schutzbrille und Handschuhe tragen. Die verbrauchten Reagenzien und Abfälle gemäß den bundes-, landes- und ortsrechtlichen Vorschriften entsorgen.
- Alle mit den Reagenzien in Berührung kommenden biologischen Proben und Materialien gelten als biologisch gefährlich. Handhaben, als ob es eine Infektion übertragen könnte. Das Produkt ist so zu handhaben, als ob es eine Infektion übertragen könnte, und es ist ordnungsgemäß und unter Beachtung der bundesstaatlichen, staatlichen und örtlichen Vorschriften zu entsorgen. Niemals mit dem Mund pipettieren.
- Den RBC-Lysepuffer erst nach Verdünnung verwenden.
- Nach der Verwendung von Kalibrierungsperlen die Kappe fest verschließen.

7. LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Alle ungeöffneten / geöffneten Materialien sind bis zum Verfallsdatum auf dem Etikett haltbar, wenn sie bei der angegebenen Temperatur gelagert werden. Die Haltbarkeit der Reagenzien wurde für 12 Monate ab dem Herstellungsdatum nachgewiesen. Das Verfallsdatum ist deutlich auf dem Produktkarton, dem Beutel, dem Reagenzglas und der Flasche angegeben.

Material	Referenznummer
Kühlschranklagerung (2-8 °C)	
ADAMII™-CD34 Reagenz	A34R-001
ADAMII™ Kalibrierungsperlen	A2CB-001
ADAMII™ Erythrozyten-Lysepuffer, 10 Stk. (4 mL)	A34L-001
ADAMII™ Erythrozyten-Lysepuffer, 10 Stk. (für Kontrollmaterial)	ACL-001
Lagerung bei Raumtemperatur (2-25 °C)	
ADAMII Test-Reagenzträger	A2AS-025

8. PROBENENTNAHME UND HANDHABUNG

- Unverdünnte Proben bei 2-8 °C lagern.
- Das Labor muss die präanalytische Probe anhand der Lagerungsbedingungen validieren.
- Frische Proben (MPB und HPC-A) sind innerhalb von 24 Stunden nach der Probenahme zu färben. Frisches Nabelschnurblut ist innerhalb von 48 Stunden nach der Entnahme zu färben. Gefrorene Proben sind sofort nach dem Auftauen zu färben.
- Die zuvor fixierten Proben dürfen nicht mehr verwendet werden.
- Es dürfen keine frischen MPB- oder HPC-A-Proben verwendet werden, die länger als 24 Stunden gelagert wurden.
- Es dürfen keine frischen Nabelschnurblutproben verwendet werden, die länger als 48 Stunden gelagert wurden.
- Geronnene oder verklumpte Proben sind zu verwerfen.
- Nach Abschluss der Erythrozyten-Lyse müssen die vorbereiteten Proben auf Eis gelagert werden. Frische MPB-, frische HPC-A- und frische Nabelschnurblut-Proben können innerhalb von 1 Stunde nach Abschluss der Erythrozyten-Lyse gemessen werden. Gefrorenes Nabelschnurblut sollte sofort nach Abschluss der Erythrozytenlyse gemessen werden.
- Vor der Färbung für die CD34-Zählung im ADAMII™ müssen die HPC-A-Produkte (in ACD oder ACD+Heparin entnommen), die MPB-Proben (in Na-Heparin entnommen) und die frischen Nabelschnurblutproben (in CPD entnommen) sowie die aufgetauten,

tiefgefrorenen Nabelschnurblutproben in EDTA-Antikoagulanröhrchen überführt werden, um die Zellverklumpung zu reduzieren.

- HPC-A-Probe: Bevor mit der Probenvorbereitung begonnen wird, muss die Anzahl der gesamten weißen Blutkörperchen (WBC) in der Probe auf unter 150.000 Zellen/ μ l eingestellt werden, indem die Probe mit 1X PBS verdünnt wird.
- IMPB-Probe: Nach Abschluss der RBC-Lyse eine vorbereitete Probe weiter verdünnen, wenn die Anzahl der gesamten weißen Blutkörperchen (WBC) in der ursprünglichen Probe über 35.000 Zellen/ μ l liegt, indem die vorbereitete Probe mit 1X RBC-Lysepuffer verdünnt wird.

9. VERFAHREN

Kalibrierung

Bei den in jedem Kit enthaltenen Kalibrierungsperlen für das ADAMIITM-Gerät handelt es sich um fluoreszierende Partikel mit spezifischen Größen und Fluoreszenzfarbstoffen, mit denen der Benutzer überprüfen kann, ob das ADAMIITM-Gerät in einem guten Zustand ist, was die optische Ausrichtung und die Fähigkeit, Bilder zu erfassen und zu analysieren, betrifft. Es wird empfohlen, die Kalibrierung regelmäßig oder mindestens einmal pro Woche durchzuführen. Detaillierte Anweisungen finden Sie in der Bedienungsanleitung für das ADAMIITM-Gerät.

Qualitätskontrolle

In Übereinstimmung mit der guten Laborpraxis und den Laborvorschriften wird die Durchführung einer zweistufigen Qualitätskontrolle des Zellmaterials (Verfahrenskontrolle) empfohlen. Diese Kontrollmaterialien sollten wie Patientenproben verarbeitet werden, um die Leistung des gesamten Analyseprozesses zu überwachen.

Jedes Labor sollte eigene Verfahren für die Durchführung von Qualitätskontrollen festlegen. Qualitätskontrollen sind nach denselben Verfahren wie Patientenproben vorzubereiten. Jedes Labor kann unter Berücksichtigung der folgenden Punkte selbst entscheiden, wann und wie oft Qualitätskontrollen durchzuführen sind:

- (1) mindestens einmal im Monat
- (2) beim Erhalt von ADAMII CD34-Kits aus einer neuen Charge
- (3) bei Einsatz eines neuen Bedieners
- (4) bei identifizierten Problemen mit dem ADAMII CD34-Gerät oder den Kits

(5) bei erkannten Problemen während des Transports oder der Lieferung der ADAMII CD34-Kits

(6) wenn dies durch die standardmäßigen QC-Verfahren des Labors erforderlich ist

Kommerzielle Kontrollen liefern festgelegte Werte für die absolute Anzahl der CD34+-Zellen und den prozentualen Anteil der CD34+-Zellen an den CD45+-Zellen. Kommerzielle Kontrollpräparate sind bei einigen Herstellern erhältlich. Die CD-Chex CD34-Kontrollen von Streck wurden umfangreich mit ADAMII CD34 getestet.

▪ Qualitätskontrollverfahren

- (1) Ein leeres Reagenzglas und den ADAMII™-Test-Reagenzträger für die Probenidentifizierung beschriften.
- (2) 20 µL des gut gemischten Kontrollmaterials in das leere Reagenzglas geben und 5 µL der ADAMII™-CD34 Reagenzlösung hinzufügen. Dann das Reagenzglas verschließen und durch Vortexen oder Fingerschnippen gut mischen.



Hinweis: Vortexen Sie das ADAMII™-CD34 Reagenz vor der Verwendung.

- (3) 20 Minuten lang im Dunkeln bei Raumtemperatur (66~77°F, 20~25°C) inkubieren.
- (4) Den separat mitgelieferten ADAMII™ Erythrozyten-Lysepuffer (10 Stk.) (für Kontrollmaterial) in einem neuen leeren Reagenzglas verdünnen, um einen einzigen Stück Erythrozyten-Lysepuffer als Kontrollmaterial herzustellen.



Hinweis: Der RBC-Lysepuffer (1 Stk.) als Kontrollmaterial sollte in ausreichender Menge für den täglichen Gebrauch vorbereitet werden. Für die Zubereitung wird 1 Teil des RBC-Lysepuffers (10 Stk.) als Kontrollmaterial mit 9 Teilen destilliertem ultrareinen Wasser verdünnt. Bei Raumtemperatur lagern und verwenden (66~77°F, 20~25°C).

- (5) 35 µL des Erythrozyten-Lysepuffers (1 Stk.) für das Kontrollmaterial in das Reagenzglas geben und 2 bis 3 Sekunden lang vortexen.
- (6) 10 Minuten lang im Dunkeln bei Raumtemperatur (66~77°F, 20~25°C) inkubieren.
- (7) Nach dem Vortexing des vorbereiteten Kontrollmaterials für einige Sekunden, 25 µL des gefärbten Kontrollmaterials auf den ADAMII™ Test-Reagenzträger geben.



Note: Achten Sie darauf, die Flüssigkeit langsam hinzuzufügen. Eine schnelle Injektion kann zum Überlaufen führen.

- (8) Die Probe 3 Minuten lang ruhen lassen, damit sich die Zellen setzen können.
- (9) Den mit der Probe bestückten ADAMII™ Test-Reagenzträger in das ADAMII™-Gerät einführen und als Probenotyp „Control“ (Kontrolle) auswählen.
- (10) Bitte lesen Sie das ADAMII-Benutzerhandbuch für die Durchführung von Messungen.

Verarbeitung der Proben

1. Vorbereitung

- HPC-A/MPB-Probe

- (1) Ein leeres Reagenzglas und den ADAMII™-Test-Reagenzträger für die Probenidentifizierung beschriften.
- (2) 20 µL einer gut gemischten Probe in das leere Reagenzglas geben und 5 µL der ADAMII™-CD34 Reagenzlösung hinzufügen. Dann das Reagenzglas verschließen und durch Vortexen oder Fingerschnippen gut mischen.



Hinweis: Vortexen Sie das ADAMII™-CD34 Reagenz vor der Verwendung.

- (3) 20 Minuten lang im Dunkeln bei Raumtemperatur (66~77°F, 20~25°C) inkubieren.
- (4) Den separat mitgelieferten ADAMII™ Erythrozyten-Lysepuffer (10 Stk.) (für Kontrollmaterial) in einem neuen leeren Reagenzglas verdünnen, um einen einzigen Stück Erythrozyten-Lysepuffer herzustellen.




Hinweis: Der RBC-Lysepuffer (1 Stk.) sollte in ausreichender Menge für den täglichen Gebrauch vorbereitet werden. Für die Zubereitung wird 1 Teil des RBC-Lysepuffers (10 Stk.) mit 9 Teilen destilliertem ultrareinen Wasser verdünnt. Bei Raumtemperatur lagern und verwenden (66~77°F, 20~25°C).


- (5) 35 µL (für MPB-Proben) oder 250 µL (für HPC-A-Proben) des Erythrozyten-Lysepuffers (1 Stk.) in das Röhrchen geben und 2 bis 3 Sekunden lang vortexen.
- (6) 10 Minuten lang im Dunkeln bei Raumtemperatur (66~77°F, 20~25°C) inkubieren.

- Frisches Nabelschnurblut / eingefrorenes Nabelschnurblut-Probe

- (1) Ein leeres Reagenzglas und den ADAMII™-Test-Reagenzträger für die Probenidentifizierung beschriften.
- (2) 50 µL einer gut gemischten Probe in das leere Reagenzglas geben und 5 µL der ADAMII™-CD34 Reagenzlösung hinzufügen. Dann das Reagenzglas verschließen und durch Vortexen oder Fingerschnippen gut mischen.

 **Hinweis:** Vortexen Sie das ADAMII™-CD34 Reagenz vor der Verwendung.

- (3) 20 Minuten lang im Dunkeln bei Raumtemperatur (66~77°F, 20~25°C) inkubieren.
- (4) Verdünnen Sie den ADAMIITM 10x RBC-Lysepuffer, der im Kit enthalten ist, in einem neuen leeren Röhrchen, um 1x RBC-Lysepuffer herzustellen.


 **Hinweis:** Der Lysepuffer (1 Stk.) sollte in ausreichender Menge für den täglichen Gebrauch vorbereitet werden. Für die Zubereitung wird 1 Teil des Lysepuffers (10 Stk.) mit 9 Teilen destilliertem Wasser verdünnt. Bei Raumtemperatur lagern und verwenden (66~77°F, 20~25°C).


- (5) 200 µL des Erythrozyten-Lysepuffers (1 Stk.) in das Reagenzglas geben und 2 bis 3 Sekunden lang vortexen.
- (6) 10 Minuten lang im Dunkeln bei Raumtemperatur (66~77°F, 20~25°C) inkubieren.

Probenart	Probe (µL)	ADAMII _CD34 Reagenzlösung (µL)	RBC Lysepuffer
Kontrollmaterial	20	5	35 (für Kontrollmaterial)
MPB	20	5	35
HPC-A	20	5	250
Nabelschnurblut (FCB, TFCB)	50	5	200

2. Testverfahren

- (1) 25 µL der gefärbten Probe auf den ADAMII™ Test-Reagenzträger geben.

 **Achtung:** Schütteln Sie das Röhrchen gründlich bei niedriger Geschwindigkeit, um es gut zu mischen, bevor Sie die vorbereitete Probe auf einen Test-Reagenzträger geben.

 **Achtung:** Achten Sie darauf, die Flüssigkeit langsam hinzuzufügen. Eine schnelle Injektion kann zum Überlaufen führen

- (2) Warten Sie 3 Minuten, damit sich die Zellen absetzen können.
- (3) Setzen Sie den beladenen ADAMII™ Test-Reagenzträger in das ADAMII™-Gerät ein und wählen Sie einen entsprechenden Probentyp aus.
- (4) Bitte lesen Sie das ADAMII™ Benutzerhandbuch für die Durchführung von Messungen.

10. HINWEISE ZUM VERFAHREN

- Um Fehler und Schwankungen bei der Probenvorbereitung zu minimieren, wird dringend empfohlen, die Technik des umgekehrten Pipettierens anzuwenden.
- Es wird dringend empfohlen, Proben, Reagenzien und Reagenzgläser bei jedem Schritt gut zu mischen.
- Das Labor muss seine eigenen CD34+ Lebensfähigkeitsanforderungen für jeden Probentyp festlegen.
- Vermeiden Sie Luftblasen.
- Fehlerhafte Messungen können auftreten, wenn die Röhrchen hellem Licht oder Sonnenlicht ausgesetzt sind.
- Es kann zu fehlerhaften Messungen kommen, wenn die vorbereiteten Proben nach Abschluss der Lyse der Erythrozyten nicht auf Eis gelagert werden oder wenn die vorbereiteten Proben vor der Messung länger als eine Stunde aufbewahrt wurden.
- Fixierte Proben sollten vermieden werden.
- Hämolytierte, geronnene oder verklumpte Proben sollten nicht verwendet werden.

11. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Sobald der mit der Probe beladene Test-Reagenzträger manuell in das ADAMII™-Gerät eingelegt und die Schaltfläche „Run sample“ (Probe testen) angeklickt wurde, führt das ADAMII™-Gerät alle Bilderfassungs- und

Analysevorgänge automatisch durch. Danach werden vier Zählergebnisse generiert und angezeigt: (1) lebensfähige CD34 (Zellen/ μ L), (2) lebensfähige CD45 (Zellen/ μ L), (3) CD34 insgesamt (Zellen/ μ L) und (4) CD45 insgesamt (Zellen/ μ L). Es werden auch der prozentuale Anteil der lebensfähigen CD34 an den lebensfähigen CD45 (%), die CD34-Viabilität (%) und die CD45-Viabilität (%) berechnet.

Erfassungsbereich


Der Erfassungsbereich ist wie folgt:

CD34: 1 bis 1000 Zellen/ μ L

12. LEISTUNGSMERKMALE

Vergleich der Methoden

Die Anzahl der lebensfähigen CD34+ [Zellen/ μ L], die Anzahl der lebensfähigen CD45+ [1000 Zellen/ μ L] und das Verhältnis von lebensfähigem CD34 zu lebensfähigem CD45 [%] wurden mit ADAM11™-CD34-Kits für mobilisierte periphere Blutproben (MPB in EDTA oder Na-Heparin) gemessen, Leukapherese-Proben (HPC-A, entnommen in ACD oder ACD+Heparin), frisches Nabelschnurblut (FCB, entnommen in CPD) und aufgetautes gefrorenes Nabelschnurblut (TFCB, entnommen in CPD und gelagert mit 10% DMSO und 1% Dextran 40) gemessen. Diese Ergebnisse wurden mit einem Prädikatstest (BD Stem Cell Enumeration Kit, verwendet in FACSCalibur oder FACSLytic) verglichen. Die Ergebnisse der beiden Methoden wurden mit Hilfe einer Regressionsanalyse (Steigung, Achsenabschnitt und R²) und 95 % Konfidenzintervallen verglichen.

 **Hinweis:** Die ADAM11™-CD34-Kits wurden für folgende Probenotypen qualifiziert: MPB, die in EDTA oder Na-Heparin gesammelt wurden, HPC-A, die in ACD oder ACD+Heparin gesammelt wurden, FCB, die in CPD gesammelt wurden, und TFCB, die in CPD gesammelt und mit 10% DMSO und 1% Dextran 40 gelagert wurden.

Regressionsanalyse

Tabelle 1. Regressionsanalyse des ADAMITM CD34-Kits im Vergleich zu einem Prädikatstest

	N	R ²	Steigung/95% CI	Achsenabschnitt/95 % CI
MPB (pooled-gesammelt)				
Lebensfähig CD34 (Zellen/ μ L)	248	0,99	0,997 (0,985 – 1,009)	0,317 (-0,017 – 0,641)
Verhältnis von lebensfähigem CD34 zu lebensfähigem CD45	248	0,99	1,000 (0,968 – 1,000)	0 (0 – 0,003)
Lebensfähige CD45 (1000 Zellen/ μ L)	248	0,99	1,018 (1,008 – 1,030)	0,111 (-0,072 – 0,249)
HPC-A (pooled)				
Lebensfähiges CD34 (Zellen/ μ L)	382	0,99	0,998 (0,989 – 1,007)	2,237 (-2,033 – 6,029)
Verhältnis von lebensfähigem CD34 zu lebensfähigem CD45	382	0,98	1,000 (0,983 – 1,007)	0,010 (0,006 – 0,013)
Lebensfähige CD45 (1000 Zellen/ μ L)	382	0,99	0,982 (0,972 – 0,992)	0,760 (0 – 1,495)
Frisches Nabelschnurblut (gepoolt)				
Lebensfähiges CD34 (Zellen/ μ L)	124	0,99	0,994 (0,980 – 1,009)	-0,115 (-0,725 – 0,316)
Verhältnis von lebensfähigem CD34 zu lebensfähigem CD45	124	0,99	1,033 (1,013 – 1,056)	-0,02 (-0,03 – -0,01)
Lebensfähige CD45 (1000 Zellen/ μ L)	124	0,98	0,945 (0,919 – 0,968)	0,222 (0,067 – 0,401)
Aufgetautes gefrorenes Nabelschnurblut (gepoolt)				
Lebensfähiges CD34 (Zellen/ μ L)	159	0,99	0,983 (0,964- 1,001)	0,519 (-0,080 – 1,210)
Verhältnis von lebensfähigem CD34 zu lebensfähigem CD45	159	0,96	0,995 (0,959 – 1,029)	-0,01 (-0,02 – 0,01)
Lebensfähige CD45 (1000 Zellen/ μ L)	159	0,95	0,993 (0,962 – 1,023)	0,203 (-0,029 – 0,571)

Regressionsdiagramme

Abbildung 1. Gepoolte Daten CD34 Zellen/ μ L

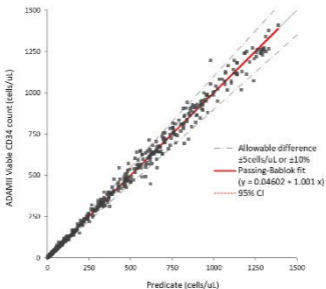


Abbildung 2. Gepoolte Daten prozentualer Anteil von CD34 an CD45

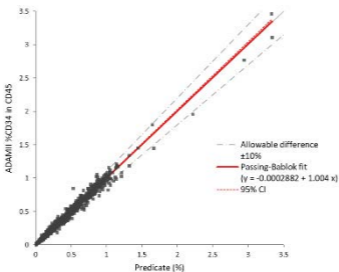
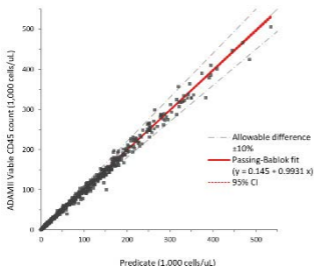


Abbildung 3. Gepoolte Daten CD45 (1000 Zellen/ μ L)



Präzision

- Studie 1

Die Bewertung der Testpräzision erfolgte im Forschungslabor von NanoEntek unter Verwendung von zwei Stufen von Kontrollmaterial mit Bereichen von:

- Medium : $22,3 < \text{CD34+ Anzahl (Zellen}/\mu\text{L}) \leq 36,3$
- Hoch : $86,8 < \text{CD34+ Anzahl (Zellen}/\mu\text{L}) \leq 126,8$

Es wurden zwei Wiederholungen in zwei separaten Durchläufen über 20 Tage auf Wiederholbarkeit (Intra-Assay-Präzision), Inter-Assay-Präzision, Inter-Tag-Präzision und Intra-Labor-Präzision untersucht.

Tabelle 2. Ergebnisse der Studie 1

Mittlere CD34-Zahl (Zellen/ μ L)	Wiederholbarkeit		Inter-Assay		Inter-Tag		Intra-Labor	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
31,614	2,987	9,4%	0,000	0,0%	2,187	6,9%	3,702	11,7%
106,220	5,557	5,2%	0,000	0,0%	6,537	6,2%	8,580	8,1%

- Studie 2

Eine weitere Einzelstandortstudie wurde im Forschungslabor von NanoEntek unter Verwendung einer niedrigeren Kontrolle (CD34+ Zählbereich: $9,7 < \text{CD34+ Anzahl (Zellen/}\mu\text{L)} \leq 17,7$) durchgeführt. Es wurden zwei Wiederholungen in zwei separaten Durchläufen pro Tag über 21 Tage untersucht.

Tabelle 3. Ergebnisse der Studie 2

Mittlere CD34-Zahl (Zellen/ μL)	Wiederholbarkeit		Inter-Assay		Inter-Tag		Intra-Labor	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
12,615	1,620	12,8%	1,006	8,0%	0,005	2,9%	1,942	15,4%
Prozentualer Anteil von CD34 an CD45 Mittelwert	Wiederholbarkeit		Inter-Assay		Inter-Tag		Intra-Labor	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
0,181	0,025	13,6%	0,016	8,6%	0,005	2,9%	0,030	16,4%
Mittlere CD34-Zahl (Zellen/ μL)	Wiederholbarkeit		Inter-Assay		Inter-Tag		Intra-Labor	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
6985,959	224,878	3,2%	140,769	2,0%	140,306	2,0%	300,120	4,3%

- Studie 3

Eine weitere Einzelstandortstudie wurde im Forschungslabor von NanoEntek unter Verwendung von 3 Reagenzienchargen, 3 Bedienern und 3 Geräten mit 3 Kontrollstufen durchgeführt.

Tabelle 4. Ergebnisse der Studie 3

	CD34-Zellen/ μL	CD34%	CD45-Zellen/ μL
Niedrig	9,2-17,2	0,13-0,27	5600-7600
Med.	25,6-39,6	0,39-0,59	5700-7700
Hoch	92,2-132,2	1,32-1,92	5900-7900

Tabelle 5(a) Ergebnisse der Studie 3 nach Gerät

Inter-Geräte

Probe	Mittelwert	N	Wiederholbarkeit		Inter-Tag	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)
Geringe Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	12,15	252	2,15	17,68	0,00	0,00
Geringer prozentualer Anteil von CD34 an CD45	0,18	252	0,03	18,08	0,00	0,00
Geringe Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6912,70	252	73,91	1,07	0,00	0,00
Mittlere Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	32,20	252	3,33	10,34	0,71	2,21
Mittlerer prozentualer Anteil von CD34 an CD45	0,46	252	0,05	10,90	0,01	2,46
Mittlere Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6922,56	252	56,08	0,81	29,45	0,43
Hohe Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	110,9	252	7,17	6,46	0,00	0,00
Hoher prozentualer Anteil von CD34 an CD45	1,61	252	0,10	6,41	0,01	0,41
Hohe Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6907,84	252	63,51	0,92	8,18	0,12

Tabelle 5(b). Ergebnisse der Studie 3 nach Gerät

Inter-Geräte

Probe	Mittelwert	N	Inter-Assay		Zwischen-Instrument		Reproduzierbarkeit	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Geringe Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	12,15	252	0,15	1,26	0,00	0,00	0,15	1,26
Geringer prozentualer Anteil von CD34 an CD45	0,18	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Geringe Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6912,70	252	15,06	0,22	0,00	0,00	15,06	0,22
Mittlere Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	32,20	252	0,44	1,37	0,46	1,43	0,95	2,96
Mittlerer prozentualer Anteil von CD34 an CD45	0,46	252	0,00	0,52	0,01	1,17	0,01	2,78
Mittlere Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6922,56	252	16,77	0,24	7,80	0,11	34,78	0,50
Hohe Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	110,99	252	0,00	0,00	0,24	0,21	0,24	0,21
Hoher prozentualer Anteil von CD34 an CD45	1,61	252	0,00	0,00	0,01	0,47	0,01	0,62
Hohe Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6907,84	252	7,45	0,11	2,43	0,04	11,33	0,16

Tabelle 6(a). Ergebnisse der Studie 3 nach Charge

Inter-Chargen

Probe	Mittelwert	N	Wiederholbarkeit		Inter-Tag	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)
Geringe Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	11,62	252	1,90	16,34	0,31	2,65
Geringer prozentualer Anteil von CD34 an CD45	0,17	252	0,03	16,92	0,00	2,76
Geringe Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6959,24	252	95,34	1,37	22,08	0,32
Mittlere Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	34,09	252	3,45	10,12	0,00	0,00
Mittlerer prozentualer Anteil von CD34 an CD45	0,50	252	0,05	10,44	0,00	0,00
Mittlere Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6875,40	252	112,45	1,64	27,11	0,39
Hohe Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	114,52	252	6,60	5,77	0,77	0,68
Hoher prozentualer Anteil von CD34 an CD45	1,66	252	0,10	6,04	0,01	0,47
Hohe Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6897,47	252	110,69	1,60	28,06	0,41

Tabelle 6(b). Ergebnisse der Studie 3 nach Charge

Inter-Chargen

Probe	Mittelwert	N	Inter-Assay		Inter-Chargen		Reproduzierbarkeit	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Geringe Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	11,62	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31	2,65
Geringer prozentualer Anteil von CD34 an CD45	0,17	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,76
Geringe Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6959,24	252	0,00	0,00	5,57	0,08	22,77	0,33
Mittlere Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	34,09	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mittlerer prozentualer Anteil von CD34 an CD45	0,50	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mittlere Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6875,40	252	36,11	0,53	26,61	0,39	52,41	0,76
Hohe Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	114,52	252	1,43	1,25	1,57	1,37	2,26	1,97
Hoher prozentualer Anteil von CD34 an CD45	1,66	252	0,02	1,34	0,03	1,61	0,04	2,15
Hohe Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6897,47	252	0,00	0,00	0,00	0,00	28,06	0,41

Tabelle 7(a). Ergebnisse der Studie 3 nach Bediener

Inter-Bediener

Probe	Mittelwert	N	Wiederholbarkeit		Inter-Tag	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)
Geringe Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	11,93	252	1,93	16,20	0,63	5,25
Geringer prozentualer Anteil von CD34 an CD45	0,17	252	0,03	16,28	0,01	5,61
Geringe Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6934,94	252	81,77	1,18	16,61	0,24
Mittlere Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	32,11	252	3,34	10,39	0,00	0,00
Mittlerer prozentualer Anteil von CD34 an CD45	0,46	252	0,05	10,91	0,00	0,00
Mittlere Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6911,14	252	70,35	1,02	0,00	0,00
Hohe Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	109,68	252	6,75	6,15	0,00	0,00
Hoher prozentualer Anteil von CD34 an CD45	1,58	252	0,10	6,08	0,00	0,00
Hohe Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6926,21	252	65,69	0,95	28,50	0,41

Tabelle 7(b). Ergebnisse der Studie 3 nach Bediener

Inter-Bediener

Probe	Mittelwert	N	Inter-Assay		Zwischen-Betreiber		Reproduzierbarkeit	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Geringe Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	11,93	252	0,09	0,74	0,00	0,00	0,63	5,30
Geringer prozentualer Anteil von CD34 an CD45	0,17	252	0,00	1,97	0,00	0,00	0,01	5,95
Geringe Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6934,94	252	0,00	0,00	11,60	0,17	20,26	0,29
Mittlere Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	32,11	252	0,00	0,00	0,42	1,32	0,42	1,32
Mittlerer prozentualer Anteil von CD34 an CD45	0,46	252	0,00	0,00	0,01	1,31	0,01	1,31
Mittlere Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6911,14	252	12,93	0,19	0,00	0,00	12,93	0,19
Hohe Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	109,68	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Hoher prozentualer Anteil von CD34 an CD45	1,58	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Hohe Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6926,21	252	16,11	0,23	1,24	0,02	32,76	0,47

- Studie 4

Eine Mehrstandortstudie wurde an 3 Standorten mit 3 Stufen von Kontrollmaterial durchgeführt.

Tabelle 8. Bereich des Kontrollmaterials

		Prozentualer Anteil (%) positiver Zellen	Erwarteter Bereich	Absolute Anzahl	Erwarteter Bereich
Niedrig	CD34-Zellen/ μ L	0,19	0,12~0,26	13,7	9,7~17,7
Med.	CD34-Zellen/ μ L	0,45	0,36~0,56	32,4	25,4~39,4
Hoch	CD34-Zellen/ μ L	1,52	1,22~1,82	106	86,0~126,0

Es wurden drei Wiederholungen in zwei separaten Durchläufen pro Tag über 5 Tage hinweg auf die Inter-Tag-, die Inter-Durchlauf- und die Inter-Standort-Reproduzierbarkeit sowie auf die absolute Reproduzierbarkeit (%CV) untersucht.

