
 **Tritest™ CD4/CD8/CD3**

**50 tests par kit avec
BD Trucount™ Tubes – N° de référence 342445**

23-5333(09)

2022-06

Français



1. UTILISATION

Le réactif BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 avec BD Trucount™ Tubes est un réactif d'immunofluorescence directe à trois couleurs utilisable avec un cytomètre en flux BD FACSLyric™ afin d'identifier et d'évaluer les pourcentages et numérations absolues des sous-populations CD4 et CD8 de lymphocytes T ainsi que la numération absolue de lymphocytes T CD3+ dans le sang périphérique.

Les BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 peuvent être utilisés avec le BD FACS™ Universal Loader.

Applications cliniques

La détermination des pourcentages ou du nombre absolu de lymphocytes T CD3⁺CD4⁺ est utilisée pour le suivi des personnes atteintes du virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Les personnes VIH+ présentent fréquemment une baisse progressive de la numération des lymphocytes T CD3⁺CD4⁺ à mesure que l'infection progresse.¹

La détermination des pourcentages de lymphocytes T CD3⁺CD4⁺ ou CD3⁺CD8⁺ ou des numérations absolues de lymphocytes T CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, ou CD3⁺CD8⁺ est utilisée pour caractériser ou contrôler certaines formes d'immunodéficience et de maladies auto-immunes.^{1,2}

2. RÉSUMÉ DU TEST

Le sang périphérique humain contient trois types de lymphocytes : les lymphocytes T, B et NK. Ils ont des fonctions biologiques distinctes et peuvent être identifiés par des différences dans l'expression des antigènes de surface.

Les sous-populations de lymphocytes T et B spécifiques aux antigènes jouent des rôles différents dans la réponse immunitaire adaptative. Les lymphocytes T auxiliaires/inducteurs sécrètent des cytokines qui aident à réguler l'activité d'autres lymphocytes T ainsi que des lymphocytes B. Les lymphocytes T suppresseurs/cytotoxiques suppriment l'activité d'autres lymphocytes T ou reconnaissent et lysent les cellules infectées ou anormales.³

Le réactif BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 avec BD Trucount™ Tubes est un réactif quantitatif destiné à être utilisé par les professionnels de laboratoire pour l'identification et la numération des sous-populations de lymphocytes T suivantes :

- Lymphocytes T CD3⁺
- Lymphocytes T auxiliaires/inducteurs CD3⁺CD4⁺
- Lymphocytes T suppresseurs/cytotoxiques CD3⁺CD8⁺

L'acquisition des échantillons peut être automatisée à l'aide du BD FACS™ Universal Loader lorsqu'il est utilisé avec le cytomètre en flux BD FACSLyric™. Ce test n'est pas destiné à une préparation d'échantillon automatisée. L'analyse des données peut être effectuée à l'aide d'un modèle prédéfini et d'un fenêtrage automatisé, qui peut être ajusté manuellement par l'utilisateur, si nécessaire.

Principe de fonctionnement

Le réactif BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 est composé de trois anticorps monoclonaux, chacun conjugué à un fluorochrome spécifique. Le réactif et un volume précis de sang périphérique sont ajoutés à un BD Trucount™ Tube et incubés, permettant à chaque anticorps monoclonal du réactif de se lier à un antigène spécifique à la surface des cellules. Le BD Trucount™ Tube contient un culot lyophilisé de billes fluorescentes. Pendant l'incubation du réactif et de l'échantillon, le culot de billes se dissout, libérant un nombre connu de billes fluorescentes, qui se distinguent des cellules par leur intensité de fluorescence. Après l'incubation, la BD FACS™ Lysing Solution est ajoutée pour lyser les globules rouges dans l'échantillon. Les cellules sont acquises sur le cytomètre en flux BD FACSLyric™ en utilisant l'application BD FACSuite™ Clinical et le module de test BD Tritest™. Lors de l'acquisition, les cellules défilent devant le faisceau du laser et diffractent la lumière laser. Les cellules marquées émettent alors une fluorescence. Ces signaux de diffraction et de fluorescence, détectés par l'appareil, fournissent des informations concernant la taille de la cellule, sa complexité interne et l'intensité de sa fluorescence relative. Les réactifs BD Tritest™ utilisent le déclenchement de fluorescence, qui permet le fenêtrage de la population lymphocytaire par fluorescence directe afin de réduire la contamination par les érythrocytes nucléés ou non lysés dans la fenêtre. L'application BD FACSuite™ Clinical détermine les numérations cellulaires absolues en comparant les événements cellulaires aux événements des billes, et rapporte le nombre absolu de cellules dans le rapport de laboratoire.

Pour le principe de fonctionnement du cytomètre en flux BD FACSLyric™, consulter les *Instructions d'utilisation du système BD FACSLyric™*.

3. RÉACTIF

Composition du réactif

Le réactif contient les anticorps conjugués suivants :

Tableau 1 Composition du réactif

Anticorps	Fluorochrome	Clone	Isotype	Concentration (µg/ml)
CD3	PerCP	SK7 ^{4,5}	IgG ₁ ,κ	6,25
CD4	FITC	SK3 ^{6,7,8}	IgG ₁ ,κ	1,0
CD8	PE	SK1 ^{6,7}	IgG ₁ ,κ	1,5

Le CD3 (SK7) reconnaît la chaîne epsilon du complexe formé par l'antigène CD3 et le récepteur des cellules T (TCR).⁹ L'antigène CD3 est exprimé par les lymphocytes T et est lié de façon non covalente au TCR α/β ou γ/δ.¹⁰ Le CD3 réagit peu avec les autres populations de cellules.¹¹

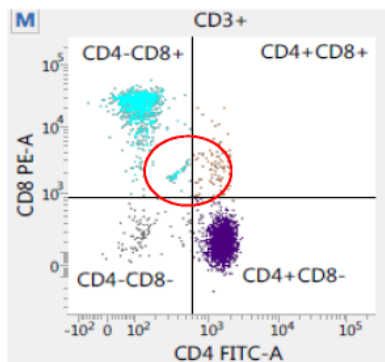
Le CD4 (SK3) reconnaît un antigène qui entre en interaction avec les molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) et est le récepteur principal du VIH.^{12,13} L'antigène CD4 est présent sur les lymphocytes T auxiliaires/inducteurs et est faiblement exprimé à la surface des monocytes et dans leur cytoplasme.¹⁰

Le CD8 (SK1) reconnaît un antigène qui entre en interaction avec les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I, entraînant une adhésion accrue entre les lymphocytes T CD8⁺ et les cellules cibles et une amélioration de l'activation des lymphocytes T au repos.^{14,15,16} L'antigène CD8 est présent

sur les lymphocytes T suppresseurs/cytotoxiques. Le CD8 reconnaît également une sous-population de lymphocytes NK.¹⁷

