KOMBITEST TBNK 6-color

50 essais | N° de réf. **ED7733**

IVD CE 2265

Mode d’emploi (FR)

Version : ED7733_IFU_v4_FR

Date de publication : 17-04-2025

Symboles figurant sur l’étiquetage du produit

IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro		Limite de température
CE 2265	Marquage CE de conformité Numéro d'identification de l'organisme notifié		Tenir à l’écart de la lumière du soleil
	Fabricant	UK CA	Marque UKCA
UDI	Identifiant unique du dispositif	CH REP	Indique le mandataire en Suisse
	Consulter le mode d’emploi		
	Contient suffisamment d’unités pour <n> tests		
REF	Référence catalogue		
LOT	Code du lot		
	Date de péremption		

1. Usage prévu

KOMBITEST TBNK 6-color est destiné à la détection et au dénombrement des populations et sous-ensembles de lymphocytes dans le sang total humain par cytométrie en flux.

Éléments détectés et/ou mesurés

Le dispositif KOMBITEST TBNK 6-color détecte et mesure les pourcentages relatifs et les nombres absolus de lymphocytes T (CD3+), de lymphocytes B (CD3-CD19+) et de lymphocytes NK (CD3-CD16+56+) humains, ainsi que des sous-ensembles de lymphocytes T auxiliaires/inducteurs (CD3+CD4+) et suppresseurs/cytotoxiques (CD3+CD8+).

Fonction du dispositif

Le dispositif est destiné à être utilisé dans l'évaluation immunologique de patients normaux et peut aider au diagnostic de patients présentant ou suspectés de présenter une déficience immunitaire.

Contexte d'un état physiologique ou pathologique

Les fréquences des populations de lymphocytes mesurées par le dispositif peuvent être affectées par diverses affectations pathologiques et l'évaluation de leurs pourcentages et de leurs nombres peut être utilisée dans l'évaluation des pathologies suivantes :

- les lymphocytes T auxiliaires/inducteurs CD3+/CD4+ dans le suivi du VIH [1, 4, 7, 9]
- les cellules T cytotoxiques CD3+/CD8+ dans les infections virales et les immunodéficiences héréditaires [2, 3, 4, 11, 12, 15, 17]
- les cellules B CD3-/CD19+ dans les maladies auto-immune [5, 6]
- les cellules NK CD3-/CD16+56+ dans l'immunité innée et les déficiences immunologiques [13, 14]

Type de dosage

Non automatisé

Quantitatif

Type d'échantillon requis

Échantillon de sang total périphérique humain anticoagulé

Population testée

Non destiné à une population spécifique.

2. Utilisateur prévu

Le dispositif est destiné à un usage professionnel en laboratoire uniquement. Ne convient pas aux tests au chevet du patient ni aux auto-tests.

Conditions de qualification

Les utilisateurs prévus doivent avoir des compétences de pointe dans l'analyse de cytométrie en flux de cellules humaines, les techniques de laboratoire standard, notamment le pipetage, ainsi que la manipulation sûre et appropriée d'échantillons dérivés du corps humain.

L'utilisateur prévu doit respecter la norme EN ISO 15189 ou d'autres normes nationales, le cas échéant.

3. Principe du test

Le principe du test repose sur la détection d'anticorps monoclonaux se liant à une molécule spécifique (antigène) exprimée par certaines cellules sanguines humaines. Les anticorps monoclonaux utilisés dans le test sont marqués avec différents fluorochromes qui sont excités par un faisceau laser provenant d'un cytomètre en flux lors de l'acquisition d'un échantillon sanguin coloré par un anticorps. La fluorescence (émission de lumière) ultérieure de chaque fluorochrome présent sur une cellule sanguine acquise est recueillie et analysée par l'instrument. L'intensité de la fluorescence est directement proportionnelle à la densité d'expression de l'antigène dans une cellule, permettant ainsi la séparation de différents sous-ensembles cellulaires.

4. Réactif(s) fourni(s)

Contenu

Le dispositif KOMBITEST TBNK 6-color permet de réaliser 50 tests et est fourni avec le réactif suivant :

1 flacon (1 ml) contenant une combinaison prémélangée d'anticorps monoclonaux marqués au fluorochrome CD3 FITC / CD16 PE + CD56 PE / CD45 PerCP-Cy™5.5 / CD4 PE-Cy™7 / CD19 APC/CD8 APC-Cy™7, dilué à des concentrations optimales dans une solution stabilisante de sérum physiologique tamponnée au phosphate (PBS) contenant 15 mM d'azide de sodium et 0.2 % d'albumine sérique bovine (BSA).

Composition

Tableau 1 Description des composants actifs

Antigène	Fluorochrome	Clone	Isotype	Concentration (µg/ml)
CD3	FITC	TB3	IgG2b	2
CD4	PE-Cy™7	MEM-241	IgG1	1.5
CD8	APC-Cy™7	LT8	IgG1	1.8
CD16	PE	3G8	IgG1	1.5
CD56	PE	LT56	IgG2a	1.5
CD19	APC	LT19	IgG1	2
CD45	PerCP-Cy™5.5	MEM-28	IgG1	3

5. Matériel requis mais non fourni

Tubes à essai à fond rond de de 12x75 mm

Solution de lyse des érythrocytes (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., n° de réf. ED7066 ou CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, n° de réf. BD303500)

Eau déionisée (qualité réactif)

Cellules de contrôle de processus (Streck CD-Chex Plus®, n° de réf. 213323 ou contrôle de cellules lysables équivalent)

6. Équipement requis

Pipette automatique avec embouts jetables (20-100 µl) pour le pipetage des échantillons et des réactifs

Distributeur de liquide ou pipette avec embouts jetables (0.5-2 ml) pour distribuer la solution de lyse des érythrocytes

Mélangeur vortex

Analyseur d'hématologie (pour le nombre absolu de cellules) capable de dénombrer les leucocytes (globules blancs) et les lymphocytes par µl d'échantillon

Cytomètre en flux avec deux sources d'excitation laser (488 nm et ~ 635 nm), des détecteurs de lumière diffuse, des filtres optiques et des détecteurs d'émission appropriés pour recueillir les signaux émis par les fluorochromes indiqués dans le Tableau 2.

Tableau 2 Caractéristiques spectrales des fluorochromes utilisés dans le dispositif

Fluorochrome	Excitation [nm]	Émission [nm]
FITC	488	525
PE	488	576
PerCP-Cy™5.5	488	695
PE-Cy™7	488	780
APC	630-640	660
APC-Cy™7	630-640	780

REMARQUE : Le dispositif a été testé sur des cytomètres en flux BD FACSCanto™ II (BD Biosciences), DxFLEX (Beckman Coulter) et Sysmex™ XF-1600™ (Sysmex Corporation).

7. Conservation et manipulation

Conserver à une température de 2-8 °C.

Éviter l'exposition prolongée à la lumière.

Ne pas congeler.

Voir la section 10, Procédure (Préparation des réactifs) pour plus d'informations sur la stabilité en cours d'utilisation et la durée de conservation après la première ouverture, ainsi que sur les conditions de conservation et la stabilité des solutions de travail (le cas échéant).

8. Avertissements, précautions et limitations d'utilisation

Classification des dangers SGH

Consulter la fiche de données de sécurité (FDS) disponible sur la page du produit à l'adresse www.exbio.cz pour obtenir des informations complètes sur les risques qu'impliquent les substances chimiques et les mélanges contenus dans le produit, ainsi que sur la manière dont ils doivent être manipulés et éliminés.