Tabelle 9(a). Ergebnisse der Studie 4

Probe	Mittelwert	N	Wiederholbarkeit		Inter-Tag	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)
Geringe Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	12	90	1,76	14,5	0,6	4,9
Geringer prozentualer Anteil von CD34 an CD45	0,2	90	0,025	14,4	0,008	4,3
Geringe Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6942	90	143,52	2,1	56,78	0,8
Mittlere Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	32	90	3,26	10,2	1,17	3,6
Mittlerer prozentualer Anteil von CD34 an CD45	0,5	90	0,046	10,0	0,015	3,3
Mittlere Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6960	90	122,0	1,8	9,50	0,1
Hohe Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	108	90	6,396	5,9	0,000	0,0
Hoher prozentualer Anteil von CD34 an CD45	1,6	90	0,097	6,2	0,025	1,6
Hohe Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6937	90	114,308	1,6	36,779	0,5

Tabelle 9(b). Ergebnisse der Studie 4

Probe	Mitte- wert	N	Inter-Assay		Inter-Standort		Reprodu- zierbarkeit	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Geringe Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	12	90	0,59	4,8	1,29	10,6	1,54	12,6
Geringer prozentualer Anteil von CD34 an CD45	0,2	90	0,009	4,9	0,018	10,1	0,021	12,0
Geringe Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6942	90	0,000	0,0	0,000	0,0	56,8	0,8
Mittlere Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	32	90	0,000	0,0	1,41	4,4	1,83	5,7
Mittlerer prozentualer Anteil von CD34 an CD45	0,5	90	0,000	0,0	0,020	4,3	0,025	5,5
Mittlere Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6960	90	0,000	0,0	24,20	0,3	25,99	0,4
Hohe Anzahl von CD34-Zellen/ μ L	108	90	2,948	2,7	6,862	6,3	7,469	6,9
Hoher prozentualer Anteil von CD34 an CD45	1,6	90	0,028	1,8	0,100	6,4	0,106	6,8
Hohe Anzahl von CD45-Zellen/ μ L	6937	90	40,102	0,6	0,000	0,0	54,414	0,8

- Studie 5

Es wurde eine Antikoagulanzen-Interferenzstudie durchgeführt, die keine statistisch oder klinisch relevanten Unterschiede zwischen den Probenotypen/Antikoagulanzen ergab.

Es wurden Einzelstandort-Tests an 3 Standorten mit 6 Stufen von klinischen HPC-A ACD-Proben durchgeführt. Es wurden drei Wiederholungen pro Probe in sechs Durchläufen innerhalb von 24 Stunden (Probenstabilitätsgrenze) von einer Reagenziencharge und einem Bediener/Gerät pro Standort getestet.

Zielkonzentrationen an lebensfähigen CD34-Zellen/ μ L:

- 17 CD34-Zellen/ μ L
- 35 CD34-zellen/ μ L
- 75 CD34-zellen/ μ L
- 100 CD34-zellen/ μ L
- 500 CD34-zellen/ μ L
- 1000 CD34-zellen/ μ L

Tabelle 10. Ergebnisse der Studie 5, Standort 1

Zielkonzentration an lebensfähigen CD34-Zellen/ μ L	Standort 1				
	Parameter	Gesamtzahl der CD34-Zellen/ μ L	Lebensfähige CD34-Zellen/ μ L	Lebensfähig CD45 zellen/ μ L	Lebensfähig CD34% von CD45
17 zellen/ μ L	Mittelwert	16,96	16,14	3270,04	0,50%
	SD	2,29	2,22	230,65	0,09%
	CV	13,51%	13,76%	7,05%	17,60%
35 zellen/ μ L	Mittelwert	37,03	36,78	6455,58	0,57%
	SD	3,34	3,23	443,08	0,05%
	CV	9,01%	8,78%	6,86%	9,49%
68 zellen/ μ L	Mittelwert	68,74	68,42	4648,85	1,48%
	SD	4,65	4,66	262,57	0,15%
	CV	6,76%	6,81%	5,65%	9,86%
100 zellen/ μ L	Mittelwert	92,90	92,69	5652,53	1,64%
	SD	5,36	5,39	234,42	0,12%
	CV	5,77%	5,82%	4,15%	7,25%
450 zellen/ μ L	Mittelwert	471,55	469,43	28077,02	1,67%
	SD	28,27	27,76	1762,08	0,08%
	CV	5,97%	5,91%	6,28%	4,95%
960 zellen/ μ L	Mittelwert	904,27	893,36	75292,90	1,18%
	SD	41,01	41,29	2274,17	0,06%
	CV	4,54%	4,62%	3,02%	4,93%

Tabelle 11. Ergebnisse der Studie 5, Standort 2

Zielkonzentration an lebensfähigen CD34-Zellen/ μ L	Standort 2				
	Parameter	Gesamtzahl der CD34- Zellen/ μ L	Lebensfähige CD34- Zellen/ μ L	Lebensfähig CD45 zellen/ μ L	Lebensfähig CD34% von CD45
17 zellen/ μ L	Mittelwert	17,05	16,91	3364,35	0,51%
	SD	2,09	2,05	271,88	0,06%
	CV	12,23%	12,15%	8,08%	12,14%
35 zellen/ μ L	Mittelwert	35,51	35,03	6494,72	0,54%
	SD	4,15	3,96	198,25	0,06%
	CV	11,68%	11,29%	3,05%	10,85%
68 zellen/ μ L	Mittelwert	66,53	66,41	4036,08	1,65%
	SD	4,55	4,49	210,81	0,17%
	CV	6,84%	6,76%	5,22%	10,58%
100 zellen/ μ L	Mittelwert	101,12	100,63	6650,66	1,52%
	SD	5,95	5,92	296,61	0,10%
	CV	5,89%	5,88%	4,46%	6,79%
450 zellen/ μ L	Mittelwert	442,64	440,06	28360,64	1,55%
	SD	26,32	24,89	829,78	0,10%
	CV	5,95%	5,66%	2,93%	6,48%
960 zellen/ μ L	Mittelwert	982,96	977,56	53124,13	1,84%
	SD	44,27	43,31	1566,41	0,06%
	CV	4,50%	4,43	2,95%	3,36%

Tabelle 12. Ergebnisse der Studie 5, Standort 3

Zielkonzentration an lebensfähigen CD34-Zellen/ μ L	Standort 3				
	Messparameter	Gesamtzahl der CD34- Zellen/ μ L	Lebensfähige CD34- Zellen/ μ L	Lebensfähig CD45 zellen/ μ L	Lebensfähig CD34% von CD45
17 zellen/ μ L	Mittelwert	17,07	16,76	3325,93	0,50%
	SD	2,09	2,42	170,27	0,06%
	CV	12,21%	14,47%	5,12%	12,19%
35 zellen/ μ L	Mittelwert	32,73	32,05	19447,80	0,54%
	SD	3,22	3,31	1393,72	0,06%
	CV	9,85%	10,32%	7,17%	10,55%
68 zellen/ μ L	Mittelwert	74,89	73,41	25862,38	0,28%
	SD	4,44	4,34	1400,05	0,01%
	CV	5,92%	5,91%	5,41%	5,00%
100 zellen/ μ L	Mittelwert	100,25	97,08	24993,61	0,39%
	SD	5,64	5,48	1066,57	0,02%
	CV	5,62%	5,65%	4,27%	5,74%
450 zellen/ μ L	Mittelwert	447,49	442,49	106235,8	0,40%
	SD	20,94	17,45	6060,55	0,03%
	CV	4,68%	4,13%	5,70%	7,21%
960 zellen/ μ L	Mittelwert	1005,11	1002,17	44158,78	2,27%
	SD	24,14	23,76	2044,63	0,10%
	CV	2,40%	2,37%	4,63%	4,28%

Linearität

Der ADAMITM-CD34-Kit zeigte Linearität über die angegebenen Bereiche:
1-1000 CD34-Zellen/ μ L

Interferenz

Die Auswirkungen von Substanzinterferenzen auf die Leistung des ADAMITM-CD34-Kits wurden gemäß dem CLSI EP7-A3-Protokoll bewertet. Die in der nachstehenden Tabelle aufgeführten Substanzen wurden getestet und erwiesen sich bei den in der Tabelle angegebenen Konzentrationen als nicht störend.

Stoffe	Konzentration
Hämoglobin	50 mg/dL
Gamma-Globulin	1 %
Bilirubin	10 mg/dL
Albumin	7,5 mg/mL
G-CSF	60 ng/mL
Intralipid	250 mg/dL
Zyklophosphamid	550 μ g/mL
Doxorubicin	0,25 μ g/mL
Paclitaxel	20 μ g/mL

Probenstabilität

Die Stabilität der gelagerten und gefärbten Proben wurde im Forschungslabor von NanoEntek unter Verwendung von Proben aus mobilisiertem peripherem Blut (MPB), Leukapherese (HPC-A), frischem Nabelschnurblut und aufgetautem eingefrorenem Nabelschnurblut untersucht. Die Proben wurden bei den folgenden Temperaturen gelagert.

Stabilitätstest	Probentyp	Temperatur
Gelagert	FCB	20 bis 25 °C (Raumtemperatur)
	MPB, HPC-A, TFCB	2 bis 8 °C
Gefärbt	MPB, HPC-A, FCB, TFCB	2 bis 8 °C

Basierend auf den Ergebnissen dieser Studie empfehlen wir, mit der Probenvorbereitung bei MPB und HPC-A innerhalb von 24 Stunden nach der Entnahme und bei frischem Nabelschnurblut innerhalb von 48 Stunden nach der Entnahme zu beginnen. Es wird empfohlen, gefärbte Proben auf feuchtem Eis aufzubewahren und die vorbereiteten Proben innerhalb von 1 Stunde nach Abschluss der Erythrozytenlyse zu analysieren. Eingefrorene Nabelschnurblutproben sind sofort nach dem Auftauen vorzubereiten und unmittelbar nach Abschluss der Erythrozytenlyse zu analysieren.

13. EINSCHRÄNKUNGEN


















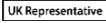


Das ADAMII-CD34 Kit ist für den Einsatz mit dem ADAMII™-Gerät vorgesehen. Weitere Informationen finden Sie in der Bedienungsanleitung für das ADAMII™-Gerät.

Das ADAMII™-CD34 Kit und Reagenzträger nach Ablauf des nicht mehr verwenden.

14. REFERENZEN

- 1) Mijovic A and Pamphilon D. Harvesting, processing and inventory management of peripheral blood stem cells. *Asian J. Transfus Sci.* 2007; 1:16-23
- 2) Powles R Mehta J, Kulkarni S, Treleaven J, Milar B, Marsden J, Shepherd V, Rowand A, Sirohi B, Tait D, Horton C, Long S, and Singhai S. Allogeneic blood and bone-marrow stem-cell transplantation in haematological malignant diseases: a randomized trial. *Lancet* 2000. 355: 1231-1237
- 3) Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med.* (1989) 321:1174-8. 10.1056/NEJM198910263211707
- 4) Nielsen JS and McNagny KM. Novel functions of the CD34 family. *J. CellScience* 2008; 121: 3683-3692.
- 5) Grigg AP, Roberts AW, Raunow H, Houghton S, Layton JE, Boyd AW, McGrath KM, Maher D. Optimizing dose and scheduling of filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor) for mobilization and collection of peripheral blood progenitor cells in normal volunteers. *Blood* 1995; 86: 4437-4445.
- 6) Demirel T, Buckner CD, Appelbaum FR, Petersen FB, Rowley S, Weaver CH, Lilleby K, Sanders J, Chauncey T, Storb R, et al. Rapid engraftment after autologous transplantation utilizing marrow and recombinant granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood stem cells in patients with acute myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 1995; 15: 915-922
- 7) Ho AD, Gluck S, Germond C, Sinoff C, Dietz G, Maruyama M, Corringham RE. Optimal timing for collections of blood progenitor cells following induction chemotherapy and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for autologous transplantation in advanced breast cancer. *Leukemia.* 1993; 7:1738-1746
- 8) Elliot C, Samson DM, Armitage S, Lyttelton MP, McGuigan D, Hargreaves R, Giles C, Abrahamson G, Abboudi Z, Brennan M, Kanfer EJ. When to harvest peripheral-blood stem cells after mobilization therapy: prediction of CD34-positive cell yield by preceding day CD34-positive concentration in peripheral blood. *J Clin Oncol.* 1996; 14: 970-973.
- 9) Shots R, Van Riet I, Damiaens S, Flament J, Lacor P, Staelens Y, Steenssens L, van Camp B, De Waele M. The absolute number of circulating CD34+ cells predicts the number of hematopoietic stem cells that can be collected by apheresis. *Bone Marrow Transplant.* 1996; 17: 509-515.
- 10) Yu J, Leisenring W, Bensinger W, Holmberg LA, Rowley SD. The predictive value of white cell or CD34 + cell count in the peripheral blood for timing apheresis and maximizing yield. *Transfusion.* 1999; 39: 442-450
- 11) Olivero S, Alario T, Ladaique P, Accoun M, Viens P, Blaise D, Chabannon C. CD34 + cell enumeration in peripheral blood and apheresis samples, using two laboratory diagnostic kits or an institutional protocol. *Bone Marrow Transplant.* 1999; 23: 387-394
- 12) Haein Yu, Jaeseun Yoo, Jung Si Hwang, Mikyung Kim, Kyung Hee Bae, Dong Wook Jekarl, Jong Hyun Oh, Ji Yeon Lee, Sunmi Han, Chanil Chung, Myungsun Kim, Yonggoo Kim. Enumeration of CD34-positive Stem Cells Using the ADAMI1 Image-based Fluorescence Cell Counter. *Annals of Laboratory Medicine.* 2019; 39: 388-395

Symbolerklärung

	Vorsicht, Warnung, siehe Begleitdokumente
	Katalognummer / Referenznummer
	Gebrauchsanweisung beachten. Bei Verwendung zur Angabe einer Anleitung zur Konsultation der elektronischen Gebrauchsanweisung (eIFU) wird dieses Symbol von einem eIFU-Indikator (eIFU-Website) begleitet und neben dem Symbol platziert
	Losnummer / Chargennummer
	Verwendbar bis JJJJ-MM-TT oder JJJJ-MM
	Hersteller
	CE-Kennzeichen
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	UK Konformitätsbewertung
	Temperaturbegrenzung
	Inhalt ausreichend für <n> Tests
	Nicht wiederverwenden
	Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist
	Nur gegen Rezept erhältlich HINWEIS: Nach US-Bundesgesetzen darf dieses Gerät nur von einem Arzt bzw. auf Anordnung eines Arztes verkauft werden.
	US-amerikanisches Unternehmen
	Europäische Gesellschaft
	In der Gemeinschaft niedergelassener Bevollmächtigter
	Bevollmächtigter im Vereinigten Königreich
	Bevollmächtigter in der Schweiz
	Bevollmächtigter in Brasilien

Überarbeitet 04/2025

ADAMII™-CD34 Kit

Sistema di conta delle cellule staminali ematopoietiche

REF CD34K-025

IVD Solo per uso diagnostico in vitro

1. USO PREVISTO

Il sistema ADAMII™ CD34 comprende il kit ADAMII™-CD34, progettato per l'uso con lo strumento ADAMII™, un contatore di cellule a fluorescenza da banco basato su immagini. Il Sistema ADAMII™ CD34 comprende il kit ADAMII™-CD34, progettato per l'uso con lo strumento ADAMII™, un contatore di cellule a fluorescenza da banco basato su immagini. Il Sistema ADAMII™ CD34 fornisce il conteggio delle cellule CD34+ vitali, cellule CD45+ vitali e calcola la percentuale di cellule CD34+ vitali sulle cellule CD45+ vitali. Il Sistema ADAMII™ CD34 può essere utilizzato per il sangue periferico mobilizzato (MPB) raccolto in Na-Eparina o EDTA, per le cellule progenitrici ematopoietiche - aferesi (HPC-A) raccolte in ACD o ACD+ Eparina, per il sangue fresco del cordone ombelicale (FCB) raccolto in CPD e per il sangue congelato scongelato del cordone ombelicale (TFCB) raccolto in CPD e conservato con il 10% di DMSO, l'1% di Destrano 40. Il sistema ADAMII™ CD34 è destinato all'uso in laboratori clinici e solo per uso diagnostico in vitro. Non è destinato all'uso nelle impostazioni di punti di assistenza.

2. SINTESI E SPIEGAZIONE DEL TEST

I trapianti di cellule staminali allogeniche mieloablativo e non mieloablativo sono opzioni curative per molti pazienti con neoplasie ematologiche maligne.

Il numero di trapianti autologhi e allogenici è aumentato costantemente negli ultimi due decenni. Le cellule staminali del sangue periferico mobilizzato (MPB) e le cellule progenitrici ematopoietiche in aferesi (HPC-A) sono utilizzate come fonte preferenziale di cellule staminali per il trapianto di cellule staminali ematopoietiche autologhe e allogeniche.^{1,2} Il sangue del cordone ombelicale (CB) è stato una fonte alternativa di cellule staminali ematopoietiche, soprattutto per i pazienti che non dispongono di un donatore adeguato di midollo o di sangue periferico mobilizzato.³

L'antigene CD34, una glicoproteina transmembrana a catena singola espressa sulle cellule progenitrici primitive del sangue e del midollo osseo, è un noto marcatore dei progenitori ematopoietici ed endoteliali.⁴ La misurazione accurata del numero di cellule CD34+ è molto importante nella pratica clinica, poiché i protocolli di trapianto di cellule ematopoietiche hanno requisiti specifici relativi alla dose, e l'effetto degli agenti mobilizzanti può essere diverso nei donatori normali e nei pazienti oncologici.^{5,6,7} La determinazione citometrica a flusso delle cellule CD34+ è diventata rapidamente lo strumento d'elezione per quantificare i progenitori ematopoietici circolanti, stabilire il loro numero minimo per garantire l'incisione e il timing ottimale dell'aferesi.^{8,9,10}

Nonostante l'affidabilità del test citometrico a flusso, sono state segnalate variazioni tra laboratori con i metodi citometrici a flusso per la determinazione della percentuale e del numero assoluto di cellule CD34+.^{11, 11} Il Sistema di conteggio delle cellule staminali CD34 ADAMII™ fornisce un conteggio accurato e preciso delle cellule CD34+ e dei rapporti tra cellule CD34+ e CD45+ con tempi rapidi e con un input minimo da parte dell'operatore.¹² L'elevato grado di precisione del Sistema di conteggio delle cellule staminali CD34 ADAMII™ è dovuto in parte alla semplificazione delle fasi di preparazione del campione e all'eliminazione delle fasi di lavaggio che possono causare la perdita di cellule e possono essere soggette a errori umani. Inoltre, il Sistema di conteggio delle cellule staminali CD34 ADAMII™ utilizza un software personalizzato che non richiede fasi di interpretazione successive alla misurazione.

3. PRINCIPIO DEL TEST

Il test ADAMII™-CD34 inizia con l'aggiunta di un volume appropriato di campione in una provetta e la miscelazione con un reagente contenente anticorpi marcati in fluorescenza e un colorante dell'acido nucleico. Gli anticorpi marcati in fluorescenza si legano specificamente ai marcatori CD34 e/o CD45 espressi sulle superfici cellulari. Il colorante dell'acido nucleico si lega specificamente al nucleo delle cellule morte. Nel kit ADAMII™-CD34, gli anticorpi CD34 (clone 8G12) riconoscono il marcatore CD34 espresso sulle cellule staminali ematopoietiche, gli anticorpi CD45 (clone 2D1) riconoscono il marcatore CD45 espresso sui leucociti.

Dopo aver incubato il campione con il reagente per 20 minuti, viene aggiunto il tampone di lisi degli RBC per lisare i globuli rossi. Dopo il completamento della lisi degli RBC, la preparazione del campione è completa e pronta per essere misurata. Il campione preparato viene caricato su un vetrino di plastica monouso e il vetrino caricato viene posizionato sul piatto di precisione dello strumento ADAMITM.

Nel software di ADAMITM CD34, l'utente deve regolare la messa a fuoco utilizzando i pulsanti di messa a fuoco manuale o il pulsante di messa a fuoco automatica. Dopo aver trovato una buona messa a fuoco, l'utente preme il pulsante "Run Sample" per avviare l'acquisizione delle immagini. Durante l'acquisizione delle immagini, il software ADAMITM CD34 le analizza per produrre i risultati delle misurazioni. Al termine dell'acquisizione delle immagini, i risultati finali vengono visualizzati sullo schermo e salvati automaticamente.

I risultati finali includono (1) Cellule CD34+ vitali/ μ L, (2) Cellule CD45+ vitali/ μ L, (3) Cellule CD34+ totali/ μ L, (4) Cellule CD45+ totali/ μ L, (5) Vitalità di CD34 (%), (6) Vitalità di CD45 (%), (7) Rapporto tra CD34+ vitali e CD45 vitali (%).

L'anticorpo CD34 riconosce una glicoproteina transmembrana a catena singola di 105-120 chilodalton (kDa). Il clone 8G12 riconosce un epitopo su CD34 diverso da quello riconosciuto dal clone My10; sono stati identificati almeno tre epitopi. L'anticorpo CD34 (clone 8G12) è composto da catene pesanti IgG1 di topo e catene leggere di tipo Kappa. L'eccitazione è a 496nm/ Emissione: 578nm.

4. MATERIALE FORNITO

Quantità	Contenuto	Numero di catalogo
1	Reagente ADAMI TM CD34 (25 test)	A34R-001
1	Tampone di lisi ADAMI TM 10X RBC (4 mL)	A34L-001
1	Microsfere di calibrazione ADAMI TM (25 test)	A2CB-001
1	Vetrino per il test ADAMI TM (confezione da 25 vetrini)	A2AS-025
1	Foglio illustrativo del kit ADAMI TM CD34	-
1	Tampone di lisi ADAMI TM 10X RBC (per materiale di controllo)	ACL-001



Nota: Il tampone di lisi RBC 10X per il materiale di controllo è offerto separatamente in una busta di alluminio.

La soluzione di un reagente (Reagente CD34) contiene:

- Anticorpo anti-CD34 coniugato con PE
- Anticorpo anti-CD45 coniugato con PerCP
- Colorante dell'acido nucleico

5. MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

- Colorante dell'acido nucleico
- Acqua a grado reagente (deionizzata)
- Provette per il prelievo di sangue EDTA o equivalenti
- Tubo per microcentrifuga
- 1X PBS (senza calcio e magnesio), se è necessaria la diluizione del campione.
- Pipette e punte (5 μ L, 20 μ L, 35 μ L, 100 μ L, 250 μ L, 1.000 μ L)
- Miscelatore a vortices
- Timer
- Secchio del ghiaccio riempito di ghiaccio tritato se non è disponibile un frigorifero nelle vicinanze
- Dispositivi di protezione individuale
- Contenitori per lo smaltimento dei rifiuti a rischio biologico.
- Materiale di controllo

6. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Solo per uso diagnostico in vitro
- Non utilizzare il reagente o il vetrino di analisi se si osserva un cambiamento nell'aspetto.
- Non decontaminare i campioni lisati con cloruro di ammonio con la candeggina.
- Per ottenere risultati accurati, è fondamentale aggiungere un volume preciso (20 μ L) del campione in una provetta vuota e mescolarlo con un volume preciso (5 μ L) di soluzione reagente CD34 contenente anticorpi e coloranti dell'acido nucleico.

* Utilizzare il metodo del pipettaggio inverso o una pipetta a spostamento positivo per aliquotare i campioni. Per ulteriori informazioni, consultare le istruzioni del produttore della pipetta.

- La soluzione lisante di cloruro di ammonio è nociva in caso di ingestione (R22) e irritante per gli occhi (R36). Indossare indumenti e guanti protettivi adeguati. Smaltire in conformità alle normative federali, statali e locali.
- Tutti i campioni biologici e i materiali che entrano in contatto con essi sono considerati a rischio biologico. Maneggiare come se fosse in grado di trasmettere un'infezione. Maneggiare come se fossero in grado di trasmettere un'infezione e smaltire con le dovute precauzioni in conformità alle normative federali, statali e locali. Non pipettare mai con la bocca.
- Quando si usa il tampone di lisi RBC, usarlo dopo la diluizione.
- Dopo aver utilizzato le microsfele di calibrazione, chiudere bene il tappo.

7. STOCCAGGIO E STABILITÀ

Tutti i materiali non aperti/aperti sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta se conservati alla temperatura specificata. La stabilità del reagente è stata dimostrata per 12 mesi dalla data di fabbricazione. La data di scadenza è chiaramente indicata sulla scatola, la busta, la provetta e il flacone del prodotto.

Materiale	Numero di catalogo
Conservazione a temperatura di frigorifero (2~8 °C)	
Reagente ADAMII™ CD34	A34R-001
Microsfele di calibrazione ADAMII™	A2CB-001
Tampone di lisi ADAMII™ 10X RBC (4 mL)	A34L-001
Tampone di lisi ADAMII™ 10X RBC (per materiale di controllo)	ACL-001
Conservazione a temperatura ambiente (2~25 °C)	
Vetrino per analisi ADAMII	A2AS-025

8. RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

- Conservare i campioni non diluiti a 2~8°C.
- Il laboratorio deve convalidare il campione preanalitico con le condizioni di conservazione.
- Colorare i campioni freschi (MPB e HPC-A) entro 24 ore dal prelievo. Colorare il sangue cordonale fresco entro 48 ore dalla raccolta. Colorare i campioni congelati subito dopo lo scongelamento.
- Non utilizzare campioni precedentemente fissati.
- Non utilizzare campioni freschi di MPB o HPC-A conservati per più di 24 ore.
- Non utilizzare campioni di sangue cordonale fresco conservati per più di 48 ore.
- Rifiutare i campioni coagulati o agglomerati.
- Al termine della lisi degli RBC, conservare i campioni preparati su del ghiaccio. I campioni di MPB fresco, HPC-A fresco e sangue del cordone ombelicale fresco possono essere misurati entro 1 ora dal completamento della lisi dei globuli rossi. Il sangue del cordone ombelicale congelato deve essere misurato immediatamente dopo il completamento della lisi degli RBC.
- Prima della colorazione per la conta di CD34 nell'ADAM12™, i prodotti HPC-A (raccolti in ACD o ACD+eparina), i campioni di MPB (raccolti in Na-eparina), e i campioni di sangue del cordone ombelicale fresco (raccolti in CPD) e i campioni di sangue del cordone ombelicale congelato scongelato devono essere trasferiti in provette con anticoagulante EDTA per ridurre l'aggregazione delle cellule.
- Campione HPC-A: Prima di iniziare la preparazione del campione, regolare il numero di globuli bianchi totali (WBC) nel campione in modo che sia inferiore a 150.000 cellule/ μ L, diluendo il campione con 1X PBS.
- Campione MPB: Dopo il completamento della lisi degli RBC, diluire ulteriormente un campione preparato se il numero totale di globuli bianchi (WBC) nel campione originale è superiore a 35.000 cellule/ μ L, diluendo il campione preparato con il tampone di lisi 1X RBC.

9. PROCEDURA

Calibrazione

Le microsferi di calibrazione per lo strumento ADAMII™ incluse in ogni kit sono particelle fluorescenti con dimensioni e coloranti di fluorescenza specifici, che consentono agli utenti di verificare se lo strumento ADAMII™ è in buone condizioni in termini di allineamenti ottici e capacità di acquisire immagini e analizzarle. Si raccomanda di eseguire la calibrazione regolarmente, o almeno una volta alla settimana. Per istruzioni complete, consultare il Manuale d'uso dello strumento ADAMII™.

Controllo qualità

In conformità con le Buone Pratiche di Laboratorio e le normative di laboratorio, si raccomanda di eseguire due livelli di materiale di controllo cellulare (controllo procedurale). Questi materiali di controllo devono essere trattati come campioni di pazienti per monitorare le prestazioni dell'intero processo analitico.

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire una propria prassi per l'esecuzione dei controlli di qualità. I controlli di qualità devono essere preparati seguendo le stesse procedure utilizzate per i campioni dei pazienti. Ogni laboratorio può determinare quando e con quale frequenza eseguire i controlli di qualità, tenendo conto dei seguenti casi:

- (1) almeno una volta al mese
- (2) al ricevimento di kit ADAMII CD34 appartenenti a un nuovo lotto
- (3) in caso di nuovo operatore
- (4) se si identificano problemi con lo strumento ADAMII CD34 o con i kit
- (5) se si riscontrano problemi durante la spedizione o la consegna dei kit ADAMII CD34
- (6) quando richiesto dalle procedure standard di CQ del laboratorio


I controlli commerciali forniscono valori stabiliti per la conta assoluta delle cellule CD34+ e la percentuale di cellule CD34+ sulle cellule CD45+. I controlli commerciali sono forniti da alcuni produttori. I controlli CD-Chex CD34 di Streck sono stati ampiamente testati con ADAMII CD34.

▪ **Procedura di controllo qualità**


- (1) Etichettare una provetta vuota e il vetrino per analisi ADAMII™ per l'identificazione del campione.
- (2) Trasferire 20 µL di materiale di controllo ben miscelato nella provetta vuota e aggiungere 5 µL di soluzione di Reagente ADAMII™ CD34. Quindi, tappare la provetta e mescolare bene agitando con il vortex o con le dita.

 **Nota:** Vortexare il Reagente ADAMII™ CD34 prima dell'uso.

- (3) Incubare per 20 minuti in uno spazio buio a temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C).
- (4) Diluire il tampone di lisi 10x RBC di ADAMII™ (per il materiale di controllo (fornito separatamente) in una nuova provetta vuota per preparare il tampone di lisi 1x RBC per il materiale di controllo.

 **Nota:** il tampone di lisi 1x RBC per il materiale di controllo deve essere preparato in quantità sufficiente per essere utilizzato ogni giorno. Preparare diluendo 1 parte di tampone di lisi 10x RBC per il materiale di controllo con 9 parti di acqua ultrapura. Conservare e utilizzare a temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C)

- (5) Aggiungere 35 µL di tampone di lisi 1x RBC per il materiale di controllo alla provetta e vortexare per 2-3 secondi.
- (6) Incubare per 20 minuti in uno spazio buio a temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C).
- (7) Non utilizzare il reagente o il vetrino di analisi se si osserva un cambiamento nell'aspetto. Dopo aver vortexato il materiale di controllo preparato per alcuni secondi, caricare 25 µL del materiale di controllo preparato su un vetrino di analisi ADAMII™.