Précautions

- Le réactif doit être clair. Ne pas utiliser le réactif en cas de modification de l'aspect. L'apparition d'un précipité, d'un aspect trouble ou un changement de couleur est caractéristique d'une instabilité ou d'une dégradation.
- Le réactif anticorps contient de l'azide de sodium comme agent conservateur. Toutefois, prendre soin d'éviter les contaminations microbiennes qui peuvent fausser les résultats.
- Calibrer les pipettes afin de distribuer exactement 50 µl d'échantillon ou utiliser la technique de pipetage inverse (voir Pipetage inverse, page 5). Pour plus d'informations, voir les instructions du fabricant de la pipette.
- Le nombre de billes varie en fonction du lot de BD Trucount™ Tubes. Lors de la saisie de cette valeur dans le logiciel ou du calcul manuel des numérations absolues, il est indispensable d'utiliser le nombre de billes affiché sur le lot actuel de BD Trucount™ Tubes. Ne pas mélanger différents lots de BD Trucount™ Tubes pour la même analyse.
- Les BD Trucount™ Tubes sont conçus pour être utilisés avec une procédure spécifique de lyse sans lavage. Ne pas tenter de fixer le seuil sur la lumière diffractée aux petits angles (FSC) pour la collecte des données.
- Certains échantillons peuvent présenter un artefact dans le cytogramme CD4 FITC-A vs CD8 PE-A. L'artefact se présente sous la forme d'une population longeant la diagonale dans l'angle inférieur droit du quadrant CD4–CD8+. Nous recommandons d'ajuster la région du quadrant de manière à exclure l'artefact du quadrant CD4–CD8+.



- Consulter le site regdocs.bd.com/regdocs/sdsSearch pour télécharger la fiche de données de sécurité.

Stockage et manipulation

- Conserver le réactif entre 2 °C et 8 °C. Le réactif dans des flacons ouverts ou non reste stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Ne pas utiliser après cette date de péremption.
- Ne pas congeler le réactif ou l'exposer à la lumière directe pendant le stockage ou l'incubation avec des cellules. Conserver le flacon de réactif au sec.
- Conserver les BD Trucount™ Tubes dans leur sachet d'origine, à une température comprise entre 2 °C et 25 °C. Pour éviter la formation de condensation, ouvrir le sachet uniquement après l'avoir porté à température ambiante et le refermer immédiatement après le retrait d'un tube. Ne pas retirer le sachet de dessicatif du sachet. Utiliser les tubes dans l'heure qui suit leur retrait du sachet.
- Les BD Trucount™ Tubes dans un sachet non ouvert restent stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage. Ne pas utiliser les tubes après la date de péremption.
- Dans une poche ouverte, les tubes sont stables pendant 1 mois après la date d'ouverture, lorsqu'ils sont conservés comme indiqué. Écrire la date de la première ouverture du sachet dans l'espace prévu à cet effet sur l'étiquette.

4. INSTRUMENT

Le système BD FACSLyric™ est décrit dans le tableau suivant. Pour plus de détails, voir la documentation utilisateur du réactif ou de l'instrument correspondant.

Tableau 2 Système BD FACSLytic™

Cytomètre en flux	Billes de calibrage	Logiciel de configuration	Logiciel d'analyse	Module de test
BD FACSLytic™	BD® CS&T Beads BD® FC Beads 7-Color Kit	Application BD FACSuite™ Clinical	Application BD FACSuite™ Clinical	BD Tritest™

Le BD FACS™ Universal Loader peut être utilisé avec ce produit.

5. PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

- Prélever des échantillons de sang aseptiquement par ponction veineuse dans un BD Vacutainer® EDTA Blood Collection Tube (tube de prélèvement sanguin) ou tube équivalent.¹⁸

Le réactif BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 avec BD Trucount™ Tubes peut être utilisé avec des formulations d'EDTA liquides et sèches. Le réactif n'a pas été validé par BD Biosciences pour une utilisation avec des anticoagulants liquides à l'héparine ou à l'acide citrique-citrate-dextrose (ACD) lors de la détermination de numérations absolues à l'aide de BD Trucount™ Tubes.

Le test nécessite 50 µl de sang périphérique par test. Nous recommandons de commencer avec un minimum de 100 µl de sang pour tenir compte du volume excédentaire nécessaire pour effectuer le pipetage inverse.

- Conserver des échantillons de sang à température ambiante (entre 20 °C et 25 °C).
- Marquer les échantillons dans les 48 heures suivant leur prélèvement.
- Procéder à l'acquisition des échantillons dans les 6 heures suivant le marquage.

REMARQUE Si les échantillons sont marqués dans les 24 heures suivant le prélèvement, ils peuvent être analysés plus de 24 heures après le marquage.

AVERTISSEMENT Tous les échantillons biologiques et les matières avec lesquelles ils sont entrés en contact sont susceptibles de constituer un danger biologique. Les manipuler comme s'ils étaient susceptibles de transmettre une infection^{19,20} et leur mise au rebut doit être effectuée en prenant les précautions conformes aux réglementations applicables. Ne jamais pipeter à la bouche. Porter des lunettes, des gants et des vêtements de protection appropriés. La fixation est considérée comme inactivant le VIH.²¹

Interférence

Les substances présentes dans l'échantillon peuvent interférer avec le test :

- Les échantillons prélevés auprès de patients sous médicaments immunosuppresseurs^{22,23,24} ou suivant un traitement par anticorps monoclonaux^{25,26,27,28,29,30} peuvent donner des résultats erronés.
- Les échantillons hémolysés peuvent interférer avec le test et doivent être éliminés.³¹ Ne pas utiliser d'échantillons patient précédemment fixés et conservés. Des échantillons de sang total réfrigérés avant le marquage peuvent donner des résultats aberrants.
- Les cellules blastiques peuvent interférer avec les résultats du test.³²
- Les prélèvements lipémiques peuvent interférer avec le test.^{33,34}
- L'albumine interfère à une absorbance maximale de 456 nm.³⁵

6. PROCÉDURE

Réactifs et matériels

Réactifs et matériels fournis

BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 est fourni dans 1 ml de solution saline tamponnée avec < 0,1 % d'azide de sodium. La quantité de réactif est suffisante pour effectuer 50 tests.

Le réactif est livré avec deux sachets de BD Trucount™ Tubes. Chaque sachet contient 25 tubes, permettant d'effectuer 25 tests. Les tubes à usage unique contiennent un culot lyophilisé de billes fluorescentes.

Réactifs et matériels requis mais non fournis

- BD FACS™ Lysing Solution (n° de référence 349202)
La solution de lyse est fournie sous forme de concentré 10X et contient du diéthylèneglycol et du formaldéhyde. Voir le mode d'emploi de la *BD FACS™ Lysing Solution* pour connaître les précautions et les avertissements.
- Tubes à essai jetables en polystyrène de 12 × 75 mm avec bouchon ou équivalents (en l'absence de BD Trucount™ Tubes)
- Vortex
- Micropipette avec embouts
- Distributeur en vrac ou multipipette (450 µl) pour distribuer la BD FACS™ Lysing Solution 1X
- BD Multi-Check™ Control (n° de référence 340911, 340912, 340913)
- BD Multi-Check™ CD4 Low Control (n° de référence 340914, 340915, 340916)
- (Facultatif) BD Trucount™ Controls (n° de référence 340335)
- (Facultatif) BD FACS™ Universal Loader

Dilution de la BD FACS™ Lysing Solution

Diluer le concentré 10X à 1:10 à température ambiante (entre 20 °C et 25 °C) avec de l'eau désionisée. La solution préparée est stable pendant 1 mois si elle est conservée dans un récipient en verre ou en polyéthylène haute densité (PEHD) à température ambiante.