Danger biologique

Les échantillons biologiques et les échantillons de sang humain ainsi que toute substance entrant en contact avec ces derniers sont toujours considérés comme du matériel infectieux.

Utiliser des équipements de sécurité et de protection individuelle pour éviter tout contact avec la peau, les yeux et les muqueuses.

Respecter toutes les lois, réglementations et procédures en vigueur relatives à la manipulation et l'élimination du matériel infectieux.

Signes de détérioration

L’aspect normal du réactif fourni est un liquide transparent. Ne pas utiliser le réactif si un changement d’aspect est observé, par exemple turbidité ou signes de précipitation.

Limitation d’utilisation

Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur les étiquettes des produits.

9. Échantillon

Utiliser du sang périphérique veineux prélevé dans un récipient pour échantillon classé comme dispositif médical, avec l’anticoagulant EDTA.

> **REMARQUE :** Déterminer le nombre absolu de leucocytes et le nombre de lymphocytes dans l’échantillon de sang prélevé par un analyseur d’hématologie. Le dispositif KOMBITEST TBNK 6-color ne fournit pas à lui seul le nombre de cellules absolu.

Les échantillons de sang contenant plus de $40x10^3$ leucocytes/µl nécessiteront une dilution avec une solution PBS avant leur traitement.

Traiter les échantillons de sang au plus tard 24 heures après leur prélèvement. Conserver l'échantillon à la température du laboratoire (20 - 25 °C). Ne pas réfrigérer l'échantillon.

Interférences endogènes

Les sources d'interférences endogènes sont identifiées dans le Tableau 3 sur la base des recherches littéraires scientifiques.

Tableau 3 Interférences endogènes du dispositif

Interférences endogènes	Impact	Référence
Albumine	L'albumine, en forte concentration, peut interférer en raison de sa capacité à se lier et à libérer de grandes quantités de ligands.	18, 19, 35
Bilirubine (ictère) (non conjuguée)	La bilirubine peut augmenter le fond de fluorescence des cellules en raison de sa forte auto-fluorescence.	22, 24, 28
Débris cellulaires (après lyse)	Les débris cellulaires peuvent fausser la numération cellulaire et épuiser les anticorps présents dans le dispositif.	21, 25
Érythrocytes	Une lyse insuffisante des globules rouges présents dans l'échantillon peut fausser la numération cellulaire.	26
Hémoglobine	Les échantillons hémolysés peuvent	23

	donner des résultats erronés.	
Anticorps humains anti-murins	Le traitement par anticorps monoclonaux peut donner des résultats erronés (capacité à se lier aux antigènes de surface de cellules).	20, 30, 31, 32, 33, 34
Immunoglobulines	Lavage impossible au moyen de la méthode à plate-forme unique, avec susceptibilité d'entraîner une numération erronée des sous-ensembles lymphocytaires.	21
Facteurs rhumatoïdes	La présence de radiofréquences interfère avec les tests immunologiques multiplex (MIA).	27
Triglycérides	Des taux élevés de lipides en circulation peuvent affecter l'analyse par cytométrie en flux de certaines populations de cellules sanguines.	29

Interférences exogènes

Les échantillons datant de plus de 24 heures peuvent donner des résultats erronés.

Les échantillons réfrigérés peuvent donner des résultats erronés.

La préparation incorrecte de la solution de lyse érythrocytaire (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., n° de réf. ED7066 ou CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, n° de réf. BD303500) peut donner des résultats erronés. Suivre les instructions du fabricant concernant l'utilisation de la solution de lyse érythrocytaire.

10. Procédure

Préparation du ou des réactifs fournis

Aucune préparation de réactif n'est nécessaire.

Amener le réactif à température ambiante avant utilisation. Maintenir le récipient primaire du dispositif au sec.

Utiliser le réactif directement à partir de son récipient primaire d'origine. La durée d'utilisation du réactif (exposition à la lumière et à des températures élevées) ne doit pas dépasser 4 heures par jour.

Après son ouverture initiale, le réactif conserve ses caractéristiques de performance jusqu'à la date de péremption indiquée à condition qu'il soit conservé conformément aux indications mentionnées dans son emballage primaire d'origine.

MISE EN GARDE : Ne pas diluer le réactif.

Préparation du matériel requis, mais pas fourni

Diluer la solution concentrée de lyse des érythrocytes avec de l'eau déionisée conformément aux instructions du fabricant. La solution de lyse des érythrocytes diluée (1X) est stable pendant 1 mois si elle est conservée dans un distributeur de liquide ou un récipient fermé à température ambiante.

Contrôle de qualité

Utiliser Streck CD-Chex Plus® ou des cellules de contrôle équivalentes comme contrôle de procédure positif pour garantir le bon fonctionnement du dispositif comme prévu. Streck CD-Chex Plus® fournit des valeurs établies pour le pourcentage de numération positive et absolue des lymphocytes T, des lymphocytes B, des granulocytes, des monocytes et des lymphocytes NK, notamment deux niveaux cliniquement pertinents de cellules CD4+.

Colorer les cellules de contrôle à l'aide du réactif KOMBITEST TBNK 6-color selon le traitement de l'échantillon tel que spécifié dans le mode d'emploi. Vérifier que les résultats obtenus (% de cellules positives) se situent dans l'intervalle attendu indiqué pour le lot de cellules de contrôle utilisé.

Coloration des échantillons

1. Pour chaque échantillon, étiqueter un tube à essai à fond rond de 12×75 mm avec l'identification appropriée de l'échantillon.
2. Pipeter 20 µl de réactif KOMBITEST TBNK 6-color au fond du tube à essai de 12x75 mm.
3. Pipeter 50 µl d'échantillon de sang bien mélangé au fond du tube à essai.

   MISE EN GARDE : Éviter de pipeter le sang sur le côté du tube à essai. S'il reste une gouttelette ou un frottis de sang sur le côté du tube, il se peut que celui-ci ou celle-ci ne soit pas coloré par le réactif ou que les érythrocytes ne soient pas lysés et que le résultat du test ne soit pas valide.
4. Agiter au vortex et laisser incuber le tube à essai pendant 20 minutes à température ambiante dans l'obscurité.
5. Ajouter 500 µl de solution de lyse (1X) diluée dans le tube à essai.
6. Agiter au vortex et laisser incuber le tube à essai pendant 10 minutes à température ambiante dans l'obscurité.

Récupérer l'échantillon coloré immédiatement sur le cytomètre en flux. Si l'échantillon coloré n'est pas récupéré immédiatement, le conserver à 2-8 °C dans l'obscurité et l'analyser dans les 24 heures.

MISE EN GARDE : Agiter au vortex l'échantillon coloré immédiatement avant la récupération sur le cytomètre en flux pour éviter les agrégats.

Analyse par cytométrie en flux

Le cytomètre en flux sélectionné pour être utilisé avec le dispositif KOMBITEST TBNK 6-color doit être calibré de façon routinière à l'aide de microbilles fluorescentes pour garantir la stabilité de la sensibilité des détecteurs conformément aux instructions du fabricant du cytomètre.

S'il n'est pas correctement entretenu, le cytomètre en flux peut produire de faux résultats.

Se reporter aux spécifications du cytomètre indiquées par le fabricant concernant les lasers et les détecteurs de fluorescence selon les caractéristiques d'excitation et d'émission des fluorochromes à la section 6 Équipement requis.