 **Note:** Assicuratevi di aggiungere il fluido lentamente. L'iniezione rapida può causare traboccamenti.

- (8) Attendere 3 minuti in modo che le cellule si depositino.
- (9) Inserire il vetrino di analisi caricato ADAMII™ nello strumento ADAMII™ e selezionare "Control" come tipo di campione.
- (10) Per l'esecuzione delle misure, consultare il manuale d'uso di ADAMII.

Elaborazione del campione

1. Preparazione

- Campione HPC-A/MPB

- (1) Etichettare una provetta vuota e un vetrino per analisi ADAMII™ per l'identificazione del campione.
- (2) Trasferire 20 µL di campione ben miscelato nella provetta vuota e aggiungere 5 µL di soluzione di Reagente ADAMII™ CD34. Quindi, tappare la provetta e mescolare bene agitando con il vortex o con le dita.

- ⚠ Nota:** Vortexare il Reagente ADAMII™ CD34 prima dell'uso.
- (3) Incubare per 20 minuti in uno spazio buio a temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C).
 - (4) Diluire il tampone di lisi RBC 10x di ADAMII™ (per il materiale di controllo) fornito separatamente in una nuova provetta vuota per preparare il tampone di lisi 1x RBC.
- ⚠ Nota:** il tampone di lisi 1x RBC deve essere preparato in quantità sufficiente per essere utilizzato ogni giorno. Preparare diluendo 1 parte di tampone di lisi 10x RBC con 9 parti di acqua ultrapura.
- (5) Aggiungere 35 µL (per il campione MPB) o 250 µL (per HPC-A) di tampone di lisi 1X RBC alla provetta e vortexare per 2-3 secondi.
 - (6) Incubare per 20 minuti in uno spazio buio a temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C).
- Campione di sangue del cordone ombelicale fresco/sangue del cordone ombelicale congelato
- (1) Etichettare una provetta vuota e un vetrino per analisi ADAMII™ per l'identificazione del campione.
 - (2) Trasferire 50 µL di campione ben miscelato nella provetta vuota e aggiungere 5 µL di soluzione di Reagente ADAMII™ CD34. Quindi, tappare la provetta e mescolare bene agitando con il vortex o con le dita.
- ⚠ Nota:** Vortexare il Reagente ADAMII™ CD34 prima dell'uso.
- (3) Incubare per 20 minuti in uno spazio buio a temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C).
 - (4) Diluire il tampone di lisi 10x RBC ADAMII™ incluso nel kit in una nuova provetta vuota per preparare il tampone di lisi 1x RBC.
- ⚠ Nota:** il tampone di lisi 1x RBC deve essere preparato in quantità sufficiente per essere utilizzato ogni giorno. Preparare diluendo 1 parte di tampone di lisi 10x RBC con 9 parti di acqua ultrapura. Conservare e utilizzare a temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C)
- (5) Aggiungere 200 µL di tampone di lisi 1X RBC alla provetta e vortexare per 2-3 secondi.
 - (6) Incubare per 20 minuti in uno spazio buio a temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C).

Tipo di campione	Campione (µL)	ADAMII-CD34 reagente (µL)	Tampone di lisi RBC
Materiale di controllo	20	5	35 (per il materiale di controllo)
MPB	20	5	35
HPC-A	20	5	250
Sangue del cordone ombelicale (FCB, TFCB)	50	5	200

2. Procedura di analisi

- (1) Caricare 25 µL di campione preparato su un vetrino di analisi ADAMII™.



Attenzione: *Vortexare accuratamente la provetta, a bassa velocità, per mescolarla bene prima di caricare il campione preparato su un vetrino di analisi.*



Note: *Assicuratevi di aggiungere il fluido lentamente. L'iniezione rapida può causare traboccamenti.*

- (2) Attendere 3 minuti in modo che le cellule si depositino.
- (3) Inserire il vetrino di analisi caricato ADAMII™ nello strumento ADAMII™ e selezionare un tipo di campione pertinente.
- (4) Per l'esecuzione delle misure, consultare il manuale d'uso di ADAMII™

10. NOTE PROCEDURALI

- Per ridurre al minimo gli errori e le variazioni durante la preparazione del campione, si raccomanda di utilizzare la tecnica del pipettaggio inverso.
- Si raccomanda di mescolare bene i campioni, i reagenti e le provette in ogni fase.
- Il laboratorio deve stabilire i propri requisiti di vitalità delle CD34+ per ogni tipo di campione.
- Evitare sempre le bolle.
- Le misurazioni possono essere errate se le provette sono esposte a luci intense o ai raggi del sole.
- Le misurazioni effettuate possono risultare errate se i campioni preparati non sono stati conservati su del ghiaccio dopo il

completamento della lisi degli RBC o se i campioni preparati sono stati conservati per più di un'ora prima di essere misurati.

- I campioni fissi devono essere evitati.
- Evitare di utilizzare campioni emolizzati, coagulati o raggruppati.

11. CALCOLO DEI RISULTATI

Lo strumento ADAMII™ esegue automaticamente tutte le operazioni di acquisizione e analisi delle immagini una volta che il vetrino del campione caricato è stato inserito manualmente nello strumento ADAMII™ e si è fatto clic su "Run sample". Al termine, vengono generati e visualizzati quattro risultati della conta (1) CD34 vitali (cellule/ μ L), (2) CD45 vitali (cellule/ μ L), (3) CD34 totale (cellule/ μ L) e (4) CD45 totale (cellule/ μ L). Sono stati calcolati anche CD34 vitali di CD45 vitali (%), la vitalità di CD34 (%) e la vitalità di CD45 (%).

Campo di rilevamento


Il campo di rilevamento è il seguente:

CD34: 1~1000 cellule/ μ L

12. CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Confronto dei metodi

La conta delle CD34+ vitali [cellule/ μ L], la conta delle CD45+ vitali [1000 cellule/ μ L] e il rapporto tra CD34 vitali e CD45 vitali [%] sono stati misurati utilizzando i kit ADAMII™-CD34 per campioni di sangue periferico mobilizzato (MPB raccolti in EDTA o Na-eparina), campioni di leucaferesi (HPC-A raccolti in ACD o ACD+eparina), campioni di sangue del cordone ombelicale fresco (FCB raccolti in CPD) e campioni di sangue del cordone ombelicale congelato scongelato (TFCB raccolti in CPD e conservati con il 10% di DMSO e l'1% di Dextrano 40). Questi risultati sono stati confrontati con un test di riferimento (Kit di enumerazione delle cellule staminali BD utilizzato in FACSCalibur o FACSLytic). I risultati dei due metodi sono stati confrontati utilizzando l'analisi di regressione (pendenza, intersezione e R2) e gli intervalli di confidenza al 95%.

 **Nota:** i kit ADAMII™-CD34 sono stati qualificati per questi tipi di campioni: MPB raccolti in EDTA o Na-eparina, HPC-A raccolti in ACD o ACD+eparina, FCB raccolti in CPD e TFCB raccolti in CPD e conservati con il 10% di DMSO e l'1% di Dextrano 40.

Analisi di regressione

Tabella 1. Analisi di regressione del Kit ADAMITM CD34 rispetto a un test di riferimento

	N	R2	Pendenza/95% CI	Intersezione/95% CI
MPB (in pool)				
CD34 vitali (cellule/ μ L)	248	0,99	0,997 (0,985 – 1,009)	0,317 (-0,017 – 0,641)
Rapporto tra CD34 vitali e CD45 vitali	248	0,99	1,000 (0,968 – 1,000)	0 (0 – 0,003)
CD45 vitali (1000 cellule/ μ L)	248	0,99	1,018 (1,008 – 1,030)	0,111 (-0,072 – 0,249)
HPC-A (in pool)				
CD34 vitali (cellule/ μ L)	382	0,99	0,998 (0,989 – 1,007)	2,237 (-2,033 – 6,029)
Rapporto tra CD34 vitali e CD45 vitali	382	0,98	1,000 (0,983 – 1,007)	0,010 (0,006 – 0,013)
CD45 vitali (1000 cellule/ μ L)	382	0,99	0,982 (0,972 – 0,992)	0,760 (0 – 1,495)
Sangue cordonale fresco (in pool)				
CD34 vitali (cellule/ μ L)	124	0,99	0,994 (0,980 – 1,009)	-0,115 (-0,725 – 0,316)
Rapporto tra CD34 vitali e CD45 vitali	124	0,99	1,033 (1,013 – 1,056)	-0,02 (-0,03 – -0,01)
CD45 vitali (1000 cellule/ μ L)	124	0,98	0,945 (0,919 – 0,968)	0,222 (0,067 – 0,401)
Sangue cordonale congelato scongelato (in pool)				
CD34 vitali (cellule/ μ L)	159	0,99	0,983 (0,964- 1,001)	0,519 (-0,080 – 1,210)
Rapporto tra CD34 vitali e CD45 vitali	159	0,96	0,995 (0,959 – 1,029)	-0,01 (-0,02 – 0,01)
CD45 vitali (1000 cellule/ μ L)	159	0,95	0,993 (0,962 – 1,023)	0,203 (-0,029 – 0,571)

Grafici di regressione

Figura 1. Dati in pool CD34 cellule/ μ L

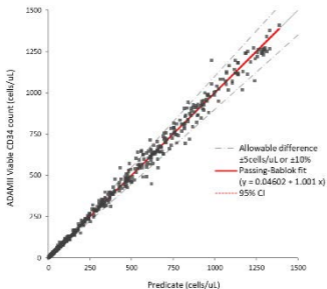


Figura 2. Dati in pool %CD34 di CD45

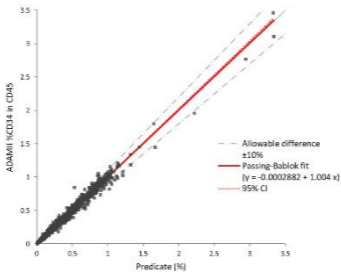
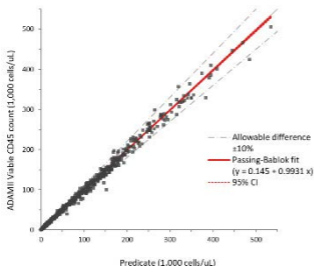


Figura 3. Dati in pool CD45 (1000 cellule/μL)



Precisione

- Studio 1

Le stime della precisione dell'analisi sono state valutate presso il laboratorio di ricerca di NanoEntek utilizzando due livelli di materiale di controllo con intervalli di:

- Med : 22,3 < conta delle CD34+ (cellule/μL) ≤ 36,3
- Alto : 86,8 < conta delle CD34+ (cellule/μL) ≤ 126,8

Due repliche su due serie separate per 20 giorni sono state valutate per la ripetibilità (all'interno della serie), la precisione tra le serie, tra i giorni e all'interno del laboratorio.

Tabella 2. Risultati dello Studio 1

Conta media di CD34 (cellule/μL)	Ripetibilità		Tra esecuzioni		Tra giorni		All'interno del laboratorio	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
31,614	2,987	9,4%	0,000	0,0%	2,187	6,9%	3,702	11,7%
106,220	5,557	5,2%	0,000	0,0%	6,537	6,2%	8,580	8,1%

- Studio 2

Un ulteriore studio in un unico sito è stato condotto presso il laboratorio di ricerca di NanoEntek utilizzando un controllo inferiore (intervallo di conteggio CD34+: $9,7 < \text{conteggio CD34+ (cellule/}\mu\text{L)} \leq 17,7$). Sono state valutate due repliche su due esecuzioni separate al giorno per 21 giorni.

Tabella 3. Risultati dello Studio 2

Conta media di CD34 (cellule/ μ L)	Ripetibilità		Tra esecuzioni		Tra giorni		All'interno del laboratorio	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
12,615	1,620	12,8%	1,006	8,0%	0,005	2,9%	1,942	15,4%
%CD34 di CD45 media	Ripetibilità		Tra esecuzioni		Tra giorni		All'interno del laboratorio	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
0,181	0,025	13,6%	0,016	8,6%	0,005	2,9%	0,030	16,4%
Conta media di CD45 (cellule/ μ L)	Ripetibilità		Tra esecuzioni		Tra giorni		All'interno del laboratorio	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
6985,959	224,878	3,2%	140,769	2,0%	140,306	2,0%	300,120	4,3%

- Studio 3

Un ulteriore studio in un unico sito è stato condotto presso il laboratorio di ricerca di NanoEntek utilizzando 3 lotti di reagenti, 3 operatori e 3 strumenti con 3 livelli di controllo.

Tabella 4. Risultati dello Studio 3

	Cellule CD34/ μ L	CD34%	Cellule CD45/ μ L
Basso	9,2-17,2	0,13-0,27	5600-7600
Med	25,6-39,6	0,39-0,59	5700-7700
Alto	92,2-132,2	1,32-1,92	5900-7900

Tabella 5(a) Risultati dello Studio 3 per strumento

Da strumento a strumento

Campione	Significa	N	Ripetibilità		Tra giorni	
			SD	%CV	SD	%CV
Basso cellule CD34/ μ L	12,15	252	2,15	17,68	0,00	0,00
Basso CD34% di CD45	0,18	252	0,03	18,08	0,00	0,00
Basso cellule CD45/ μ L	6912,70	252	73,91	1,07	0,00	0,00
Medio cellule CD34/ μ L	32,20	252	3,33	10,34	0,71	2,21
Medio CD34% di CD45	0,46	252	0,05	10,90	0,01	2,46
Medio cellule C045/ μ L	6922,56	252	56,08	0,81	29,45	0,43
Alto cellule CD34/ μ L	110,9	252	7,17	6,46	0,00	0,00
Alto CD34% di CD45	1,61	252	0,10	6,41	0,01	0,41
Alto cellule CD45/ μ L	6907,84	252	63,51	0,92	8,18	0,12

Tabella 5(b). Studio 3 Risultati per strumento

Da strumento a strumento

Campione	Significa	N	Tra esecuzioni		Tra strumenti		Riproducibilità	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Basso cellule CD34/ μ L	12,15	252	0,15	1,26	0,00	0,00	0,15	1,26
Basso CD34% di CD45	0,18	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Basso cellule CD45/ μ L	6912,70	252	15,06	0,22	0,00	0,00	15,06	0,22
Medio cellule CD34/ μ L	32,20	252	0,44	1,37	0,46	1,43	0,95	2,96
Medio CD34% di CD45	0,46	252	0,00	0,52	0,01	1,17	0,01	2,78
Medio cellule C045/ μ L	6922,56	252	16,77	0,24	7,80	0,11	34,78	0,50
Alto cellule CD34/ μ L	110,99	252	0,00	0,00	0,24	0,21	0,24	0,21
Alto CD34% di CD45	1,61	252	0,00	0,00	0,01	0,47	0,01	0,62
Alto cellule CD45/ μ L	6907,84	252	7,45	0,11	2,43	0,04	11,33	0,16

Tabella 6(a). Studio 3 Risultati per lotto**Da lotto a lotto**

Campione	Significa	N	Ripetibilità		Tra giorni	
			SD	%CV	SD	%CV
Basso cellule CD34/ μ L	11,62	252	1,90	16,34	0,31	2,65
Basso CD34% di CD45	0,17	252	0,03	16,92	0,00	2,76
Basso cellule CD45/ μ L	6959,24	252	95,34	1,37	22,08	0,32
Medio cellule CD34/ μ L	34,09	252	3,45	10,12	0,00	0,00
Medio CD34% di CD45	0,50	252	0,05	10,44	0,00	0,00
Medio cellule C045/ μ L	6875,40	252	112,45	1,64	27,11	0,39
Alto cellule CD34/ μ L	114,52	252	6,60	5,77	0,77	0,68
Alto CD34% di CD45	1,66	252	0,10	6,04	0,01	0,47
Alto cellule CD45/ μ L	6897,47	252	110,69	1,60	28,06	0,41

Tabella 6(b). Studio 3 Risultati per lotto**Da lotto a lotto**

Campione	Significa	N	Tra esecuzioni		Tra lotti		Riproducibilità	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Basso cellule CD34/ μ L	11,62	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31	2,65
Basso CD34% di CD45	0,17	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,76
Basso cellule CD45/ μ L	6959,24	252	0,00	0,00	5,57	0,08	22,77	0,33
Medio cellule CD34/ μ L	34,09	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Medio CD34% di CD45	0,50	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Medio cellule C045/ μ L	6875,40	252	36,11	0,53	26,61	0,39	52,41	0,76
Alto cellule CD34/ μ L	114,52	252	1,43	1,25	1,57	1,37	2,26	1,97
Alto CD34% di CD45	1,66	252	0,02	1,34	0,03	1,61	0,04	2,15
Alto cellule CD45/ μ L	6897,47	252	0,00	0,00	0,00	0,00	28,06	0,41

Tabella 7(a). Studio 3 Risultati per operatore

Da operatore a operatore

Campione	Significa	N	Ripetibilità		Tra giorni	
			SD	%CV	SD	%CV
Basso cellule CD34/ μ L	11,93	252	1,93	16,20	0,63	5,25
Basso CD34% di CD45	0,17	252	0,03	16,28	0,01	5,61
Basso cellule CD45/ μ L	6934,94	252	81,77	1,18	16,61	0,24
Medio cellule CD34/ μ L	32,11	252	3,34	10,39	0,00	0,00
Medio CD34% di CD45	0,46	252	0,05	10,91	0,00	0,00
Medio cellule C045/ μ L	6911,14	252	70,35	1,02	0,00	0,00
Alto cellule CD34/ μ L	109,68	252	6,75	6,15	0,00	0,00
Alto CD34% di CD45	1,58	252	0,10	6,08	0,00	0,00
Alto cellule CD45/ μ L	6926,21	252	65,69	0,95	28,50	0,41

Tabella 7(b). Studio 3 Risultati per operatore

Da operatore a operatore

Campione	Significa	N	Tra esecuzioni		Tra strumenti		Riproducibilità	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Basso cellule CD34/ μ L	11,93	252	0,09	0,74	0,00	0,00	0,63	5,30
Basso CD34% di CD45	0,17	252	0,00	1,97	0,00	0,00	0,01	5,95
Basso cellule CD45/ μ L	6934,94	252	0,00	0,00	11,60	0,17	20,26	0,29
Medio cellule CD34/ μ L	32,11	252	0,00	0,00	0,42	1,32	0,42	1,32
Medio CD34% di CD45	0,46	252	0,00	0,00	0,01	1,31	0,01	1,31
Medio cellule C045/ μ L	6911,14	252	12,93	0,19	0,00	0,00	12,93	0,19
Alto cellule CD34/ μ L	109,68	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Alto CD34% di CD45	1,58	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Alto cellule CD45/ μ L	6926,21	252	16,11	0,23	1,24	0,02	32,76	0,47

- Studio 4

È stato condotto uno studio multi-sito in 3 siti utilizzando 3 livelli di materiale di controllo.

Tabella 8. Gamma di materiali di controllo

		% cellule positive	Gamma previsto	Numero assoluto	Gamma previsto
Basso	Cellule CD34/ μ L	0,19	0,12~0,26	13,7	9,7~17,7
Med	Cellule CD34/ μ L	0,45	0,36~0,56	32,4	25,4~39,4
Alto	Cellule CD34/ μ L	1,52	1,22~1,82	106	86,0~126,0

Tre repliche su due corse separate al giorno per 5 giorni sono state valutate per la riproducibilità tra giorni, tra corse, tra siti e per la riproducibilità totale %CV.

Tabella 9(a). Risultati dello Studio 4

Campione	Significa	N	Ripetibilità		Tra giorni	
			SD	%CV	SD	%CV
Basso cellule CD34/ μ L	12	90	1,76	14,5	0,6	4,9
Basso CD34% di CD45	0,2	90	0,025	14,4	0,008	4,3
Basso cellule CD45/ μ L	6942	90	143,52	2,1	56,78	0,8
Medio cellule CD34/ μ L	32	90	3,26	10,2	1,17	3,6
Medio CD34% di CD45	0,5	90	0,046	10,0	0,015	3,3
Medio cellule CD45/ μ L	6960	90	122,0	1,8	9,50	0,1
Alto cellule CD34/ μ L	108	90	6,396	5,9	0,000	0,0
Alto CD34% di CD45	1,6	90	0,097	6,2	0,025	1,6
Alto cellule CD45/ μ L	6937	90	114,308	1,6	36,779	0,5

Tabella 9(b). Risultati dello Studio 4

Campione	Significa	N	Tra esecuzioni		Tra siti		Riproducibilità	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Basso cellule CD34/ μ L	12	90	0,59	4,8	1,29	10,6	1,54	12,6
Basso CD34% di CD45	0,2	90	0,009	4,9	0,018	10,1	0,021	12,0
Basso cellule CD45/ μ L	6942	90	0,000	0,0	0,000	0,0	56,8	0,8
Medio cellule CD34/ μ L	32	90	0,000	0,0	1,41	4,4	1,83	5,7
Medio CD34% di CD45	0,5	90	0,000	0,0	0,020	4,3	0,025	5,5
Medio cellule CD45/ μ L	6960	90	0,000	0,0	24,20	0,3	25,99	0,4
Alto cellule CD34/ μ L	108	90	2,948	2,7	6,862	6,3	7,469	6,9
Alto CD34% di CD45	1,6	90	0,028	1,8	0,100	6,4	0,106	6,8
Alto cellule CD45/ μ L	6937	90	40,102	0,6	0,000	0,0	54,414	0,8

- Studio 5

È stato condotto uno studio sull'interferenza degli anticoagulanti, che ha dimostrato l'assenza di differenze statisticamente o clinicamente rilevanti tra i tipi di campione e gli anticoagulanti.

Sono stati condotti test in un unico sito in 3 sedi utilizzando 6 livelli di campioni clinici di HPC-A ACD. Un lotto di reagente e un operatore/strumento per sito hanno testato 3 repliche per campione su 6 esecuzioni in 24 ore (limite di stabilità del campione).

Concentrazioni target di cellule CD34 vitali/ μ L:

- Cellule 17 CD34/ μ L
- Cellule 35 CD34/ μ L
- Cellule 75 CD34/ μ L
- Cellule 100 CD34/ μ L
- Cellule 500 CD34/ μ L
- Cellule 1000 CD34/ μ L

Tabella 10. Risultati dello Studio 5, Sito1

Concentrazione target di cellule CD34 vitali/ μ L	Sito 1				
	Parametri	Totale cellule CD34/ μ L	Cellule CD34 vitali/ μ L	Vitale CD45 cellule/ μ L	Vitale %CD34 di CD45
17 cellule/ μ L	Significa	16,96	16,14	3270,04	0,50%
	SD	2,29	2,22	230,65	0,09%
	CV	13,51%	13,76%	7,05%	17,60%
cellule 35/ μ L	Significa	37,03	36,78	6455,58	0,57%
	SD	3,34	3,23	443,08	0,05%
	CV	9,01%	8,78%	6,86%	9,49%
cellule 68/ μ L	Significa	68,74	68,42	4648,85	1,48%
	SD	4,65	4,66	262,57	0,15%
	CV	6,76%	6,81%	5,65%	9,86%
cellule 100/ μ L	Significa	92,90	92,69	5652,53	1,64%
	SD	5,36	5,39	234,42	0,12%
	CV	5,77%	5,82%	4,15%	7,25%
cellule 450/ μ L	Significa	471,55	469,43	28077,02	1,67%
	SD	28,27	27,76	1762,08	0,08%
	CV	5,97%	5,91%	6,28%	4,95%
cellule 960/ μ L	Significa	904,27	893,36	75292,90	1,18%
	SD	41,01	41,29	2274,17	0,06%
	CV	4,54%	4,62%	3,02%	4,93%

Tabella 11. Risultati dello Studio 5, Sito2

Concentrazione target di cellule CD34 vitali/ μ L	Sito 2				
	Parametri	Totale cellule CD34/ μ L	Cellule CD34 vitali/ μ L	Vitale CD45 cellule/ μ L	Vitale %CD34 di CD45
17 cellule/ μ L	Significa	17,05	16,91	3364,35	0,51%
	SD	2,09	2,05	271,88	0,06%
	CV	12,23%	12,15%	8,08%	12,14%
cellule 35/ μ L	Significa	35,51	35,03	6494,72	0,54%
	SD	4,15	3,96	198,25	0,06%
	CV	11,68%	11,29%	3,05%	10,85%
cellule 68/ μ L	Significa	66,53	66,41	4036,08	1,65%
	SD	4,55	4,49	210,81	0,17%
	CV	6,84%	6,76%	5,22%	10,58%
cellule 100/ μ L	Significa	101,12	100,63	6650,66	1,52%
	SD	5,95	5,92	296,61	0,10%
	CV	5,89%	5,88%	4,46%	6,79%
cellule 450/ μ L	Significa	442,64	440,06	28360,64	1,55%
	SD	26,32	24,89	829,78	0,10%
	CV	5,95%	5,66%	2,93%	6,48%
cellule 960/ μ L	Significa	982,96	977,56	53124,13	1,84%
	SD	44,27	43,31	1566,41	0,06%
	CV	4,50%	4,43	2,95%	3,36%

Tabella 12. Risultati dello Studio 5, Sito3

Concentrazione target di cellule CD34 vitali/ μ L	Sito 3				
	Misurazione parametri	Totale cellule CD34/ μ L	Cellule CD34 vitali/ μ L	Vitale CD45 cellule/ μ L	Vitale %CD34 di CD45
17 cellule/ μ L	Significa	17,07	16,76	3325,93	0,50%
	SD	2,09	2,42	170,27	0,06%
	CV	12,21%	14,47%	5,12%	12,19%
cellule 35/ μ L	Significa	32,73	32,05	19447,80	0,54%
	SD	3,22	3,31	1393,72	0,06%
	CV	9,85%	10,32%	7,17%	10,55%
cellule 68/ μ L	Significa	74,89	73,41	25862,38	0,28%
	SD	4,44	4,34	1400,05	0,01%
	CV	5,92%	5,91%	5,41%	5,00%
cellule 100/ μ L	Significa	100,25	97,08	24993,61	0,39%
	SD	5,64	5,48	1066,57	0,02%
	CV	5,62%	5,65%	4,27%	5,74%
cellule 450/ μ L	Significa	447,49	442,49	106235,8	0,40%
	SD	20,94	17,45	6060,55	0,03%
	CV	4,68%	4,13%	5,70%	7,21%
cellule 960/ μ L	Significa	1005,11	1002,17	44158,78	2,27%
	SD	24,14	23,76	2044,63	0,10%
	CV	2,40%	2,37%	4,63%	4,28%

Linearità

Il Kit ADAMII™-CD34 ha dimostrato linearità in tutti gli intervalli indicati:

1-1000 CD34 cellule/ μ L

Interferenza

Gli effetti dell'interferenza delle sostanze sulle prestazioni di ADAMII™-CD34 sono stati valutati secondo il protocollo CLSI EP7-A3. Le sostanze riportate nella tabella seguente sono state testate e hanno dimostrato di non avere alcuna interferenza alle concentrazioni specificate nella tabella.

Sostanza	Concentrazione
Emoglobina	50 mg/dL
Gamma globulina	1 %
Bilirubina	10 mg/dL
Albumina	7,5 mg/mL
G-CSF	60 ng/mL
Intralipide	250 mg/dL
Ciclofosfamide	550 μ g/mL
Doxorubicina	0,25 μ g/mL
Paclitaxel	20 μ g/mL

Stabilità del campione

La stabilità dei campioni conservati e dei campioni colorati è stata valutata presso il laboratorio di ricerca di NanoEntek utilizzando campioni di sangue periferico mobilizzato (MPB), di leucaferesi (HPC-A), di sangue cordonale fresco e di sangue cordonale congelato scongelato. I campioni sono stati conservati alle seguenti temperature.

Test di stabilità	Tipo di campione	Temperatura
Conservato	FCB	da 20 a 25°C (temperatura ambiente)
	MPB, HPC-A, TFCB	da 2 a 8°C
Colorato	MPB, HPC-A, FCB, TFCB	da 2 a 8°C

Sulla base dei risultati di questo studio, si raccomanda di iniziare la preparazione del campione entro 24 ore dalla raccolta per MPB e HPC-A ed entro 48 ore dalla raccolta per il sangue cordonale fresco. Si consiglia di conservare i campioni colorati su ghiaccio umido e di analizzare i campioni preparati entro 1 ora dal completamento della lisi di RBC. I campioni di sangue cordonale congelato devono essere preparati immediatamente dopo lo scongelamento e analizzati subito dopo il completamento della lisi di RBC.

13. LIMITAZIONI
















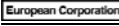

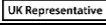


Il kit ADAMII™-CD34 è progettato per essere utilizzato sullo strumento ADAMII™. Per ulteriori informazioni, consultare il Manuale utente dello strumento ADAMII™.

Non utilizzare il kit ADAMII™-CD34 o i vetrini oltre la data di scadenza.