Pipetage inverse

Le pipetage doit être précis en cas d'utilisation d'un BD Trucount™ Tube. Utiliser une technique de pipetage inverse pour ajouter l'échantillon au tube. Pour le pipetage inverse, appuyer sur le bouton de la pipette jusqu'à la seconde butée. Relâcher le bouton pour aspirer l'excès d'échantillon dans l'embout. Enfoncer le bouton jusqu'à la première butée pour distribuer un volume précis d'échantillon, en laissant l'excès d'échantillon dans l'embout.

Réalisation du contrôle qualité

Exécuter deux niveaux de matériau de contrôle de processus (par exemple, BD Multi-Check™ Control et BD Multi-Check™ CD4 Low Control) avant l'acquisition des échantillons des patients.³⁶ Les produits de contrôle doivent fournir des valeurs établies pour le pourcentage positif et les numérations absolues pour les populations cellulaires concernées. Traiter les contrôles comme les échantillons patients pour surveiller les performances de l'ensemble du processus analytique. Cette opération est effectuée au moins une fois par jour lors de la réalisation d'analyses patient.

Si nécessaire, utiliser BD Trucount™ Controls pour vérifier l'exactitude du pipetage et la valeur du nombre de billes des BD Trucount™ Tubes.

Marquage des cellules

1. Pour chaque échantillon, retirer un BD Trucount™ Tube et l'étiqueter avec l'identification appropriée de l'échantillon.
Nous vous recommandons de marquer les produits de contrôle, de les acquérir et de vérifier qu'ils ont réussi avant de commencer à marquer les échantillons.
REMARQUE Vérifier que le culot de billes BD Trucount™ se trouve sous la pièce de retenue métallique, au fond du tube. Si ce n'est pas le cas, jeter le BD Trucount™ Tube et le remplacer par un autre. Ne pas transférer les billes dans un autre tube.
2. Pipeter 20 µl de réactif BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 sur la paroi du tube.

En cas d'utilisation d'un BD Trucount™ Tube, pipeter le réactif sur la paroi du tube, juste au-dessus de la pièce de retenue en métal sans toucher le culot de bille.

3. Pipeter 50 µl de matériau de contrôle ou de sang total anticoagulé bien homogénéisé sur la paroi du tube.
En cas d'utilisation d'un BD Trucount™ Tube, pipeter l'échantillon sur la paroi du tube, juste au-dessus de la pièce de retenue en métal sans toucher le culot de bille.

REMARQUE S'assurer de bien mélanger les contrôles avant de les pipeter. Consulter le mode d'emploi de *BD Multi-Check™ Control* ou de *BD Multi-Check™ CD4 Low Control* pour obtenir des instructions détaillées.

REMARQUE Utiliser la technique de pipetage inverse pour pipeter l'échantillon sur la paroi du tube, juste au-dessus de la pièce de retenue. Voir la section Pipetage inverse, page 5. Éviter de faire couler l'échantillon le long de la paroi du tube. Le sang total ou le matériau de contrôle qui reste sur les parois du tube ne sera pas marqué par le réactif, ce qui peut affecter les résultats.

4. Reboucher le tube et le vortexer doucement pour mélanger.
5. Laisser incuber pendant 15 minutes dans l'obscurité, à température ambiante (entre 20 °C et 25 °C).
6. Ajouter 450 µl de BD FACS™ Lysing Solution 1X au tube.
7. Reboucher le tube et le vortexer doucement pour mélanger.
8. Laisser incuber pendant 15 minutes dans l'obscurité, à température ambiante (entre 20 °C et 25 °C).

L'échantillon est maintenant prêt à être analysé sur le cytomètre en flux. Procéder à l'acquisition de l'échantillon dans les 6 heures ou les 24 heures après le marquage, en fonction de l'âge de l'échantillon. Conserver l'échantillon marqué à température ambiante (entre 20 °C et 25 °C) dans l'obscurité jusqu'à l'acquisition.

Acquisition de l'échantillon

Avant de commencer :

1. Vérifier que les paramètres de référence du CQ de caractérisation (CQC) et de lyse/sans lavage n'ont pas expiré.
2. Ajouter des lots de réactifs à la bibliothèque, si nécessaire.
Consulter les *Instructions d'utilisation du système BD FACSLytic™* pour plus d'informations.
3. Effectuer quotidiennement le CQ de la performance (CQP) en utilisant BD® CS&T Beads.

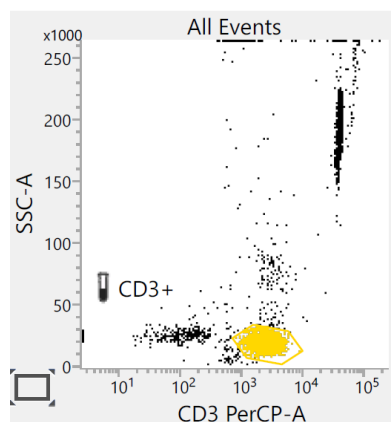
Pour plus d'informations, consulter le *mode d'emploi des BD® CS&T Beads* et les *Instructions d'utilisation du système BD FACSLytic™*.

Pour exécuter le test :

1. Créer une liste de travail.
 - Créer une tâche Multi-Check™ Control pour chaque contrôle de processus exécuté.
 - Créer une tâche de test appropriée pour chaque échantillon patient exécuté.
2. Saisir les informations dans le tableau de la liste de travail.
Saisir l'ID du lot pour les BD Trucount™ Tubes et le nombre de billes, sur l'étiquette du sachet, dans la colonne appropriée ((Trucount Lot ID (ID du lot Trucount) et Beads Per Pellet (Billes par culot), respectivement)).
3. Exécuter les tâches de contrôle sur la liste de travail.
4. Vortexer soigneusement chaque tube à faible vitesse immédiatement avant de l'acquérir.³⁷
REMARQUE En cas d'utilisation du BD FACS™ Universal Loader, vortexer les tubes immédiatement avant de les placer sur les portoirs du Loader.
5. Après avoir acquis les échantillons de contrôle, cliquer sur **Stop Tube** (Arrêter le tube).
REMARQUE Cela suppose que le contrôle du processus réussit. L'arrêter pour vérifier, puis continuer avec les échantillons d'intérêt. Si le contrôle de processus échoue, marquer de nouveau les échantillons et les

contrôles de processus car vous ne pouvez pas définir une discrimination si l'échec du contrôle de processus provient du marquage ou de l'instrument.

6. Examiner le rapport de laboratoire pour les contrôles.
7. Inspecter visuellement le graphe CD3 PerCP-A vs SSC-A.



La population CD3⁺ doit apparaître sous la forme d'un cluster compact et brillant avec un faible SSC. Ne pas réaliser l'analyse si la population est diffuse et que les clusters ne sont que peu ou pas séparés.

8. Vérifier que les résultats se situent dans les limites des valeurs indiquées dans la fiche des valeurs de test, fournie avec les contrôles.
9. Définir le curseur d'exécution sur le premier échantillon patient et sélectionner **Run from Pointer** (Exécuter à partir du curseur) dans le menu **Run** (Exécuter).

Avant l'acquisition des échantillons, ajuster le seuil afin de limiter les débris et s'assurer que les populations d'intérêt sont incluses.

10. Examiner le rapport de laboratoire du test.

La page 1 du rapport de laboratoire présente des graphes pour identifier les populations de cellules, résume les résultats et présente les résultats QC pour le test.