Régler les tensions sur les détecteurs de fluorescence d'intérêt avant l'analyse des échantillons colorés. La tension sur un détecteur PMT doit être suffisamment élevée pour qu'un minimum d'événements colorés négativement interfèrent avec le canal 0 sur l'axe de fluorescence. En outre, la tension du détecteur PMT ne doit pas dépasser les valeurs auxquelles les événements positifs sont poussés vers l'axe droit.

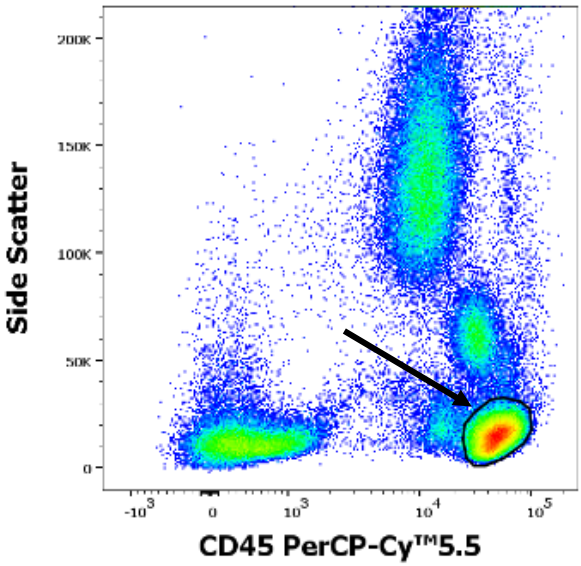
Compenser les signaux de fluorescence entre les détecteurs avant ou après l'acquisition des données. Les données peuvent être interprétées de manière incorrecte si les signaux de fluorescence sont mal compensés ou si les régions sont mal positionnées.

Pour l'analyse des données mesurées, il est possible d'utiliser un logiciel de cytométrie développé par le fabricant ou un logiciel dédié à l'analyse des données de cytométrie hors ligne (par exemple FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

Analyse des données de l’échantillon coloré KOMBITEST TBNK 6-color

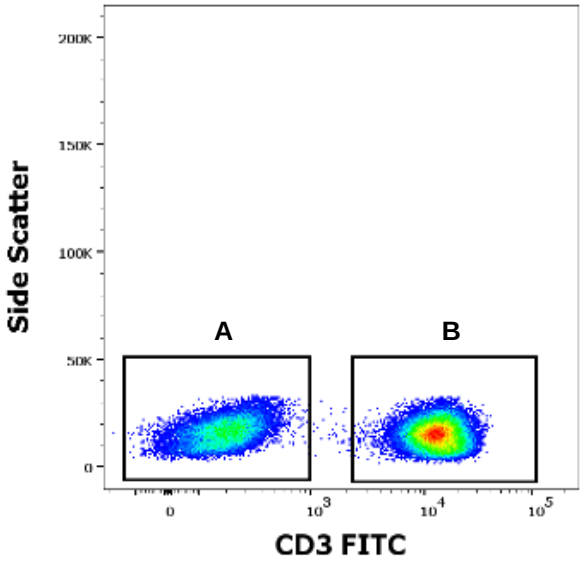
Visualiser les données compensées dans un graphique à dispersion latérale (SSC) par rapport au CD45 PerCP-Cy™5.5. Régler la région pour la population de lymphocytes CD45+ comme indiqué dans la Figure 1.

Figure 1 Délimitation de la population de lymphocytes CD45+ (données acquises sur BD FACSCanto™ II)



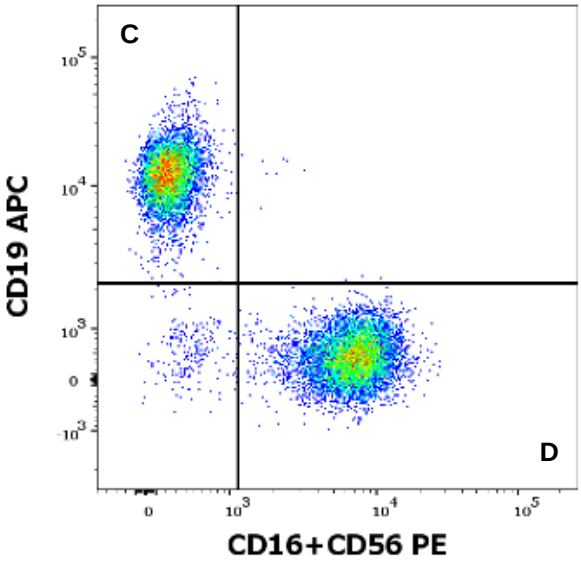
Afficher les lymphocytes CD45+ triés dans un graphique avec la dispersion latérale (SSC) par rapport au CD3 FITC comme le montre la Figure 2. Séparer les lymphocytes CD3+ et CD3- en utilisant les fenêtres appropriées. Calculer le pourcentage de lymphocytes T (CD3+ ; région B dans la Figure 2) par rapport à tous les lymphocytes.

Figure 2 Séparation des lymphocytes CD3+ et CD3- (données acquises sur BD FACSCanto™ II)



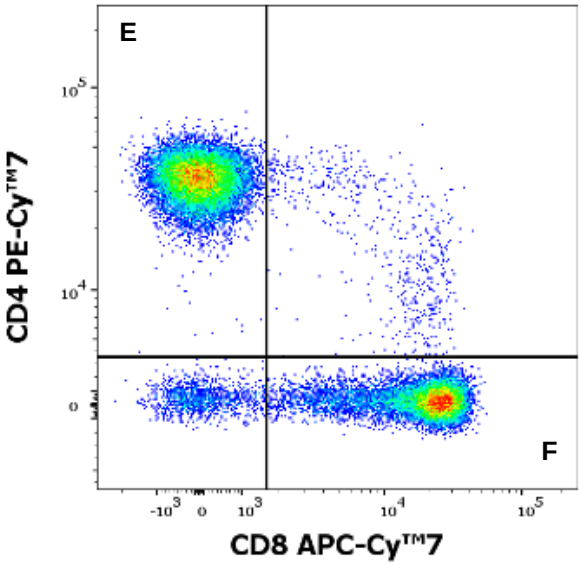
Afficher es lymphocytes CD3 triés (région A dans la Figure 2) sur un graphique CD19 APC par rapport à CD16+CD56 PE comme le montre la Figure 3. Régler les régions appropriées et calculer le pourcentage de lymphocytes B (CD16-CD56-CD19+ ; région C dans la Figure 3) et de cellules tueuses naturelles (NK) (CD16+CD56+CD19- ; région D dans la Figure 3) par rapport à tous les lymphocytes.

Figure 3 Lymphocytes CD3- dans un graphique à points CD19 APC par rapport à CD16+CD56 PE (données acquises sur BD FACSCanto™ II)



Afficher les lymphocytes T triés (CD3+ ; région B dans la Figure 2) sur un graphique CD4 PE-Cy™7 par rapport à CD8 APC-Cy™7 comme le montre la Figure 4. Régler les régions appropriées et calculer le pourcentage de lymphocytes T auxiliaires/ inducteurs (CD4+CD8- ; région E dans la Figure 4) et de lymphocytes T suppresseurs/cytotoxiques (CD4-CD8+ ; région F dans la Figure 4) par rapport à tous les lymphocytes.