14. RIFERIMENTI

- 1) Mijovic A and Pamphilon D. Harvesting, processing and inventory management of peripheral blood stem cells. *Asian J. Transfus Sci.* 2007; 1:16-23
- 2) Powles R Mehta J, Kulkarni S, Treleaven J, Milar B, Marsden J, Shepherd V, Rowand A, Sirohi B, Tait D, Horton C, Long S, and Singhai S. Allogeneic blood and bone-marrow stem-cell transplantation in haematological malignant diseases: a randomized trial. *Lancet* 2000. 355: 1231-1237
- 3) Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med.* (1989) 321:1174-8. 10.1056/NEJM198910263211707
- 4) Nielsen JS and McNagny KM. Novel functions of the CD34 family. *J. CellScience* 2008; 121: 3683-3692.
- 5) Grigg AP, Roberts AW, Raunow H, Houghton S, Layton JE, Boyd AW, McGrath KM, Maher D. Optimizing dose and scheduling of filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor) for mobilization and collection of peripheral blood progenitor cells in normal volunteers. *Blood* 1995; 86: 4437-4445.
- 6) Demirel T, Buckner CD, Appelbaum FR, Petersen FB, Rowley S, Weaver CH, Lilleby K, Sanders J, Chauncey T, Storb R, et al. Rapid engraftment after autologous transplantation utilizing marrow and recombinant granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood stem cells in patients with acute myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 1995; 15: 915-922
- 7) Ho AD, Gluck S, Germond C, Sinoff C, Dietz G, Maruyama M, Corringham RE. Optimal timing for collections of blood progenitor cells following induction chemotherapy and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for autologous transplantation in advanced breast cancer. *Leukemia.* 1993; 7:1738-1746
- 8) Elliot C, Samson DM, Armitage S, Lyttelton MP, McGuigan D, Hargreaves R, Giles C, Abrahamson G, Abboudi Z, Brennan M, Kanfer EJ. When to harvest peripheral-blood stem cells after mobilization therapy: prediction of CD34-positive cell yield by preceding day CD34-positive concentration in peripheral blood. *J Clin Oncol.* 1996; 14: 970-973.
- 9) Shots R, Van Riet I, Damiaens S, Flament J, Lacor P, Staelens Y, Steenssens L, van Camp B, De Waele M. The absolute number of circulating CD34+ cells predicts the number of hematopoietic stem cells that can be collected by apheresis. *Bone Marrow Transplant.* 1996; 17: 509-515.
- 10) Yu J, Leisenring W, Bensinger WI, Holmberg LA, Rowley SD. The predictive value of white cell or CD34 + cell count in the peripheral blood for timing apheresis and maximizing yield. *Transfusion.* 1999; 39: 442-450
- 11) Olivero S, Alario T, Ladaique P, Accoun M, Viens P, Blaise D, Chabannon C. CD34 + cell enumeration in peripheral blood and apheresis samples, using two laboratory diagnostic kits or an institutional protocol. *Bone Marrow Transplant.* 1999; 23: 387-394
- 12) Haein Yu, Jaeun Yoo, Jung Si Hwang, Mikyung Kim, Kyung Hee Bae, Dong Wook Jekarl, Jong Hyun Oh, Ji Yeon Lee, Sunmi Han, Chanil Chung, Myungsun Kim, Yonggoo Kim. Enumeration of CD34-positive Stem Cells Using the ADAMI Imge-based Fluorescence Cell Counter. *Annals of Laboratory Medicine.* 2019; 39: 388-395

Glossario dei simboli

	Attenzione, avvertenza, Consultare i documenti di accompagnamento
	Numero di catalogo / Numero di riferimento
	Consultare le istruzioni per l'uso Un indicatore elettronico delle istruzioni per l'uso (eIFU) (indirizzo del sito web) può accompagnare il simbolo quando viene utilizzato per indicare un'istruzione di consultazione di un eIFU.
	Numero di lotto / Numero di partita
	Utilizzare da GG-MM-AAAA o MM-AAAA
	Società
	Marcatura CE
	<i>Dispositivo medico diagnostico in vitro</i>
	Valutazione di Conformità del Regno Unito
	Limitazione della temperatura
	Contiene quantità sufficiente per <n> test
	Non riutilizzare
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata
	Solo per uso su prescrizione medica ATTENZIONE: la legge federale (USA) limita la vendita di questo dispositivo da parte o su ordine di un medico.
	Società statunitense
	Società Europea
	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea
	Rappresentante autorizzato nel Regno Unito
	Rappresentante autorizzato in Svizzera
	Rappresentante autorizzato in Brasile

Revisato 04/2025

ADAMII™-CD34 Kit

Sistema de Recuento de Células Madre Hematopoyéticas

REF	CD34K-025
------------	-----------

IVD	Solo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>
------------	---

1. USO PREVISTO

El Sistema ADAMII™ CD34 incluye el Kit ADAMII™-CD34, que está diseñado para su uso con el instrumento ADAMII™, un contador celular de fluorescencia de sobremesa basado en imágenes. El Sistema ADAMII™ CD34 proporciona la enumeración de células CD34+ viables, células CD45+ viables y calcula el porcentaje de células CD34+ viables de las células CD45+ viables. El sistema ADAMII™ CD34 puede utilizarse para sangre periférica movilizada (MPB) recogida en Na-Heparina o EDTA, aféresis de células progenitoras hematopoyéticas (HPC-A) recogida en ACD o ACD+ Heparina, sangre de cordón umbilical fresca (FCB) recogida en CPD, y sangre de cordón umbilical congelada descongelada (TFCB) recogida en CPD y almacenada con 10% DMSO, 1% Dextrano 40. El sistema ADAMII™ CD34 está diseñado para su uso en laboratorios clínicos, y únicamente para diagnóstico *in vitro*. No está pensado para su uso en centros de atención médica.

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

Los trasplantes alogénicos mieloablativos y no mieloablativos de células madre son opciones curativas para muchos pacientes con neoplasias hematológicas. El número de trasplantes autólogos y alogénicos no ha dejado de aumentar en las dos últimas décadas. Las células madre de sangre periférica movilizada (MPB) y la aféresis de células progenitoras

hematopoyéticas (HPC-A) se utilizan como fuente preferente de células madre para el trasplante autólogo y alogénico de células madre hematopoyéticas.^{1,2} La sangre del cordón umbilical (SCU) ha sido una fuente alternativa de células madre hematopoyéticas, especialmente para pacientes sin un donante apropiado de médula, o sangre periférica movilizada.³

El antígeno CD34, una glicoproteína transmembrana de cadena simple que se expresa en las células progenitoras primitivas de la sangre y de la médula ósea, es un marcador bien conocido de progenitores hematopoyéticos y endoteliales.⁴ La medición precisa del número de células CD34+ es muy importante en la práctica clínica, ya que los protocolos de trasplante hematopoyético tienen requisitos de dosis específicos y el efecto de los agentes movilizadores puede ser diferente en donantes normales y en pacientes con cáncer.^{5,6,7} La determinación por citometría del flujo de las células CD34+ se ha convertido rápidamente en la herramienta de elección para cuantificar los progenitores hematopoyéticos circulantes, para establecer su número mínimo que garantice el injerto, y el momento óptimo de la aféresis.^{8,9,10}

A pesar de la fiabilidad del ensayo de citometría de flujo, se han observado variaciones entre laboratorios con los métodos de citometría de flujo para determinar el porcentaje y el número absoluto de células CD34+.¹¹ El sistema de recuento de células madre CD34 ADAMII™ proporciona un recuento exacto y preciso de células CD34+ y relaciones de células CD34+ y CD45+ con un tiempo de respuesta rápido y una intervención mínima del operador.¹² El alto grado de precisión del Sistema de Recuento de Células Madre CD34 ADAMII™ se debe en parte a la simplificación de los pasos de preparación de la muestra y a la eliminación de los pasos de lavado que pueden causar la pérdida de células y podrían ser propensos a errores humanos. Además, el Sistema de Recuento de Células Madre ADAMII™ CD34 utiliza un software personalizado que no requiere pasos de interpretación posteriores a la medición.

3. PRINCIPIO DEL ENSAYO

El ensayo ADAMII™-CD34 comienza con la adición de un volumen apropiado de una muestra a un tubo de Prueba y la mezcla con reactivo que contiene anticuerpos marcados con fluorescencia y colorante de tinción de ácidos nucleicos. Los anticuerpos marcados con fluorescencia se unen específicamente a los marcadores CD34 y/o CD45 expresados en las superficies celulares. El colorante de tinción de ácido nucleico se une específicamente al núcleo de las células muertas. En el Kit ADAMII™-CD34, los anticuerpos CD34 (clon 8G12) reconocen el marcador CD34 expresado en las células madre hematopoyéticas, los anticuerpos CD45 (clon 2D1) reconocen el marcador CD45 expresado en los leucocitos.

Después de incubar una muestra con el reactivo durante 20 minutos, se añade tampón de lisis de glóbulos rojos para lisar los glóbulos rojos. Una vez completada la lisis de los glóbulos rojos, la preparación de la muestra está completa y lista para ser medida. La muestra preparada se carga en un portaobjetos de plástico desechable y el portaobjetos cargado se coloca en la platina de precisión del instrumento ADAMII™.

En el software ADAMII™ CD34, se espera que el usuario ajuste el enfoque utilizando los botones de enfoque manual o el botón de enfoque automático. Una vez que se han encontrado buenos enfoques, el usuario pulsa el botón «Run Sample» para iniciar la adquisición de imágenes. Mientras se toman las imágenes, el software ADAMII™ CD34 analiza las imágenes para producir resultados de medición. Una vez completada la adquisición de imágenes, los resultados finales se mostrarán en pantalla y se guardarán automáticamente.

Los resultados finales incluyen (1) Células CD34+ viables/ μL , (2) Células CD45+ viables/ μL , (3) Células CD34+ totales/ μL , (4) Células CD45+ totales/ μL , (5) Viabilidad CD34 (%), (6) Viabilidad CD45 (%), (7) relación entre CD34+ viables y CD45 viables (%).

CD34 antibody recognizes a 105-120-kilodalton (kDa) single-chain transmembrane glycoprotein. Clone 8G12 recognizes an epitope on CD34 distinct from the one recognized by clone My10; at least three epitopes have been identified. El anticuerpo CD34 (clon 8G12) está compuesto por cadenas pesadas IgG1 de ratón y cadenas ligeras kappa. La excitación es a 496nm/ Emisión: 578nm.

4. MATERIAL SUMINISTRADO

Cantidad	Contenido	Número de catálogo
1	Reactivo ADAMII™ CD34 (25 Pruebas)	A34R-001
1	Tampón de Lisis ADAMII™ 10X RBC (4 mL)	A34L-001
1	Micro-esferas de Calibración ADAMII™ (25 Pruebas)	A2CB-001
1	Portaobjetos de Ensayo ADAMII™ (Un paquete de 25 unidades)	A2AS-025
1	Kit de Prospecto ADAMII™ CD34	-
1	Tampón de lisis de glóbulos rojos ADAMII™ 10X (para material de control)	ACL-001



Nota: El tampón de lisis 10X RBC para material de control se ofrece por separado en una bolsa de aluminio.

Una solución de Reactivo CD34 contiene:

- Anticuerpo anti-CD34 conjugado con PE
- Anticuerpo anti-CD45 conjugado con PerCP
- Colorante de tinción de ácidos nucleicos

5. MATERIALES NECESARIOS, PERO NO PROPORCIONADOS

- Agua de grado reactivo (desionizada)
- Tubos de extracción de sangre con EDTA o equivalente
- Tubo de microcentrífuga
- 1X PBS (sin calcio ni magnesio) si es necesaria la dilución de la muestra.
- Pipetas y puntas de pipeta (5 µl, 20 µl, 35 µl, 100 µl, 250 µl, 1.000 µl)
- Mezclador vórtex
- Temporizador
- Cubitera llena de hielo picado si no se dispone de un frigorífico cerca
- Equipo de protección personal
- Contenedores para la eliminación de residuos de riesgo biológico.
- Material de control

6. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Solo para uso diagnóstico in vitro
- No utilice el reactivo ni el portaobjetos de ensayo si observa algún cambio de aspecto.
- No descontaminar las muestras lisadas de cloruro de amonio con lejía.
- Para obtener resultados exactos, es fundamental añadir un volumen preciso (20µL) de la muestra a un tubo vacío, y mezclarlo con un volumen preciso (5µL) de solución reactiva CD34 que contenga anticuerpos y tinciones de ácidos nucleicos.

** Utilice el método de pipeteo inverso o una pipeta de desplazamiento positivo para alicuotar las muestras. Consulte las instrucciones del fabricante de la pipeta para obtener más información.*

- La solución lisante de cloruro amónico es nociva si se ingiere (R22), e irritante para los ojos (R36). Llevar ropa de protección, gafas y

guantes adecuados. Desechar de acuerdo con la normativa federal, estatal y local.

- Todas las muestras biológicas y los materiales que entran en contacto con ellas se consideran riesgos biológicos. Manipular como si pudiera transmitir una infección. Manipúlelo como si fuera capaz de transmitir una infección y deséchelo con las precauciones adecuadas de acuerdo con la normativa federal, estatal y local. No pipetear nunca con la boca.
- Cuando utilice el tampón de lisis de glóbulos rojos, utilícelo después de la dilución
- Después de utilizar las micro-esferas de calibración, cierre bien el tapón

7. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Todos los materiales sin abrir/abiertos son estables hasta la fecha de caducidad que figura en la etiqueta, cuando se almacenan a la temperatura especificada. Se ha demostrado la estabilidad del reactivo durante 12 meses a partir de la fecha de fabricación. La fecha de caducidad está claramente indicada en la caja, la bolsa, el tubo y el frasco del producto.

Material	Número de catálogo
Almacenar a temperatura de refrigerador (2~8 °C)	
Reactivo ADAMII™ CD34	A34R-001
Micro-esferas de calibración ADAMII™	A2CB-001
Tampón de Lisis ADAMII™ 10X RBC (4 mL)	A34L-001
Tampón de lisis de glóbulos rojos ADAMII™ 10X (para material de control)	ACL-001
Almacenar a temperatura ambiente (2~25 °C)	
Portaobjetos de ensayo ADAMII	A2AS-025

8. RECOGIDA Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS

- Conservar las muestras sin diluir a 2~8°C.
- El laboratorio debe validar la muestra preanalítica con las condiciones de almacenamiento
- Teñir las muestras frescas (MPB y HPC-A) en las 24 horas siguientes a la recogida. Teñir la sangre de cordón umbilical fresca en las 48 horas siguientes a la recogida. Teñir las muestras congeladas inmediatamente después de la descongelación.
- No utilice muestras previamente fijadas.
- No utilice muestras frescas de MPB o HPC-A que hayan estado almacenadas durante más de 24 horas.
- No utilice muestras de sangre de cordón umbilical fresca que hayan estado almacenadas durante más de 48 horas.
- Rechazar las muestras coaguladas o aglutinadas.
- Una vez completada la lisis de los glóbulos rojos, conservar las muestras preparadas en hielo. Las muestras frescas de MPB, HPC-A y sangre de cordón umbilical fresca pueden medirse en el plazo de 1 hora tras completar la lisis de los glóbulos rojos. La sangre de cordón umbilical congelada debe medirse inmediatamente después de completar la lisis de los glóbulos rojos.
- Antes de la tinción para el recuento de CD34 en el ADAM11™, los productos HPC-A (recogidos en ACD o ACD+Heparina), las muestras MPB (recogidas en Na-Heparina) y las muestras de sangre de cordón umbilical fresca (recogidas en CPD) y las muestras de sangre de cordón umbilical congelada necesitan ser transferidas a tubos anticoagulantes con EDTA para reducir la aglutinación celular.
- Muestra HPC-A: Antes de iniciar la preparación de una muestra, ajuste el número de glóbulos blancos totales (WBC) en una muestra para que sea inferior a 150.000 células/ μ L diluyendo la muestra con 1X PBS.
- Muestra MPB: Una vez completada la lisis de glóbulos rojos, diluya aún más una muestra preparada si el número de glóbulos blancos totales (WBC) en la muestra original es superior a 35.000 células/ μ L diluyendo la muestra preparada con tampón de lisis de glóbulos rojos 1X.

9. PROCEDIMIENTO

Calibración

Las Perlas de Calibración para el instrumento ADAMII™ incluidas en cada kit son partículas fluorescentes con tamaños específicos y colorantes de fluorescencia, que permiten a los usuarios verificar si el instrumento ADAMII™ está en buenas condiciones en términos de alineaciones ópticas y capacidades de adquisición de imágenes y análisis de las mismas. Se recomienda realizar la calibración con regularidad, o al menos una vez a la semana. Consulte el Manual del usuario del instrumento ADAMII™ para obtener instrucciones completas.

Control de Calidad

De acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio y la normativa de laboratorios, se recomienda utilizar dos niveles de material de control celular (control de procedimiento). Estos Materiales de control deben procesarse como muestras de pacientes para supervisar el rendimiento de todos los procesos analíticos.


Cada laboratorio debe establecer su propia práctica para realizar controles de calidad. Los controles de calidad deben prepararse siguiendo los mismos procedimientos que para las muestras de pacientes. Cada laboratorio puede determinar cuándo o con qué frecuencia realizar controles de calidad, teniendo en cuenta lo siguiente:

- (1) al menos una vez al mes
- (2) al recibir kits ADAMII CD34 de un nuevo lote
- (3) cuando hay un nuevo operador
- (4) cuando se identifiquen problemas en el instrumento, o los kits ADAMII CD34
- (5) cuando se detecten problemas durante el envío o la entrega de los kits ADAMII CD34
- (6) cuando lo exija los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio.


Los controles comerciales proporcionan valores establecidos para los recuentos absolutos de células CD34+ y el porcentaje de células CD34+ respecto a las células CD45+. Algunos fabricantes ofrecen controles comerciales. Los controles Streck CD-Chex CD34 han sido probados ampliamente con ADAMII CD34".

▪ Procedimiento de control de calidad

- (1) Etiquete un tubo vacío y un portaobjetos de ensayo ADAMII™.
- (2) Transferir 20 µL de material de control bien mezclado al tubo vacío y añadir 5 µL de solución de reactivo ADAMII™ CD34. A continuación, tapar el tubo y mezclar bien mediante vórtex, o con el dedo.

 **Nota:** Agitar en vórtex el reactivo ADAMII™ CD34 antes de utilizarlo.

- (3) Incubar durante 20 minutos en un espacio oscuro a temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C).
- (4) Diluir el tampón de lisis de glóbulos rojos ADAMII™ 10x para material de control (se suministra por separado) en un nuevo tubo vacío para preparar tampón de lisis de glóbulos rojos 1x para material de control.

 **Nota:** El tampón de lisis de glóbulos rojos 1x para material de control debe prepararse en cantidad suficiente para su uso diario. Preparar diluyendo 1 parte de tampón de lisis de glóbulos rojos 10x para material de control con 9 partes de agua ultrapura. Almacenar y usar a temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C).

- (5) Añadir 35 µL de tampón de lisis 1x RBC al tubo, para material de control, y agitar en el vórtex durante 2-3 segundos.
- (6) Incubar durante 10 minutos en un espacio oscuro a temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C).
- (7) Después de agitar en vórtex el Material de control preparado durante unos segundos, cargue 25 µl del Material de control preparado en un Portaobjetos de Ensayo ADAMII™ .

 **Nota:** Añada el fluido lentamente. La inyección rápida puede causar derrames.


- (8) Espere 3 minutos para que las células se asienten.
- (9) Inserte el portaobjetos ADAMII™ cargado en el instrumento ADAMII™ y seleccione «Control» como tipo de muestra.
- (10) Consulte el manual del usuario de ADAMII para realizar las mediciones.

Tratamiento de las muestras


1. Preparación

- Espécimen HPC-A/MPB

- (1) Etiquete un tubo vacío y un portaobjetos del ensayo ADAMII™ para la identificación de la muestra.
- (2) Transfiera 20 µL de una muestra bien mezclada al tubo vacío y añada 5 µL de solución de reactivo ADAMII™ CD34. A continuación, tapar el tubo y mezclar bien mediante vórtex, o con el dedo.

 **Nota:** Agitar en vórtex el reactivo ADAMII™ CD34 antes de utilizarlo.


- (3) Incubar durante 20 minutos en un espacio oscuro a temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C).
- (4) Diluir el tampón de lisis de RBC ADAMII™ 10x (para material de control) que se suministra por separado en un nuevo tubo vacío para preparar un tampón de lisis de glóbulos rojos 1x.

 **Nota:** El tampón de lisis de glóbulos rojos 1x debe prepararse en cantidad suficiente para su uso diario. Preparar diluyendo 1 parte de tampón de lisis de glóbulos rojos 10x con 9 partes de agua ultrapura. Almacenar y usar a temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C).

- (5) Añadir 35 µl (para muestra MPB) o 250 µl (para HPC-A) de tampón de lisis 1X RBC al tubo, y agitar durante 2-3 segundos.
- (6) Incubar durante 10 minutos en un espacio oscuro a temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C).

- Espécimen de Sangre de Cordón Umbilical Fresca / Sangre de Cordón Umbilical Congelada

- (1) Etiquete un tubo vacío y un portaobjetos del ensayo ADAMII™ para la identificación de la muestra.
- (2) Transfiera 50 µL de una muestra bien mezclada al tubo vacío y añada 5 µL de solución de reactivo ADAMII™ CD34. A continuación, tapar el tubo y mezclar bien mediante vórtex, o con el dedo.

 **Nota:** Agitar el ADAMII™ CD34 en el Vórtex antes de utilizarlo.

- (3) Incubar durante 20 minutos en un espacio oscuro a temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C).

- (4) Diluir el tampón de lisis de glóbulos rojos ADAMIITM 10x que se incluye en el kit en un nuevo tubo vacío para preparar el tampón de lisis de glóbulos rojos 1x.

⚠ Nota: Debe prepararse tampón de lisis 1x en cantidad suficiente para su uso diario. Preparar diluyendo 1 parte de tampón de lisis 10x con 9 partes de agua destilada. Conservar y utilizar a temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C)

- (5) Añadir 200 µl de tampón de lisis 1X RBC al tubo y agitar en vórtex durante 2-3 segundos.
- (6) Incubar durante 10 minutos en un espacio oscuro a temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C).

Tipo de la muestra	Muestra (µL)	Reactivo ADAMII-CD34 (µL)	Tampón de lisis de glóbulos rojos
Material de Control	20	5	35 (para material de control)
MPB	20	5	35
HPC-A	20	5	250
Cordón umbilical (FCB, TFCB)	50	5	200

2. Procedimiento de ensayo

- (1) Cargue 25 µl de la muestra preparada en un portaobjetos del ensayo ADAMII™.

⚠ Precaución: Agite el tubo a baja velocidad para mezclar bien antes de cargar la muestra preparada en un portaobjetos de ensayo.

⚠ Precaución: Añada el fluido lentamente. La inyección rápida puede causar derrames.

- (2) Espere 3 minutos para que las células se asienten.
- (3) Inserte el portaobjetos ADAMII™ cargado en el instrumento ADAMII™ y seleccione el tipo de muestra correspondiente.
- (4) Consulte el manual del usuario de ADAMII™ para realizar las mediciones.

10. NOTAS DE PROCEDIMIENTO

- Para minimizar los errores y las variaciones durante la preparación de las muestras, se recomienda encarecidamente utilizar la técnica de pipeteo inverso.
- Se recomienda encarecidamente mezclar bien las muestras, los reactivos y los tubos de prueba en cada paso.
- El laboratorio debe establecer sus propios requisitos de viabilidad de CD34+ para cada tipo de muestra.
- Evite las burbujas en todo momento.
- Pueden producirse mediciones erróneas si los tubos se exponen a luces brillantes o a la luz del sol.
- Se pueden realizar mediciones erróneas si las muestras preparadas no se almacenan en hielo después de completarse la lisis de glóbulos rojos, o si las muestras preparadas se han mantenido durante más de una hora antes de ser medidas.
- Deben evitarse las muestras fijadas.
- Evite utilizar muestras hemolizadas, coaguladas o aglutinadas.

11. CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

El instrumento ADAMII™ realiza todas las operaciones de captura y análisis de imágenes automáticamente, una vez que se ha introducido manualmente el portaobjetos cargado con la muestra en el instrumento ADAMII™, y se hace clic en "Ejecutar muestra". Una vez realizado, se generarán y mostrarán cuatro resultados de recuento (1) CD34 viable (células/ μ L), (2) CD45 viable (células/ μ L), (3) CD34 total (células/ μ L) y (4) CD45 total (células/ μ L). También se calculan CD34 viables de CD45 viables (%), CD34 viables (%) y CD45 viables (%).

Rango de detección


El rango de detección es el siguiente:

CD34: 1~1000 células/ μ L

12. CARACTERÍSTICAS DEL DESEMPEÑO

Comparación de métodos

Los recuentos de CD34+ viables [células/ μ L], los recuentos de CD45+ viables [1000 células/ μ L] y la relación entre CD34 viables y CD45 viables [%] se midieron utilizando los kits ADAMII™-CD34 para muestras de sangre periférica movilizada (MPB recogidas en EDTA O Na-Heparina), muestras de leucaféresis (HPC-A recogida en ACD o ACD+Heparina), muestras de sangre de cordón umbilical fresca (FCB recogida en CPD), y muestras de sangre de cordón umbilical congelada descongelada (TFCB recogida en CPD y almacenada con 10% DMSO y 1% Dextran 40). Estos resultados se compararon con un ensayo de predicado (BD Stem Cell Enumeration Kit utilizado en FACSCalibur o FACSLytic). Los resultados de los dos métodos se compararon mediante análisis de regresión (pendiente, intercepción y R2) e intervalos de confianza del 95.

 **Nota:** Los kits ADAMII™-CD34 han sido cualificados para estos tipos de muestras; MPB recogidas en EDTA o Na-Heparina, HPC-A recogidas en ACD o ACD+Heparina, FCB recogidas en CPD, y TFCB recogidas en CPD y almacenadas con DMSO al 10% y Dextrano 40 al 1%.

Análisis de Regresión

Tabla 1. Análisis de regresión del kit ADAMITM CD34 en comparación con un ensayo de predicado

	N	R ²	Pendiente/95% CI	Intercepción/95% CI
MPB (Recogido)				
CD34 viables (células/ μ L)	248	0,99	0,997 (0,985 – 1,009)	0,317 (-0,017 – 0,641)
Relación entre CD34 viables y CD45 viables	248	0,99	1,000 (0,968 – 1,000)	0 (0 – 0,003)
CD45 viables (células/ μ L)	248	0,99	1,018 (1,008 – 1,030)	0,111 (-0,072 – 0,249)
HPC-A (Recogido)				
CD34 viables (células/ μ L)	382	0,99	0,998 (0,989 – 1,007)	2,237 (-2,033 – 6,029)
Relación entre CD34 viables y CD45 viables	382	0,98	1,000 (0,983 – 1,007)	0,010 (0,006 – 0,013)
CD45 viables (células/ μ L)	382	0,99	0,982 (0,972 – 0,992)	0,760 (0 – 1,495)
Sangre de cordón umbilical fresca (Recogida)				
CD34 viables (células/ μ L)	124	0,99	0,994 (0,980 – 1,009)	-0,115 (-0,725 – 0,316)
Relación entre CD34 viables y CD45 viables	124	0,99	1,033 (1,013 – 1,056)	-0,02 (-0,03 – -0,01)
CD45 viables (células/ μ L)	124	0,98	0,945 (0,919 – 0,968)	0,222 (0,067 – 0,401)
Sangre de cordón umbilical congelada descongelada (recogida)				
CD34 viables (células/ μ L)	159	0,99	0,983 (0,964- 1,001)	0,519 (-0,080 – 1,210)
Relación entre CD34 viables y CD45 viables	159	0,96	0,995 (0,959 – 1,029)	-0,01 (-0,02 – 0,01)
CD45 viables (células/ μ L)	159	0,95	0,993 (0,962 – 1,023)	0,203 (-0,029 – 0,571)

Gráficos de Regresión

Figura 1. Datos agrupados Células CD34/ μ L

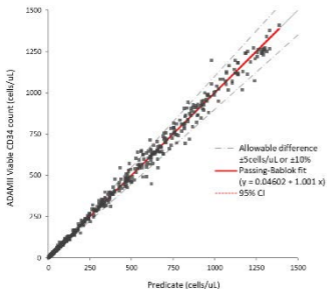


Figura 2. Datos agrupados %CD34 de CD45

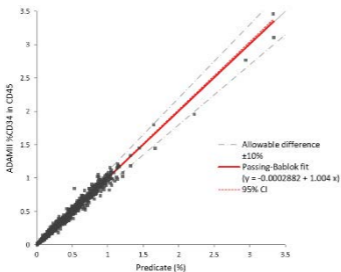
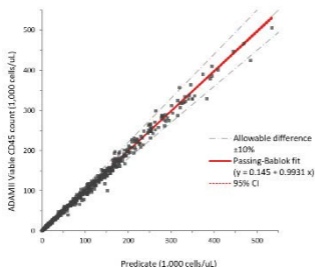


Figura 3. Datos agrupados CD45 (1000 células/μL)



Precisión

- Estudio 1

Las estimaciones de la precisión del ensayo se evaluaron en el laboratorio de investigación de NanoEntek, utilizando dos niveles de material de control con rangos de:

- Mediano : $22,3 < \text{recuento de CD34+ (células/}\mu\text{L)} \leq 36,3$
- Alto : $86,8 < \text{recuento de CD34+ (células/}\mu\text{L)} \leq 126,8$

Se evaluó la repetibilidad (dentro de una misma serie), la precisión entre series, entre días y dentro de un mismo laboratorio en dos series distintas durante 20 días.

Tabla 2. Resultados del Estudio 1

Recuento de CD34 Media (células/μL)	Repetibilidad		Entre Ejecuciones		Entre Días		Dentro del Laboratorio	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
31,614	2,987	9,4%	0,000	0,0%	2,187	6,9%	3,702	11,7%
106,220	5,557	5,2%	0,000	0,0%	6,537	6,2%	8,580	8,1%

- Estudio 2

En el laboratorio NanoEntek Research se realizó un estudio adicional en un único centro utilizando un control inferior (rango de recuentos de CD34+: 9,7 < recuentos de CD34+ (células/ μ l) \leq 17,7). Se evaluaron dos réplicas en dos ejecuciones distintas al día, durante 21 días.