BD 4/8/3 + Truc: Lab Report

Sample ID: 313

Sample Name:

Case Number:

Acquired Using: Worklist_002

Trucount Lot ID: 18177

Cytometer: BD FACSLyric

Sample Preparer:

Operator: Admin User

Approved:

Beads Per Pellet: 48150

Cytometer SN: Z654587P021

Sample Preparer SN:

Director:

Department: None

Entry Status: Ready For Approval

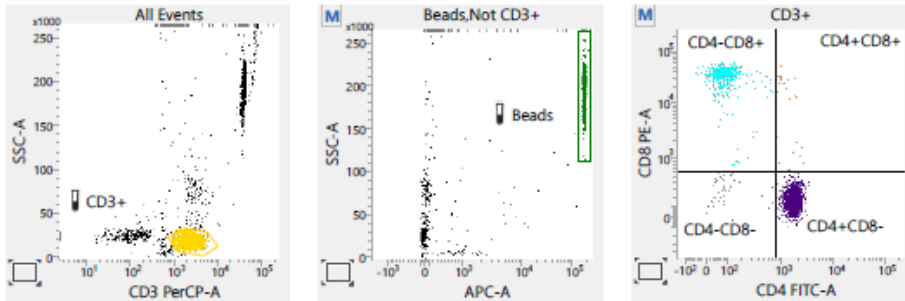
Software: BD FACSuite Clinical v1.4

Institution: None

Address:

Tube Name: CD4/8/3 + Truc

Events Acquired	5,000	Acquisition Date	10/23/2019
Reagent Lot ID	Tritest CD4/CD8/CD3 Lot ID: 82786	Acquisition Time	10:46:58 AM
Keyword 1	<no value>	Keyword 2	<no value>



Results Summary (Abs Cnt is in cells/μL)

Label	%T Lymphs	Value or Abs Cnt
Bead Events		2,288
CD3+ Events		2,082
CD3+		876
CD3+CD4+	75.65	663
CD3+CD4+ (excl. dual. pos.)	73.97	648
CD3+CD8+	24.06	211
CD3+CD8+ (excl. dual. pos.)	22.38	196
CD3+CD4+CD8+	1.68	15
CD3+CD4-CD8-	1.97	17

QC Results

Label	Results
4/8 Ratio	3.14

La page 2 du rapport de laboratoire présente tous les messages CQ qui ont été déclenchés.

Sample ID: 313
 Sample Name:
 Case Number:
 Acquired Using: Worklist_002
 Assay: 4/8/3 + Truc

QC Messages

Showing 0 of 0 QC Messages

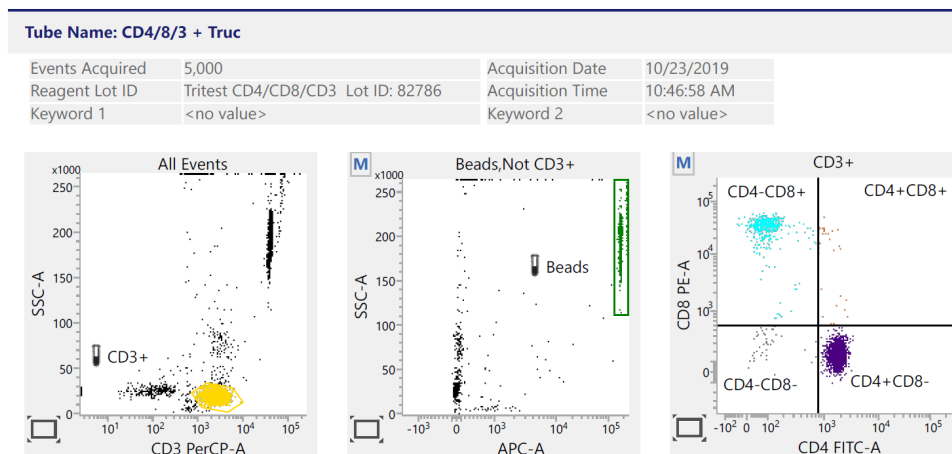
Voir les *Instructions d'utilisation du système BD FACSLyric™* ou le *BD FACSLyric™ Clinical Reference System* (système de référence clinique BD FACSLyric™) pour plus d'informations.

7. RÉSULTATS

Données représentatives

Un échantillon prélevé sur un adulte hématologiquement normal marqué à l'aide du BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 dans un BD Trucount™ Tube a été acquis sur un cytomètre en flux BD FACSLyric™. Voir la figure 1.

Figure 1 Données représentatives d'un échantillon prélevé sur un adulte hématologiquement normal marqué à l'aide du réactif BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 dans un BD Trucount™ Tube.



Les sous-populations de lymphocytes sont identifiées en utilisant les stratégies de fenêtrage suivantes :

Tableau 3 Stratégie de fenêtrage pour BD Tritest™ CD4/CD8/CD3

Graphes	Population de référence	Fenêtre	Populations identifiées
CD3 PerCP-A vs SSC-A	Tous les événements	CD3 ⁺	Lymphocytes T
APC-A vs SSC-A	Billes, Pas CD3 ⁺	Billes	Billes Trucount

Tableau 3 Stratégie de fenêtrage pour BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 (suite)

Graphique	Population de référence	Fenêtre	Populations identifiées
CD4 FITC-A vs CD8 PE-A	CD3 ⁺	Quadrant	CD4 ⁻ CD8 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻ CD4 ⁻ CD8 ⁻

Calcul des numérations absolues

L'application BD FACSuite™ Clinical présente des résultats montrant les cellules positives en tant que pourcentage des lymphocytes T. En outre, l'application calcule le nombre absolu de cellules positives par microlitre de sang (cellules/μl) en utilisant la méthode suivante.

Le nombre absolu de cellules positives contenues dans l'échantillon peut être déterminé en comparant les événements cellulaires aux événements de billes. L'application BD FACSuite™ Clinical calcule les numérations absolues à l'aide de la formule suivante :

$$\frac{\text{Nbre d'événements dans la population cellulaire}}{\text{Nbre d'événements dans la région de billes de numération absolue}} \times \frac{\text{Nbre billes/test}^*}{\text{Volume du test}} = \text{Numération absolue de la population cellulaire}$$

*Cette valeur figure sur l'étiquette de la pochette en aluminium du BD Trucount™ Tube et peut varier selon les lots.

8. LIMITATIONS

- Les laboratoires doivent définir leurs propres intervalles de référence normaux pour les sous-populations de lymphocytes identifiées en utilisant BD Tritest™ CD4/CD8/CD3. Il convient de connaître l'âge, le sexe, les caractéristiques cliniques et l'origine ethnique des sujets lors de la définition d'un intervalle de référence.³⁸ Les intervalles de référence sont fournis uniquement à titre d'information.
- Le réactif BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 n'est pas destiné au dépistage de cellules leucémiques dans des échantillons, ni à l'immunophénotypage d'échantillons de patients leucémiques.
- Les numérations absolues ne sont pas comparables d'un laboratoire à l'autre s'il est fait usage de matériel provenant de fabricants différents.
- Le réactif BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 avec BD Trucount™ Tubes n'a pas été validé par BD Biosciences pour une utilisation avec des anticoagulants liquides à l'héparine ou à l'acide citrique-citrate-dextrose (ACD) pour déterminer les numérations absolues.