Figure 4 Lymphocytes CD3+ dans un graphique à points CD4 PE-Cy™7 par rapport à CD8 APC-Cy™7 (données acquises sur BD FACSCanto™ II)



Calcul et interprétation des résultats de l'analyse

Pour obtenir des nombres absolus, utiliser le nombre absolu de lymphocytes tel que déterminé par un analyseur d'hématologie. Se reporter aux instructions du fabricant de l'analyseur d'hématologie. Utiliser les équations ci-dessous pour le dénombrement absolu du sous-ensemble de lymphocytes requis.

$$\mathrm{A} \times \frac{B\ (\%)}{100\ (\%)} = Numération\ absolue\ du\ sous-ensemble\ de\ lymphocytes\ requis$$

A = nombre absolu de lymphocytes (données de l'analyseur d'hématologie ; cellules/µl)

B = pourcentages relatifs du sous-ensemble de lymphocytes requis par rapport à

tous les lymphocytes (données issues du cytomètre en flux ; %)

11. Performances analytiques

Spécificité

L'anticorps TB3 reconnaît l'antigène CD3 humain du complexe TCR/CD3. La spécificité de l'anticorps a été confirmée par le HCDM Council (atelier HLDA XI).

L'anticorps MEM-241 reconnaît l'antigène CD4 humain (glycoprotéine de surface CD4 des lymphocytes T). La spécificité de l'anticorps a été confirmée par le HCDM Council (atelier HLDA VIII).

L'anticorps LT8 reconnaît l'antigène CD8 humain (dimère à liaison disulfure exprimé sous la forme de deux homodimères de la chaîne alpha du CD8 ou d'hétérodimères de la chaîne alpha/bêta du CD8). La spécificité de l'anticorps a été confirmée par les ateliers HLDA (atelier HLDA V[16] et atelier HLDA VII[8]).

L'anticorps 3G8 reconnaît l'antigène CD16 humain (récepteur Fc-gamma des immunoglobulines de type III de faible affinité). La spécificité de l'anticorps a été confirmée par l'atelier HLDA (atelier HLDA V[16]).

L'anticorps LT56 reconnaît l'isoforme leucocytaire de l'antigène humain CD56 (Neural Cell Adhesion Molecule 1). La spécificité de l'anticorps a été confirmée par l'HCDM Council (atelier HLDA X).

L'anticorps LT19 reconnaît l'antigène CD19 humain (glycoprotéine transmembranaire des lymphocytes B CD19). La spécificité de l'anticorps a été confirmée par l'HCDM Council (atelier HLDA X).

L'anticorps MEM-28 reconnaît toutes les isoformes leucocytaires du CD45 humain (récepteur de protéine tyrosine phosphatase de type C). La spécificité de l'anticorps a été confirmée par l'atelier HLDA (atelier HLDA III[10]).

Précision

La précision de la méthode a été mesurée sur le cytomètre en flux BD FACSCanto™ II et déterminée en comparant le dispositif KOMBITEST TBNK 6-color avec un produit similaire disponible sur le marché, BD Multitest™ 6-Color TBNK Reagent (n° de réf. 644611) par coloration parallèle de 30 donneurs de sang sains.

Sur les cytomètres en flux Beckman Coulter DxFLEX et Sysmex XF-1600™, la précision de la méthode a été déterminée en comparant les résultats de l'analyse des mêmes échantillons de sang de 39 donneurs de sang sains colorés par le dispositif KOMBITEST TBNK 6-color sur les cytomètres en flux BC DxFLEX et BD FACSCanto™ II, respectivement, et sur les cytomètres en flux Sysmex XF 1600™ et BD FACSCanto™ II.

L'exactitude de la méthode a été confirmée par la coloration parallèle de 134 patients (voir le Tableau 7) qu'on soupçonne d'être atteints d'une pathologie du système immunitaire. Les paramètres de l'analyse de régression linéaire sont présentés dans les Tableaux 4 à 7.

Tableau 4 Analyse de régression linéaire pour les sous-ensembles de lymphocytes chez des donneurs sains (comparaison du dispositif KOMBITEST TBNK 6-color avec le produit de diagnostic in vitro Multitest™ 6-Color TBNK Reagent de BD (n° de réf. 644611))

Sous-ensemble de lymphocytes	Unité	n	Pente	Ordonnée à l'origine	R^2
CD3+	%	30	1.0030	-0.0059	0.9942
	cellules/µl	30	0.9898	5.4635	0.9986
CD3+CD8+	%	30	0.9820	0.0029	0.9957
	cellules/µl	30	0.9723	8.959	0.9981
CD3+CD4+	%	30	0.9850	0.0035	0.9939
	cellules/µl	30	0.9850	6.5877	0.9975
CD3-CD16+CD56+	%	30	1.0085	-0.0017	0.9968
	cellules/µl	30	1.0192	-6.1863	0.9985
CD3-CD19+	%	30	0.9953	0.0033	0.9948
	cellules/µl	30	1.0189	1.6105	0.9925

n = nombre d'échantillons sanguins

Tableau 5 Analyse de régression linéaire pour les sous-ensembles lymphocytaires chez les donneurs sains (comparaison de l'analyse des échantillons de sang colorés par le dispositif ED7733 sur le Beckman Coulter DxFLEX avec le BD FACSCanto™ II)

Précision de la mesure du dispositif ED7733 sur le Beckman Coulter DxFLEX					
Cytomètre en flux Beckman Coulter DxFLEX vs cytomètre en flux BD FACSCanto™ II					
Exactitude de la mesure					
Sous-ensemble de lymphocytes	**Unité**	**n**	**Pente**	**Ordonnée à l'origine**	**R^2**
CD3+	%	39	0.9822	0.0145	0.9879
	cellules/µl	39	0.9792	-24.255	0.9811
CD3+CD8+	%	39	1.0171	0.0052	0.9829
	cellules/µl	39	1.0478	-3.0975	0.9930
CD3+CD4+	%	39	0.9789	-0.001	0.9857
	cellules/µl	39	0.9768	-1.499	0.9929
CD3-CD16+ CD56+	%	39	0.9727	0.0054	0.9815
	cellules/µl	39	0.9699	10.484	0.9886
CD3-CD19+	%	39	1.0212	-0.0047	0.9757
	cellules/µl	39	0.9767	-0.0385	0.9825

n = nombre d'échantillons sanguins

Tableau 6 Analyse de régression linéaire pour les sous-ensembles lymphocytaires chez les donneurs sains (comparaison de l'analyse des échantillons de sang colorés par le dispositif ED7733 sur le Sysmex XF-1600™ avec le BD FACSCanto™ II)

Précision de la mesure du dispositif ED7733 sur le Sysmex XF-1600™					
Cytomètre en flux Sysmex XF-1600™ vs cytomètre en flux BD FACSCanto™ II					
Exactitude de la mesure					
Sous-ensemble de lymphocytes	**Unité**	**n**	**Pente**	**Ordonnée à l'origine**	**R^2**
CD3+	%	39	1.0058	0.0105	0.9918
	cellules/µl	39	1.0174	4.2861	0.9991
CD3+CD8+	%	39	1.0134	0.0015	0.9924
	cellules/µl	39	1.0346	-11.555	0.9976
CD3+CD4+	%	39	1.0017	0.0103	0.9963
	cellules/µl	39	1.0043	17.382	0.9981
CD3-CD16+ CD56+	%	39	0.9889	-0.0039	0.9868
	cellules/µl	39	0.972	-3.4422	0.9903
CD3-CD19+	%	39	1.0162	-0.0039	0.9852
	cellules/µl	39	0.9777	0.1994	0.9898

n = nombre d'échantillons sanguins

Tableau 7 Analyse de régression linéaire de sous-ensembles de lymphocytes chez les patients que l'on suspecte d'être atteints de troubles du système immunitaire (comparaison du dispositif KOMBITEST TBNK 6-color avec le système de cytométrie en flux AQUIOS CL - Beckman Coulter, Inc. et la méthode interne d'un laboratoire clinique accrédité - cocktail d'anticorps conjugués d'une seule couleur de différents fabricants et analyse sur le BD FACSCanto™ II)

