使用の前に本電子化された添付文書をよく読むこと

体外診断用医薬品

製造販売認証番号　221AFAMX00053000

＊＊令和 8 年　11月 作成 （第6版）
＊令和 8 年　8月 作成 （第5版）

T 細胞キット、T 細胞サブセットキット、B 細胞キット、NK 細胞キット

BD マルチテスト 6カラー TBNK

【全般的な注意】

1. 本製品は、体外診断用でありそれ以外の目的に使用しないでください。
2. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
3. 本電子化された添付文書以外の使用方法については保証を致しません。
4. 使用する機器の注意事項等情報及び取扱説明書をよく読んでから使用してください。

【形状・構造等（キットの構成）】

BD マルチテスト 6 カラー TBNK

〈反応系に関与する成分〉
フルオレセイン・イソチオシアネート（FITC）標識抗ヒト CD3 マウスモノクローナル抗体
フィコエリスリン（PE）標識抗ヒト CD16 マウスモノクローナル抗体
フィコエリスリン（PE）標識抗ヒト CD56 マウスモノクローナル抗体
フィコエリスリンーシアニン 7（PE-Cy7）標識抗ヒト CD4 マウスモノクローナル抗体
アロフィコシアニン（APC）標識抗ヒト CD19 マウスモノクローナル抗体
アロフィコシアニンーシアニン 7（APC-Cy7）標識抗ヒト CD8 マウスモノクローナル抗体

カタログ番号	付属品
662995	Trucount 試験管
662967	―

【使用目的】

全血中のリンパ球細胞表面抗原の分析並びに T 細胞、T 細胞サブセット、B 細胞及び NK 細胞の測定

【測定原理】

本製品は蛍光物質標識モノクローナル抗体であり、フローサイトメトリー法により細胞表面の抗原の分析並びに細胞種を測定します。
本製品中の標識モノクローナル抗体は、それぞれのリンパ球の表面抗原に特異的に結合します。抗体が反応した細胞（陽性細胞）では、抗体に標識された蛍光物質が、フローサイトメーターの 488nm アルゴンイオンレーザー（青色レーザー）で励起することにより、FITC 標識抗体では緑色（525nm）、PE 標識抗体ではオレンジ色（575nm）、PerCP-Cy5.5 標識抗体では遠赤色（695nm）、PE-Cy7 標識抗体では赤外線（785nm）の蛍光を発し、また、633nm 赤色半導体レーザーで励起することにより APC 標識抗体では赤色（660nm）、APC-Cy7 標識抗体では赤外線（785nm）、の蛍光を発します。本製品の PerCP-Cy5.5 標識抗体は、ゲーティング試薬として使用し、PerCP-Cy5.5 標識抗ヒト CD45 マウスモノクローナル抗体と側方散乱光により CD45 が陽性であるリンパ球（T 細胞、B 細胞及び NK 細胞が含まれる）をゲーティングします。それぞれの抗体と反応した又は抗体の組み合わせで求めた陽性細胞数を同時に測定した CD45 陽性リンパ球数で除し陽性率が求められます。
また、Trucount 試験管（一定数の蛍光標識されたプラスチック粒子が入っている）を反応系の内部標準とすることで、各陽性細胞の絶対数を算定できます。

【操作上の注意】

1. **測定試料の性質、採取法**
   - 全血の調製には抗凝固剤を使用してください。しかしながら、陽性細胞の絶対数を測定する場合、ヘパリンおよびクエン酸デキストロース（ACD）の使用についての検証はできておりません。
   - 正確な結果を得るために、全血は 20～25℃で保存し、採血後 24 時間以内に染色し、染色後 6 時間以内に測定してください。

2. **妨害物質・妨害薬剤**
   - 血液細胞に影響を及ぼす薬剤などの妨害因子によって、正しい結果が得られないことがあります。一例として、免疫抑制剤投与の移植患者検体で、陰性細胞群と陽性細胞群との分離の悪い症例があることが知られています。
   - すでに溶血している検体の使用は避けてください。

