



# Manuel d'utilisation

Identification du réactif de diagnostic in vitro

## CyFlow™ CD103 PE

**REF** CP230831

**IVD** **CE**

La fiche technique du présent produit est disponible à l'adresse suivante : [www.sysmex-partec.com/services](http://www.sysmex-partec.com/services).

## Table des matières

1	Spécification .....	3
2	Utilisation prévue .....	3
3	Principe de la méthode d'examen .....	3
4	Entreposage et durée de conservation après la première ouverture .....	3
5	Composants.....	4
6	Signes de détérioration .....	4
7	Précautions et mises en garde .....	4
8	Équipement requis supplémentaire .....	4
9	Préparation du réactif .....	5
10	Mise au rebut .....	5
11	Recueil, manipulation et stockage d'échantillons primaires .....	5
12	Procédure d'examen .....	5
12.1	Coloration .....	5
12.2	Analyse d'échantillon .....	6
12.2.1	Contrôle qualité interne .....	6
12.2.2	Cytométrie en flux .....	6
12.3	Acquisition et analyse de données .....	6
13	Interprétation des résultats.....	6
14	Procédure de contrôle .....	6
15	Caractéristiques de performance .....	7
15.1	Spécificité analytique .....	7
15.2	Sensibilité analytique .....	7
15.3	Données représentatives .....	7
16	Limitations .....	7
17	Bibliographie .....	8
18	Contacter.....	9
19	Numéro de version du manuel d'utilisation et date de publication .....	9
20	Symboles .....	10

## 1 Spécification

Spécificité	CD103 humain
Fluorochrome	PE
Clone	Ber-ACT8
Hôte / Isotype	Souris / IgG1
Contenu	100 tests, 1 mL
Usage	10 µL par test

## 2 Utilisation prévue

**IVD**

**Uniquement destiné au diagnostic in vitro.**

L'anticorps monoclonal CyFlow™ CD103 PE est conçu pour une utilisation qualitative à des fins de diagnostic in vitro afin d'identifier les cellules exprimant l'antigène humain CD103 dans du sang total anticoagulé au moyen d'une analyse par cytométrie. L'anticorps monoclonal CyFlow™ CD103 PE est destiné à être utilisé par des professionnels de laboratoire et de santé formés dans les hôpitaux et les laboratoires cliniques, tant pour la préparation manuelle des échantillons que pour l'utilisation automatisée avec un système de préparation des échantillons. L'anticorps monoclonal CyFlow™ CD103 PE peut être utilisé par les laboratoires cliniques pour faciliter le diagnostic et la classification des maladies dans les populations de patients.

## 3 Principe de la méthode d'examen

Cette méthode repose sur la liaison spécifique d'un anticorps monoclonal à un antigène cible exprimé à la surface de la cellule ou dans le compartiment intracellulaire. Un anticorps monoclonal spécifique lié à un antigène est conjugué à un fluorochrome qui est excité par le faisceau laser correspondant provenant du cytomètre en flux équipé en conséquence. L'émission consécutive de lumière du fluorochrome particulier est recueillie et analysée par un cytomètre en flux utilisant un capteur de fluorescence adapté. Les différences en termes d'intensité de la fluorescence cellulaire permet la séparation de sous-groupes de cellules sur la base de l'expression de l'antigène analysé.

La coloration de cellules exprimant l'antigène cible est obtenue par l'incubation d'une suspension cellulaire avec le réactif à base d'anticorps monoclonaux suivie d'une lyse des globules rouges et du lavage de cellules afin d'éliminer le réactif à base d'anticorps monoclonaux, le cas échéant. Les cellules colorées sont soumises à une analyse dans un cytomètre en flux.

## 4 Entreposage et durée de conservation après la première ouverture

### 1. Entreposage :

Conserver le réactif à l'obscurité de 2 à 8 °C. Ne pas congeler ni exposer à la lumière. Ne pas utiliser après la date d'expiration indiquée sur l'étiquette.

### 2. Durée de conservation après la première ouverture :

Éviter toute exposition du réactif à la lumière directe ou à des conditions de gel après ouverture. Conserver à l'obscurité de 2 à 8 °C. Bien refermer le couvercle afin de prévenir tout débordement et pour maintenir le flacon exempt de condensation.