Tabla 3. Resultados del Estudio 2

Recuento de CD34 Media (células/ μ L)	Repetibilidad		Entre Ejecuciones		Entre Días		Dentro del Laboratorio	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
12,615	1,620	12,8%	1,006	8,0%	0,005	2,9%	1,942	15,4%
Media de %CD34 de CD45	Repetibilidad		Entre Ejecuciones		Entre Días		Dentro del Laboratorio	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
0,181	0,025	13,6%	0,016	8,6%	0,005	2,9%	0,030	16,4%
Recuento CD45 Media (células/ μ L)	Repetibilidad		Entre Ejecuciones		Entre Días		Dentro del Laboratorio	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
6985,959	224,878	3,2%	140,769	2,0%	140,306	2,0%	300,120	4,3%

- Estudio 3

En el laboratorio de investigación de NanoEntek llevó a cabo un estudio adicional en un único centro, utilizando 3 lotes de reactivos, 3 operadores y 3 instrumentos con 3 niveles de control.

Tabla 4. Resultados del Estudio 3

	Células CD34/ μ L	CD34	Células Cd45/ μ L
Bajo	9,2-17,2	0,13-0,27	5600-7600
Med	25,6-39,6	0,39-0,59	5700-7700
Elevadas	92,2-132,2	1,32-1,92	5900-7900

Tabla 5(a) Resultados del Estudio 3 bajo Instrumentos

De instrumento a instrumento

Muestra	Media	N	Repetibilidad		Entre días	
			SD	%CV	SD	%CV
Células CD34/ μ L bajas	12,15	252	2,15	17,68	0,00	0,00
CD34% de CD45 bajas	0,18	252	0,03	18,08	0,00	0,00
Células CD45/ μ L bajas	6912,70	252	73,91	1,07	0,00	0,00
Media de Células CD34/ μ L	32,20	252	3,33	10,34	0,71	2,21
Med CD34% de CD45	0,46	252	0,05	10,90	0,01	2,46
Media de C045 células/ μ L	6922,56	252	56,08	0,81	29,45	0,43
Células CD34/ μ L elevadas	110,9	252	7,17	6,46	0,00	0,00
CD34% de CD45 Elevadas	1,61	252	0,10	6,41	0,01	0,41
Células CD45/ μ L elevadas	6907,84	252	63,51	0,92	8,18	0,12

Tabla 5(b). Resultados del estudio 3 por instrumento

De instrumento a instrumento

Muestra	Media	N	Entre Ejecuciones		Entre Instrumentos		Re-productibilidad	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Células CD34/ μ L bajas	12,15	252	0,15	1,26	0,00	0,00	0,15	1,26
CD34% de CD45 bajas	0,18	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Células CD45/ μ L bajas	6912,70	252	15,06	0,22	0,00	0,00	15,06	0,22
Media de Células CD34/ μ L	32,20	252	0,44	1,37	0,46	1,43	0,95	2,96
Med CD34% de CD45	0,46	252	0,00	0,52	0,01	1,17	0,01	2,78
Media de C045 células/ μ L	6922,56	252	16,77	0,24	7,80	0,11	34,78	0,50
Células CD34/ μ L elevadas	110,99	252	0,00	0,00	0,24	0,21	0,24	0,21
CD34% de CD45 Elevadas	1,61	252	0,00	0,00	0,01	0,47	0,01	0,62
Células CD45/ μ L elevadas	6907,84	252	7,45	0,11	2,43	0,04	11,33	0,16

Tabla 6(a). Resultados del estudio 3 por lote**Lote a Lote**

Muestra	Media	N	Repetibilidad		Entre días	
			SD	%CV	SD	%CV
Células CD34/ μ L bajas	11,62	252	1,90	16,34	0,31	2,65
CD34% de CD45 bajas	0,17	252	0,03	16,92	0,00	2,76
Células CD45/ μ L bajas	6959,24	252	95,34	1,37	22,08	0,32
Media de Células CD34/ μ L	34,09	252	3,45	10,12	0,00	0,00
Med CD34% de CD45	0,50	252	0,05	10,44	0,00	0,00
Media de C045 células/ μ L	6875,40	252	112,45	1,64	27,11	0,39
Células CD34/ μ L elevadas	114,52	252	6,60	5,77	0,77	0,68
CD34% de CD45 Elevadas	1,66	252	0,10	6,04	0,01	0,47
Células CD45/ μ L elevadas	6897,47	252	110,69	1,60	28,06	0,41

Tabla 6(b). Resultados del estudio 3 por lote

Lote a Lote

Muestra	Media	N	Entre Ejecuciones		Entre Lotes		Re-productibilidad	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Células CD34/ μ L bajas	11,62	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31	2,65
CD34% de CD45 bajas	0,17	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,76
Células CD45/ μ L bajas	6959,24	252	0,00	0,00	5,57	0,08	22,77	0,33
Media de Células CD34/ μ L	34,09	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Med CD34% de CD45	0,50	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Media de C045 células/ μ L	6875,40	252	36,11	0,53	26,61	0,39	52,41	0,76
Células CD34/ μ L elevadas	114,52	252	1,43	1,25	1,57	1,37	2,26	1,97
CD34% de CD45 Elevadas	1,66	252	0,02	1,34	0,03	1,61	0,04	2,15
Células CD45/ μ L elevadas	6897,47	252	0,00	0,00	0,00	0,00	28,06	0,41

Tabla 7(a). Resultados del Estudio 3 por el Operador

Operador a Operador

Muestra	Media	N	Repetibilidad		Entre días	
			SD	%CV	SD	%CV
Células CD34/ μ L bajas	11,93	252	1,93	16,20	0,63	5,25
CD34% de CD45 bajas	0,17	252	0,03	16,28	0,01	5,61
Células CD45/ μ L bajas	6934,94	252	81,77	1,18	16,61	0,24
Media de Células CD34/ μ L	32,11	252	3,34	10,39	0,00	0,00
Med CD34% de CD45	0,46	252	0,05	10,91	0,00	0,00
Media de C045 células/ μ L	6911,14	252	70,35	1,02	0,00	0,00
Células CD34/ μ L elevadas	109,68	252	6,75	6,15	0,00	0,00
CD34% de CD45 Elevadas	1,58	252	0,10	6,08	0,00	0,00
Células CD45/ μ L elevadas	6926,21	252	65,69	0,95	28,50	0,41

Tabla 7(b). Resultados del Estudio 3 por el Operador

Operador a Operador

Muestra	Media	N	Entre Ejecuciones		Entre Operadores		Reproducibilidad	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Células CD34/ μ L bajas	11,93	252	0,09	0,74	0,00	0,00	0,63	5,30
CD34% de CD45 bajas	0,17	252	0,00	1,97	0,00	0,00	0,01	5,95
Células CD45/ μ L bajas	6934,94	252	0,00	0,00	11,60	0,17	20,26	0,29
Media de Células CD34/ μ L	32,11	252	0,00	0,00	0,42	1,32	0,42	1,32
Med CD34% de CD45	0,46	252	0,00	0,00	0,01	1,31	0,01	1,31
Media de C045 células/ μ L	6911,14	252	12,93	0,19	0,00	0,00	12,93	0,19
Células CD34/ μ L elevadas	109,68	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CD34% de CD45 Elevadas	1,58	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Células CD45/ μ L elevadas	6926,21	252	16,11	0,23	1,24	0,02	32,76	0,47

- **Estudio 4**

Se llevó a cabo un estudio múltiple en 3 emplazamientos, utilizando 3 niveles de material de control.

Tabla 8. Gama de material de control

		% de Células Positivas	Rango Previsto	Número Absoluto	Rango Previsto
Bajo	Células CD34/ μ L	0,19	0,12~0,26	13,7	9,7~17,7
Med	Células CD34/ μ L	0,45	0,36~0,56	32,4	25,4~39,4
Elevadas	Células CD34/ μ L	1,52	1,22~1,82	106	86,0~126,0

Se evaluaron tres réplicas en dos series separadas por día durante 5 días para determinar el % de CV entre días, entre series, entre sitios y la reproducibilidad total.

Tabla 9(a). Resultados del Estudio 4

Muestra	Media	N	Repetibilidad		Entre días	
			SD	%CV	SD	%CV
Células CD34/ μ L bajas	12	90	1,76	14,5	0,6	4,9
CD34% de CD45 bajas	0,2	90	0,025	14,4	0,008	4,3
Células CD45/ μ L bajas	6942	90	143,52	2,1	56,78	0,8
Media de Células CD34/ μ L	32	90	3,26	10,2	1,17	3,6
Med CD34% de CD45	0,5	90	0,046	10,0	0,015	3,3
Media de Células CD45/ μ L	6960	90	122,0	1,8	9,50	0,1
Células CD34/ μ L elevadas	108	90	6,396	5,9	0,000	0,0
CD34% de CD45 Elevadas	1,6	90	0,097	6,2	0,025	1,6
Células CD45/ μ L elevadas	6937	90	114,308	1,6	36,779	0,5

Tabla 9(b). Resultados del Estudio 4

Muestra	Media	N	Entre Ejecuciones		Entre Sitios		Reproducibilidad	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Células CD34/ μ L bajas	12	90	0,59	4,8	1,29	10,6	1,54	12,6
CD34% de CD45 bajas	0,2	90	0,009	4,9	0,018	10,1	0,021	12,0
Células CD45/ μ L bajas	6942	90	0,000	0,0	0,000	0,0	56,8	0,8
Media de Células CD34/ μ L	32	90	0,000	0,0	1,41	4,4	1,83	5,7
Med CD34% de CD45	0,5	90	0,000	0,0	0,020	4,3	0,025	5,5
Media de Células CD45/ μ L	6960	90	0,000	0,0	24,20	0,3	25,99	0,4
Células CD34/ μ L elevadas	108	90	2,948	2,7	6,862	6,3	7,469	6,9
CD34% de CD45 Elevadas	1,6	90	0,028	1,8	0,100	6,4	0,106	6,8
Células CD45/ μ L elevadas	6937	90	40,102	0,6	0,000	0,0	54,414	0,8

- Estudio 5

Se realizó un estudio de interferencia de anticoagulantes que demostró que no había diferencias estadística o clínicamente relevantes entre los tipos de muestras/anticoagulantes.

Se realizaron pruebas en 3 centros utilizando 6 niveles de muestras clínicas HPC-A ACD. Un lote de reactivo y un operador/instrumento por sitio (centro) analizaron 3 réplicas por muestra en 6 pasadas en 24 horas (límite de estabilidad de la muestra).

Concentraciones Específicas de células CD34 viables/ μ L:

- 17 células CD34/ μ L
- 35 células CD34/ μ L
- 75 células CD34/ μ L
- 100 células CD34/ μ L
- 500 células CD34/ μ L
- 1000 células CD34/ μ L

Tabla 10. Resultados del Estudio 5, Sitio 1

Concentración Específica de Células CD34 viables/ μ L	Sitio 1				
	Parámetros	Células CD34 totales/ μ L	Células CD34 viables/ μ L	Viable CD45 células/ μ L	Viable %CD34 de CD45
17 células/ μ L	Media	16,96	16,14	3270,04	0,50%
	SD	2,29	2,22	230,65	0,09%
	CV	13,51%	13,76%	7,05%	17,60%
35 células/ μ L	Media	37,03	36,78	6455,58	0,57%
	SD	3,34	3,23	443,08	0,05%
	CV	9,01%	8,78%	6,86%	9,49%
68 células/ μ L	Media	68,74	68,42	4648,85	1,48%
	SD	4,65	4,66	262,57	0,15%
	CV	6,76%	6,81%	5,65%	9,86%
100 células/ μ L	Media	92,90	92,69	5652,53	1,64%
	SD	5,36	5,39	234,42	0,12%
	CV	5,77%	5,82%	4,15%	7,25%
450 células/ μ L	Media	471,55	469,43	28077,02	1,67%
	SD	28,27	27,76	1762,08	0,08%
	CV	5,97%	5,91%	6,28%	4,95%
960 células/ μ L	Media	904,27	893,36	75292,90	1,18%
	SD	41,01	41,29	2274,17	0,06%
	CV	4,54%	4,62%	3,02%	4,93%

Tabla 11. Resultados del Estudio 5, Sitio 2

Concentración Específica de Células CD34 viables/ μ L	Sitio 2				
	Parámetros	Células CD34 totales/ μ L	Células CD34 viables/ μ L	Viable CD45 células/ μ L	Viable %CD34 de CD45
17 células/ μ L	Media	17,05	16,91	3364,35	0,51%
	SD	2,09	2,05	271,88	0,06%
	CV	12,23%	12,15%	8,08%	12,14%
35 células/ μ L	Media	35,51	35,03	6494,72	0,54%
	SD	4,15	3,96	198,25	0,06%
	CV	11,68%	11,29%	3,05%	10,85%
68 células/ μ L	Media	66,53	66,41	4036,08	1,65%
	SD	4,55	4,49	210,81	0,17%
	CV	6,84%	6,76%	5,22%	10,58%
100 células/ μ L	Media	101,12	100,63	6650,66	1,52%
	SD	5,95	5,92	296,61	0,10%
	CV	5,89%	5,88%	4,46%	6,79%
450 células/ μ L	Media	442,64	440,06	28360,64	1,55%
	SD	26,32	24,89	829,78	0,10%
	CV	5,95%	5,66%	2,93%	6,48%
960 células/ μ L	Media	982,96	977,56	53124,13	1,84%
	SD	44,27	43,31	1566,41	0,06%
	CV	4,50%	4,43	2,95%	3,36%

Tabla 12. Resultados del Estudio 5, Sitio 3

Concentración Específica de Células CD34 viables/ μ L	Sitio 3				
	Parámetros de Medición	Células CD34 totales/ μ L	Células CD34 viables/ μ L	Viable CD45 células/ μ L	Viable %CD34 de CD45
17 células/ μ L	Media	17,07	16,76	3325,93	0,50%
	SD	2,09	2,42	170,27	0,06%
	CV	12,21%	14,47%	5,12%	12,19%
35 células/ μ L	Media	32,73	32,05	19447,80	0,54%
	SD	3,22	3,31	1393,72	0,06%
	CV	9,85%	10,32%	7,17%	10,55%
68 células/ μ L	Media	74,89	73,41	25862,38	0,28%
	SD	4,44	4,34	1400,05	0,01%
	CV	5,92%	5,91%	5,41%	5,00%
100 células/ μ L	Media	100,25	97,08	24993,61	0,39%
	SD	5,64	5,48	1066,57	0,02%
	CV	5,62%	5,65%	4,27%	5,74%
450 células/ μ L	Media	447,49	442,49	106235,8	0,40%
	SD	20,94	17,45	6060,55	0,03%
	CV	4,68%	4,13%	5,70%	7,21%
960 células/ μ L	Media	1005,11	1002,17	44158,78	2,27%
	SD	24,14	23,76	2044,63	0,10%
	CV	2,40%	2,37%	4,63%	4,28%

Linealidad

El kit ADAMII™-CD34 demostró linealidad en los rangos declarados:

1-1000 células CD34/μL

Interferencia

Los efectos de la interferencia de sustancias en el rendimiento de ADAMII™-CD34 se evaluaron siguiendo el protocolo CLSI EP7-A3. Se han probado las sustancias de la tabla siguiente y se ha comprobado que no presentan interferencias a las concentraciones especificadas en la tabla.

Sustancias	Concentración
Hemoglobina	50 mg/dL
Gamaglobulina	1 %
Bilirrubina	10 mg/dL
Albumina	7,5 mg/mL
G-CSF	60 ng/mL
Intralipid	250 mg/dL
Ciclofosfamida	550 μg/mL
Doxorrubicina	0,25 μg/mL
Paclitaxel	20 μg/mL

Estabilidad de la Muestra

La estabilidad de las muestras almacenadas y la estabilidad de las muestras teñidas se evaluaron en el laboratorio de investigación de NanoEntek, utilizando muestras de sangre periférica movilizada (MPB), leucaféresis (HPC-A), sangre de cordón umbilical fresca y sangre de cordón umbilical descongelada. Las muestras se han almacenado a las siguientes temperaturas:

Prueba de estabilidad	Tipo de muestra	Temperatura
Almacenado	FCB (Tampón de Control de Formato)	20 a 25°C (Temperatura ambiente)
	MPB, HPC-A, TFCB	2 a 8°C
Manchado	MPB, HPC-A, FCB, TFCB	2 a 8°C

Basándonos en los resultados de este estudio, recomendamos iniciar la preparación de la muestra en las 24 horas siguientes a la extracción para MPB y HPC-A, y en las 48 horas siguientes a la extracción, para sangre de cordón umbilical fresca. Recomendamos mantener en hielo húmedo las muestras teñidas, y analizar las muestras preparadas en la hora siguiente a la finalización de la lisis de los glóbulos rojos (RBC). Las muestras de sangre de cordón umbilical congeladas deben prepararse inmediatamente después de la descongelación, y analizarse inmediatamente después de completar la lisis de los glóbulos rojos.

13. LIMITACIONES


















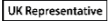


El kit ADAMII-CD34 está diseñado para su uso en el instrumento ADAMII™. Consulte el Manual del usuario del instrumento ADAMII™ para obtener más información.

No utilice el Kit ADAMII™-CD34 ni los portaobjetos, después de la fecha de caducidad.

14. REFERENCIAS

- 1) Mijovic A and Pamphilon D. Harvesting, processing and inventory management of peripheral blood stem cells. *Asian J. Transfus Sci.* 2007; 1:16-23
- 2) Powles R Mehta J, Kulkarni S, Treleaven J, Milar B, Marsden J, Shepherd V, Rowand A, Sirohi B, Tait D, Horton C, Long S, and Singhai S. Allogeneic blood and bone-marrow stem-cell transplantation in haematological malignant diseases: a randomized trial. *Lancet* 2000. 355: 1231-1237
- 3) Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med.* (1989) 321:1174-8. 10.1056/NEJM198910263211707
- 4) Nielsen JS and McNagny KM. Novel functions of the CD34 family. *J. CellScience* 2008; 121: 3683-3692.
- 5) Grigg AP, Roberts AW, Raunow H, Houghton S, Layton JE, Boyd AW, McGrath KM, Maher D. Optimizing dose and scheduling of filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor) for mobilization and collection of peripheral blood progenitor cells in normal volunteers. *Blood* 1995; 86: 4437-4445.
- 6) Demirel T, Buckner CD, Appelbaum FR, Petersen FB, Rowley S, Weaver CH, Lilleby K, Sanders J, Chauncey T, Storb R, et al. Rapid engraftment after autologous transplantation utilizing marrow and recombinant granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood stem cells in patients with acute myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 1995; 15: 915-922
- 7) Ho AD, Gluck S, Germond C, Sinoff C, Dietz G, Maruyama M, Corringham RE. Optimal timing for collections of blood progenitor cells following induction chemotherapy and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for autologous transplantation in advanced breast cancer. *Leukemia.* 1993; 7:1738-1746
- 8) Elliot C, Samson DM, Armitage S, Lyttelton MP, McGuigan D, Hargreaves R, Giles C, Abrahamson G, Abboudi Z, Brennan M, Kanfer EJ. When to harvest peripheral-blood stem cells after mobilization therapy: prediction of CD34-positive cell yield by preceding day CD34-positive concentration in peripheral blood. *J Clin Oncol.* 1996; 14: 970-973.
- 9) Shots R, Van Riet I, Damiens S, Flament J, Lacor P, Staelens Y, Steenssens L, van Camp B, De Waele M. The absolute number of circulating CD34+ cells predicts the number of hematopoietic stem cells that can be collected by apheresis. *Bone Marrow Transplant.* 1996; 17: 509-515.
- 10) Yu J, Leisenring W, Bensinger W, Holmberg LA, Rowley SD. The predictive value of white cell or CD34 + cell count in the peripheral blood for timing apheresis and maximizing yield. *Transfusion.* 1999; 39: 442-450
- 11) Olivero S, Alario T, Ladaique P, Accoun M, Viens P, Blaise D, Chabannon C. CD34 + cell enumeration in peripheral blood and apheresis samples, using two laboratory diagnostic kits or an institutional protocol. *Bone Marrow Transplant.* 1999; 23: 387-394
- 12) Haein Yu, Jaeseun Yoo, Jung Si Hwang, Mikyung Kim, Kyung Hee Bae, Dong Wook Jekarl, Jong Hyun Oh, Ji Yeon Lee, Sunmi Han, Chanil Chung, Myungsun Kim, Yonggoo Kim. Enumeration of CD34-positive Stem Cells Using the ADAMI Imge-based Fluorescence Cell Counter. *Annals of Laboratory Medicine.* 2019; 39: 388-395

Glosario de Símbolos

	Precaución, advertencia, Consulte los documentos adjuntos
	Número de Catálogo/Número de Referencia
 <small>www.niventek.com/eifu.php</small>	Consulte las Instrucciones de Uso Un indicador de instrucciones electrónicas de uso (eIFU) (dirección de sitio web) podrá acompañar al símbolo cuando se utilice para indicar una instrucción de consulta de un eIFU.
	Número de lote/ Número de serie
	Utilización AAAA-MM-DD o AAAA-MM
	Fabricante
	Marcado CE
	Dispositivos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Evaluación de la Conformidad en el Reino Unido
	Limitación de Temperatura
	Contiene suficientes para <n> pruebas
	No utilizar de nuevo
	No utilizar si el envase está dañado
	Sólo para uso con receta médica PRECAUCIÓN: La legislación federal (EE.UU.) restringe la venta de este dispositivo a médicos o por prescripción facultativa.
	Corporación de los Estados Unidos
	Sociedad Europea
	Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Representante autorizado en el Reino Unido
	Representante autorizado en Suiza
	Representante autorizado en Brasil

Revisado en 04.2025



NESPI-ACD34-001ML(V.0.2)



ADAMII™- CD34 Kit

Système de comptage des cellules souches hématopoïétiques

REF CD34K-025

IVD Pour usage diagnostique *in vitro* uniquement.

1. UTILISATION PREVUE

Le système ADAMII™ CD34 comprend le kit ADAMII™-CD34, conçu pour être utilisé avec l'instrument ADAMII™, un compteur de cellules à fluorescence à base d'image. Le système ADAMII™ CD34 fournit le dénombrement des cellules CD34+ viables, des cellules CD45+ viables et calcule le pourcentage de cellules viables CD34+ sortie des cellules CD45+ viables. Le système ADAMII™ CD34 peut être utilisé pour sang périphérique mobilisé (SPM) recueilli dans de l'héparine de sodium ou de l'EDTA, cellules progénitrices hématopoïétiques par aphérèse (CPH-A) recueillies dans de l'héparine ACD ou ACD+, sang de cordon ombilical frais (FCB) collectés dans le CPD et sang de cordon congelé décongelé (TFCB) collectés dans le CPD et conservés avec 10 % de DMSO, 1 % de Dextran 40. Le système ADAMII™ CD34 est destiné à être utilisé dans les laboratoires cliniques et à des fins de diagnostic *in vitro* uniquement. Il n'est pas destiné à être utilisé dans les contextes de soins de proximité.

2. RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Les greffes de cellules souches allogènes myéloablatives et non myéloablatives sont des options curatives pour de nombreux patients atteints de tumeurs hématologiques malignes. Le nombre de greffes

autologues et allogéniques n'a cessé d'augmenter au cours des deux dernières décennies. Les cellules souches du sang périphérique mobilisé (MPB) et l'aphérèse de cellules progénitrices hématopoïétiques (HPC-A) sont utilisées comme source privilégiée de cellules souches pour les greffes de cellules souches hématopoïétiques autologues et allogéniques.^{1,2} Le sang du cordon ombilical (CB) est une source alternative de cellules souches hématopoïétiques, en particulier pour les patients qui ne disposent pas d'un donneur de moelle ou de sang périphérique mobilisé approprié.³

L'antigène CD34, une glycoprotéine transmembranaire monomérique exprimée sur les cellules progénitrices primitives du sang et de la moelle osseuse, est un marqueur bien connu des progéniteurs hématopoïétiques et endothéliaux.⁴ La mesure précise du nombre de cellules CD34+ est très importante en pratique clinique car les protocoles de transplantation hématopoïétique ont des exigences spécifiques en matière de dose et l'effet des agents mobilisateurs peut être différent chez les donneurs normaux et les patients atteints de cancer.^{5,6,7} La détermination des cellules CD34+ par cytométrie en flux est rapidement devenue l'outil de choix pour quantifier les progéniteurs hématopoïétiques circulants, pour établir leur nombre minimum afin d'assurer la prise de greffe et le moment optimal de l'aphérèse.^{8,9,10}

Malgré la fiabilité du test cytométrique en flux, des variations interlaboratoires ont été signalées avec les méthodes cytométriques en flux pour déterminer le pourcentage et le nombre absolu de cellules CD34+. ¹¹ Le système de comptage de cellules souches ADAMIITM CD34 fournit un comptage précis et exact des cellules CD34+ et des ratios de CD34 + et les cellules CD45+ avec un délai d'exécution rapide et une contribution minimale d'un opérateur. ¹² Haut degré de précision du système de comptage des cellules souches d'ADAMIITM CD34 est dû en partie à des étapes de préparation d'échantillons simplifiées et à l'élimination des étapes de lavage ce qui peut entraîner une perte de cellules et pourrait être sujet à des erreurs humaines. De plus, Le système de comptage de cellules souches ADAMIITM CD34 utilise un logiciel personnalisé qui ne nécessite pas d'étapes d'interprétation post-mesure.

3. PRINCIPE DU TEST

Le test ADAMIITM CD34 commence par l'ajout d'un volume approprié d'échantillon dans un tube à essai (éprouvette) et le mélange avec un réactif contenant des anticorps marqués par fluorescence et un colorant pour la coloration des acides nucléiques. Les anticorps marqués par fluorescence se lient spécifiquement aux marqueurs CD34 et/ou CD45 exprimés sur les surfaces cellulaires. Le colorant de coloration des acides nucléiques se lie spécifiquement au noyau des cellules mortes. Dans le kit ADAMIITM-CD34, les anticorps CD34 (clone 8G12) reconnaissent le

marqueur CD34 exprimé sur les cellules souches hématopoïétiques, les anticorps CD45 (clone 2D1) reconnaissent le marqueur CD45 exprimé sur les leucocytes.

Après qu'un échantillon soit incubé avec un réactif pendant 20 minutes, un tampon de lyse RBC est ajouté pour lyser les globules rouges. Une fois la lyse des globules rouges terminée, la préparation de l'échantillon est terminée et il est prêt à être mesuré. L'échantillon préparé est chargé dans une lame en plastique jetable et la lame chargée est placée sur la platine de précision de l'instrument ADAMII™.

Dans le logiciel ADAMII™ CD34, l'utilisateur doit régler la mise au point à l'aide des boutons de mise au point manuelle ou automatique. Une fois les bonnes mises au point trouvées, l'utilisateur appuie sur le bouton « Exécuter l'échantillon » pour démarrer l'acquisition d'images. Pendant la prise d'images, le logiciel ADAMII™ CD34 analyse les images pour produire des résultats de mesure. Une fois l'acquisition de l'image terminée, les résultats finaux seront affichés à l'écran et automatiquement enregistrés.

Les résultats finaux incluent (1) cellules CD34+ viables/ μ L, (2) cellules CD45+ viables/ μ L, (3) cellules CD34+ totales/ μ L, (4) cellules CD45+ totales/ μ L, (5) viabilité CD34 (%), (6) viabilité CD45 (%), (7) le rapport entre CD34+ viables et CD45 viables (%).

L'anticorps CD34 reconnaît uneglycoprotéine transmembranaire monomérique de 105-120 kilodontes (kDa). Le clone 8G12 reconnaît un épitope sur le CD34 distinct de celui reconnu par le clone My10 ; au moins trois épitopes ont été identifiés. L'anticorps CD34 (clone 8G12) est composé de chaînes lourdes IgG1 de souris et de chaînes légères kappa. L'excitation est à 496nm/ Emission : 578nm.

4. MATERIEL FOURNI

Qté	Contenu	Numéro de catalogue
1	Réactif ADAMII™ CD34 (25 tests)	A34R-001
1	Tampon de lyse des globules rouges ADAMII™ 10X (4 mL)	A34L-001
1	Perles d'étalonnage ADAMII™ (25 tests)	A2CB-001
1	Lame de test ADAMII™ (un pack de 25 lames)	A2AS-025
1	Notice du kit ADAMII™ CD34	-
1	Tampon de lyse des globules rouges ADAMII™ 10X (pour le matériel de contrôle)	ACL-001



Note : Le tampon de lyse 10X pour le matériel de contrôle est proposé séparément dans une pochette en aluminium.

Une solution réactive du réactif CD34 contient :

- Anticorps anti-CD34 conjugué à la PE
- Anticorps anti-CD45 conjugué à la PerCP
- Colorant de marquage des acides nucléiques

5. MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Eau de qualité réactif (déionisée)
- Tubes de prélèvement sanguin EDTA ou équivalent
- Tube de microcentrifuge
- 1X PBS (sans calcium ni magnésium) si une dilution de l'échantillon est nécessaire.
- Pipettes et pointes de pipettes (5 μ L, 20 μ L, 35 μ L, 100 μ L, 250 μ L, 1 000 μ L)
- Mélangeur vortex
- Minuteur
- Seau à glace rempli de glace pilée si aucun réfrigérateur n'est disponible à proximité
- Équipement de protection individuelle
- Conteneurs d'élimination des déchets biologiques dangereux.
- Matériel de contrôle

6. AVERTISSEMENT ET PRECAUTIONS

- Pour usage diagnostique in vitro uniquement.
- Ne pas utiliser le réactif ou la lame de test si vous observez un changement d'apparence.
- Ne pas décontaminer les échantillons lysés au chlorure d'ammonium avec de l'eau de Javel.
- Pour obtenir des résultats précis, il est crucial d'ajouter un volume précis (20 μ L) de l'échantillon dans un tube vide et de le mélanger avec un volume précis (5 μ L) de solution de réactif CD34 contenant des anticorps et des colorants pour acides nucléiques.