・検体によっては、検体中に含まれる芽球化細胞、溶血が不十分な赤血球、有核赤血球によって測定を妨げられることがあります。溶血試薬は、有核赤血球を十分に溶血できないため、有核赤血球が含まれる検体ではデブリが多くなることがあります。
・デブリ過剰は骨髄繊維症や球状赤血球症など、赤血球が溶血しにくくなる疾患患者の検体でよく見られます。リンパ球ゲート内にこのようなデブリが過剰に混在するサンプルについては無効にすることをお薦めします。

3. 交差反応性

1） CD8 抗体は、サプレッサー/細胞傷害性 T 細胞と同様に NK 細胞の一つのサブセットにも反応します[1)]。
2） CD16 抗体は好中球にも弱く反応します[2)]。
3） CD4 抗体は単球にも弱く反応します。

〈参考文献〉

1. Perussia B, Starr S, Abraham S, Fanning V, Trinchieri G. Human natural killer cells analyzed by B73.1, a monoclonal antibody blocking Fc receptor functions. I. Characterization of the lymphocyte subset reactive with B73.1. J Immunol. 1983;130:2133-2141.
2. Lanier LL, Le AM, Phillips JH, Warner NL, Babcock GF. Subpopulations of human natural killer cells defined by expression of the Leu-7 (HNK-1) and Leu-11 (NK-15) antigens. J Immunol. 1983;131:1789-1796.

【用法・用量（操作方法）】

1. 試薬の調製方法

2～8℃で保存している本製品を 20～25℃に戻し、そのまま使用します。

2. 必要な器具・器材・試料等

1） K2 又は K3 EDTA 入り採血管
2） 12×75mm ディスポーザブル試験管［コーニング社 Falcon ポリスチレン製ディスポーザブル試験管 等］（ただし、Trucount 試験管を使用する場合は必要はない）
3） 精度管理用コントロール血球：
日々の精度管理として健常者の全血やコントロール血球（BD Multi-Check control 等）の測定を推奨致します。
4） 溶血試薬の調製
BD FACS Lysing Solution（10X）：20～25℃で保存。使用に際して、20～25℃に戻した試薬調製用の蒸留水（局方の蒸留水またはそれに相当するもの）で 10 倍に希釈。ガラス容器に入れ 20～25℃で保管。調製済溶液は 20～25℃で 1 ヵ月安定。
5） シース液（BD FACSFlow ）
6） リファレンスビーズ：使用するフローサイトメーター専用の蛍光標準ビーズ製品
7） 遠心器
8） Vortex ミキサー
9） アスピレーター
10） マイクロピペッター及びチップ
11） BD 社製フローサイトメーター：488nm の青色及び 633nm の赤色レーザーの搭載が必要