9. INTERVALLES DE RÉFÉRENCE

Les intervalles de référence pour BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 avec BD Trucount™ Tubes ont été déterminés lors d'une étude utilisant le cytomètre en flux BD FACSLyric™.³⁸ Les sujets étaient des adultes hématologiquement normaux. Voir la première limitation (à la section précédente) pour plus d'informations sur les intervalles de référence.

Tableau 4 Intervalles de référence représentatifs pour le réactif BD Tritest™ CD4/CD8/CD3

Sous-population de lymphocytes T	N ^a	Moyenne (cellules/μl)	Inférieur au 2,5e percentile	Supérieur au 97,5e percentile
CD3 ⁺	134	1 562,89	803	2 552
CD3 ⁺ CD4 ⁺	134	999,70	524	1 655

Tableau 4 Intervalles de référence représentatifs pour le réactif BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 (suite)

Sous-population de lymphocytes T	N ^a	Moyenne (cellules/μl)	Inférieur au 2,5e percentile	Supérieur au 97,5e percentile
CD3 ⁺ CD8 ⁺	134	511,30	157	1 085

a. N = nombre d'échantillons

10. CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES

Manipulation et prélèvement des échantillons (AOB/AOS)

Une étude a été réalisée pour évaluer l'Age of Blood (AOB, Âge du sang) et l'Age of Stain (AOS, Âge du marquage) à l'aide du BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 avec BD Trucount™ Tubes. La stabilité du sang anticoagulé à l'EDTA a été évaluée par l'effet combiné de :

- AOB : la durée entre le prélèvement de l'échantillon et le marquage.
- AOS : la durée entre le marquage de l'échantillon (fin de la lyse) et l'acquisition de l'échantillon marqué.

Les échantillons de sang total ont été testés jusqu'à 51 heures après le prélèvement avec des échantillons marqués testés jusqu'à 8 heures après le marquage, ou jusqu'à 27 heures après le prélèvement avec des échantillons marqués testés jusqu'à 27 heures après le marquage. Tous les échantillons ont été conservés à température ambiante (entre 20 °C et 25 °C) avant le marquage ou l'acquisition.

Sur la base des résultats de cette étude, nous recommandons de marquer les échantillons dans les 48 heures suivant le prélèvement et de les analyser dans les 6 heures suivant le marquage ; ou de marquer les échantillons dans les 24 heures suivant le prélèvement et de les analyser dans les 24 heures suivant le marquage.

Comparaison des méthodes, cytomètre en flux BD FACSLyric™ vs BD FACSCalibur™

Des échantillons de sang total ont été prélevés sur des donneurs normaux et des personnes atteintes du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) sur quatre sites. Les échantillons ont été marqués à l'aide de BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 dans BD Trucount™ Tubes et acquis sur le cytomètre en flux BD FACSLyric™ à l'aide de l'application BD FACSuite™ Clinical. Les pourcentages des sous-populations de lymphocytes T et leur numération absolue ont été analysés. Les résultats ont été comparés avec ceux des échantillons marqués analysés sur le cytomètre en flux BD FACSCalibur™, à l'aide du logiciel BD Multiset™, version 1.1 ou supérieure.

Les statistiques de la comparaison des méthodes sont rapportées pour toutes les sous-populations de cellules.³⁹ Voir le tableau suivant.

Tableau 5 Statistiques de la comparaison des méthodes pour les sous-populations de lymphocytes

Sous-population de lymphocytes	N	Unités	R ²	Pente	Ordonnée à l'origine	Plage
CD3 ⁺	299	cellules/μl	1,00	1,05	3,31	10–9 019
CD3 ⁺ CD4 ⁺	299	%	1,00	1,00	0,12	0,57–95,8
		cellules/μl	1,00	1,05	-0,24	1–5 257
CD3 ⁺ CD8 ⁺	299	%	0,99	1,02	1,69	4,49–91,52
		cellules/μl	0,99	1,04	-1,26	1–4 612

Comparaison des méthodes, BD FACS™ Universal Loader vs acquisition manuelle

Une étude a été menée sur un seul site pour démontrer l'équivalence entre l'acquisition à l'aide du BD FACS™ Universal Loader et l'acquisition manuelle. Des échantillons de sang total ont été prélevés sur des donneurs normaux et des personnes atteintes du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et ont été marqués en

utilisant BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 dans BD Trucount™ Tubes. Un total de 106 échantillons marqués ont été acquis à l'aide de BD FACS™ Universal Loader et 76 échantillons marqués ont été acquis manuellement.

L'écart moyen, l'intervalle de confiance (IC) inférieur à 95 % de l'écart moyen et l'intervalle de confiance (IC) supérieur à 95 % de l'écart moyen entre l'acquisition à l'aide du BD FACS™ Universal Loader par rapport à l'acquisition manuelle ont été déterminés pour les pourcentages de sous-populations de lymphocytes et les numérations absolues.

Tableau 6 BD FACS™ Universal Loader par rapport à l'acquisition manuelle

Sous-population de lymphocytes	Unités	Moyenne (acquisition automatisée)	% d'écart moyen	NC inférieur à 95 % du % d'écart moyen	NC supérieur à 95 % du % d'écart moyen
CD3 ⁺	cellules/μl	1 587,6	3,6	1,6	5,6
CD3 ⁺ CD4 ⁺	cellules/μl	750,8	2,4	-0,5	5,2
	%	47,4	-1,2	-3,0	0,5
CD3 ⁺ CD8 ⁺	cellules/μl	780,2	4,3	2,1	6,5
	%	49,3	0,5	-0,5	1,4

Précision (répétabilité), matériau de contrôle

Une étude de précision sur site unique de 11 jours a été réalisée pour évaluer la répétabilité et la précision intra-site en utilisant le matériau de contrôle. La précision du calcul des pourcentages et des numérations absolues des sous-populations de lymphocytes T a été estimée sur quatre cytomètres en flux BD FACSLyric™ et quatre opérateurs, en procédant à l'acquisition de deux concentrations d'analytes, CD-Chex Plus® control (CDN) et CD-Chex Plus® CD4 Low control (CDL), marqués en double avec trois lots de BD Tritest™ CD4/CD8/CD3. Deux analyses distinctes ont été réalisées pendant chacun des 11 jours de test.

Les tableaux suivants présentent l'écart type (ET) ou le coefficient de variation (CV) pour la précision intra-site et la répétabilité des pourcentages et des numérations absolues, respectivement, des sous-populations de lymphocytes T.