L'anticorps monoclonal CyFlow™ CD103 PE conserve ses caractéristiques de performance pendant son utilisation pendant au moins 545 jours.

## 5 Composants

Anticorps monoclonal murin (clone Ber-ACT8, isotype IgG1) dirigé contre l'antigène CD103 humain marqué par du fluorochrome PE.

Le réactif est fourni dans une solution saline de stabilisation tamponnée au phosphate (PBS), pH  $\approx$  7,4, contenant 0,09 % (p/v) d'azoture de sodium et 0,2 % (p/v) de BSA.

## 6 Signes de détérioration

Prévenir la contamination de réactifs. En cas de détérioration de composants se manifestant sous la forme d'une précipitation ou d'une décoloration du réactif visible ou si les données obtenues affichent une quelconque altération des performances, veuillez contacter le service d'assistance technique de votre représentant Sysmex local.

Tout problème survenu en rapport avec le produit doit être consigné par l'utilisateur au fabricant. Pour les incidents graves, veuillez contacter le fabricant et l'autorité compétente.

## 7 Précautions et mises en garde

Le réactif contient de l'azoture de sodium ( $\text{NaN}_3$ ) hautement toxique à l'état pur. La concentration dans le réactif n'est néanmoins pas nocive. Respecter les réglementations locales applicables lors de l'élimination du réactif.

Le réactif contient du BSA. Manipuler comme étant potentiellement infectueux.

D'importantes informations relatives à la manipulation, au transport et à l'élimination en toute sécurité du présent produit sont disponibles dans la fiche de données de sécurité.

Toujours suivre les directives nationales et internationales et les normes réglementaires relatives aux équipements de protection individuelle.

## 8 Équipement requis supplémentaire

Exigences à l'égard de l'instrument :

Le cytomètre en flux équipé d'une source lumineuse, de filtres et de détecteurs appropriés afin de détecter la dispersion lumineuse et la fluorescence appropriée. Il doit également être équipé d'un logiciel d'analyse correspondant pour l'acquisition et l'analyse de données.

Mélangeur vortex

Centrifugeuse (avec système à rotor conçu pour 500 g max.)

Optionnel : Système de préparation d'échantillons (par ex. Sysmex Sample Preparation System PS-10)

Matériel requis :

Matériel nécessaire pour la collecte de sang total

Tubes jetables pour la coloration d'échantillons de sang

Pipettes avec embouts jetables pour 10, 100 et 1000  $\mu\text{L}$

Équipements de protection individuelle appropriés

Solution de lyse commerciale, par exemple : CyLyse™ LV, réf. : BL215283 (CE IVD)

Solution saline tamponnée au phosphate (PBS), pH 7,4

Solution de fixation, par exemple : solution de paraformaldéhyde à 2 % dans une solution de PBS (facultatif)

## 9 Préparation du réactif

Le réactif est prêt à l'utilisation. Le contenu d'un flacon (1 mL) suffit pour 100 tests.

## 10 Mise au rebut

Tout le matériel à usage unique qui a été en contact avec des matières présentant un risque biologique doit être décontaminé et éliminé conformément à la législation locale. Nettoyer et désinfecter immédiatement les surfaces contaminées en appliquant des procédures de décontamination appropriées. Éliminer systématiquement les échantillons de sang, les dosages et les fluides accessoires après expiration de la durée maximale d'entreposage.

## 11 Recueil, manipulation et stockage d'échantillons primaires

**AVERTISSEMENT**  *Tous les échantillons et substances biologiques entrant en contact avec eux sont considérés comme présentant un risque biologique. Il convient de traiter les échantillons à titre de substances potentiellement infectieuses et de les éliminer conformément aux réglementations nationales et locales.*

Recueillir du sang total dans un tube stérile contenant un anticoagulant. Conserver le tube contenant l'échantillon de sang à température ambiante (18 à 28 °C). Mélanger délicatement et préalablement à toute utilisation. L'utilisation d'échantillons de sang frais est recommandée pour de meilleurs résultats. Le délai entre le recueil et l'analyse ne doit pas dépasser 24 heures.