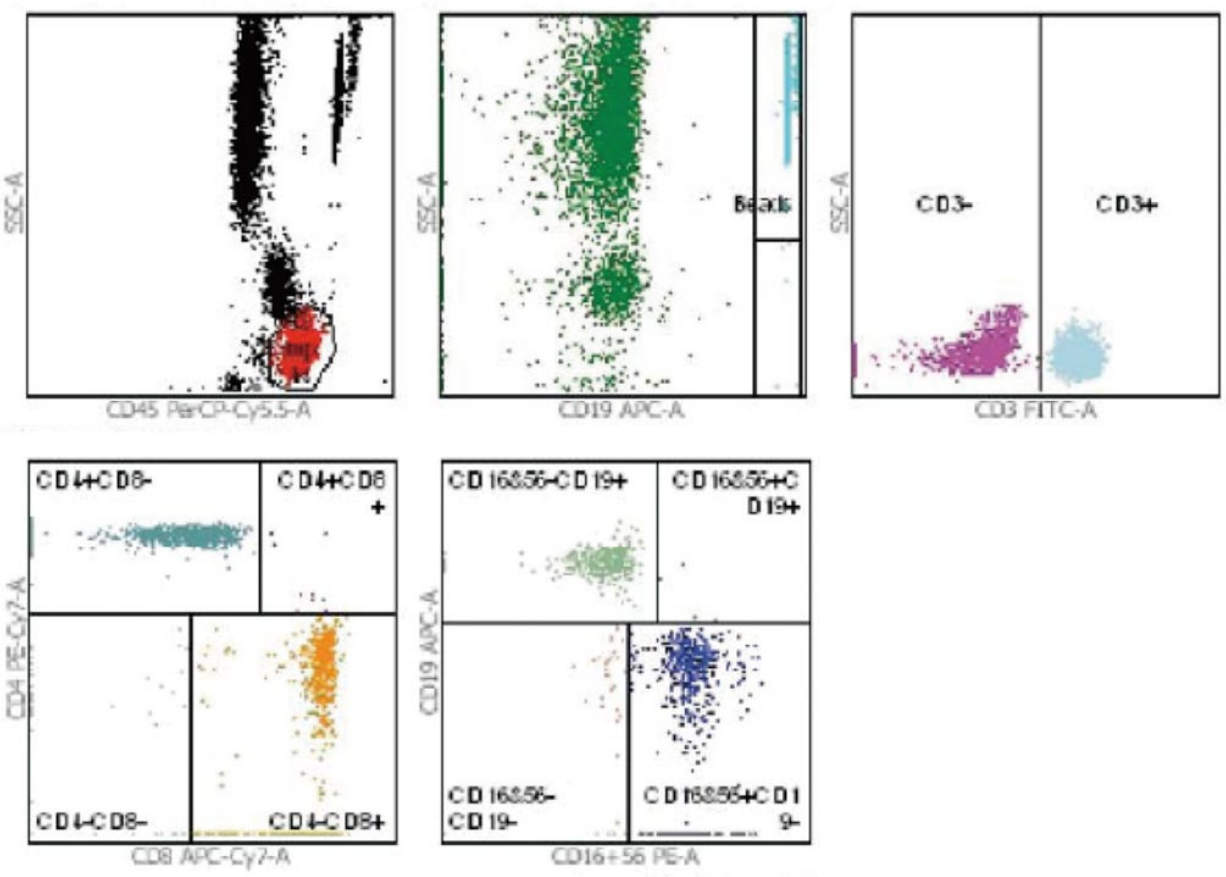
3. 測定（操作）法

サンプリング、反応

1） 測定する患者検体ごとに試験管（絶対数測定の場合は、Trucount 試験管）1 本を用意し、検体識別記号等をラベルします。
2） 20～25℃に戻した本製品を試験管の管底に 20μL ずつ加えます。
（注意）
Trucount 試験管を使用する場合は、試験管の底部についている金具の上部に分注すること。管底のペレットに触らないようにすること。
3） 攪拌した全血 50μL を試験管の底に分注します。
（注意）
試験管のサイドに分注しないこと。また Trucount 試験管を使用する場合は、試験管の底部についている金具の上部に分注（リバースピペッティング法で）すること。管底のペレットに触らないようにすること。
4） 試験管にフタをし、穏やかに Vortex し、20～25℃、暗所で 15 分間インキュベートします。
5） 10 倍希釈した BD FACS Lysing Solution 450μ を加えます。
（注意）
10 倍希釈した BD FACS Lysing Solution は、必ず 20～25℃のものをご使用ください。冷却されていると溶血が充分にできないことがあります。
6） 試験管にフタをし、穏やかに Vortex し、20～25℃、暗所で 15 分間インキュベートします。インキュベーション後フローサイトメーターにより測定します。直ちに測定しない場合は、20～25℃、暗所で保存してください（使用上または取扱い上の注意を参照ください）。

測定

1） フローサイトメーターを立ち上げます。（使用に際しての詳しい情報は機器の注意事項等情報及び取扱説明書を参照ください。）
2） 各リファレンスビーズで機器の状態をチェックし、適切な測定条件になるよう機器を調整します。（リファレンスビーズの使用の詳細については使用説明書等を参照ください。）
3） リンパ球ゲートの設定：染色サンプルの試験管を測定し、PerCP-Cy5.5 検出蛍光パラメーター［CD45］vs 側方散乱光［SSC］のドットプロットを表示し、リンパ球ゲートを設定します（適切なゲートとは、目的外（単球、顆粒球、デブリ等）の細胞のゲート内への混入をできるだけ避け、かつできるだけサンプル中の全てのリンパ球を取り込んだゲート）。
なお、PerCP-Cy5.5 測定ができない場合は、前方散乱光［FSC］と側方散乱光［SSC］を用いてゲートを設定します。
4） 陽性率の算出：
リンパ球ゲートかつ、T リンパ球ゲート（CD3＋）あるいは非 T リンパ球ゲート（CD3－）の細胞について APC-Cy7 検出蛍光パラメーター［CD8］vs PE-Cy7 検出蛍光パラメーター［CD4］及び PE 検出蛍光パラメーター［CD56＋CD16］vs APC- 検出蛍光パラメーター［CD19］のドットプロットを表示し、それぞれの陽性率を求めます。
なお、絶対数の算出は、Trucount 試験管等の使用説明書を参照して下さい。
BD 社の本製品用のソフトウェアでは適切なゲートを設定し、各陽性率を自動算出します。