** Utiliser la méthode de pipetage inverse ou une pipette à déplacement positif pour aliquoter les échantillons. Voir les instructions du fabricant de pipettes pour plus d'informations.*

- La solution de lyse au chlorure d'ammonium est nocive si ingérée (R22) et irritante pour les yeux (R36). Porter des vêtements de protection adaptés, des lunettes et des gants. Éliminer conformément aux réglementations fédérales, étatiques et locales.
- Tous les échantillons biologiques et les matériaux en contact avec eux sont considérés comme des risques biologiques. Manipuler comme s'il était possible de transmettre une infection. Manipuler le produit comme s'il était susceptible de transmettre une infection et l'éliminer en prenant les précautions qui s'imposent conformément aux réglementations fédérales, nationales et locales. Ne jamais pipeter par la bouche.
- Lors de l'utilisation du tampon de lyse, l'utiliser après dilution.
- Après avoir utilisé les perles d'étalonnage, refermer le bouchon hermétiquement.

7. STOCKAGE ET STABILITE

Tous les produits non ouverts/ouverts sont stables jusqu'à la date d'expiration figurant sur l'étiquette lorsqu'ils sont stockés à la température spécifiée. La stabilité du réactif a été démontrée pendant 12 mois à compter de la date de fabrication. La date d'expiration est clairement indiquée sur la boîte, le sachet, le tube et le flacon du produit.

Matériel	Numéro de catalogue
Stockage à température de réfrigérateur (2 à 8 °C)	
Réactif ADAMIITM CD34	A34R-001
Perles d'étalonnage ADAMIITM	A2CB-001
Tampon de lyse des globules rouges ADAMIITM 10X (4 mL)	A34L-001
Tampon de lyse des globules rouges ADAMIITM 10X (pour le matériel de contrôle)	ACL-001
Stockage à température ambiante (2~25 °C)	
Lame de test ADAMIITM	A2AS-025

8. COLLECTE ET MANIPULATION DES SPECIMENS

- Conserver les échantillons non dilués à une température de 2~8°C.
- Le laboratoire doit valider l'échantillon pré-analytique avec les conditions de stockage.
- Colorer les échantillons frais (SPM et CPH-A) dans les 24 heures suivant la collecte. Coloration du sang de cordon frais dans les 48 heures suivant le prélèvement. Colorer immédiatement les échantillons congelés après décongélation.
- Ne pas utiliser d'échantillons déjà fixés.
- Ne pas utiliser d'échantillons frais du SPM ou du CPH-A qui ont été stockés pendant plus de 24 heures.
- Ne pas utiliser d'échantillons de sang de cordon frais qui ont été conservés pendant plus de 48 heures.
- Rejeter les échantillons coagulés ou agglutinés.
- Une fois la lyse des globules rouges (RBC) terminée, conservez les échantillons préparés sur de la glace. Des échantillons frais de SPM, de CPH-A frais et de sang de cordon ombilical frais peuvent être mesurés dans l'heure suivant la fin de la lyse des globules rouges. Le sang de cordon congelé doit être mesuré immédiatement après la fin de la lyse des globules rouges (RBC).
- Avant la coloration pour le comptage des CD34 dans l'ADAMII™, les produits CPH-A (collectés dans l'ACD ou l'ACD+Héparine), les échantillons de SPM (collectés dans l'héparine de sodium) et les échantillons de sang de cordon frais (collectés au CPD) et des échantillons de sang de cordon congelés décongelés doivent être transférés dans des tubes anticoagulants EDTA pour réduire l'agglutination des cellules.
- Échantillon CPH-A : Avant de commencer la préparation d'un échantillon, ajustez le nombre total de globules blancs (WBC) dans l'échantillon pour qu'il soit inférieur à 150 000 cellules/ μ L en diluant l'échantillon avec du PBS 1X.
- Échantillon SPM : une fois la lyse des globules rouges terminée, diluez davantage un échantillon préparé si le nombre total de globules blancs (WBC) dans l'échantillon d'origine est supérieur à 35 000 cellules/ μ L en diluant l'échantillon préparé avec un tampon de lyse 1X RBC.

9. PROCEDURE

Étalonnage

Les perles d'étalonnage pour l'instrument ADAMII™ incluses dans chaque kit sont des particules fluorescentes de tailles spécifiques et de colorants fluorescents, qui permettent aux utilisateurs de vérifier si l'instrument ADAMII™ est en bon état en termes d'alignements optiques et de capacités d'acquisition d'images et de leur analyse. Il est recommandé d'effectuer l'étalonnage régulièrement, ou au moins une fois par semaine. Reportez-vous au manuel de l'utilisateur de l'instrument ADAMII™ pour obtenir des instructions complètes.

Contrôle de qualité

Conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et à la réglementation applicable aux laboratoires, il est recommandé d'utiliser deux niveaux de matériel de contrôle cellulaire (contrôle procédural). Ces matériaux de contrôle doivent être traités comme des échantillons de patients pour surveiller les performances de l'ensemble des processus analytiques.

Chaque laboratoire doit établir sa propre pratique pour réaliser les contrôles de qualité. Les contrôles de qualité doivent être préparés selon les mêmes procédures que celles appliquées aux échantillons de patients. Chaque laboratoire peut déterminer à quel moment et à quelle fréquence effectuer les contrôles de qualité en tenant compte des éléments suivants :

- (1) Au moins une fois par mois
- (2) Lors de la réception de kits ADAMII CD34 d'un nouveau lot
- (3) En présence d'un nouvel opérateur
- (4) Lorsqu'un problème est identifié sur l'instrument ou les kits ADAMII CD34
- (5) Lorsqu'un problème est constaté lors du transport ou de la livraison des kits ADAMII CD34
- (6) Lorsque cela est requis par les procédures de contrôle de qualité standard du laboratoire.

Les contrôles commerciaux fournissent des valeurs établies pour le nombre absolu de cellules CD34+ et le pourcentage de cellules CD34+ par rapport aux cellules CD45+. Des contrôles commerciaux sont disponibles auprès de quelques fabricants. Les contrôles CD-Chex CD34 de Streck ont été largement testés avec ADAMII CD34.

▪ Procédure de contrôle de la qualité

- (1) Étiquetez un tube vide et une lame de test ADAMIITM.
- (2) Transférez 20 µl de matériel de contrôle bien mélangé dans le tube vide et ajoutez 5 µl de solution de réactif ADAMII™ CD34. Ensuite,

bouchez le tube et bien mélanger en agitant le vortex ou en tapotant avec le doigt.

⚠ Note : *Agitez au vortex le réactif ADAMII™ CD34 avant utilisation.*

- (3) Incubez pendant 20 minutes dans un endroit sombre à température ambiante (66~77°F, 20~25°C).
- (4) Diluez le tampon de lyse RBC ADAMII TM 10x pour le matériel de contrôle (fourni séparément) dans un nouveau tube vide pour préparer un tampon de lyse RBC 1x pour le matériel de contrôle.

⚠ Note : *tampon de lyse RBC 1x pour le matériel de contrôle doit être préparé en quantité suffisante pour être utilisé chaque jour. Préparez en diluant 1 partie de tampon de lyse RBC 10x pour le matériel de contrôle avec 9 parties d'eau ultra pure. Stockez et utiliser à température ambiante (66~77°F, 20~25°C)*

- (5) Ajoutez 35 µl de tampon de lyse des globules rouges 1x pour le matériel de contrôle dans le tube et agitez au vortex pendant 2 à 3 secondes.
- (6) Incubez pendant 10 minutes dans un endroit sombre à température ambiante (66~77°F, 20~25°C).
- (7) Après avoir agité au vortex le matériau de contrôle préparé pendant quelques secondes, chargez 25 µL du matériau de contrôle préparé sur une lame de test ADAMII TM .

⚠ Note : *Ajoutez le liquide lentement. Une injection rapide peut provoquer des déversements.*

- (8) Attendez 3 minutes pour que les cellules puissent se stabiliser.
- (9) Insérez la lame de test ADAMII™ chargée de l'échantillon dans l'instrument ADAMII™ et sélectionnez "Contrôle" pour le type d'échantillon.
- (10) Veuillez vous référer au manuel d'utilisation d'ADAMII pour effectuer des mesures.

Traitement des échantillons

1. Préparation

- Échantillon CPH-A/SPM

- (1) Étiquetez un tube vide et une lame de test ADAMII™ pour l'identification de l'échantillon.
- (2) Transférez 20 µl d'un échantillon bien mélangé dans le tube vide et ajoutez 5 µl de solution réactive ADAMII™ CD34. Ensuite, bouchez le tube et bien mélanger en agitant le vortex ou en tapotant avec le doigt.

⚠ Note : Agitez au vortex le réactif ADAMII™ CD34 avant utilisation.

- (3) Incubez pendant 20 minutes dans un endroit sombre à température ambiante (66~77°F, 20~25°C).
- (4) Diluez le tampon de lyse des globules rouges ADAMII™ 10x (pour le matériel de contrôle) fourni séparément dans un nouveau tube vide pour préparer le tampon de lyse des globules rouges 1x.

⚠ Note : Le tampon de lyse RBC 1x doit être préparé en quantité suffisante pour être utilisé chaque jour. Préparez en diluant 1 partie de tampon de lyse RBC 10x avec 9 parties d'eau ultrapure. Stockez et utilisez à température ambiante (66~77°F, 20~25°C)

- (5) Ajoutez 35 µl (pour l'échantillon SPM) ou 250 µl (pour CPH-A) de tampon de lyse des globules rouges 1x dans le tube et agitez au vortex pendant 2 à 3 secondes.
- (6) Incubez pendant 10 minutes dans un endroit sombre à température ambiante (66~77°F, 20~25°C).

● Échantillon de sang de cordon frais/congelé

- (1) Étiquetez un tube vide et une lame de test ADAMII™ pour l'identification de l'échantillon.
- (2) Transférez 50 µl d'un échantillon bien mélangé dans le tube vide et ajoutez 5 µl de solution réactive ADAMII™ CD34. Ensuite, bouchez le tube et bien mélanger en agitant le vortex ou en tapotant avec le doigt.

⚠ Note : Agitez au vortex le réactif ADAMII™ CD34 avant utilisation.

- (3) Incubez pendant 20 minutes dans un endroit sombre à température ambiante (66~77°F, 20~25°C).
- (4) Diluez le tampon de lyse RBC ADAMII™ 10x inclus dans le kit dans un nouveau tube vide pour préparer un tampon de lyse RBC 1x.

⚠ Note : Le tampon de lyse RBC 1x doit être préparé en quantité suffisante pour être utilisé chaque jour. Préparez en diluant 1 partie de tampon de lyse RBC 10x avec 9 parties d'eau ultrapure. Stockez et utilisez à température ambiante (66~77°F, 20~25°C)

- (5) Ajoutez 200 µl de tampon de lyse des globules rouges 1x dans le tube et agitez au vortex pendant 2 à 3 secondes.
- (6) Incubez pendant 10 minutes dans l'obscurité à température ambiante (66~77°F, 20~25°C).

Type d'échantillon	Échantillon (µL)	Réactif ADAMII-CD34 (µL)	Tampon de lyse RBC
Matériel de contrôle	20	5	35 (pour le matériel de contrôle)
SPM	20	5	35
CPH-A	20	5	250
Sang de cordon ombilical (FCB, TFCB)	50	5	200

2. Procédure de test

- (1) Déposez 25 µl de l'échantillon coloré sur une lame de test ADAMII™.

⚠ Attention : Agiter au vortex le tube soigneusement, à faible vitesse, bien mélanger avant de charger l'échantillon préparé sur une lame de test.

⚠ Attention : Ajoutez le liquide lentement. Une injection rapide peut provoquer des déversements.

- (2) Attendez 3 minutes pour que les cellules puissent se stabiliser
 (3) Insérez la lame de test ADAMII™ chargée dans l'instrument ADAMII™ et sélectionnez un type d'échantillon correspondant.
 (4) Veuillez vous référer au manuel d'utilisation d'ADAMII™ pour effectuer des mesures

10. NOTES DE PROCEDURE

- Afin de minimiser les erreurs et les variations lors de la préparation des échantillons, il est fortement recommandé d'utiliser la technique de pipetage inverse.
- Il est fortement recommandé de bien mélanger les échantillons, les réactifs et les éprouvette à chaque étape.
- Le laboratoire doit établir ses propres exigences en matière de viabilité des CD34+ pour chaque type d'échantillon.
- Évitez les bulles à tout moment.
- Des mesures erronées peuvent être effectuées si les tubes sont exposés à des lumières vives ou au soleil.
- Des mesures erronées peuvent être effectuées si les échantillons préparés ne sont pas conservés sur de la glace une fois la lyse RBC

terminée, ou si les échantillons préparés ont été conservés pendant plus d'une heure avant d'être mesurés.

- Les spécimens fixes doivent être évités.
- Évitez d'utiliser des échantillons hémolysés, coagulés ou agglutinés.

11. CALCUL DES RESULTATS

L'instrument ADAMIITM effectue automatiquement toutes les opérations de capture et analyses d'images. Les résultats de mesure comprennent (1) le nombre de CD34+ viables (cellules/ μ L), (2) le nombre de CD45+ viables (cellules/ μ L), (3) le nombre total de CD34+ (cellules/ μ L), (4) le nombre total de CD45+ (cellules/ μ L), (5) le rapport entre CD34 viables et CD45 viables (%), (6) la viabilité des CD34 (%) et (7) la viabilité des CD45 (%).

Plage de détection

La plage de détection est la suivante :

CD34 : 1~1000 cellules/ μ L

12. CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

Comparaison des méthodes

Le nombre de CD34+ viables [cellules/ μ L], le nombre de CD45+ viables [1000 cellules/ μ L] et le rapport entre les CD34 viables et les CD45 viables [%] ont été mesurés à l'aide des kits ADAMIITM-CD34 pour des échantillons de sang périphérique mobilisé (SPM collecté dans EDTA ou Na-héparine), des échantillons de leucaphérèse (CPH-A collecté dans ACD ou ACD+Héparine), des échantillons de sang de cordon frais (FCB collecté dans CPD), des échantillons de sang de cordon ombilical frais (FCB collecté dans le CPD), et du sang de cordon congelé décongelé (TFCB prélevé dans le CPD et stocké avec des échantillons de 10 % de DMSO et de 1 % de Dextran 40). Ces résultats ont été comparés à ceux d'un test de prédictat (Kit de dénombrement de cellules souches BD utilisé dans FACSCalibur ou FACSLyric). Les résultats des deux méthodes ont été comparés à l'aide d'une analyse de régression (pente, interception et R2) et d'intervalles de confiance à 95 %.



Note : les kits ADAMIITM -CD34 ont été qualifiés pour ces types d'échantillons ; SPM collecté dans EDTA ou Na-héparine, CPH-A collecté dans ACD ou ACD+héparine, FCB collecté dans CPD et TFCB collecté dans CPD et stocké avec 10 % de DMSO et 1 % de dextran 40.

Analyse de régression

Tableau 1. Analyse de régression du kit ADAMIITM CD34 par rapport à un test de prédicat

	N	R ²	Pente/IC à 95 %	Interception/IC à 95 %
SPM (regroupé)				
Cellules CD34 viables/μL	248	0,99	0,997 (0,985 - 1,009)	0,317 (-0,017 - 0,641)
Rapport CD34 viable sur CD45 viable	248	0,99	1,000 (0,968 - 1,000)	0 (0 - 0,003)
CD45 viable (1 000 cellules/μL)	248	0,99	1,018 (1,008 - 1,030)	0,111 (-0,072 - 0,249)
CPH-A (regroupé)				
Cellules CD34 viables/μL	382	0,99	0,998 (0,989 - 1,007)	2,237 (-2,033 - 6,029)
Rapport CD34 viable sur CD45 viable	382	0,98	1,000 (0,983 - 1,007)	0,010 (0,006 - 0,013)
CD45 viable (1 000 cellules/μL)	382	0,99	0,982 (0,972 - 0,992)	0,760 (0 - 1,495)
Sang de cordon frais (regroupé)				
Cellules CD34 viables/μL	124	0,99	0,994 (0,980 - 1,009)	-0,115 (-0,725 - 0,316)
Rapport CD34 viable sur CD45 viable	124	0,99	1,033 (1,013 - 1,056)	-0,02 (-0,03 - -0,01)
CD45 viable (1 000 cellules/μL)	124	0,98	0,945 (0,919 - 0,968)	0,222 (0,067 - 0,401)
Sang de cordon congelé décongelé (regroupé)				
Cellules CD34 viables/μL	159	0,99	0,983 (0,964 - 1,001)	0,519 (-0,080 - 1,210)
Rapport CD34 viable sur CD45 viable	159	0,96	0,995 (0,959 - 1,029)	-0,01 (-0,02 - 0,01)
CD45 viable (1 000 cellules/μL)	159	0,95	0,993 (0,962 - 1,023)	0,203 (-0,029 - 0,571)

Tracés de régression

Figure 1. Données regroupées : cellules CD34/ μ L

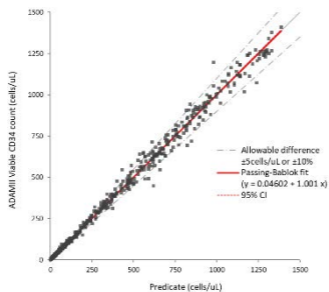


Figure 2. Données regroupées : Pourcentage CD34 de CD45

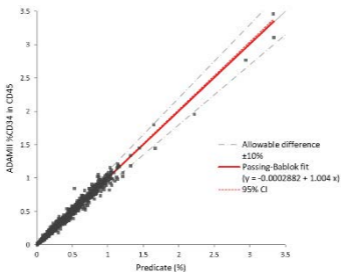
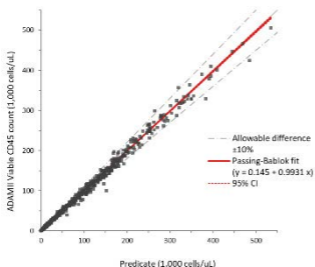


Figure 3. Données regroupées CD45 (1 000 cellules/ μ L)



Précision

- Étude 1

Les estimations de la précision de test ont été évaluées au laboratoire de recherche NanoEntek en utilisant deux niveaux de matériel de contrôle avec des gammes de :

- Moyenne : $22,3 < \text{Nombre CD34+ (cellules}/\mu\text{L}) \leq 36,3$
- Élevé : $86,8 < \text{Nombre CD34+ (cellules}/\mu\text{L}) \leq 126,8$

Deux réplicats sur deux séries distinctes pendant 20 jours ont été évalués pour la répétabilité (à l'intérieur de la série), entre les séries, entre les jours et pour la précision intralaboratoire.

Tableau 2. Résultats de l'étude 1

Nombre de CD34 Moyenne (cellules/ μ L)	Répétabilité		Entre les séries		Entre les jours		Intralaboratoire	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
31,614	2,987	9,4%	0,000	0,0%	2,187	6,9%	3,702	11,7%
106,220	5,557	5,2%	0,000	0,0%	6,537	6,2%	8,580	8,1%

- Étude 2

Une étude supplémentaire sur un seul site a été menée au laboratoire de recherche NanoEntek en utilisant un contrôle inférieur (plage de comptage CD34+ : $9,7 < \text{Nombre CD34+ (cellules/}\mu\text{L)} \leq 17,7$). Deux répétitions sur deux passages distincts par jour pendant 21 jours ont été évaluées.

Tableau 3. Résultats de l'étude 2

Nombre de CD34 Moyenne (cellules/ μ L)	Répétabilité		Entre les séries		Entre les jours		Intra-laboratoire	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
12,615	1,620	12,8%	1,006	8,0%	0,005	2,9%	1,942	15,4%
Pourcentage CD34 de CD45 moyenne	Répétabilité		Entre les séries		Entre les jours		Intra-laboratoire	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
0,181	0,025	13,6%	0,016	8,6%	0,005	2,9%	0,030	16,4%
Nombre de CD45 Moyenne (cellules/ μ L)	Répétabilité		Entre les séries		Entre les jours		Intra-laboratoire	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
6985,959	224,878	3,2%	140,769	2,0%	140,306	2,0%	300,120	4,3%

- Étude 3

Une étude supplémentaire sur un seul site a été menée au laboratoire de recherche NanoEntek en utilisant 3 lots de réactifs, 3 opérateurs et 3 instruments avec 3 niveaux de contrôle.

Tableau 4. Résultats de l'étude 3

	Cellules CD34/ μ L	CD34 (%)	Cellules Cd45/ μ L
Faible	9,2-17,2	0,13-0,27	5600-7600
Moy.	25,6-39,6	0,39-0,59	5700-7700
Haute	92,2-132,2	1,32-1,92	5900-7900

Tableau 5(a) Résultats de l'étude 3 par instrument**Instrument à Instrument**

Echantillon	Moyenne	N	Répétabilité		Entre les jours	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)
Faible nombre de cellules CD34/ μ L	12,15	252	2,15	17,68	0,00	0,00
Faible pourcentage CD34 de CD45	0,18	252	0,03	18,08	0,00	0,00
Faible nombre de cellules CD45/ μ L	6912,70	252	73,91	1,07	0,00	0,00
Moyenne des cellules CD34/ μ L	32,20	252	3,33	10,34	0,71	2,21
Pourcentage de la moyenne CD34 de CD45	0,46	252	0,05	10,90	0,01	2,46
Moyenne des cellules CD45/ μ L	6922,56	252	56,08	0,81	29,45	0,43
Nombre élevé de cellules CD34/ μ L	110,99	252	7,17	6,46	0,00	0,00
Pourcentage élevé de CD34 de CD45	1,61	252	0,10	6,41	0,01	0,41
Nombre élevé de cellules CD45/ μ L	6907,84	252	63,51	0,92	8,18	0,12

Tableau 5(b). Résultats de l'étude 3 par instrument

Instrument à Instrument

Echantillon	Moyenne	N	Entre les séries		Entre les instruments		Re-productibilité	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Faible nombre de cellules CD34/ μ L	12,15	252	0,15	1,26	0,00	0,00	0,15	1,26
Faible pourcentage CD34 de CD45	0,18	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Faible nombre de cellules CD45/ μ L	6912,70	252	15,06	0,22	0,00	0,00	15,06	0,22
Moyenne des cellules CD34/ μ L	32,20	252	0,44	1,37	0,46	1,43	0,95	2,96
Pourcentage de la moyenne CD34 de CD45	0,46	252	0,00	0,52	0,01	1,17	0,01	2,78
Moyenne des cellules CD45/ μ L	6922,56	252	16,77	0,24	7,80	0,11	34,78	0,50
Nombre élevé de cellules CD34/ μ L	110,99	252	0,00	0,00	0,24	0,21	0,24	0,21
Pourcentage élevé de CD34 de CD45	1,61	252	0,00	0,00	0,01	0,47	0,01	0,62
Nombre élevé de cellules CD45/ μ L	6907,84	252	7,45	0,11	2,43	0,04	11,33	0,16

Tableau 6(a). Résultats de l'étude 3 par lot**Lot à lot**

Echantillon	Moyenne	N	Entre les séries		Entre-lots	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)
Faible nombre de cellules CD34/ μ L	11,62	252	1,90	16,34	0,31	2,65
Faible pourcentage CD34 de CD45	0,17	252	0,03	16,92	0,00	2,76
Faible nombre de cellules CD45/ μ L	6959,24	252	95,34	1,37	22,08	0,32
Moyenne des cellules CD34/ μ L	34,09	252	3,45	10,12	0,00	0,00
Pourcentage de la moyenne CD34 de CD45	0,50	252	0,05	10,44	0,00	0,00
Moyenne des cellules CD45/ μ L	6875,40	252	112,45	1,64	27,11	0,39
Nombre élevé de cellules CD34/ μ L	114,52	252	6,60	5,77	0,77	0,68
Pourcentage élevé de CD34 de CD45	1,66	252	0,10	6,04	0,01	0,47
Nombre élevé de cellules CD45/ μ L	6897,47	252	110,69	1,60	28,06	0,41

Tableau 6(b). Résultats de l'étude 3 par lot

Lot à lot

Echantillon	Moyenne	N	Entre les séries		Entre-lots		Re-productibilité	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Faible nombre de cellules CD34/ μ L	11,62	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31	2,65
Faible pourcentage CD34 de CD45	0,17	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,76
Faible nombre de cellules CD45/ μ L	6959,24	252	0,00	0,00	5,57	0,08	22,77	0,33
Moyenne des cellules CD34/ μ L	34,09	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Pourcentage de la moyenne CD34 de CD45	0,50	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Moyenne des cellules CD45/ μ L	6875,40	252	36,11	0,53	26,61	0,39	52,41	0,76
Nombre élevé de cellules CD34/ μ L	114,52	252	1,43	1,25	1,57	1,37	2,26	1,97
Pourcentage élevé de CD34 de CD45	1,66	252	0,02	1,34	0,03	1,61	0,04	2,15
Nombre élevé de cellules CD45/ μ L	6897,47	252	0,00	0,00	0,00	0,00	28,06	0,41

Tableau 7(a). Résultats de l'étude 3 par opérateur

Opérateur à Opérateur

Echantillon	Moyenne	N	Entre opérateurs		Entre les jours	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)
Faible nombre de cellules CD34/ μ L	11,93	252	1,93	16,20	0,63	5,25
Faible pourcentage CD34 de CD45	0,17	252	0,03	16,28	0,01	5,61
Faible nombre de cellules CD45/ μ L	6934,94	252	81,77	1,18	16,61	0,24
Moyenne des cellules CD34/ μ L	32,11	252	3,34	10,39	0,00	0,00
Pourcentage de la moyenne CD34 de CD45	0,46	252	0,05	10,91	0,00	0,00
Moyenne des cellules CD45/ μ L	6911,14	252	70,35	1,02	0,00	0,00
Nombre élevé de cellules CD34/ μ L	109,68	252	6,75	6,15	0,00	0,00
Pourcentage élevé de CD34 de CD45	1,58	252	0,10	6,08	0,00	0,00
Nombre élevé de cellules CD45/ μ L	6926,21	252	65,69	0,95	28,50	0,41

Tableau 7(b). Résultats de l'étude 3 par opérateur

Opérateur à Opérateur

Echantillon	Moyenne	N	Entre les séries		Entre opérateurs		Re-productibilité	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Faible nombre de cellules CD34/ μ L	11,93	252	0,09	0,74	0,00	0,00	0,63	5,30
Faible pourcentage CD34 de CD45	0,17	252	0,00	1,97	0,00	0,00	0,01	5,95
Faible nombre de cellules CD45/ μ L	6934,94	252	0,00	0,00	11,60	0,17	20,26	0,29
Moyenne des cellules CD34/ μ L	32,11	252	0,00	0,00	0,42	1,32	0,42	1,32
Pourcentage de la moyenne CD34 de CD45	0,46	252	0,00	0,00	0,01	1,31	0,01	1,31
Moyenne des cellules CD45/ μ L	6911,14	252	12,93	0,19	0,00	0,00	12,93	0,19
Nombre élevé de cellules CD34/ μ L	109,68	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Pourcentage élevé de CD34 de CD45	1,58	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Nombre élevé de cellules CD45/ μ L	6926,21	252	16,11	0,23	1,24	0,02	32,76	0,47

- Étude 4

Une étude multi-sites a été menée sur 3 sites en utilisant 3 niveaux de matériel de contrôle.

Tableau 8. Plage de matériel de contrôle

		% de cellules positives	Fourchette prévue	Nombre absolu	Fourchette prévue
Faible	Cellules CD34/ μ L	0,19	0,12~0,26	13,7	9,7~17,7
Moy.	Cellules CD34/ μ L	0,45	0,36~0,56	32,4	25,4~39,4
Haute	Cellules CD34/ μ L	1,52	1,22~1,82	106	86,0~126,0

Trois répliquats sur deux passages distincts par jour pendant 5 jours ont été évaluées pour la reproductibilité entre les jours, entre les passages, entre les sites et la reproductibilité totale CV (%).

Tableau 9(a). Résultats de l'étude 4

Echantillon	Moyenne	N	Répétabilité		Entre les jours	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)
Faible nombre de cellules CD34/ μ L	12	90	1,76	14,5	0,6	4,9
Faible pourcentage CD34 de CD45	0,2	90	0,025	14,4	0,008	4,3
Faible nombre de cellules CD45/ μ L	6942	90	143,52	2,1	56,78	0,8
Moyenne des cellules CD34/ μ L	32	90	3,26	10,2	1,17	3,6
Pourcentage de la moyenne CD34 de CD45	0,5	90	0,046	10,0	0,015	3,3
Moyenne des cellules CD45/ μ L	6960	90	122,0	1,8	9,50	0,1
Nombre élevé de cellules CD34/ μ L	108	90	6,396	5,9	0,000	0,0
Pourcentage élevé de CD34 de CD45	1,6	90	0,097	6,2	0,025	1,6
Nombre élevé de cellules CD45/ μ L	6937	90	114,308	1,6	36,779	0,5

Tableau 9(b). Résultats de l'étude 4

Echantillon	Moyenne	N	Entre les séries		Entre les sites		Re-productibilité	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Faible nombre de cellules CD34/ μ L	12	90	0,59	4,8	1,29	10,6	1,54	12,6
Faible pourcentage CD34 de CD45	0,2	90	0,009	4,9	0,018	10,1	0,021	12,0
Faible nombre de cellules CD45/ μ L	6942	90	0,000	0,0	0,000	0,0	56,8	0,8
Moyenne des cellules CD34/ μ L	32	90	0,000	0,0	1,41	4,4	1,83	5,7
Pourcentage de la moyenne CD34 de CD45	0,5	90	0,000	0,0	0,020	4,3	0,025	5,5
Moyenne des cellules CD45/ μ L	6960	90	0,000	0,0	24,20	0,3	25,99	0,4
Nombre élevé de cellules CD34/ μ L	108	90	2,948	2,7	6,862	6,3	7,469	6,9
Pourcentage élevé de CD34 de CD45	1,6	90	0,028	1,8	0,100	6,4	0,106	6,8
Nombre élevé de cellules CD45/ μ L	6937	90	40,102	0,6	0,000	0,0	54,414	0,8

- Étude 5

Une étude d'interférence avec les anticoagulants a été menée et a démontré qu'il n'y avait pas de différences statistiquement ou cliniquement pertinentes entre les types d'échantillons/anticoagulants.

Des tests uniques sur 3 sites ont été réalisés avec 6 niveaux d'échantillons cliniques CPH-A ACD. Un lot de réactif et un opérateur/instrument par site ont testé 3 réplicats par échantillon sur 6 passages en 24 heures (limite de stabilité de l'échantillon).