Sous-ensemble de lymphocytes	Unité	n	Pente	Ordonnée à l'origine	R^2
CD3+	%	134	1.032	-2.655	0.98
	cellules/µl	134	1.023	-0.047	0.97
CD3+CD8+	%	134	1.020	-0.803	0.98
	cellules/µl	134	1.055	-0.041	0.96
CD3+CD4+	%	134	1.014	-0.651	0.98
	cellules/µl	134	0.994	-0.005	0.98
CD3-CD16+CD56+	%	134	1.064	-0.400	0.98
	cellules/µl	134	1.080	-0.014	0.99
CD3-CD19+	%	134	1.027	-0.376	0.99
	cellules/µl	134	1.043	-0.010	1.00

n = nombre d'échantillons sanguins

Linéarité

La linéarité de la méthode a été vérifiée sur 10 dilutions en série d'un échantillon de sang enrichi en leucocytes (couche leucocytaire). Les échantillons de cellules ont été colorés avec le KOMBITEST TBNK 6-color en 6 réplicats. Les échantillons ont été analysés à l'aide du cytomètre en flux FACSCanto™ II de BD, du cytomètre en flux DxFLEX du Beckman Coulter et du cytomètre en flux XF-1600™ de Sysmex. Les données mesurées pour les sous-ensembles lymphocytaires indiqués ont été observées comme étant linéaires dans la plage de lymphocytes allant de 333 à 9 492 cellules/µl avec le BD FACSCanto™ II, de 309 à 8 693 cellules/µl avec le Beckman Coulter DxFLEX et de 86 à 6 822 cellules/µl avec le Sysmex XF-1600™. Les sous-ensembles cellulaires se situaient dans les plages indiquées dans les Tableaux 8 à 10.

Tableau 8 Intervalles linéaires des sous-ensembles de lymphocytes analysés à l'aide du FACSCanto™ II de BD

BD FACSCanto™ II	
Sous-ensemble de lymphocytes	Intervalle (cellules/µl)
CD3+	249-6594
CD3+CD8+	96-2560
CD3+CD4+	136-3628
CD3-CD16+CD56+	55-1525
CD3-CD19+	44-1342

Tableau 9 Intervalles linéaires des sous-ensembles de lymphocytes analysés à l'aide du DxFLEX de Beckman Coulter

Beckman Coulter DxFLEX	
Sous-ensemble de lymphocytes	Intervalle (cellules/µl)
CD3+	243-6565
CD3+CD8+	102-2652
CD3+CD4+	128-3517
CD3-CD16+CD56+	64-1588
CD3-CD19+	41-1280

Tableau 10 Intervalles linéaires des sous-ensembles de lymphocytes analysés à l'aide du XF-1600™ de Sysmex

Sysmex XF-1600™	
Sous-ensemble de lymphocytes	Intervalle (cellules/µl)
CD3+	45 - 3513
CD3+CD8+	21 - 1507
CD3+CD4+	22 - 1742
CD3-CD16+CD56+	8 - 700
CD3-CD19+	7 - 567

Limite de détection / limite de quantification / valeur-seuil

Les données de linéarité ont été utilisées pour déterminer la limite de détection (LDD) et la limite de quantification (LDQ).

La limite de détection a été définie comme la valeur la plus basse non nulle de la numération cellulaire absolue plus 3×ÉT (écart-type) pour chaque sous-ensemble lymphocytaire (voir les Tableaux 11 à 13).

La limite de quantification a été définie comme la valeur la plus basse dans la plage de linéarité des concentrations de l'analyte présentée sous forme de numération absolue du sous-ensemble lymphocytaire, pour laquelle le CV des hexaplicats ne dépassait pas 10 % et la récupération était comprise entre 90 % et 110 % (voir les Tableaux 11 à 13).

Les résultats du dosage ne sont pas uniquement diagnostiques pour une entité clinique unique, et la valeur-seuil ne peut donc pas être estimée.

Tableau 11 Limites de détection et de quantification sur le BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II				
Sous-ensemble lymphocytaire	**Numération cellulaire la plus faible non nulle (cellules/µl)**	**3×ÉT (ÉT)**	**LDD (cellules/µl)**	**LDQ (cellules/µl)**
CD3+	1	0.3 (0.1)	1.3	10
CD3+CD8+	1	0.6 (0.2)	1.6	96
CD3+CD4+	2	1.5 (0.5)	3.5	136
CD3-CD16+CD56+	1	1.2 (0.4)	2.2	55
CD3-CD19+	2	1.2 (0.4)	3.2	44

Tableau 12 Limites de détection et de quantification sur le Beckman Coulter DxFLEX

Beckman Coulter DxFLEX				
Sous-ensemble lymphocytaire	**Numération cellulaire la plus faible non nulle (cellules/µl)**	**3×ÉT (ÉT)**	**LDD (cellules/µl)**	**LDQ (cellules/µl)**
CD3+	1	0.6 (0.2)	1.6	9
CD3+CD8+	1	0.6 (0.2)	1.6	34
CD3+CD4+	2	1.2 (0.4)	3.2	43
CD3-CD16+CD56+	1	0.9 (0.3)	1.9	23
CD3-CD19+	2	1.5 (0.5)	3.5	41

Tableau 13 Limites de détection et de quantification sur le Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™				
Sous-ensemble lymphocytaire	**Numération cellulaire la plus faible non nulle (cellules/µl)**	**3×ÉT (ÉT)**	**LDD (cellules/µl)**	**LDQ (cellules/µl)**
CD3+	1	0.12 (0.04)	1.12	5
CD3+CD8+	1	0.3 (0.1)	1.3	2
CD3+CD4+	1	0.3 (0.1)	1.3	8
CD3-CD16+CD56+	1	0.6 (0.2)	1.6	3
CD3-CD19+	1	0.3 (0.1)	1.3	7

Répétabilité

La répétabilité du dosage a été mesurée sur dix échantillons de sang en six réplicats. Les échantillons ont été analysés à l'aide des cytomètres en flux BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEX et Sysmex XF-1600™. Les coefficients de variation (CV) sont indiqués dans les tableaux ci-dessous (Tableaux 14 à 16).