## 12 Procédure d'examen

### 12.1 Coloration

1. Ajouter 10 µL du réactif à base d'anticorps monoclonaux CyFlow™ dans un tube de test.
2. Ajouter 100 µL d'un échantillon de sang dans le tube et mélanger délicatement au moyen d'un mélangeur vortex.
3. Incuber pendant 20 à 30 minutes à température ambiante (18 à 28 °C) à l'obscurité.
4. Réaliser une lyse des globules rouges. Suivre les instructions du fabricant de solutions de lyse. Par exemple, en cas d'utilisation du produit CyLyse™ LV, ajouter 2 mL d'une solution de lyse CyLyse™ LV diluée à 10x pour 100 µL de sang total et mélanger délicatement dans un mélangeur vortex.
5. Incuber pendant 10 à 15 minutes à température ambiante (18 à 28 °C) à l'obscurité.
6. Centrifuger les tubes pendant 5 minutes à 300 g et retirer le surnageant par décantation.
7. Remettre le culot de cellules en suspension avec 2 mL d'une solution de PBS.
8. Centrifuger les tubes pendant 5 minutes à 300 g et retirer le surnageant par décantation.
9. Pour une analyse subséquente sur un cytomètre en flux, remettre en suspension le culot cellulaire dans un volume suffisant de PBS adapté à votre cytomètre en flux.
10. Pour une analyse postérieure remettez en suspension les cellules dans un fixateur. Il est recommandé d'utiliser une solution à 2% de paraformaldéhyde dans du PBS. Conservez l'échantillon fixé entre 2 et 8 °C dans l'obscurité et analysez dans les 24 heures.
11. Agiter complètement et délicatement le tube pour réduire l'agrégation cellulaire dans un mélangeur vortex avant l'analyse par cytométrie en flux.

## 12.2 Analyse d'échantillon

### 12.2.1 Contrôle qualité interne

L'alignement du laser et la calibration régulière de l'instrument au moyen de particules fluorescentes sont fortement recommandés afin d'obtenir des mesures précises et reproductibles. Chaque laboratoire doit réaliser un contrôle qualité de l'instrument conformément aux instructions fournies par le fournisseur de l'instrument.

### 12.2.2 Cytométrie en flux

Analyser les échantillons au moyen d'un cytomètre en flux affichant une configuration appropriée. Préalablement à l'analyse de l'échantillon, minimiser les débris et s'assurer que les populations d'intérêt sont incluses dans l'intervalle afin de prévenir tout résultat inapproprié.

## 12.3 Acquisition et analyse de données

Acquérir et analyser les données au moyen d'un cytomètre en flux affichant une configuration appropriée.

Toujours acquérir des paramètres cellulaires de dispersion lumineuse : dispersion vers l'avant (FSC) et dispersion latérale (SSC).

Consulter les spécifications du fabricant, relatives aux détecteurs de fluorescence qui récupère les signaux d'émission des cellules CD103+ couplées à l'anticorps et colorées par le fluorochrome spécifique.

Les spectres d'émission de certains fluorochromes se chevauchent. Une compensation des données mesurées peut être éventuellement requise préalablement à l'analyse (compensation des fluorescences multicolores).

Les données représentatives du CyFlow™ CD103 PE obtenues avec du sang total et figurant sur des CD45 + cellules d'un patient sont affichées à la Figure 1.



Figure 1 : Données représentatives de CyFlow™ CD103 PE analysé au moyen d'un cytomètre en flux équipé d'un laser bleu (excitation du laser : 488 nm).

## 13 Interprétation des résultats

Des quantités anormales de cellules exprimant cet antigène ou des niveaux aberrants d'expression de l'antigène seront à prévoir en relation avec certains états pathologiques. Il est important de bien comprendre le modèle d'expression normal pour l'antigène analysé et sa relation avec l'expression d'autres antigènes correspondants afin de réaliser une analyse appropriée.