Tableau 7 Répétabilité et précision intra-site des pourcentages des sous-populations de lymphocytes avec une concentration normale en analyte (CDN)

Sous-population de lymphocytes	Moyenne (%)	Répétabilité (ET)	Précision intra-site (ET)
CD3 ⁺ CD4 ⁺	65,13	1,19	1,20
CD3 ⁺ CD8 ⁺	32,98	1,18	1,21

Tableau 8 Répétabilité et précision intra-site des pourcentages des sous-populations de lymphocytes avec une concentration faible en analyte (CDL)

Sous-population de lymphocytes	Moyenne (%)	Répétabilité (ET)	Précision intra-site (ET)
CD3 ⁺ CD4 ⁺	22,35	1,11	1,17
CD3 ⁺ CD8 ⁺	72,76	1,23	1,31

Tableau 9 Répétabilité et précision intra-site des numérations absolues des sous-populations de lymphocytes avec une concentration normale en analyte (CDN)

Sous-population de lymphocytes	Moyenne (cellules/ μ l)	Répétabilité (% de CV)	Précision intra-site (% de CV)
CD3 ⁺	1 615,83	6,26	6,56
CD3 ⁺ CD4 ⁺	1 052,39	6,62	6,88
CD3 ⁺ CD8 ⁺	532,87	7,47	7,67

Tableau 10 Répétabilité et précision intra-site des numérations absolues des sous-populations de lymphocytes avec une concentration faible en analyte (CDL)

Sous-population de lymphocytes	Moyenne (cellules/ μ l)	Répétabilité (% de CV)	Précision intra-site (% de CV)
CD3 ⁺	835,30	4,29	4,81
CD3 ⁺ CD4 ⁺	186,70	6,20	6,92
CD3 ⁺ CD8 ⁺	607,80	4,73	5,20

Précision (reproductibilité), matériau de contrôle

Une étude a été réalisée sur trois sites pour évaluer la reproductibilité du réactif BD Tritest™ CD4/CD8/CD3. Un lot unique de chaque matériau de contrôle, CD-Chex Plus® control et CD-Chex Plus® CD4 Low control, a été fourni à chacun des sites. Pour chaque type de matériau de contrôle, trois réplicats ont été marqués en utilisant le BD Tritest™ CD4/CD8/CD3. Deux analyses distinctes ont été réalisées pendant chacun des 5 jours de test non consécutifs.

Les tableaux suivants présentent l'écart type (ET) ou le coefficient de variation (% de CV) pour la reproductibilité (précision totale) des pourcentages et des numérations absolues, respectivement, des sous-populations de lymphocytes.

Tableau 11 Reproductibilité des pourcentages des sous-populations de lymphocytes avec une concentration normale en analyte (CDN)

Sous-population de lymphocytes	Moyenne (%)	ET
CD3 ⁺ CD4 ⁺	67,10	1,22
CD3 ⁺ CD8 ⁺	30,43	1,30

Tableau 12 Reproductibilité des pourcentages des sous-populations de lymphocytes avec une concentration faible en analyte (CDL)

Sous-population de lymphocytes	Moyenne (%)	ET
CD3 ⁺ CD4 ⁺	21,68	1,15
CD3 ⁺ CD8 ⁺	71,36	1,57

Tableau 13 Reproductibilité des numérations absolues des sous-populations de lymphocytes avec une concentration normale en analyte (CDN)

Sous-population de lymphocytes	Moyenne (cellules/ μ l)	% de CV
CD3 ⁺	1 721,76	5,62
CD3 ⁺ CD4 ⁺	1 155,21	5,90
CD3 ⁺ CD8 ⁺	523,90	7,16

Tableau 14 Reproductibilité des numérations absolues des sous-populations de lymphocytes avec une concentration faible en analyte (CDL)

Sous-population de lymphocytes	Moyenne (cellules/ μ l)	% de CV
CD3 ⁺	877,3	5,14
CD3 ⁺ CD4 ⁺	190,17	7,09
CD3 ⁺ CD8 ⁺	626,07	5,47

Limite du blanc et limite de détection

La capacité de détection du BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 sur le cytomètre de flux BD FACSLyric™ a été évaluée sur un seul site. La limite du blanc (LOB) fait référence aux valeurs de numération absolues apparentes les plus élevées qui peuvent être détectées dans un échantillon marqué ne contenant pas de lymphocytes. La limite de détection (LOD) fait référence aux valeurs de numération absolues apparentes les plus basses qui peuvent être détectées au-dessus de zéro dans un échantillon marqué contenant une très faible concentration de lymphocytes CD3⁺CD4⁺.

Des échantillons de plasma sans cellule ont été utilisés pour estimer la LOB. Des échantillons de plasma sans cellule reconstitués avec des cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC) à une concentration de 10 ± 5 cellules CD3⁺CD4⁺/ μ l ont été utilisés pour estimer la LOD. Quinze réplicats ont été évalués pour chacun des trois lots de réactifs pendant 4 jours. Trois cytomètres en flux BD FACSLyric™ ont été utilisés. Les valeurs de numérations absolues pour la LOB et la LOD sont affichées dans le tableau suivant.

Tableau 15 Capacité de détection de BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 (LOB et LOD)

Sous-population de lymphocytes	LOB (cellules/ μ l)	LOD (cellules/ μ l)
CD3 ⁺	6	10
CD3 ⁺ CD4 ⁺	4	6
CD3 ⁺ CD8 ⁺	4	6

Limite de quantification

La limite de quantification (LOQ) du BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 sur le cytomètre de flux BD FACSLyric™ a été évaluée sur un seul site. LOQ fait référence aux valeurs les plus basses de numération absolues de lymphocytes qui peuvent être détectées quantitativement avec une exactitude déclarée dans des échantillons contenant une plage de très faibles concentrations de CD3⁺CD4⁺.

Des échantillons de plasma sans cellule reconstitués avec des cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC) à une concentration finale de 10, 20, 30 et 50 cellules CD3⁺CD4⁺/μl ont été utilisés pour estimer la LOQ. Quarante réplicats d'échantillons de chacune des quatre plages de concentration ont été évalués en utilisant deux lots de BD Tritest™ CD4/CD8/CD3. Trois cytomètres en flux BD FACSLyric™ et un cytomètre en flux BD FACSCalibur™ ont été utilisés dans l'étude. Les valeurs de numérations absolues pour la LOQ sont affichées dans le tableau suivant.

Tableau 16 Capacité de détection de BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 (LOQ)

Sous-population de lymphocytes	LOQ (cellules/μl)
CD3 ⁺	18
CD3 ⁺ CD4 ⁺	11
CD3 ⁺ CD8 ⁺	7

Linéarité

Les plages de linéarité de BD Tritest™ CD4/CD8/CD3 ont été évaluées à l'aide de mesures en triple de 11 concentrations à répartition homogène des leucocytes. La linéarité a été évaluée en utilisant quatre lots de réactifs et quatre cytomètres en flux BD FACSLyric™. On a observé une linéarité des sous-populations de lymphocytes sur les plages suivantes. Voir le tableau suivant.

Tableau 17 Plages linéaires des sous-populations de lymphocytes

Sous-population de lymphocytes	Plage (cellules/μl)
CD3 ⁺	10–4 960
CD3 ⁺ CD4 ⁺	4–2 782
CD3 ⁺ CD8 ⁺	5–3 300

Plage de mesure

Les données issues de l'étude de la LOQ et de l'étude de comparaison des méthodes entre BD FACSLyric™ et les cytomètres en flux BD FACSCalibur™ ont été utilisées pour établir la plage de mesure de BD Tritest™ CD4/CD8/CD3. La section inférieure de la plage a été définie par l'étude de la LOQ et la section supérieure de la plage a été soutenue par les données de l'étude de comparaison des méthodes. Voir le tableau suivant.