Tableau 14 Répétabilité du dispositif sur le FACSCanto™ II de BD

BD FACSCanto™ II					
Sous-ensemble de lymphocytes	**Unité**	**n**	**Moyenne**	**ÉT**	**% CV**
CD3+	%	10	70.34	0.56	0.91
	cellules/µl	10	1396	10.22	
CD3+CD8+	%	10	23.11	0.27	1.25
	cellules/µl	10	453	5.23	
CD3+CD4+	%	10	41.06	0.53	1.36
	cellules/µl	10	808	9.71	
CD3-CD16+CD56+	%	10	16.35	0.40	2.43
	cellules/µl	10	289	7.20	
CD3-CD19+	%	10	11.63	0.25	2.31
	cellules/µl	10	227	4.78	

n = nombre d'échantillons sanguins

Tableau 15 Répétabilité du dispositif sur le DxFLEX de Beckman Coulter

Beckman Coulter DxFLEX					
Sous-ensemble de lymphocytes	**Unité**	**n**	**Moyenne**	**ÉT**	**% CV**
CD3+	%	10	70.80	0.61	0.95
	cellules/µl	10	1406	11.19	
CD3+CD8+	%	10	23.80	0.32	1.42
	cellules/µl	10	468	6.12	
CD3+CD4+	%	10	40.81	0.56	1.47
	cellules/µl	10	803	10.52	
CD3-CD16+CD56+	%	10	15.89	0.40	2.72
	cellules/µl	10	282	7.23	
CD3-CD19+	%	10	11.68	0.32	2.83
	cellules/µl	10	227	5.94	

n = nombre d'échantillons sanguins

Tableau 16 Répétabilité du dispositif sur le XF-1600™ de Sysmex

Sysmex XF-1600™					
Sous-ensemble de lymphocytes	**Unité**	**n**	**Moyenne**	**ÉT**	**% CV**
CD3+	%	10	69.15	0.89	1.39
	cellules/µl	10	1151	14.62	
CD3+CD8+	%	10	23.12	0.36	1.72
	cellules/µl	10	389	6.11	
CD3+CD4+	%	10	41.09	0.70	1.76
	cellules/µl	10	680	11.39	
CD3-CD16+CD56+	%	10	18.40	0.56	2.71
	cellules/µl	10	313	9.45	
CD3-CD19+	%	10	10.62	0.35	3.37
	cellules/µl	10	173	5.56	

n = nombre d'échantillons sanguins

Reproductibilité

La reproductibilité du dosage sur le BD FACSCanto™ II et le Beckman Coulter DxFLEX a été mesurée sur 2 échantillons de sang stabilisés (CD-Chex Plus® et CD-Chex Plus® CD4 Low de STRECK). La reproductibilité du dosage sur le Sysmex XF-1600™ a été mesurée sur 4 échantillons de sang stabilisés (CD-Chex Plus® et CD-Chex Plus® CD4 Low et IMMUNO-TROL Low Cells et IMMUNO-TROL Cells de Beckman Coulter en plus). Les échantillons ont été mesurés dans les mêmes conditions pendant 15 jours en utilisant 3 lots du dispositif (5 jours chacun). Les coefficients de variation (CV) sont indiqués dans les tableaux ci-dessous (Tableaux 17 à 19).

Tableau 17 Reproductibilité du dispositif sur le FACSCanto™ II de BD

Sous-ensemble de lymphocytes	Matériel	Unité	Moyenne	ÉT	% CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	76.84	0.18	0.23
		cellules/µl	1896	4.39	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	60.61	0.32	0.53
		cellules/µl	879	4.65	
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	23.45	0.23	0.97
		cellules/µl	578	5.62	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	42.17	0.31	0.73
		cellules/µl	612	4.55	
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	48.78	0.45	0.93
		cellules/µl	1203	11.15	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12.53	0.26	2.11
		cellules/µl	182	3.84	
CD3-CD16+CD56+	CD-Chex Plus®	%	10.76	0.22	2.03
		cellules/µl	265	5.39	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	19.51	0.38	1.94
		cellules/µl	283	5.49	
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	11.30	0.16	1.45
		cellules/µl	279	4.03	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	18.05	0.32	1.75
		cellules/µl	262	4.58	

Tableau 18 Reproductibilité du dispositif sur le DxFLEX de Beckman Coulter

Sous-ensemble de lymphocytes	Matériel	Unité	Moyenne	ÉT	% CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	77.17	0.21	0.27
		cellules/µl	1904	5.23	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	60.85	0.43	0.71
		cellules/µl	883	6.24	
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	23.87	0.20	0.85
		cellules/µl	589	4.99	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	42.81	0.32	0.75
		cellules/µl	621	4.65	
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	46.47	1.41	3.03
		cellules/µl	1146	34.77	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12.16	0.53	4.37
		cellules/µl	176	7.71	
CD3-CD16+ CD56+	CD-Chex Plus®	%	10.59	0.20	1.88
		cellules/µl	261	4.92	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	19.38	0.32	1.63
		cellules/µl	281	4.59	
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	11.07	0.17	1.54
		cellules/µl	273	4.19	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	17.85	0.35	1.95
		cellules/µl	259	5.05	

Tableau 19 Reproductibilité du dispositif sur le XF-1600™ de Sysmex

Sous-ensemble de lymphocytes	Matériel	Unité	Moyenne	ÉT	% CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	78.50	0.33	0.43
		cellules/µl	1642	7.0	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	60.51	0.42	0.69
		cellules/µl	816	5.7	
	IMMUNO-TROL Cells	%	72.30	0.44	0.61
		cellules/µl	930	5.6	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	53.97	0.79	1.46
		cellules/µl	450	6.6	
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	22.39	0.20	0.88
		cellules/µl	468	4.1	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	41.85	0.54	1.29
		cellules/µl	565	7.3	
	IMMUNO-TROL Cells	%	24.06	0.28	1.14
		cellules/µl	309	3.5	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	33.99	0.76	2.23
		cellules/µl	283	6.3	
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	51.87	0.35	0.67
		cellules/µl	1085	7.2	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12.30	0.44	3.61
		cellules/µl	166	6.0	
	IMMUNO-TROL Cells	%	44.77	0.42	0.93
		cellules/µl	576	5.3	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	15.35	0.29	1.90
		cellules/µl	128	2.4	
CD3-CD16+ CD56+	CD-Chex Plus®	%	9.80	0.16	1.61
		cellules/µl	205	3.3	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	17.79	0.34	1.91
		cellules/µl	240	4.6	
	IMMUNO-TROL Cells	%	10.33	0.22	2.11
		cellules/µl	133	2.8	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	22.35	0.40	1.80
		cellules/µl	186	3.4	
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	10.06	0.17	1.74
		cellules/µl	210	3.7	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	19.70	0.31	1.61
		cellules/µl	260	4.2	
	IMMUNO-TROL Cells	%	12.92	0.32	2.48
		cellules/µl	166	4.1	
	IMMUNO-TROL Low Cells	%	17.31	0.51	2.97
		cellules/µl	144	4.3	

REMARQUE : Toutes les données de performance analytique ont été mesurées à l'aide de la solution de lyse des érythrocytes EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., n° de réf. ED7066).

Pour l'analyse par cytométrie en flux, les cytomètres en flux suivants, y compris la version du logiciel, ont été utilisés :

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

Pour la numération cellulaire absolue, l'analyseur d'hématologie à double plate-forme avec les spécifications suivantes a été utilisé :

Sysmex XN-1000™	IPU Software – version 00-22(164)

Pour l'évaluation des données mesurées, la plate-forme d'analyse suivante a été utilisée :
FlowJo™ (Becton, Dickinson and Company) - version 10.9.0

12. Performances cliniques

Patients atteints d'immunodéficience primaire

Les données cliniques ont été recueillies sur un site clinique auprès de 30 patients suspectés d'être atteints d'immunodéficience commune variable (ICV). Les performances cliniques du dispositif ED7733 ont été déterminées par comparaison du dispositif KOMBITEST TBNK 6-color utilisant la solution de lyse des érythrocytes EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., n° de réf. ED7066) avec une méthode de laboratoire clinique accréditée (système de cytométrie en flux AQUIOS CL - Beckman Coulter, Inc.).

Les résultats de l'évaluation de l'état immunitaire du patient ont été évalués en fonction de l'immunodéficience (Tableau 20).