## 14 Procédure de contrôle

Sysmex Partec GmbH recommande l'analyse quotidienne d'un échantillon de contrôle de sang provenant d'un sujet adulte normal (donneur sain) ou d'un contrôle de sang total disponible dans le

commerce afin d'optimiser les paramètres du cytomètre en flux et de procéder au contrôle qualité du système.

## 15 Caractéristiques de performance

### 15.1 Spécificité analytique

L'anticorps monoclonal Ber-ACT8 a été assigné à l'antigène humain CD103 au cours de International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (l'Atelier et Conférence internationaux sur les antigènes de différenciation des leucocytes humains).

HLDA V—WS Code A067

### 15.2 Sensibilité analytique

La sensibilité analytique pour le réactif de cytométrie en flux qualitative représente la capacité à séparer les cellules positives (+) d'un niveau négatif (-) et a été évaluée par titration du réactif à base d'anticorps.

La concentration en flacon de CyFlow™ CD103 PE (50 µg/mL) suffit pour permettre une séparation de cellules positives soit dans un échantillon affichant une expression antigénique normale ou anormale liée à certains états pathologiques.

### 15.3 Données représentatives

Afin de déterminer les performances de la coloration par le réactif CyFlow™ CD103 PE, le pourcentage de cellules CD103 positives a été déterminé en colorant du sang total humain stabilisé disponible dans le commerce avec deux lots de réactifs en cinq répétitions par lot.

Cellules CD103+		
sang total humain stabilisé		
Moyenne (%)	SD	CV (%)
29.92	0.63	2.11

Tableau 1 : Résumé des résultats obtenus

## 16 Limitations

Le test est conçu pour les professionnels de santé au sein de laboratoires cliniques réalisant une analyse de cytométrie en flux.

Le réactif à base d'anticorps seul ne peut fournir que des informations limitées sur le diagnostic. L'utilisation de combinaisons de réactifs peut fournir plus d'informations que l'utilisation individuelle de réactifs et une analyse multicolore au moyen de combinaisons appropriées de réactifs est hautement recommandée. Les laboratoires doivent identifier les combinaisons de réactifs qui conviennent le mieux à leurs besoins sur la base des propriétés de chaque réactif à base d'anticorps et la présence de marqueurs dans des échantillons normaux et anormaux. De telles combinaisons de réactifs doivent alors être validées par le laboratoire sur la base de cette application et de l'usage prévu.

Des échantillons de sang provenant de personnes non saines peuvent présenter des valeurs anormales relatives aux cellules positives.

Une hémolyse peut indiquer des conditions de stockage inappropriées pouvant affecter les performances du produit en termes de lysabilité. Il convient donc d'exclure les échantillons hémolysés.

En cas d'hyperleucocytose, il est recommandé de diluer des échantillons de sang avec de la solution de PBS à une concentration de  $5 \times 10^6$  leucocytes/mL.

Les globules rouges provenant de patients anormaux (par ex. patients polycythémiques) peuvent être résistants à la lyse en cas d'utilisation de solutions de lyse.

Les données de performance du réactif ont été recueillies avec du sang traité à l'EDTA K3. D'autres anticoagulants sont susceptibles d'affecter les performances du réactif.

Le cytomètre en flux peut fournir des résultats erronés s'il n'a pas été aligné et entretenu de manière appropriée.

*Sysmex Partec GmbH* recommande d'utiliser la procédure de Lyse/Wash. La procédure Lyse/No-wash doit être utilisée avec prudence et uniquement si l'anticorps monoclonal a été validé pour le test prévu.

Les données peuvent être interprétées de manière incorrecte si les signaux fluorescents ont été compensés de manière erronée ou si les limites limites (Fenêtrage) ont été positionnées de manière inappropriée.

Le produit sur lequel figure le marquage « CE IVD » est conçu à des fins de diagnostic in vitro au sein de laboratoires en dehors des USA.