Tableau 18 Plage de mesure de BD Tritest™ CD4/CD8/CD3

Sous-population de lymphocytes	Plage de mesure analytique (cellules/μl)
CD3 ⁺	18–5 000
CD3 ⁺ CD4 ⁺	11–3 000
CD3 ⁺ CD8 ⁺	7–3 000

11. RÉOLUTION DES PROBLÈMES

Problème	Cause possible	Solution
Mauvaise séparation entre débris et lymphocytes.	Interaction cellulaire avec d'autres cellules et des plaquettes.	Préparer et marquer un autre échantillon.
	Manipulation trop brutale lors de la préparation cellulaire.	Vérifier la viabilité des cellules. Centrifuger les cellules à une vitesse moins élevée.
	Réglages inadéquats de l'instrument.	Respecter les procédures de réglage de l'instrument. Optimiser les réglages de l'instrument, selon les besoins.
Marquage faible ou diminuant.	Concentration cellulaire trop élevée à l'étape du marquage.	Vérifier et ajuster la concentration cellulaire ou le volume d'échantillon. Refaire le marquage avec un nouvel échantillon.
	Quantité de réactif insuffisante.	Répéter le marquage avec une plus grande quantité d'anticorps.
	Cellules analysées plus de 24 heures après le marquage.	Répéter le marquage avec un nouvel échantillon. L'analyser rapidement.
Peu ou pas de cellules.	Concentration cellulaire trop faible.	Remettre un nouvel échantillon en suspension avec une concentration supérieure. Répéter le marquage et l'analyse.
	Dysfonctionnement du cytomètre.	Résoudre des problèmes de l'instrument.

RÉFÉRENCES

1. Cossarizza A, De Biasi S, Gibellini L, et al. Cytometry, immunology, and HIV infection: three decades of strong interactions. *Cytometry. Part A: the Journal of the International Society for Analytical Cytology*. 2013;83(8):680-691.
2. Hanson IC, Shearer WT. Ruling out HIV infection when testing for severe combined immunodeficiency and other T-cell deficiencies. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(3):875-876.e875.
3. Rich RR, Chaplin DD. The Human Immune Response. In: Rich RR, Fleischer TA, Shearer WT, Schroeder HW, Frew AJ, Weyand CM, eds. *Clinical Immunology (Fifth Edition)*. London: Content Repository Only; 2019:3-17.e11.
4. Haynes BF. Summary of T-cell studies performed during the Second International Workshop and Conference on Human Leukocyte Differentiation Antigens. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, eds. *Leukocyte Typing II: Human T Lymphocytes*. Vol 1. New York, NY: Springer-Verlag; 1986:3-30.
5. Knowles RW. Immunochemical analysis of the T-cell-specific antigens. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, eds. *Leukocyte Typing II: Human T Lymphocytes*. Vol 1. New York, NY: Springer-Verlag; 1986:259-288.
6. Bernard A, Bomsell L, Hill C. Joint report of the First International Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens by the investigators of the participating laboratories: T2 protocol. In: Bernard A, Bomsell L, Dausset J, Milstein C, Schlossman SF, eds. *Leukocyte Typing*. New York, NY: Springer-Verlag; 1984:25-60.

7. Evans RL, Wall DW, Platsoucas CD, et al. Thymus-dependent membrane antigens in man: inhibition of cell-mediated lympholysis by monoclonal antibodies to T_{H2} antigen. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1981;78:544-548.
8. Wood GS, Warner NL, Warnke RA. Anti-Leu-3/T4 antibodies react with cells of monocyte/macrophage and Langerhans lineage. *J Immunol*. 1983;131:212-216.
9. van Dongen JJM, Krissansen GW, Wolvers-Tettero ILM, et al. Cytoplasmic expression of the CD3 antigen as a diagnostic marker for immature T-cell malignancies. *Blood*. 1988;71:603-612.
10. Clevers H, Alarcón B, Wileman T, Terhorst C. The T cell receptor/CD3 complex: a dynamic protein ensemble. *Annu Rev Immunol*. 1988;6:629-662.
11. Reichert T, DeBruyère M, Deneys V, et al. Lymphocyte subset reference ranges in adult Caucasians. *Clin Immunol Immunopath*. 1991;60:190-208.
12. Dalgleish AG, Beverley PCL, Clapham PR, Crawford DH, Greaves MF, Weiss RA. The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature*. 1984;312:763-767.
13. Maddon PJ, Dalgleish AG, McDougal JS, Clapham PR, Weiss RA, Axel R. The T4 gene encodes the AIDS virus receptor and is expressed in the immune system and the brain. *Cell*. 1986;47:333-348.
14. Gallagher PF, Fazekas de St. Groth B, Miller JFAP. CD4 and CD8 molecules can physically associate with the same T-cell receptor. *Proc Natl Acad Sci, USA*. 1989;86:10044-10048.
15. Anderson P, Blue M-L, Morimoto C, Schlossman SF. Cross-linking of T3 (CD3) with T4 (CD4) enhances the proliferation of resting T lymphocytes. *J Immunol*. 1987;139:678-682.
16. Eichmann K, Jönsson J-I, Falk I, Emrich F. Effective activation of resting mouse T lymphocytes by cross-linking submitogenic concentrations of the T cell antigen receptor with either Lyt-2 or L3T4. *Eur J Immunol*. 1987;17:643-650.
17. 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.
18. *Collection of Diagnostic Venous Blood Specimens, 7th ed*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017. CLSI document GP41.
19. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline—Fourth Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014. CLSI document M29-A4.
20. Centers for Disease Control and Prevention. 2007 Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings. <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/isolation/index.html>. Accessed March 12, 2019.
21. Nicholson JK, Browning SW, Orloff SL, McDougal JS. Inactivation of HIV-infected H9 cells in whole blood preparations by lysing/fixing reagents used in flow cytometry. *J Immunol Methods*. 1993;160:215-218.
22. Giorgi JV. Lymphocyte subset measurements: significance in clinical medicine. In: Rose NR, Friedman H, Fahey JL, eds. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. 3rd ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1986:236-246.
23. Neves I Jr, Morgado MG. Immunological evaluation of human immunodeficiency virus infected individuals by flow cytometry. *Mem Inst Oswaldo Cruz Rio de Janeiro*. 2000;95(3):393-400.
24. Giacoia-Gripp CBW, Sales AM, Nery JA, et al. Evaluation of cellular phenotypes implicated in immunopathogenesis and monitoring immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV/leprosy cases. *PLoS One*. 2011;6(12):e28735.
25. Ostrov BE, Amsterdam D. The interference of monoclonal antibodies with laboratory diagnosis: clinical and diagnostic implications. *Immunol Invest*. 2013;42(8):673-690.
26. Book BK, Agarwal A, Milgrom et al. New crossmatch technique eliminates interference by humanized and chimeric monoclonal antibodies. *Transplant Proc*. 2005;37(2):640-642.
27. Kaufman A, Herold KC. Anti-CD3 mAbs for treatment of type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2009;25(4):302-306.
28. Frankel AE, Zuckero SL, Mankin AA, et al. Anti-CD3 recombinant diphtheria immunotoxin therapy of cutaneous T cell lymphoma. *Curr Drug Targets*. 2009; 10(2):104-109.