Tableau 20 Performances cliniques du dispositif KOMBITEST TBNK 6-color - Patients atteints d'ICV

		Statut immunitaire évalué par une méthode de laboratoire clinique accrédité	
		Immunodéficience	**État normal**
Statut immunitaire évalué par le dispositif KOMBITEST TBNK 6-color	**Immunodéficience**	24 patients	0 patient
	État normal	0 patient	6 patients

Patients atteints du syndrome d'immunodéficience acquise

Les données cliniques ont été recueillies sur un site clinique auprès de 53 patients atteints d'une infection confirmée par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Les performances cliniques du dispositif ont été déterminées par comparaison du dispositif KOMBITEST TBNK 6-color utilisant la solution de lyse des érythrocytes EXCELLYSE Easy (EXBIO Praha, a.s., n° de réf. ED7066) avec une méthode interne de laboratoire clinique accrédité (cocktail d'anticorps conjugués d'une seule couleur de différents fabricants et analyse sur le FACSCanto™ II de BD).

Les résultats de l'évaluation de l'état immunitaire du patient ont été évalués en fonction de l'immunodéficience (Tableau 21).

Tableau 21 Performances cliniques du dispositif KOMBITEST TBNK 6-color - Patients atteints du VIH

		Statut immunitaire évalué par une méthode interne de laboratoire clinique accrédité	
		Immunodéficience	**État normal**
Statut immunitaire évalué par le dispositif KOMBITEST TBNK 6-color	**Immunodéficience**	28 patients sur 29*	0 patient
	État normal	0 patient	24 patients

MISE EN GARDE :

*Le dispositif KOMBITEST TBNK 6-color a montré une coloration insuffisante pour une séparation distincte des cellules T (CD3+) chez un (1) patient atteint du VIH dans un état de santé critique.

13. Valeurs attendues

Intervalle de référence

Tableau 22 Intervalles de référence des donneurs de sang sains mesurés sur BD FACSCanto™ II

Sous-ensemble de lymphocytes	n	Unité	Gamme		Median
			Min	Max	
CD3+	65	%	49.0	84.9	72.4
	65	cellules/µl	608	2415	1269
CD3+CD8+	65	%	10.4	40.2	22.2
	65	cellules/µl	127	1075	405
CD3+CD4+	65	%	28.1	62.6	43.3
	65	cellules/µl	321	1463	785
CD3-CD16+CD56+	65	%	3.5	38.9	15.8
	65	cellules/µl	84	1036	266
CD3-CD19+	65	%	5.4	25.0	10.6
	65	cellules/µl	74	404	209

n = nombre d'échantillons sanguins

Les intervalles de référence du tableau 22 ont été établis sur des patients sains qui étaient considérés comme des donneurs de sang selon la législation de la République tchèque, car ils remplissaient les critères stricts pour être donneurs de sang dans une banque de sang. Les données ont été mesurées sur le cytomètre en flux BD FACSCanto™ II.

Les intervalles de référence spécifiques peuvent varier en fonction de la région et de la population sur laquelle les valeurs ont été établies. Voilà pourquoi les laboratoires doivent établir leurs propres intervalles de référence normaux pour les sous-ensembles de lymphocytes identifiés à l'aide du KOMBITEST TBNK 6-color à partir de la population locale de donneurs normaux. En effet, les valeurs obtenues peuvent varier en fonction de l'âge, du sexe, des caractéristiques cliniques et de l'origine ethnique.

14. Limitations

Le dispositif KOMBITEST TBNK 6-color n'a pas été validé pour être utilisé avec des échantillons prélevés avec des anticoagulants héparine ou citrate acide dextrose (ACD) pour déterminer les numérations relatives et absolues.

Le dispositif KOMBITEST TBNK 6-color n'est pas destiné au dépistage et/ou au phénotypage d'échantillons de leucémie et de lymphome.

Les numérations absolues ne sont pas comparables entre les laboratoires utilisant différents équipements de différents fabricants.

15. Références

1) Bensussan, A et al. Significant enlargement of a specific subset of CD3+CD8+ peripheral blood leukocytes mediating cytotoxic T-lymphocyte activity during human immunodeficiency virus infection. Proc Natl Acad Sci U S A. 1993 15;90(20):9427-30. doi: 10.1073/pnas.90.20.9427.
2) Boldt, A et al. Eight-color immunophenotyping of T-, B-, and NK-cell subpopulations for characterization of chronic immunodeficiencies. Cytometry B Clin Cytom 2014 May;86(3):191-206. doi:10.1002/cyto.b.21162.
3) de Saint Basile, G et al. Severe combined immunodeficiency caused by deficiency in either the delta or the epsilon subunit of CD3. J Clin Invest. 2004 Nov;114(10):1512-7. doi: 10.1172/JCI22588.
4) Giorgi, J V. Characterization of T lymphocyte subset alterations by flow cytometry in HIV disease. Ann N Y Acad Sci. 1993 Mar 20;677:417-9. doi: 10.1111/j.1749-6632.1993.tb38803.x.
5) Iwatani, Y et al. Decreases in alpha beta T cell receptor negative T cells and CD8 cells, and an increase in CD4+ CD8+ cells in active Hashimoto's disease and subacute thyroiditis. Clin Exp Immunol. 1992 Mar;87(3):444-9. doi: 10.1111/j.1365-2249.1992.tb03017.x.
6) Kucuksezer, U C et al. The Role of Natural Killer Cells in Autoimmune Diseases. Front Immunol. 2021 Feb 25;12:622306. doi: 10.3389/fimmu.2021.622306.
7) Li, Y et al. AIDS prevention and control in the Yunnan region by T cell subset assessment. PLoS One. 2019 Apr 18;14(4):e0214800. doi: 10.1371/journal.pone.0214800.
8) Mason, D et al, eds.: Leucocyte Typing VII: White Cell Differentiation Antigens: Proceedings of the Seventh International Workshop and Conference Held in Harrogate, United Kingdom: Oxford University Press; 2002.
9) McCarty, B et al. Low Peripheral T Follicular Helper Cells in Perinatally HIV-Infected Children Correlate With Advancing HIV Disease. Front Immunol. 2018 Aug 24;9:1901. doi: 10.3389/fimmu.2018.01901.
10) McMichael AJ, ed. Leucocyte Typing III: 54 White Cell Differentiation Antigens. New York, NY: Oxford University Press; 1987.
11) Monafo, W J et al. A hereditary immunodeficiency characterized by CD8+ T lymphocyte deficiency and impaired lymphocyte activation. Clin Exp Immunol. 1992 Dec;90(3):390-3. doi: 10.1111/j.1365-2249.1992.tb05856.x.
12) North, M E et al. Primary defect in CD8+ lymphocytes in the antibody deficiency disease (common variable immunodeficiency): abnormalities in intracellular production of interferon-gamma (IFN-gamma) in CD28+ ('cytotoxic') and CD28- ('suppressor') CD8+ subsets. Clin Exp Immunol. 1998 Jan;111(1):70-5. doi: 10.1046/j.1365-2249.1998.00479.x.

13) Orange, J S. Natural killer cell deficiency. J Allergy Clin Immunol. 2013 Sep;132(3):515-525. doi: 10.1016/j.jaci.2013.07.020.

14) Orange, J S. How I Manage Natural Killer Cell Deficiency. J Clin Immunol. 2020 Jan;40(1):13-23. doi: 10.1007/s10875-019-00711-7.

15) Picat, M Q et al. T-cell activation discriminates subclasses of symptomatic primary humoral immunodeficiency diseases in adults. BMC Immunol. 2014 Mar 12;15:13. doi: 10.1186/1471-2172-15-13.

16) Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, et al, eds.: Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens. New York, NY: Oxford University Press; 1995.