Q1	Q2
Q3	Q4

〈四分画領域（Q1－Q4）内の細胞ポピュレーション〉

構成試薬	Q1	Q4
CD8 vs CD4	CD3＋CD4＋（CD8－） ヘルパー/インデューサーT 細胞リンパ球	CD3＋CD8＋（CD4－） サプレッサー/細胞傷害性 T 細胞リンパ球
CD16＋56 vs CD19	CD3－CD19＋（CD16－CD56－） B 細胞リンパ球	CD3－（CD16＋ or CD56＋）（CD19－） NK 細胞リンパ球

【測定結果の判定法】

CD3＋は T 細胞、さらに CD3＋中の CD4＋（CD8－）はヘルパー/インデューサーT 細胞リンパ球、CD3＋中の CD8＋（CD4－）は、サプレッサー/細胞傷害性 T 細胞リンパ球、また CD3－中の CD19＋（CD16－CD56－）は B 細胞、CD3－中の CD16＋又は CD56＋（CD19－）は NK 細胞であることが知られています。
これらのリンパ球サブセットのリンパ球に対する陽性率を求め、各施設にて設定する健常値と比較します。

〈健常値範囲：陽性率（%）の参考値〉

サブセット	N	Mean	95% Range
ヘルパー/インデューサーT 細胞	123	46.4	28.2－62.8
サプレッサー/細胞傷害性 T 細胞	123	24.0	10.2－40.1
T 細胞	123	71.1	49.1－83.6
B 細胞	123	14.9	6.5－27
NK 細	123	11.7	4.2－25.2

〈健常値範囲：絶対数（細胞数/μL）の参考値〉

サブセット	N	Mean	95% Range
ヘルパー/インデューサーT 細胞	123	1106	441－2156
サプレッサー/細胞傷害性 T 細胞	123	583	125－1312
T 細胞	123	1705	603－2990
B 細胞	123	354	107－698
NK 細	123	266	95－640

上記のデータは、社内データであり、米国の血液学的に健常者と認められる 18～65 才のデータを集計したものです。

1. 判定上の注意

1） 本製品による結果は、患者の性別や年齢あるいはサンプル調製方法によって影響を受けることがあるため、独自に健常値範囲を設定してください。
2） 人種によっても影響を受ける可能性があります。参考値範囲設定や実際の測定の際には被験者の年齢、性別、健康状態や人種を考慮してください[1)、2)、3)]。
3） 健康状態の異常が、常に細胞比率の異常として現われるわけではありません。つまり、健康状態が異常であっても健常人と同じ比率となることもあります。
4） 本製品は、白血病細胞のスクリーニングやタイピングには適しません。

〈参考文献〉

1. Prince HE, Hirji K, Waldbeser LS, Plaeger-Marshall S, Kleinman S, Lanier LL. Influence of racial background on the distribution of T-cell subsets and Leu 11-positive lymphocytes in healthy blood donors. Diagn Immunol. 1985;3:33-37.
2. Angadi CV. Lack of Leu-3a epitope on T-helper (CD4) lymphocytes. J Clin Lab Anal. 1990;4:193-195.
3. How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline–Second Edition. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2000. NCCLS document C28-A2.