Concentrations cibles de cellules CD34 viables/ μ L :

- 17 Cellules CD34/ μ L
- 35 cellules CD34/ μ L
- 75 cellules CD34/ μ L
- 100 cellules CD34/ μ L
- 500 cellules CD34/ μ L
- 1000 cellules CD34/ μ L

Tableau 10. Résultats de l'étude 5, site 1

Concentrations cibles de cellules CD34 viables/ μ L	Site 1				
	Paramètres	Total des cellules CD34/ μ L	Cellules CD34 viables/ μ L	Viable CD45 cellules/ μ L	Viable % CD34 de CD45
17 cellules/ μ L	Moyenne	16,96	16,14	3270,04	0,50%
	SD	2,29	2,22	230,65	0,09%
	CV	13,51%	13,76%	7,05%	17,60%
35 cellules/ μ L	Moyenne	37,03	36,78	6455,58	0,57%
	SD	3,34	3,23	443,08	0,05%
	CV	9,01%	8,78%	6,86%	9,49%
68 cellules/ μ L	Moyenne	68,74	68,42	4648,85	1,48%
	SD	4,65	4,66	262,57	0,15%
	CV	6,76%	6,81%	5,65%	9,86%
100 cellules/ μ L	Moyenne	92,90	92,69	5652,53	1,64%
	SD	5,36	5,39	234,42	0,12%
	CV	5,77%	5,82%	4,15%	7,25%
450 cellules/ μ L	Moyenne	471,55	469,43	28077,02	1,67%
	SD	28,27	27,76	1762,08	0,08%
	CV	5,97%	5,91%	6,28%	4,95%
960 cellules/ μ L	Moyenne	904,27	893,36	75292,90	1,18%
	SD	41,01	41,29	2274,17	0,06%
	CV	4,54%	4,62%	3,02%	4,93%

Tableau 11. Résultats de l'étude 5, site 2

Concentrations cibles de cellules CD34 viables/ μ L	Site 2				
	Paramètres	Total des cellules CD34/ μ L	Cellules CD34 viables/ μ L	Viable CD45 cellules/ μ L	Viable % CD34 de CD45
17 cellules/ μ L	Moyenne	17,05	16,91	3364,35	0,51%
	SD	2,09	2,05	271,88	0,06%
	CV	12,23%	12,15%	8,08%	12,14%
35 cellules/ μ L	Moyenne	35,51	35,03	6494,72	0,54%
	SD	4,15	3,96	198,25	0,06%
	CV	11,68%	11,29%	3,05%	10,85%
68 cellules/ μ L	Moyenne	66,53	66,41	4036,08	1,65%
	SD	4,55	4,49	210,81	0,17%
	CV	6,84%	6,76%	5,22%	10,58%
100 cellules/ μ L	Moyenne	101,12	100,63	6650,66	1,52%
	SD	5,95	5,92	296,61	0,10%
	CV	5,89%	5,88%	4,46%	6,79%
450 cellules/ μ L	Moyenne	442,64	440,06	28360,64	1,55%
	SD	26,32	24,89	829,78	0,10%
	CV	5,95%	5,66%	2,93%	6,48%
960 cellules/ μ L	Moyenne	982,96	977,56	53124,13	1,84%
	SD	44,27	43,31	1566,41	0,06%
	CV	4,50%	4,43	2,95%	3,36%

Tableau 12. Résultats de l'étude 5, site 3

Concentrations cibles de cellules CD34 viables/ μ L	Site 3				
	Paramètres de mesure	Total des cellules CD34/ μ L	Cellules CD34 viables/ μ L	Viable CD45 cellules/ μ L	Viable % CD34 de CD45
17 cellules/ μ L	Moyenne	17,07	16,76	3325,93	0,50%
	SD	2,09	2,42	170,27	0,06%
	CV	12,21%	14,47%	5,12%	12,19%
35 cellules/ μ L	Moyenne	32,73	32,05	19447,80	0,54%
	SD	3,22	3,31	1393,72	0,06%
	CV	9,85%	10,32%	7,17%	10,55%
68 cellules/ μ L	Moyenne	74,89	73,41	25862,38	0,28%
	SD	4,44	4,34	1400,05	0,01%
	CV	5,92%	5,91%	5,41%	5,00%
100 cellules/ μ L	Moyenne	100,25	97,08	24993,61	0,39%
	SD	5,64	5,48	1066,57	0,02%
	CV	5,62%	5,65%	4,27%	5,74%
450 cellules/ μ L	Moyenne	447,49	442,49	106235,8	0,40%
	SD	20,94	17,45	6060,55	0,03%
	CV	4,68%	4,13%	5,70%	7,21%
960 cellules/ μ L	Moyenne	1005,11	1002,17	44158,78	2,27%
	SD	24,14	23,76	2044,63	0,10%
	CV	2,40%	2,37%	4,63%	4,28%

Linéarité

Le kit ADAMII™ -CD34 a démontré une linéarité sur les plages revendiquées :

1 à 1 000 cellules CD34/ μ L

Interférence

Les effets de l'interférence des substances sur les performances d'ADAMII™ -CD34 ont été évalués selon le protocole CLSI EP7-A3. Les substances figurant dans le tableau ci-dessous ont été testées et se sont avérées ne présenter aucune interférence aux concentrations spécifiées dans le tableau.

Substances	Concentration
Hémoglobine	50 mg/dL
Gammaglobuline	1 %
Bilirubine	10 mg/dL
Albumine	7,5 mg/mL
G-CSF	60 ng/mL
Intralipide	250 mg/dL
Cyclophosphamide	550 μ g/mL
Doxorubicine	0,25 μ g/mL
Paclitaxel	20 μ g/mL

Stabilité de l'échantillon

La stabilité des échantillons stockés et la stabilité des échantillons colorés ont été évaluées au laboratoire de recherche NanoEntek en utilisant des échantillons de sang périphérique mobilisé (SPM), de leucaphérèse (CPH-A), de sang de cordon frais et de sang de cordon congelé décongelé. Les échantillons ont été conservés aux températures suivantes.

Test de stabilité	Type d'échantillon	Température
Stocké	FCB	20 à 25°C (température ambiante)
	SPM, CPH-A, TFCB	2 à 8°C
Coloré	SPM, CPH-A, FCB, TFCB	2 à 8°C

Sur la base des résultats de cette étude, nous recommandons de commencer la préparation des échantillons dans les 24 heures suivant le prélèvement pour le SPM et le CPH-A et dans les 48 heures suivant le prélèvement pour le sang de cordon ombilical frais. Nous recommandons de conserver les échantillons colorés sur de la glace humide et d'analyser les échantillons préparés dans l'heure qui suit la fin de la lyse des globules rouges. Les échantillons de sang de cordon ombilical congelés doivent être préparés immédiatement après la décongélation et analysés dès la fin de la lyse des globules rouges.

13. LIMITATIONS


















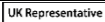


Le kit ADAMII-CD34 est conçu pour être utilisé sur l'instrument ADAMII™. Reportez-vous au manuel de l'utilisateur de l'instrument ADAMII™ pour plus d'informations.

Ne pas utiliser le kit ADAMII™-CD34 ou les lames au-delà de la date de péremption.

14. RÉFÉRENCES

- 1) Mijovic A and Pamphilon D. Harvesting, processing and inventory management of peripheral blood stem cells. *Asian J. Transfus Sci.* 2007; 1:16-23
- 2) Powles R Mehta J, Kulkarni S, Treleaven J, Milar B, Marsden J, Shepherd V, Rowand A, Sirohi B, Tait D, Horton C, Long S, and Singhai S. Allogeneic blood and bone-marrow stem-cell transplantation in haematological malignant diseases: a randomized trial. *Lancet* 2000. 355: 1231-1237
- 3) Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med.* (1989) 321:1174-8. 10.1056/NEJM198910263211707
- 4) Nielsen JS and McNagny KM. Novel functions of the CD34 family. *J. CellScience* 2008; 121: 3683-3692.
- 5) Grigg AP, Roberts AW, Raunow H, Houghton S, Layton JE, Boyd AW, McGrath KM, Maher D. Optimizing dose and scheduling of filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor) for mobilization and collection of peripheral blood progenitor cells in normal volunteers. *Blood* 1995; 86: 4437-4445.
- 6) Demirel T, Buckner CD, Appelbaum FR, Petersen FB, Rowley S, Weaver CH, Lilleby K, Sanders J, Chauncey T, Storb R, et al. Rapid engraftment after autologous transplantation utilizing marrow and recombinant granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood stem cells in patients with acute myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 1995; 15: 915-922
- 7) Ho AD, Gluck S, Germond C, Sinoff C, Dietz G, Maruyama M, Corringham RE. Optimal timing for collections of blood progenitor cells following induction chemotherapy and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for autologous transplantation in advanced breast cancer. *Leukemia.* 1993; 7:1738-1746
- 8) Elliot C, Samson DM, Armitage S, Lyttelton MP, McGuigan D, Hargreaves R, Giles C, Abrahamson G, Abboudi Z, Brennan M, Kanfer EJ. When to harvest peripheral-blood stem cells after mobilization therapy: prediction of CD34-positive cell yield by preceding day CD34-positive concentration in peripheral blood. *J Clin Oncol.* 1996; 14: 970-973.
- 9) Shots R, Van Riet I, Damiaens S, Flament J, Lacor P, Staelens Y, Steenssens L, van Camp B, De Waele M. The absolute number of circulating CD34+ cells predicts the number of hematopoietic stem cells that can be collected by apheresis. *Bone Marrow Transplant.* 1996; 17: 509-515.
- 10) Yu J, Leisenring W, Bensinger WI, Holmberg LA, Rowley SD. The predictive value of white cell or CD34 + cell count in the peripheral blood for timing apheresis and maximizing yield. *Transfusion.* 1999; 39: 442-450
- 11) Olivero S, Alario T, Ladaique P, Accoun M, Viens P, Blaise D, Chabannon C. CD34 + cell enumeration in peripheral blood and apheresis samples, using two laboratory diagnostic kits or an institutional protocol. *Bone Marrow Transplant.* 1999; 23: 387-394
- 12) Haein Yu, Jaeun Yoo, Jung Si Hwang, Mikyung Kim, Kyung Hee Bae, Dong Wook Jekarl, Jong Hyun Oh, Ji Yeon Lee, Sunmi Han, Chanil Chung, Myungsun Kim, Yonggoo Kim. Enumeration of CD34-positive Stem Cells Using the ADAMI11 Image-based Fluorescence Cell Counter. *Annals of Laboratory Medicine.* 2019; 39: 388-395

Glossaire des symboles

	Attention, avertissement, Consultez les documents d'accompagnement
	Numéro de catalogue/Numéro de référence
 <small>www.narcentek.com/eifu.php</small>	Consultez les instructions d'utilisation Un indicateur d'instructions d'utilisation électronique (eIFU) - (adresse du site web) peut accompagner le symbole lorsqu'il est utilisé pour indiquer une instruction de consulter un eIFU.
	Numéro de lot
	Date limite d'utilisation AAAA-MM-JJ ou AAAA-MM
	Fabricant
	Marquage CE
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Évaluation de la conformité au Royaume-Uni
	Limite de température
	Contient suffisamment pour <n> tests
	Ne pas réutiliser
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé
	Uniquement sur ordonnance ATTENTION : La loi fédérale (américaine) restreint la vente de ce dispositif par un médecin ou sur ordonnance d'un médecin.
	Société américaine
	Société Européenne
	Représentant autorisé dans la Communauté européenne
	Représentant autorisé au Royaume-Uni
	Représentant autorisé en Suisse
	Représentant autorisé au Brésil

Révisé en avril 2025

ADAMII™-CD34 Kit

Sistema de Contagem de Células Estaminais Hematopoéticas

REF CD34K-025

IVD Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*

1. USO PRETENDIDO

O Sistema ADAMII™ CD34 inclui o Kit ADAMII™-CD34, que é projetado para uso com o instrumento ADAMII™, um contador de células por fluorescência baseado em imagens de bancada. O ADAMII™ CD34 System inclui o Kit ADAMII™-CD34, que foi desenvolvido para uso com o instrumento ADAMII™, um contador de células por fluorescência baseado em imagem de bancada. O ADAMII™ CD34 System permite a enumeração de células viáveis CD34+, células viáveis CD45+ e calcula a percentagem de células viáveis CD34+ entre as células viáveis CD45+. O ADAMII™ CD34 System pode ser utilizado para sangue periférico mobilizado (SPM) recolhido em Na-Heparina ou EDTA, células progenitoras hematopoéticas – aferese (CPH-A) recolhidas em ACD ou ACD+ Heparina, sangue de cordão umbilical fresco (SCF) recolhido em CPD, e sangue de cordão umbilical descongelado (SCD) recolhido em CPD e armazenado com 10% DMSO, 1% Dextran 40. O Sistema ADAMII™ CD34 é destinado ao uso em laboratórios clínicos e apenas para uso diagnóstico *in vitro*. Não é destinado ao uso em configurações de atendimento ao paciente.

2. RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

Transplantes de células estaminais alogénicas mieloablativos e não mieloablativos são opções curativas para muitos pacientes com malignidades hematológicas. O número de transplantes autólogos e

alogênicos tem aumentado constantemente nas últimas duas décadas. Células estaminais de sangue periférico mobilizado (MPB) e células progenitoras hematopoéticas - aférese (HPC-A) são usadas como fonte preferida de células estaminais para transplante autólogo e alogênico de células estaminais hematopoéticas.^{1,2} O sangue de cordão umbilical (CB) tem sido uma fonte alternativa de células estaminais hematopoéticas, especialmente para pacientes sem um doador apropriado de medula ou sangue periférico mobilizado.³

O antígeno CD34, uma glicoproteína transmembranar de cadeia única expressa em células progenitoras primitivas derivadas de sangue e medula óssea, é um marcador bem conhecido para progenitores hematopoéticos e endoteliais.⁴ A medição precisa do número de células CD34+ é muito importante na prática clínica, pois os protocolos de transplante hematopoético têm requisitos específicos de dosagem e o efeito dos agentes mobilizadores pode ser diferente em doadores normais e em pacientes com cancro.^{5,6,7} A determinação por citometria de fluxo de células CD34+ tornou-se rapidamente a ferramenta de escolha para quantificar progenitores hematopoéticos circulantes, estabelecendo o seu número mínimo para garantir o enxerto e o tempo ótimo de aférese.^{8,9,10}

Apesar da fiabilidade do ensaio citométrico de fluxo, tem sido reportada uma variação interlaboratorial com métodos citométricos de fluxo na determinação da percentagem e do número absoluto de células CD34+.¹¹ O Sistema de Contagem de Células Estaminais ADAMII™ CD34 fornece contagens precisas e exatas de células CD34+, e as proporções de células CD34+ e CD45+ com um tempo de resposta rápido e com mínima intervenção do operador.¹² O elevado grau de precisão do Sistema de Contagem de Células Estaminais ADAMII™ CD34 deve-se em parte aos passos simplificados de preparação da amostra e à eliminação de etapas de lavagem que podem causar perda de células e estão sujeitas a erros humanos. Além disso, o Sistema de Contagem de Células Estaminais ADAMII™ CD34 utiliza um software personalizado que não requer passos de interpretação pós-medida.

3. PRINCÍPIO DO ENSAIO

O ensaio ADAMII™-CD34 começa com a adição de um volume apropriado de uma amostra a um tubo de ensaio e a mistura com um reagente contendo anticorpos marcados com fluorescência e corante de ácidos nucleicos. Os anticorpos marcados com fluorescência ligam-se especificamente aos marcadores CD34 e/ou CD45 expressos nas superfícies das células. O corante de ácidos nucleicos liga-se especificamente ao núcleo das células mortas. No Kit ADAMII™-CD34, os anticorpos CD34 (clone 8G12) reconhecem o marcador CD34 expresso nas células estaminais

hematopoiéticas, e os anticorpos CD45 (clone 2D1) reconhecem o marcador CD45 expresso nos leucócitos.

Após a incubação da amostra com o reagente durante 20 minutos, o Tampão de Lise de Eritrócitos é adicionado para lisar as células vermelhas do sangue. Após a conclusão da lise de eritrócitos, a preparação da amostra está completa e pronta para ser medida. A amostra preparada é carregada numa lâmina de plástico descartável e a lâmina carregada é colocada no estágio de precisão do instrumento ADAMII™.

No software ADAMII™ CD34, o utilizador deve ajustar o foco usando os botões de foco manual ou o botão de autofoco. Depois de encontrar um bom foco, o utilizador pressiona o botão "Run Sample" para iniciar a aquisição de imagens. Enquanto as imagens estão a ser capturadas, o software ADAMII™ CD34 analisa as imagens para produzir os resultados das medições.

Após a conclusão da aquisição de imagens, os resultados finais serão exibidos no ecrã e guardados automaticamente.

Os resultados finais incluem (1) Células viáveis CD34+/ μ L, (2) Células viáveis CD45+/ μ L, (3) Células totais CD34+/ μ L, (4) Células totais CD45+/ μ L, (5) Viabilidade CD34 (%), (6) Viabilidade CD45 (%), (7) A proporção de células CD34+ viáveis em relação às CD45+ viáveis (%).

O anticorpo CD34 reconhece uma glicoproteína transmembranar de cadeia única de 105-120 kilodaltons (kDa). O clone 8G12 reconhece um epítipo no CD34 distinto do reconhecido pelo clone My10; pelo menos três epítipos foram identificados. O anticorpo CD34 (clone 8G12) é composto por cadeias pesadas de IgG1 de rato e cadeias leves kappa. A excitação é a 496nm / Emissão: 578nm.

4. MATERIAL FORNECIDO

Quant.	Conteúdo	Número catálogo	de
1	Reagente ADAMII™ CD34 (25 Testes)	A34R-001	
1	Tampão de Lise de RBC 10X ADAMII™ (4 mL)	A34L-001	
1	Esferas de Calibração ADAMII™ (25 Testes)	A2CB-001	
1	Lâmina de Ensaio ADAMII™ (um pacote de 25 lâminas)	A2AS-025	
1	Folheto do Kit ADAMII™ CD34	-	
1	Tampão de Lise de RBC 10X ADAMII™ (para Material de Controlo)	ACL-001	



Nota: O tampão de lise de RBC 10X para material de controle é oferecido separadamente num saco de alumínio.

Uma solução de reagente de CD34 contém:

- Anticorpo anti-CD34 conjugado com PE
- Anticorpo anti-CD45 conjugado com PerCP
- Corante de coloração de ácido nucleico

5. MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Água grau reagente (desionizada)
- Tubos de recolha de sangue com EDTA ou equivalente
- Tubo de microcentrífuga
- PBS 1X (sem Cálcio e Magnésio) se for necessária a diluição da amostra.
- Pipetas e pontas de pipeta (5 μ L, 20 μ L, 35 μ L, 100 μ L, 250 μ L, 1,000 μ L)
- Misturador vortex
- Cronómetro
- Balde de gelo cheio de gelo picado se não houver um frigorífico disponível nas proximidades
- Equipamento de proteção pessoal
- Contentores para eliminação de resíduos biológicos perigosos.
- Material de controlo

6. ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

- Apenas para utilização em diagnóstico in vitro
- Não use o reagente ou a lâmina de ensaio se observar qualquer alteração na aparência.
- Não descontamine amostras lisadas com cloreto de amónio com lixívia.
- Para obter resultados precisos, é crucial adicionar um volume exato (20 μ L) da amostra a um tubo vazio e misturá-lo com um volume exato (5 μ L) de solução de reagente de CD34 contendo anticorpos e corantes de ácido nucleico.

** Use o método de pipetagem reversa ou uma pipeta de deslocamento positivo para alíquotas de amostras. Consulte as instruções do fabricante da pipeta para mais informações.*

- A solução de lise de cloreto de amônio é prejudicial se ingerida (R22) e irritante para os olhos (R36). Use roupas de proteção, óculos e luvas adequados. Descarte de acordo com as regulamentações federais, estaduais e locais.
- Todas as amostras biológicas e materiais em contato com elas são considerados riscos biológicos. Manuseie como se fosse capaz de transmitir infecção. Manuseie como se fosse capaz de transmitir infecção e descarte com as devidas precauções de acordo com as regulamentações federais, estaduais e locais. Nunca pipete pela boca.
- Ao usar tampão de lise de eritrócitos, use após diluição.
- Após usar as Esferas de Calibração, feche a tampa firmemente.

7. ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Todos os materiais fechados/abertos são estáveis até a data de validade no rótulo quando armazenados na temperatura especificada. A estabilidade do reagente foi demonstrada por 12 meses a partir da data de fabricação. A data de validade é claramente indicada na caixa do produto, no saco, no tubo e na garrafa.

Material	Número de catálogo
Armazenamento a temperatura de geladeira (2~8 °C)	
Reagente ADAMII™ CD34	A34R-001
Esferas de Calibração ADAMII™	A2CB-001
Tampão de Lise de RBC 10X ADAMII™ (4 mL)	A34L-001
Tampão de Lise de RBC 10X ADAMII™ (para Material de Controle)	ACL-001
Armazenamento em temperatura ambiente (2~25 °C)	
Lâmina de Ensaio ADAMII	A2AS-025

8. COLETA E MANUSEIO DE AMOSTRAS

- Mantenha as amostras não diluídas armazenadas a 2~8°C.
- O laboratório deve validar a amostra pré-analítica com as condições de armazenamento.
- Corar as amostras frescas (SPM e CPH-A) dentro de 24 horas após a coleta. Corar as amostras frescas dentro de 24 horas após a amostragem/coleta. Corar sangue de cordão umbilical fresco dentro

de 48 horas após a coleta. Corar amostras congeladas imediatamente após o descongelamento.

- Não use amostras previamente fixadas.
- Não use amostras frescas de MPB ou HPC-A que foram armazenadas por mais de 24 horas.
- Não use amostras frescas de sangue de cordão umbilical que foram armazenadas por mais de 48 horas.
- Rejeite amostras coaguladas ou aglomeradas.
- Após a conclusão da lise dos eritrócitos, armazenar as amostras preparadas no gelo. Amostras frescas de SPM, CPH-A e sangue de cordão umbilical fresco podem ser medidas dentro de 1 hora após a conclusão da lise dos eritrócitos. O sangue de cordão umbilical congelado deve ser medido imediatamente após a conclusão da lise dos eritrócitos.
- Antes da coloração para a contagem de CD34 no ADAMII™, os produtos de CPH-A (recolhidos em ACD ou ACD+Heparina), amostras de SPM (recolhidas em Na-Heparina) e amostras de sangue de cordão umbilical fresco (recolhidas em CPD) e amostras de sangue de cordão umbilical descongelado precisam ser transferidos para tubos anticoagulantes de EDTA para reduzir a aglomeração de células.
- Amostra de CPH-A: Antes de iniciar a preparação da amostra, ajustar o número total de leucócitos (WBC) na amostra para menos de 150,000 células/ μ L, diluindo a amostra com PBS 1X.
- Amostra de SPM: Após a conclusão da lise dos eritrócitos, diluir ainda mais uma amostra preparada se o número total de leucócitos (WBC) na amostra original for superior a 35,000 células/ μ L, diluindo a amostra preparada com tampão de lise de eritrócitos 1X.

9. PROCEDIMENTO

Calibração

As Beads de Calibração para o instrumento ADAMII™ incluídas em cada kit são partículas fluorescentes com tamanhos específicos e corantes fluorescentes, que permitem aos utilizadores verificar se o instrumento ADAMII™ está em boas condições em termos de alinhamentos óticos e capacidades de aquisição e análise de imagens. Recomenda-se que a calibração seja realizada regularmente ou, pelo menos, uma vez por semana. Consulte o Manual do Utilizador do Instrumento ADAMII™ para instruções completas.

Controlo de qualidade

De acordo com as Boas Práticas de Laboratório e regulamentações laboratoriais, recomenda-se a execução de dois níveis de material de controlo celular (controlo procedimental). Estes materiais de controlo devem ser processados como amostras de pacientes para monitorizar o desempenho de todos os processos analíticos. Recomenda-se que a calibração seja realizada regularmente ou, pelo menos, uma vez por semana.

Cada laboratório deve estabelecer sua própria prática para a execução dos controlos de qualidade. Os controlos de qualidade devem ser preparados seguindo os mesmos procedimentos utilizados para as amostras de pacientes. Cada laboratório pode determinar quando e com que frequência realizar os controlos de qualidade, considerando as seguintes situações:

- (1) pelo menos uma vez por mês
- (2) ao receber kits ADAMII CD34 de um novo lote
- (3) quando houver um novo operador
- (4) quando forem identificados problemas no instrumento ADAMII CD34 ou nos kits
- (5) quando forem identificados problemas no transporte ou na entrega dos kits ADAMII CD34
- (6) quando exigido pelos procedimentos padrão de CQ do laboratório

Os controlos comerciais fornecem valores estabelecidos para contagens absolutas de células CD34+ e percentagem de células CD34+ em relação às células CD45+. Estão disponíveis controlos comerciais de alguns fabricantes. Os controlos CD-Chex CD34 da Streck foram amplamente testados com o ADAMII CD34.

▪ **Procedimento de controlo de qualidade**


- (1) Rotule um tubo vazio e a lâmina de ensaio ADAMII™ para a identificação da amostra.
- (2) Transfira 20 µL de material de controlo bem misturado para o tubo vazio e adicione 5 µL da solução de reagente ADAMII™ CD34. Em seguida, feche o tubo e misture bem por vórtex ou com batidas de dedo.



Nota: *Vortex a solução de reagente ADAMII™ CD34 antes de usar.*

- (3) Incubar por 20 minutos num espaço escuro à temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C).
- (4) Dilua o tampão de lise de eritrócitos ADAMII™ 10x para material de controlo (fornecido separadamente) num novo tubo vazio para

preparar o tampão de lise de eritrócitos 1x para material de controlo.

 **Nota:** O tampão de lise de eritrócitos 1x para material de controlo deve ser preparado em quantidade suficiente para uso diário. Prepare diluindo 1 parte do tampão de lise de eritrócitos 10x para material de controlo com 9 partes de água ultrapura. Armazene e utilize à temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C)

- (5) Adicione 35 µL de tampão de lise de RBC 1x para material de controlo ao tubo e vórtex por 2-3 segundos.
- (6) Incubar por 20 minutos num espaço escuro à temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C).
- (7) Após agitar o material de controlo preparado durante alguns segundos, coloque 25 µL do material de controlo preparado numa lâmina de ensaio ADAMII™.

 **Nota:** Adicione o fluido lentamente. A injeção rápida pode causar transbordamentos.


- (8) Aguarde 3 minutos para que as células se depositem.
- (9) Insira a lâmina de ensaio ADAMII™ carregada no instrumento ADAMII™ e seleccione 'Control' para o tipo de amostra.
- (10) Consulte o manual do utilizador do ADAMII para realizar as medições.

Processamento de amostras


1. Preparação

- Amostra de CPH-A/SPM

- (1) Rotule um tubo vazio e uma lâmina de ensaio ADAMII™ para a identificação da amostra.
- (2) Transfira 20 µL de uma amostra bem misturada para o tubo vazio e adicione 5 µL da solução de reagente ADAMII™ CD34. Em seguida, feche o tubo e misture bem por vórtex ou com batidas de dedo.

 **Nota:** Vortex a solução de reagente ADAMII™ CD34 antes de usar.


- (3) Incubar por 20 minutos num espaço escuro à temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C)
- (4) Dilua o tampão de lise de RBC 10x ADAMII™ (para material de controlo) fornecido separadamente para um novo tubo vazio para preparar tampão de lise de RBC 1x.

 **Nota:** O tampão de lise de eritrócitos 1x deve ser preparado em quantidade suficiente para uso diário. Prepare diluindo 1 parte


- do tampão de lise de eritrócitos 10x com 9 partes de água ultrapura.*
- (5) Adicione 35 µL (para amostra de MPB) ou 250 µL (para HPC-A) de tampão de lise de RBC 1X ao tubo e vórtex por 2-3 segundos.
 - (6) Incubar por 20 minutos num espaço escuro à temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C).

● **Amostra de Sangue de Cordão Umbilical Fresco / Sangue de Cordão Umbilical Descongelado**

- (1) Rotule um tubo vazio e uma lâmina de ensaio ADAMII™ para a identificação da amostra.
- (2) Transfira 50 µL de uma amostra bem misturada para o tubo vazio e adicione 5 µL da solução de reagente ADAMII™ CD34. Em seguida, feche o tubo e misture bem por vórtex ou com batidas de dedo.

 **Nota:** Vortex a solução de reagente ADAMII™ CD34 antes de usar.

- (3) Incubar por 20 minutos num espaço escuro à temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C).
- (4) Dilua o tampão de lise de eritrócitos ADAMII™ 10x incluído no kit num novo tubo vazio para preparar o tampão de lise de eritrócitos 1x.

 **Nota:** O tampão de lise de eritrócitos 1x deve ser preparado em quantidade suficiente para uso diário. Prepare diluindo 1 parte do tampão de lise de eritrócitos 10x com 9 partes de água ultrapura. Armazene e utilize à temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C)

- (5) Adicione 200 µL de tampão de lise de RBC 1X ao tubo e vórtex por 2-3 segundos.
- (6) Incubar por 20 minutos num espaço escuro à temperatura ambiente (66~77°F, 20~25°C).

Tipo de amostra	Amostra (µL)	ADAMII-CD34 reagente (µL)	Tampão de lise de eritrócitos
Material de controlo	20	5	35 (para material de controlo)
SPM	20	5	35
CPH-A	20	5	250
Sangue de cordão umbilical (FCB, TFCB)	50	5	200

2. Procedimento de ensaio

- (1) Carregue 25 µL da amostra preparada numa lâmina de ensaio ADAMII™.