## 17 Bibliographie

- French JJ, Cresswell J, Wong WK, Seymour K, Charnley RM, Kirby JA: T cell adhesion and cytolysis of pancreatic cancer cells: a role for E-cadherin in immunotherapy?. *Br J Cancer*. 2002 Oct 21; 87(9):1034-41. < PMID: 12434297 >
- Poles MA, Barsoum S, Yu W, Yu J, Sun P, Daly J, He T, Mehandru S, Talal A, Markowitz M, Hurley A, Ho D, Zhang L: Human immunodeficiency virus type 1 induces persistent changes in mucosal and blood gamma delta T cells despite suppressive therapy. *J Virol*. 2003 Oct; 77(19):10456-67. < PMID: 12970431 >
- Brandes M, Willmann K, Lang AB, Nam KH, Jin C, Brenner MB, Morita CT, Moser B: Flexible migration program regulates gamma delta T-cell involvement in humoral immunity. *Blood*. 2003 Nov 15; 102(10):3693-701. < PMID: 12881309 >
- León F, Roy G: Isolation of human small bowel intraepithelial lymphocytes by annexin V-coated magnetic beads. *Lab Invest*. 2004 Jun; 84(6):804-9. < PMID: 15154017 >
- Sigmundsdottir H, Johnston A, Gudjonsson JE, Bjarnason B, Valdimarsson H: Methotrexate markedly reduces the expression of vascular E-selectin, cutaneous lymphocyte-associated antigen and the numbers of mononuclear leucocytes in psoriatic skin. *Exp Dermatol*. 2004 Jul; 13(7):426-34. < PMID: 15217363 >
- Cardoso CR, Garlet GP, Moreira AP, Júnior WM, Rossi MA, Silva JS: Characterization of CD4+CD25+ natural regulatory T cells in the inflammatory infiltrate of human chronic periodontitis. *J Leukoc Biol*. 2008 Jul; 84(1):311-8. < PMID: 18451325 >
- Jaensson E, Uronen-Hansson H, Pabst O, Eksteen B, Tian J, Coombes JL, Berg PL, Davidsson T, Powrie F, Johansson-Lindbom B, Agace WW: Small intestinal CD103+ dendritic cells display unique functional properties that are conserved between mice and humans. *J Exp Med*. 2008 Sep 1; 205(9):2139-49. < PMID: 18710932 >
- Kost CB, Holden JT, Mann KP: Marginal zone B-cell lymphoma: a retrospective immunophenotypic analysis. *Cytometry B Clin Cytom*. 2008 Sep; 74(5):282-6. < PMID: 18500740 >
- Kost CB, Holden JT, Mann KP: Marginal zone B-cell lymphoma: a retrospective immunophenotypic analysis. *Cytometry B Clin Cytom*. 2008 Sep; 74(5):282-6. < PMID: 18500740 >
- Zhang L, Bertucci AM, Ramsey-Goldman R, Burt RK, Datta SK: Regulatory T cell (Treg) subsets return in patients with refractory lupus following stem cell transplantation, and TGF-beta-producing

CD8+ Treg cells are associated with immunological remission of lupus. J Immunol. 2009 Nov 15; 183(10):6346-58. < PMID: 19841178 >

## 18 Contacter

### Fabricant



Sysmex Partec GmbH  
Arndtstraße 11 a-b  
02826 Görlitz, Allemagne  
www.sysmex-partec.com

Tél. +49 3581 8746 0  
Fax +49 3581 8746 70  
E-mail : info@sysmex-partec.com

### Mandataire suisse



EUMEDIQ AG  
Grafenauweg 8, 6300 Zug  
Suisse

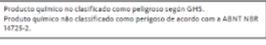
### Distribué au Canada par

Sysmex America, Inc.  
577, Aptakisic Road,  
Lincolnshire, IL 60069,  
Etats-Unis

## 19 Numéro de version du manuel d'utilisation et date de publication

Révision : Rev.4\_2025-3-15  
Publié par : Sysmex Partec GmbH

## 20 Symboles

	Numéro de référence		Date de péremption
	Dispositif médical de diagnostic in vitro		Contenu suffisant pour <n> tests
	Marquage CE		Numéro de lot
	Clone de cellules hybridomes utilisées pour produire un anticorps monoclonal		Limites de température
	Fabricant		À conserver à l'abri de la lumière du soleil
	Attention		Consulter le mode d'emploi
	Identifiant unique de dispositif		Marquage UKCA
	Déclaration pour divers pays d'Amérique latine		Mandataire suisse