29. Kochenderfer JN, Dudley ME, Feldman SA, Rosenberg SA. B-cell depletion and remissions of malignancy along with cytokine-associated toxicity in a clinical trial of anti-CD19 chimeric antigen-receptor-transduced T cells. *Blood*. 2012;119(12):2709-2720.
30. Mendez LM, Cascino MD, Garg J, Brunetta P. Peripheral blood B cell depletion after Rituximab and complete response in lupus nephritis. *Clin J Amer Soc Neph*. 2018;13(10):1502-1509.
31. Centers for Disease Control. Guidelines for Performing Single-Platform Absolute CD4+ T-Cell Determinations with CD45 Gating for Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus. *MMWR*. 2003;52:3.
32. Craig FE, Foon MA. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. *Blood*. 2008;111:3941-3967.
33. Kroll MH. Evaluating interference caused by lipemia. *Clin Chemistry*. 2004;50.
34. Nikolac N. Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management. *Biochem Med (Zagreb)*. 2014;24(1):57-67.
35. Dimeski G. Interference testing. *Clin Biochem Rev*. 2008;29:S43-48.
36. *Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry—Second Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007. CLSI document H42-A2.
37. Jackson AL, Warner NL. Preparation, staining, and analysis by flow cytometry of peripheral blood leukocytes. In: Rose NR, Friedman H, Fahey JL, eds. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. 3rd ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1986:226-235.
38. *Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010. CLSI document EP28-A3c.
39. *Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Third Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013. CLSI document EP09-A3.

AVERTISSEMENT

UE uniquement : les utilisateurs doivent signaler au fabricant et à l'autorité nationale compétente tout incident grave lié au dispositif.

En dehors de l'UE : contacter le représentant local de BD pour tout incident ou toute question concernant ce dispositif.

Consulter le site Web d'Eudamed : <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> pour un résumé de la sécurité et des performances.

GARANTIE

Sauf mention contraire indiquée dans toute condition générale de vente de BD aux clients extérieurs au territoire des États-Unis, la garantie suivante s'applique à l'achat de ces produits.

LES PRODUITS VENDUS EN VERTU DE LA PRÉSENTE SONT GARANTIS CONFORMES UNIQUEMENT À LA QUANTITÉ ET AU CONTENU INDIQUÉ SUR L'ÉTIQUETTE OU SUR L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT AU MOMENT DE LA LIVRAISON AU CLIENT. BD DÉCLINE PAR LA PRÉSENTE TOUTE AUTRE GARANTIE, EXPLICITE OU IMPLICITE, Y COMPRIS LES GARANTIES DE QUALITÉ MARCHANDE ET D'ADÉQUATION À UN USAGE PARTICULIER ET DE NON-VIOLATION. LA SEULE RESPONSABILITÉ DE BD SE LIMITE AU REMPLACEMENT DES PRODUITS ET AU REMBOURSEMENT DU PRIX D'ACHAT. BD N'EST PAS TENU RESPONSABLE DES DOMMAGES MATÉRIELS NI DE DOMMAGES FORTUITS OU INDIRECTS, Y COMPRIS LES PRÉJUDICES CORPORELS OU LES PERTES FINANCIÈRES CAUSÉS PAR LE PRODUIT.

MARQUES COMMERCIALES

BD, le logo BD, BD FACSLyric, BD FACSuite, BD Multi-Check, BD Multiset, BD Tritest, BD Trucount, FACS, FACSCalibur et Vacutainer sont des marques commerciales de Becton, Dickinson and Company ou de ses filiales. Toutes les autres marques commerciales sont la propriété de leurs détenteurs respectifs. © 2022 BD. Tous droits réservés.

HISTORIQUE

Révision	Date	Modifications apportées
23-5333(09)	2022-06	Mise à jour pour répondre aux exigences du règlement (UE) 2017/746.

GLOSSAIRE DES SYMBOLES [L006715(06) 2021-08]

Certains symboles répertoriés ci-dessous peuvent ne pas s'appliquer à ce produit.

Clients aux États-Unis seulement : Pour le glossaire des symboles, visiter le site bd.com/symbols-glossary

Symbole	Signification
	Fabricant
	Représentant autorisé dans la Communauté européenne
	Représentant autorisé en Suisse
	Date de fabrication
	Date de péremption
	Code du lot
	Numéro de référence
	Numéro de série
	Stérile
	Stérilisé à l'aide de techniques de traitement aseptiques
	Stérilisé avec de l'oxyde d'éthylène
	Stérilisé par irradiation
	Stérilisé à la vapeur ou à la chaleur sèche
	Ne pas restériliser
	Non stérile
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé ; consulter le <i>mode d'emploi</i>
	Circuit de passage des liquides stérile
	Circuit de passage des liquides stérile (oxyde d'éthylène)
	Circuit de passage des liquides stérile (irradiation)
	Fragile, manipuler avec précaution
	Conserver à l'abri de la lumière du soleil
	Garder au sec
	Limite inférieure de température
	Limite supérieure de température
	Limite de température
	Limite d'humidité
	Risques biologiques
	Ne pas réutiliser
	Consulter le <i>mode d'emploi</i> ou le <i>mode d'emploi</i> électronique
	Attention
	Contient ou présence de latex de caoutchouc naturel
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Contrôle négatif
	Contrôle positif
	Contenu suffisant pour <n> tests
	Pour l'évaluation des performances DIV uniquement
	Apyrogène

Symbole	Signification
	Numéro du patient
	Vers le haut
	Ne pas emplier
	Système de barrière stérile unique
	Contient des phtalates ou présence de phtalates : combinaison de phtalate de bis(2-éthylhexyle) (DEHP) et de phtalate de benzyle et de butyle (BBP)
	Collecter séparément Indique une collecte séparée obligatoire pour les déchets d'équipements électriques et électroniques.
	Marquage CE ; atteste de la conformité technique européenne
	Dispositif de diagnostic près du patient
	Dispositif d'autodiagnostic
	Ceci s'applique uniquement aux États-Unis : « Attention : la loi fédérale limite la vente de cet appareil par ou sur ordonnance d'un praticien agréé. »
	Pays de fabrication « CC » est remplacé par le code du pays à deux lettres ou à trois lettres.
	Heure du prélèvement
	Découper
	Décoller ici
	Date du prélèvement
	Conserver à l'abri de la lumière
	Produit de l'hydrogène gazeux
	Perforation
	Numéro de séquence initial de la galerie
	Numéro de séquence final de la galerie
	Numéro de séquence interne
	Dispositif médical
	Contient des substances dangereuses
	Marque de conformité ukrainienne
	Conforme aux exigences de la FCC selon la norme 21 CFR, partie 15
	Certification UL du produit pour les États-Unis et le Canada
	Identifiant unique du dispositif

COORDONNÉES



Becton, Dickinson and Company
BD Biosciences
2350 Qume Drive
San Jose, California 95131 USA

EC REP

Becton Dickinson Ireland Ltd.
Donore Road, Drogheda
Co. Louth, A92 YW26
Ireland

CH REP

BD Switzerland Sàrl
Terre Bonne Park – A4
Route de Crassier 17
1262 Eysins, Switzerland

BD Biosciences
European Customer Support
Tel +32.53.720.600
help.biosciences@bd.com

Australian and New Zealand Distributors:

Becton Dickinson Pty Ltd.
66 Waterloo Road
Macquarie Park NSW 2113
Australia

Becton Dickinson Limited
14B George Bourke Drive
Mt. Wellington Auckland 1060
New Zealand

Service et assistance technique : contacter
votre représentant local de BD ou consulter le site
bdbiosciences.com.

ClinicalApplications@bd.com



eifu.bd.com