Atenção: *Agite o tubo cuidadosamente, em baixa velocidade, para misturar bem antes de carregar a amostra preparada numa lâmina de ensaio.*



Atenção: *Adicione o fluido lentamente. A injeção rápida pode causar transbordamentos.*

- (2) Aguarde 3 minutos para que as células se depositem.
- (3) Insira a lâmina de ensaio ADAMII™ carregada no instrumento ADAMII™ e selecione o tipo de amostra correspondente.
- (4) Consulte o manual do utilizador ADAMII™ para realizar as medições.

10. NOTAS PROCESSUAIS

- Para minimizar erros e variações durante a preparação da amostra, é altamente recomendado o uso da técnica de pipetagem reversa.
- É altamente recomendado misturar bem as amostras, reagentes e tubos de ensaio em cada etapa.
- O laboratório deve estabelecer os seus próprios requisitos de viabilidade de CD34+ para cada tipo de amostra.
- Evite bolhas em todos os momentos.
- Medições errôneas podem ocorrer se os tubos forem expostos a luzes brilhantes ou à luz solar.
- Medições errôneas podem ocorrer se as amostras preparadas não forem armazenadas em gelo após a conclusão da lise dos eritrócitos, ou se as amostras preparadas forem mantidas por mais de uma hora antes de serem medidas.
- Devem ser evitadas amostras fixadas.
- Evite utilizar amostras hemolisadas, coaguladas ou aglomeradas.

11. CÁLCULO DOS RESULTADOS

O instrumento ADAMII™ realiza automaticamente todas as operações de captura e análise de imagens uma vez que a lâmina de ensaio carregada com a amostra tenha sido manualmente inserida no instrumento ADAMII™ e 'Run sample' seja clicado. Quando concluído, quatro resultados de contagem serão gerados e exibidos (1) CD34 viável (células/ μ L) (2) CD45 viável (células/ μ L) (3) CD34 total (células/ μ L) e (4) CD45 total (células/ μ L). CD34 viável de CD45 viável (%), Viabilidade de CD34 (%) e Viabilidade de CD45 (%) também são calculados.

Intervalo de deteção


O intervalo de deteção é o seguinte:

CD34: 1~1000 células/ μ L

12. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Comparação de métodos

As contagens de células viáveis CD34+ [células/ μ L], contagens de células viáveis CD45+ [1000 células/ μ L] e a proporção de CD34 viáveis em relação às CD45 viáveis [%] foram medidas utilizando Kits ADAMII™-CD34 para amostras de sangue periférico mobilizado (SPM recolhido em EDTA ou Na-Heparina), amostras de leucaferese (CPH-A recolhidas em ACD ou ACD+Heparina), amostras de sangue de cordão umbilical fresco (SCF recolhido em CPD) e amostras de sangue de cordão umbilical descongelado (SCD congelado em CPD e armazenado com 10% DMSO e 1% Dextran 40). Estes resultados foram comparados com um ensaio de referência (Kit de Enumeração de Células Estaminais BD utilizado em FACSCalibur ou FACSLyric). Os resultados dos dois métodos foram comparados utilizando análise de regressão (inclinação, intercepto e R²) e intervalos de confiança de 95%.

 **Nota:** Os Kits ADAMII™-CD34 foram qualificados para estes tipos de amostras: SPM recolhido em EDTA ou Na-Heparina, CPH-A recolhido em ACD ou ACD+Heparina, SCF recolhido em CPD e SCD recolhido em CPD e armazenado com 10% DMSO e 1% Dextran 40.

Análise de Regressão

Tabela 1. Análise de Regressão do Kit ADAMITM CD34 em comparação com um ensaio de referência

	N	R ²	Inclinação/IC 95%	Intercepto/IC 95%
SPM (agrupado)				
CD34 viáveis (células/ μ L)	248	0,99	0,997 (0,985 – 1,009)	0,317 (-0,017 – 0,641)
Proporção de CD34 viáveis em CD45 viáveis	248	0,99	1,000 (0,968 – 1,000)	0 (0 – 0,003)
CD45 viáveis (1000 células/ μ L)	248	0,99	1,018 (1,008 – 1,030)	0,111 (-0,072 – 0,249)
CPH-A (agrupado)				
CD34 viáveis (células/ μ L)	382	0,99	0,998 (0,989 – 1,007)	2,237 (-2,033 – 6,029)
Proporção de CD34 viáveis em CD45 viáveis	382	0,98	1,000 (0,983 – 1,007)	0,010 (0,006 – 0,013)
Viáveis CD45 (1000 células/ μ L)	382	0,99	0,982 (0,972 – 0,992)	0,760 (0 – 1,495)
Sangue de cordão umbilical fresco (agrupado)				
CD34 viáveis (células/ μ L)	124	0,99	0,994 (0,980 – 1,009)	-0,115 (-0,725 – 0,316)
Proporção de CD34 viáveis em CD45 viáveis	124	0,99	1,033 (1,013 – 1,056)	-0,02 (-0,03 – -0,01)
Viáveis CD45 (1000 células/ μ L)	124	0,98	0,945 (0,919 – 0,968)	0,222 (0,067 – 0,401)
Sangue de cordão umbilical descongelado (agrupado)				
CD34 viáveis (células/ μ L)	159	0,99	0,983 (0,964- 1,001)	0,519 (-0,080 – 1,210)
Proporção de CD34 viáveis em CD45 viáveis	159	0,96	0,995 (0,959 – 1,029)	-0,01 (-0,02 – 0,01)
Viáveis CD45 (1000 células/ μ L)	159	0,95	0,993 (0,962 – 1,023)	0,203 (-0,029 – 0,571)

Gráficos de Regressão

Figura 1. Dados agrupados de células CD34/ μ L

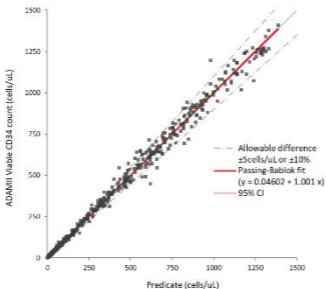


Figura 2. Dados agrupados %CD34 de CD45

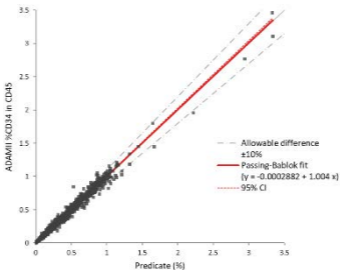
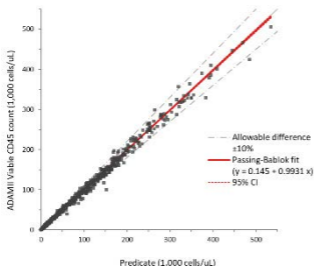


Figura 3. Dados agrupados de CD45 (1000 células/μL)



Precisão

- Estudo 1

Estimativas de precisão do ensaio foram avaliadas no laboratório de pesquisa NanoEntek usando dois níveis de material de controlo com intervalos de:

- Médio: $22,3 < \text{Contagens de CD34+ (células/}\mu\text{L)} \leq 36,3$
- Alto: $86,8 < \text{Contagens de CD34+ (células/}\mu\text{L)} \leq 126,8$

Duas réplicas em duas execuções separadas por 20 dias foram avaliadas para Repetibilidade (dentro da execução), entre execuções, entre dias e precisão dentro do laboratório.

Tabela 2. Resultados do Estudo 1

Contagem Média de CD34 (células/μL)	Repetibilidade		Entre execuções		Entre dias		Dentro do Laboratório	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
31,614	2,987	9,4%	0,000	0,0%	2,187	6,9%	3,702	11,7%
106,220	5,557	5,2%	0,000	0,0%	6,537	6,2%	8,580	8,1%

- Estudo 2

Um estudo adicional de um único local foi conduzido no laboratório de pesquisa NanoEntek usando um controle inferior (faixa de contagem de CD34+: $9,7 < \text{contagem de CD34+ (células}/\mu\text{L)} \leq 17,7$). Duas réplicas em duas execuções separadas por dia durante 21 dias foram avaliadas.

Tabela 3. Resultados do Estudo 2

Contagem Média de CD34 (células/ μL)	Repetibilidade		Entre execuções		Entre dias		Dentro do Laboratório	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
12,615	1,620	12,8%	1,006	8,0%	0,005	2,9%	1,942	15,4%
%CD34 de CD45 Média	Repetibilidade		Entre execuções		Entre dias		Dentro do Laboratório	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
0,181	0,025	13,6%	0,016	8,6%	0,005	2,9%	0,030	16,4%
Contagem Média de CD45 (células/ μL)	Repetibilidade		Entre execuções		Entre dias		Dentro do Laboratório	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
6985,959	224,878	3,2%	140,769	2,0%	140,306	2,0%	300,120	4,3%

- Estudo 3

Um estudo adicional de um único local foi conduzido no laboratório de pesquisa NanoEntek usando 3 lotes de reagentes, 3 operadores e 3 instrumentos usando 3 níveis de controle.

Tabela 4. Resultados do Estudo 3

	Células CD34/ μL	%CD34	Células CD45/ μL
Baixa	9,2-17,2	0,13-0,27	5600-7600
Med.	25,6-39,6	0,39-0,59	5700-7700
Alta	92,2-132,2	1,32-1,92	5900-7900

Tabela 5(a) Resultados do Estudo 3 por Instrumento**Instrumento para Instrumento**

Exemplo	Média	N	Repetibilidade		Entre-Dias	
			SD	%CV	SD	%CV
Células CD34 baixas/ μ L	12,15	252	2,15	17,68	0,00	0,00
CD34% baixo de CD45	0,18	252	0,03	18,08	0,00	0,00
Células CD45 baixas/ μ L	6912,70	252	73,91	1,07	0,00	0,00
Células CD34 médias/ μ L	32,20	252	3,33	10,34	0,71	2,21
CD34% médio de CD45	0,46	252	0,05	10,90	0,01	2,46
Células C045 médias/ μ L	6922,56	252	56,08	0,81	29,45	0,43
Células CD34 altas/ μ L	110,9	252	7,17	6,46	0,00	0,00
CD34% alto de CD45	1,61	252	0,10	6,41	0,01	0,41
Células CD45 altas/ μ L	6907,84	252	63,51	0,92	8,18	0,12

Tabela 5(b). Resultados do Estudo 3 por Instrumento

Instrumento para Instrumento

Exemplo	Média	N	Entre execuções		Entre Instrumentos		Reprodutibilidade	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Células CD34 baixas/ μ L	12,15	252	0,15	1,26	0,00	0,00	0,15	1,26
CD34% baixo de CD45	0,18	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Células CD45 baixas/ μ L	6912,70	252	15,06	0,22	0,00	0,00	15,06	0,22
Células CD34 médias/ μ L	32,20	252	0,44	1,37	0,46	1,43	0,95	2,96
CD34% médio de CD45	0,46	252	0,00	0,52	0,01	1,17	0,01	2,78
Células C045 médias/ μ L	6922,56	252	16,77	0,24	7,80	0,11	34,78	0,50
Células CD34 altas/ μ L	110,99	252	0,00	0,00	0,24	0,21	0,24	0,21
CD34% alto de CD45	1,61	252	0,00	0,00	0,01	0,47	0,01	0,62
Células CD45 altas/ μ L	6907,84	252	7,45	0,11	2,43	0,04	11,33	0,16

Tabela 6(a). Resultados do Estudo 3 por Lote

Lote para Lote

Exemplo	Média	N	Repetibilidade		Entre-Dias	
			SD	%CV	SD	%CV
Células CD34 baixas/ μ L	11,62	252	1,90	16,34	0,31	2,65
CD34% baixo de CD45	0,17	252	0,03	16,92	0,00	2,76
Células CD45 baixas/ μ L	6959,24	252	95,34	1,37	22,08	0,32
Células CD34 médias/ μ L	34,09	252	3,45	10,12	0,00	0,00
CD34% médio de CD45	0,50	252	0,05	10,44	0,00	0,00
Células C045 médias/ μ L	6875,40	252	112,45	1,64	27,11	0,39
Células CD34 altas/ μ L	114,52	252	6,60	5,77	0,77	0,68
CD34% alto de CD45	1,66	252	0,10	6,04	0,01	0,47
Células CD45 altas/ μ L	6897,47	252	110,69	1,60	28,06	0,41

Tabela 6(b). Resultados do Estudo 3 por Lote

Lote para Lote

Exemplo	Média	N	Entre execuções		Entre-Lote		Reprodutibilidade	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Células CD34 baixas/ μ L	11,62	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31	2,65
CD34% baixo de CD45	0,17	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,76
Células CD45 baixas/ μ L	6959,24	252	0,00	0,00	5,57	0,08	22,77	0,33
Células CD34 médias/ μ L	34,09	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CD34% médio de CD45	0,50	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Células C045 médias/ μ L	6875,40	252	36,11	0,53	26,61	0,39	52,41	0,76
Células CD34 altas/ μ L	114,52	252	1,43	1,25	1,57	1,37	2,26	1,97
CD34% alto de CD45	1,66	252	0,02	1,34	0,03	1,61	0,04	2,15
Células CD45 altas/ μ L	6897,47	252	0,00	0,00	0,00	0,00	28,06	0,41

Tabela 7(a). Resultados do Estudo 3 por Operador

Operador para Operador

Exemplo	Média	N	Repetibilidade		Entre-Dias	
			SD	%CV	SD	%CV
Células CD34 baixas/ μ L	11,93	252	1,93	16,20	0,63	5,25
CD34% baixo de CD45	0,17	252	0,03	16,28	0,01	5,61
Células CD45 baixas/ μ L	6934,94	252	81,77	1,18	16,61	0,24
Células CD34 médias/ μ L	32,11	252	3,34	10,39	0,00	0,00
CD34% médio de CD45	0,46	252	0,05	10,91	0,00	0,00
Células C045 médias/ μ L	6911,14	252	70,35	1,02	0,00	0,00
Células CD34 altas/ μ L	109,68	252	6,75	6,15	0,00	0,00
CD34% alto de CD45	1,58	252	0,10	6,08	0,00	0,00
Células CD45 altas/ μ L	6926,21	252	65,69	0,95	28,50	0,41

Tabela 7(b). Resultados do Estudo 3 por Operador

Operador para Operador

Exemplo	Média	N	Entre execuções		Entre operadores		Re- produtibilidade	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Células CD34 baixas/ μ L	11,93	252	0,09	0,74	0,00	0,00	0,63	5,30
CD34% baixo de CD45	0,17	252	0,00	1,97	0,00	0,00	0,01	5,95
Células CD45 baixas/ μ L	6934,94	252	0,00	0,00	11,60	0,17	20,26	0,29
Células CD34 médias/ μ L	32,11	252	0,00	0,00	0,42	1,32	0,42	1,32
CD34% médio de CD45	0,46	252	0,00	0,00	0,01	1,31	0,01	1,31
Células C045 médias/ μ L	6911,14	252	12,93	0,19	0,00	0,00	12,93	0,19
Células CD34 altas/ μ L	109,68	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CD34% alto de CD45	1,58	252	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Células CD45 altas/ μ L	6926,21	252	16,11	0,23	1,24	0,02	32,76	0,47

- Estudo 4

Um estudo multicêntrico foi conduzido em 3 locais usando 3 níveis de material de controle.

Tabela 8. Intervalo de material de controle

		% Célula Positiva	Intervalo Esperado	Número Absoluto	Intervalo Esperado
Baixa	Células CD34/ μ L	0,19	0,12~0,26	13,7	9,7~17,7
Med.	Células CD34/ μ L	0,45	0,36~0,56	32,4	25,4~39,4
Alta	Células CD34/ μ L	1,52	1,22~1,82	106	86,0~126,0

Três réplicas em duas execuções separadas por dia durante 5 dias foram avaliadas para entre dias, entre execuções, entre locais e reprodutibilidade total %CV.

Tabela 9(a). Resultados do Estudo 4

Exemplo	Média	N	Repetibilidade		Entre-Dias	
			SD	%CV	SD	%CV
Células CD34 baixas/ μ L	12	90	1,76	14,5	0,6	4,9
CD34% baixo de CD45	0,2	90	0,025	14,4	0,008	4,3
Células CD45 baixas/ μ L	6942	90	143,52	2,1	56,78	0,8
Células CD34 médias/ μ L	32	90	3,26	10,2	1,17	3,6
CD34% médio de CD45	0,5	90	0,046	10,0	0,015	3,3
Células CD45 médias/ μ L	6960	90	122,0	1,8	9,50	0,1
Células CD34 altas/ μ L	108	90	6,396	5,9	0,000	0,0
CD34% alto de CD45	1,6	90	0,097	6,2	0,025	1,6
Células CD45 altas/ μ L	6937	90	114,308	1,6	36,779	0,5

Tabela 9(b). Resultados do Estudo 4

Exemplo	Média	N	Entre execuções		Entre-Locais		Re- produtibilidade	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Células CD34 baixas/ μ L	12	90	0,59	4,8	1,29	10,6	1,54	12,6
CD34% baixo de CD45	0,2	90	0,009	4,9	0,018	10,1	0,021	12,0
Células CD45 baixas/ μ L	6942	90	0,000	0,0	0,000	0,0	56,8	0,8
Células CD34 médias/ μ L	32	90	0,000	0,0	1,41	4,4	1,83	5,7
CD34% médio de CD45	0,5	90	0,000	0,0	0,020	4,3	0,025	5,5
Células CD45 médias/ μ L	6960	90	0,000	0,0	24,20	0,3	25,99	0,4
Células CD34 altas/ μ L	108	90	2,948	2,7	6,862	6,3	7,469	6,9
CD34% alto de CD45	1,6	90	0,028	1,8	0,100	6,4	0,106	6,8
Células CD45 altas/ μ L	6937	90	40,102	0,6	0,000	0,0	54,414	0,8

- Estudo 5

Um Estudo de Interferência de Anticoagulantes foi conduzido e demonstrou que não houve diferenças estatisticamente ou clinicamente relevantes entre tipos de amostras/anticoagulantes.

Testes de um único local em 3 locais foram conduzidos usando 6 níveis de amostras clínicas de HPC-A ACD. Um lote de reagente e um operador/instrumento por local testaram 3 réplicas por amostra em 6 execuções em 24 horas (limite de estabilidade da amostra).

Concentrações alvo de células CD34 viáveis/ μ L:

- 17 células CD34/ μ L
- 35 células CD34/ μ L
- 75 células CD34/ μ L
- 100 células CD34/ μ L
- 500 células CD34/ μ L
- 1000 células CD34/ μ L

Tabela 10. Resultados do Estudo 5 Local1

Concentração Alvo Células CD34 viáveis/ μ L	Local 1				
	Parâmetros	Células CD34 totais/ μ L	Células CD34 viáveis/ μ L	Viáveis CD45 células/ μ L	Viáveis %CD34 de CD45
17 células/ μ L	Média	16,96	16,14	3270,04	0,50%
	SD	2,29	2,22	230,65	0,09%
	CV	13,51%	13,76%	7,05%	17,60%
35 células/ μ L	Média	37,03	36,78	6455,58	0,57%
	SD	3,34	3,23	443,08	0,05%
	CV	9,01%	8,78%	6,86%	9,49%
68 células/ μ L	Média	68,74	68,42	4648,85	1,48%
	SD	4,65	4,66	262,57	0,15%
	CV	6,76%	6,81%	5,65%	9,86%
100 células/ μ L	Média	92,90	92,69	5652,53	1,64%
	SD	5,36	5,39	234,42	0,12%
	CV	5,77%	5,82%	4,15%	7,25%
450 células/ μ L	Média	471,55	469,43	28077,02	1,67%
	SD	28,27	27,76	1762,08	0,08%
	CV	5,97%	5,91%	6,28%	4,95%
960 células/ μ L	Média	904,27	893,36	75292,90	1,18%
	SD	41,01	41,29	2274,17	0,06%
	CV	4,54%	4,62%	3,02%	4,93%

Tabela 11. Resultados do Estudo 5, Local2

Concentração Alvo Células CD34 viáveis/ μ L	Local 2				
	Parâmetros	Células CD34 totais/ μ L	Células CD34 viáveis/ μ L	Viáveis CD45 células/ μ L	Viáveis %CD34 de CD45
17 células/ μ L	Média	17,05	16,91	3364,35	0,51%
	SD	2,09	2,05	271,88	0,06%
	CV	12,23%	12,15%	8,08%	12,14%
35 células/ μ L	Média	35,51	35,03	6494,72	0,54%
	SD	4,15	3,96	198,25	0,06%
	CV	11,68%	11,29%	3,05%	10,85%
68 células/ μ L	Média	66,53	66,41	4036,08	1,65%
	SD	4,55	4,49	210,81	0,17%
	CV	6,84%	6,76%	5,22%	10,58%
100 células/ μ L	Média	101,12	100,63	6650,66	1,52%
	SD	5,95	5,92	296,61	0,10%
	CV	5,89%	5,88%	4,46%	6,79%
450 células/ μ L	Média	442,64	440,06	28360,64	1,55%
	SD	26,32	24,89	829,78	0,10%
	CV	5,95%	5,66%	2,93%	6,48%
960 células/ μ L	Média	982,96	977,56	53124,13	1,84%
	SD	44,27	43,31	1566,41	0,06%
	CV	4,50%	4,43	2,95%	3,36%

Tabela 12. Resultados do Estudo 5 Local3

Concentração Alvo Células CD34 viáveis/ μ L	Local 3				
	Parâmetros de medição	Células CD34 totais/ μ L	Células CD34 viáveis/ μ L	Viáveis CD45 células/ μ L	Viáveis %CD34 de CD45
17 células/ μ L	Média	17,07	16,76	3325,93	0,50%
	SD	2,09	2,42	170,27	0,06%
	CV	12,21%	14,47%	5,12%	12,19%
35 células/ μ L	Média	32,73	32,05	19447,80	0,54%
	SD	3,22	3,31	1393,72	0,06%
	CV	9,85%	10,32%	7,17%	10,55%
68 células/ μ L	Média	74,89	73,41	25862,38	0,28%
	SD	4,44	4,34	1400,05	0,01%
	CV	5,92%	5,91%	5,41%	5,00%
100 células/ μ L	Média	100,25	97,08	24993,61	0,39%
	SD	5,64	5,48	1066,57	0,02%
	CV	5,62%	5,65%	4,27%	5,74%
450 células/ μ L	Média	447,49	442,49	106235,8	0,40%
	SD	20,94	17,45	6060,55	0,03%
	CV	4,68%	4,13%	5,70%	7,21%
960 células/ μ L	Média	1005,11	1002,17	44158,78	2,27%
	SD	24,14	23,76	2044,63	0,10%
	CV	2,40%	2,37%	4,63%	4,28%

Linearidade

O Kit ADAMII™-CD34 demonstrou linearidade nas faixas reivindicadas:
1-1000 células CD34/μL

Interferência

Os efeitos da interferência de substâncias no desempenho do ADAMII™-CD34 foram avaliados de acordo com o protocolo CLSI EP7-A3. As substâncias na tabela abaixo foram testadas e não apresentaram interferência nas concentrações especificadas na tabela.

Substâncias	Concentração
Hemoglobina	50 mg/dL
Gama globulina	1 %
Bilirrubina	10 mg/dL
Albumina	7,5 mg/mL
G-CSF	60 ng/mL
Intralipid	250 mg/dL
Ciclofosfamida	550 μg/mL
Doxorrubicina	0,25 μg/mL
Paclitaxel	20 μg/mL

Estabilidade da Amostra

As estabilidades das amostras armazenadas e a estabilidade das amostras coradas foram avaliadas no laboratório de pesquisa NanoEntek usando sangue periférico mobilizado (MPB), leucaférese (HPC-A), sangue de cordão fresco e amostras de sangue de cordão congelado descongelado. As amostras foram armazenadas nas seguintes temperaturas.

Teste de Estabilidade	Tipo de amostra	Temperatura
Armazenado	FCB	20 a 25°C (Temperatura ambiente)
	MPB HPC-A TFCB	2 a 8°C
Corado	MPB, HPC-A, FCB, TFCB	2 a 8°C

Com base nos resultados deste estudo, recomendamos iniciar a preparação da amostra dentro de 24 horas após a coleta para MPB e HPC-A e dentro de 48 horas após a coleta para sangue de cordão fresco. Recomendamos manter as amostras coradas em gelo húmido e analisar as amostras preparadas dentro de 1 hora após a conclusão da lise de RBC. As amostras de sangue de cordão congelado devem ser preparadas imediatamente após o descongelamento e analisadas imediatamente após a conclusão da lise de RBC.

13. LIMITAÇÕES















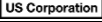





O Kit ADAMII-CD34 foi concebido para uso no instrumento ADAMII™. Consulte o Manual do Utilizador do Instrumento ADAMII™ para mais informações.

Não use o Kit ADAMII™-CD34 ou lâminas após a data de validade.

14. REFERÊNCIAS

- 1) Mijovic A and Pamphilon D. Harvesting, processing and inventory management of peripheral blood stem cells. *Asian J. Transfus Sci.* 2007; 1:16-23
- 2) Powles R Mehta J, Kulkarni S, Treleaven J, Milar B, Marsden J, Shepherd V, Rowand A, Sirohi B, Tait D, Horton C, Long S, and Singhal S. Allogeneic blood and bone-marrow stem-cell transplantation in haematological malignant diseases: a randomized trial. *Lancet* 2000. 355: 1231-1237
- 3) Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med.* (1989) 321:1174-8. 10.1056/NEJM198910263211707
- 4) Nielsen JS and McNagny KM. Novel functions of the CD34 family. *J. CellScience* 2008; 121: 3683-3692.
- 5) Grigg AP, Roberts AW, Raunow H, Houghton S, Layton JE, Boyd AW, McGrath KM, Maher D. Optimizing dose and scheduling of filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor) for mobilization and collection of peripheral blood progenitor cells in normal volunteers. *Blood* 1995; 86: 4437-4445.
- 6) Demirel T, Buckner CD, Appelbaum FR, Petersen FB, Rowley S, Weaver CH, Lilleby K, Sanders J, Chauncey T, Storb R, et al. Rapid engraftment after autologous transplantation utilizing marrow and recombinant granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood stem cells in patients with acute myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 1995; 15: 915-922
- 7) Ho AD, Gluck S, Germond C, Sinoff C, Dietz G, Maruyama M, Corringham RE. Optimal timing for collections of blood progenitor cells following induction chemotherapy and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for autologous transplantation in advanced breast cancer. *Leukemia.* 1993; 7:1738-1746
- 8) Elliot C, Samson DM, Armitage S, Lyttelton MP, McGuigan D, Hargreaves R, Giles C, Abrahamson G, Abboudi Z, Brennan M, Kanfer EJ. When to harvest peripheral-blood stem cells after mobilization therapy: prediction of CD34-positive cell yield by preceding day CD34-positive concentration in peripheral blood. *J Clin Oncol.* 1996; 14: 970-973.
- 9) Shots R, Van Riet I, Damiaens S, Flament J, Lacor P, Staelens Y, Steenssens L, van Camp B, De Waele M. The absolute number of circulating CD34+ cells predicts the number of hematopoietic stem cells that can be collected by apheresis. *Bone Marrow Transplant.* 1996; 17: 509-515.
- 10) Yu J, Leisenring W, Bensinger WI, Holmberg LA, Rowley SD. The predictive value of white cell or CD34 + cell count in the peripheral blood for timing apheresis and maximizing yield. *Transfusion.* 1999; 39: 442-450
- 11) Olivero S, Alario T, Ladaique P, Accoun M, Viens P, Blaise D, Chabannon C. CD34 + cell enumeration in peripheral blood and apheresis samples, using two laboratory diagnostic kits or an institutional protocol. *Bone Marrow Transplant.* 1999; 23: 387-394
- 12) Haein Yu, Jaeun Yoo, Jung Si Hwang, Mikyung Kim, Kyung Hee Bae, Dong Wook Jekarl, Jong Hyun Oh, Ji Yeon Lee, Sunmi Han, Chanil Chung, Myungsun Kim, Yonggoo Kim. Enumeration of CD34-positive Stem Cells Using the ADAMI Imge-based Fluorescence Cell Counter. *Annals of Laboratory Medicine.* 2019; 39: 388-395

Glossário de símbolos

	Cuidado, aviso, Consultar os documentos de acompanhamento
	Número de catálogo/Número de referência
 <small>www.nanocentek.com/eifu.php</small>	Consultar as instruções de uso Um indicador de instruções eletrónicas de uso (eIFU) (endereço do website) pode acompanhar o símbolo quando usado para indicar uma instrução para consultar um eIFU.
	Número do lote/Número do batch
	Usado por AAAA-MM-DD ou AAAA-MM
	Fabricante
	Marcação CE
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Avaliação de conformidade no Reino Unido
	Limitação de temperatura
	Contém suficiente para < n > testes
	Não reutilizar
	Não usar se a embalagem estiver danificada
	Apenas para uso sob receita médica CUIDADO: A lei federal (EUA) restringe a venda deste dispositivo a médicos ou mediante prescrição médica.
	Corporação dos EUA
	Sociedade Europeia
	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Representante autorizado no Reino Unido
	Representante autorizado na Suíça
	Representante autorizado no Brasil

Revisado em 2025.04



e-mail : ivdst@nanoentek.com
website : www.nanoentek.com



NanoEntek, Inc.

851-14, Seohaero, Paltan-myeon, Hwaseong-si, Gyeonggi-do, 18531, Korea
Tel: +82-2-6220-7940 / Fax: +82-2-6220-7999

US Corporation

NanoEntek America, inc.

220 Bear Hill Road, Suite 102, Waltham, MA 02451, USA
Tel: +1-781-472-2558 / Fax: +1-781-790-5649

European Corporation

NanoEntek Europe | med-tech supplies GmbH

Lochhamerstr. 4a, 82152 Martinsried, Germany
Tel: +49-89-21-55-38-43 / Fax: +49-89-99-95-46-60

EC REP

MT Promedt Consulting GmbH

Ernst-Heckel-Straße 7, 66386 St. Ingbert, Germany

UK Representative

MT Promedt Consulting Ltd.

First Floor, Park Central, 40-41 Park End Street, Oxford OX1 1JD, United Kingdom