【性能】

1） 相関性試験成績

〈相関：陽性率（%）〉

*

測定項目	N	傾き	切片	r	範囲
CD4	117	1.001	0.042	0.998	0.5-66.9
CD8	117	0.983	0.006	0.996	10.8-83.4
CD3	117	0.985	0.895	0.996	33.8-88.5
CD19	117	0.999	0.330	0.993	0.1-35.9
CD16＋CD56	117	0.985	0.060	0.992	2.4-51.5

〈相関：絶対数（細胞数/μL)〉

*

測定項目	N	傾き	切片	r	範囲
CD4	117	0.965	6.00	0.995	4.4-1592.8
CD8	117	0.956	7.01	0.994	50.8-2146.2
CD3	117	0.968	13.5	0.995	107.1-3403.1
CD19	117	0.973	6.97	0.992	0.5-1207.5
CD16+CD56	117	0.980	-0.29	0.990	6.7-918.4

上記のデータは、マルチテスト CD3/CD8/CD45/CD4、マルチテスト CD3/CD16＋CD56/CD45/CD19 との相関です。

〈測定内変動〉

CD4 Low Control, n=21	陽性率（%）			絶対数（細胞数/μL）		
	Mean	SD	CV	Mean	SD	CV
CD4	9.3	0.64	6.9%	176	7.6	4.3%
CD8	41.9	1.07	2.6%	190	4.1	2.2%
CD3	55.2	1.17	2.1%	1040	4.0	0.4%
CD19	25.0	0.89	3.6%	471	5.7	1.2%
CD16＋CD56	18.7	0.90	4.8%	353	7.0	2.0%

Control, n=21	陽性率（%）			絶対数（細胞数/μL）		
	Mean	SD	CV	Mean	SD	CV
CD4	47.5	0.95	2.0%	1299	4.7	0.4%
CD8	24.5	0.65	2.7%	671	4.7	0.7%
CD3	74.3	0.86	1.2%	2031	4.2	0.2%
CD19	14.4	0.62	4.3%	394	5.3	1.3%
CD16＋CD56	10.6	0.61	5.8%	290	7.9	2.7%

1） 較正用基準物質
管理用検体：健常人の新鮮な全血を管理用検体として用いる。

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上（危険防止）の注意

1） 試料（検体）は、HIV、HBV、HCV 等の感染の恐れがあるものとして取扱ってください。検査にあたっては感染の危険性を避けるため使い捨て手袋を着用し、また口によるピペッティングを行わないでください。
2） BD FACS Lysing Solution は 10%のホルムアルデヒドを含有しています。これは劇物です。使用に際しては、試薬が直接皮膚に付着したり、目に入らないように十分注意してください。
3） 本製品にはアジ化ナトリウムが含まれています。本製品を誤って目や口に入れたり、皮膚に付着した場合は、水で十分に流す等の応急処置を行ってください。必要があれば医師の手当等を受けてください。

2. 使用上の注意

1） 本製品は、遮光して 2～8℃で保存します。凍結保存は避けてください。使用時は 20～25℃に戻してください。
2） 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
3） 本製品に沈殿物等が見られた場合は、試薬の変性や劣化が考えられますので使用は避けてください。
4） 本製品は、すでに至適濃度に調製されているので、使用の際は希釈しないでください。

3. 廃棄上の注意

1） 患者検体や器具・材料は、全て感染症を媒介する可能性のあるものとして取り扱い、「感染性廃棄物処理マニュアル」等に従って廃棄して下さい。
（例）
オートクレーブ処理：121℃、20 分以上
次亜塩素酸ナトリウム処理（有効塩素濃度　1,000ppm)、1 時間以上
2） 本製品は保存剤として 0.1%アジ化ナトリウムを含有しています。アジ化ナトリウムは酸性の状態で極めて毒性の強い化合物であるトリアゾ酸を生成します。アジ化物は廃水管中に溜まると爆発の恐れがあるので、廃棄する際は流水で十分に希釈してください。
3） 試薬及び器具等を廃棄する場合には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規則に従って処理してください。

【貯蔵方法・有効期間】

1. **貯蔵方法**

2～8℃（遮光）

2. **有効期間**

13 ヶ月

【包装単位】

カタログ番号	製品名	包装単位
662995	BD マルチテスト 6 カラー TBNK（Trucount 試験管付）	50 テスト
662967	BD マルチテスト 6 カラー TBNK	50 テスト

別売品

カタログ番号	製品名	包装単位
340334	BD Trucount Tubes	50 本×1 包

***【問い合わせ先】**

日本ベクトン・ディッキンソン株式会社
カスタマーサービス
URL：www.bdj.co.jp/s/cs/
TEL：0120-8555-90

****【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】**

日本ベクトン・ディッキンソン株式会社
東京都港区赤坂４－１５－１