17) van Dongen, J J M et al. EuroFlow-Based Flowcytometric Diagnostic Screening and Classification of Primary Immunodeficiencies of the Lymphoid System. Front Immunol. 2019 Jun 13;10:1271. doi: 10.3389/fimmu.2019.01271.

18) Tate J, Ward G. Interferences in immunoassay. Clin Biochem Rev. 2004 May;25(2):105-20. PMID: 18458713; PMCID: PMC1904417.

19) Selby C. Interference in immunoassay. Ann Clin Biochem. 1999 Nov; 36 (Pt 6):704-21. doi: 10.1177/000456329903600603. PMID: 10586307.

20) Kricka LJ. Human anti-animal antibody interferences in immunological assays. Clin Chem. 1999 Jul;45(7):942-56. Erratum in: Clin Chem 2000 Oct;46(10):1722. PMID: 10388468.

21) Higgins J, Hill V, Lau K, Simpson V, Roayaei J, Klabansky R, Stevens RA, Metcalf JA, Baseler M. Evaluation of a single-platform technology for lymphocyte immunophenotyping. Clin Vaccine Immunol. 2007 Oct;14(10):1342-8. doi: 10.1128/CVI.00168-07. Epub 2007 Aug 29. PMID: 17761524; PMCID: PMC2168127.

22) Htun NM, Chen YC, Lim B, et al. Near-infrared autofluorescence induced by intraplaque hemorrhage and heme degradation as marker for high-risk atherosclerotic plaques. Nat Commun. 2017;8(1):75. Published 2017 Jul 13. doi:10.1038/s41467-017-00138-x

23) de Jonge G, Dos Santos TL, Cruz BR, Simionatto M, Bittencourt JIM, Krum EA, Moss MF, Borato DCK. Interference of in vitro hemolysis complete blood count. J Clin Lab Anal. 2018 Jun;32(5):e22396. doi: 10.1002/jcla.22396. Epub 2018 Feb 3. PMID: 29396875; PMCID: PMC6817011.

24) Haga Y, Kay HD, Tempero MA, Zetterman RK. Flow cytometric measurement of intracellular bilirubin in human peripheral blood mononuclear cells exposed to unconjugated bilirubin. Clin Biochem. 1992 Aug;25(4):277-83. doi: 10.1016/0009-9120(92)80033-d. PMID: 1381998.

25) Lam WK, Law YFW, Yip SF. Resolution of platelet count interference due to cytoplasmic fragments of leukaemic cells by flow cytometry in acute myeloid leukaemia. Int J Lab Hematol. 2022 Dec;44(6):983-985. doi: 10.1111/ijlh.13859. Epub 2022 May 3. PMID: 35504732.

26) Hervé Lecoeur, Marie-Lise Gougeon, Comparative analysis of flow cytometric methods for apoptosis quantitation in murine thymocytes and human peripheral lymphocytes from controls and HIV-infected persons Evidence for interference by granulocytes and erythrocytes, Journal of Immunological Methods, Volume 198, Issue 1, 1996, Pages 87-99, ISSN 0022-1759, https://doi.org/10.1016/0022-1759(96)00148-2.

27) Bartels EM, Falbe Wätjen I, Littrup Andersen E, Danneskiold-Samsøe B, Bliddal H, Ribel-Madsen S. Rheumatoid factor and its interference with cytokine measurements: problems and solutions. Arthritis. 2011;2011:741071. doi: 10.1155/2011/741071. Epub 2011 Jun 22. PMID: 22046523; PMCID: PMC3200114.

28) XUE Yan, XU Li, DANG Liheng, WANG Chao, CUI Yaqiong, WANG Ping, WANG Ning, ZHANG Xinjie, LIU Yang. Interference of high levels of bilirubin on lymphocyte subset determination in peripheral blood by flow cytometry and its elimination methods[J]. Laboratory Medicine, 2022, 37(12): 1169-1173

29) van Ierssel SH, Hoymans VY, Van Craenenbroeck EM, Van Tendeloo VF, Vrints CJ, et al. (2012) Endothelial Microparticles (EMP) for the Assessment of Endothelial Function: An In Vitro and In Vivo Study on Possible Interference of Plasma Lipids. PLOS ONE 7(2): e31496. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031496

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

31) Lamia Achour, Mark G. H. Scott, Hamasseh Shirvani, Alain Thuret, Georges Bismuth, Catherine Labbé-Jullié, Stefano Marullo; CD4-CCR5 interaction in intracellular compartments contributes to receptor expression at the cell surface. Blood 2009; 113 (9): 1938–1947. doi: https://doi.org/10.1182/blood-2008-02-141275

32) A. Stronkhorst, G. N. J. Tytgat & S. J. H. Van Deventer (1992) CD4 Antibody Treatment in Crohn's Disease, Scandinavian Journal of Gastroenterology, 27:sup194, 61-65, DOI: 10.3109/00365529209096029

33) Zinzani, P.L., Minotti, G. Anti-CD19 monoclonal antibodies for the treatment of relapsed or refractory B-cell malignancies: a narrative review with focus on diffuse large B-cell lymphoma. J Cancer Res Clin Oncol 148, 177–190 (2022). https://doi.org/10.1007/s00432-021-03833-x

34) Whiteman KR, Johnson HA, Mayo MF, Audette CA, Carrigan CN, LaBelle A, Zukerberg L, Lambert JM, Lutz RJ. Lorvotuzumab mertansine, a CD56-

targeting antibody-drug conjugate with potent antitumor activity against small cell lung cancer in human xenograft models. MAbs. 2014 Mar-Apr;6(2):556-66. doi: 10.4161/mabs.27756. Epub 2014 Jan 8. PMID: 24492307; PMCID: PMC3984343.

35) J Frengen, B Kierulf, R Schmid, T Lindmo, K Nustad, Demonstration and minimization of serum interference in flow cytometric two-site immunoassays, Clinical Chemistry, Volume 40, Issue 3, 1 March 1994, Pages 420–425, https://doi.org/10.1093/clinchem/40.3.420

16. Résumé des caractéristiques de sécurité et des performances

Le résumé des caractéristiques de sécurité et des performances sera disponible dans la base de données Eudamed à l'adresse https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home. D'ici là, le résumé des caractéristiques de sécurité et des performances est disponible sur demande.

17. Utilisation de marques tierces

BD FACSCanto™ II, BD FACSLyric™, BD Multitest™ et FlowJo™ sont des marques déposées de Becton, Dickinson and Company. CD-Chex Plus® est une marque déposée de Streck. Cy™ est une marque déposée de Cytiva. CyLyse™ FX, Sysmex XN-1000™ et Sysmex XF-1600™ sont des marques déposées de Sysmex Corporation. VenturiOne® est une marque déposée d'Applied Cytometry. Infinicyt™ est une marque déposée de Cytognos S.L.

18. Historique des révisions

Version 4, ED7733_IFU_v4

Correction du texte dans la section « Contexte d'un état physiologique ou pathologique ». Description plus précise du chapitre 13. Valeurs attendues - Intervalle de référence.

19. Fabricant

EXBIO Praha, a.s.

Nad Safinou II 341

25250 Vestec

République tchèque

Coordonnées

info@exbio.cz

technical@exbio.cz

orders@exbio.cz

www.exbio.cz

20. Représentants autorisés

Suisse Personne responsable	EUMEDIQ AG Grafenauweg 8 CH-6300 Zug Switzerland www.eumediq.eu

REMARQUE : Tout incident grave survenu en relation avec le dispositif doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente locale.