

CD4 easy count kit page 1/2

Nom du produit CD4 easy count kit

IVD

Code N°. 05-8401

Contenu Conditionnement contenant des réactifs pour 100 tests:

- 100 ml *no lyse buffer*
- 2000 µl de *CD4 mAb PE* (MEM-241, anticorps monoclonal CD4 humain conjugué à la PE)

Information générale: Les patients atteints du SIDA présentent une lymphopénie des cellules T, une perte des lymphocytes CD4⁺ et une augmentation relative du sous-type CD8⁺ ainsi que du sous-type CD3⁺CD4⁺CD8⁺. Un comptage précis des cellules CD4⁺ est nécessaire au contrôle et au suivi fiable du traitement antirétroviral des patients.

Spécificité et distribution antigénique: L'anticorps monoclonal (mAb) de souris MEM-241 reconnaît l'antigène humain CD4, une glycoprotéine transmembranaire (de 55 kDa) de la famille des super-gènes d'immunoglobuline, présente sur une sous-population de lymphocytes T "*helper/inducer*" et aussi exprimée à un niveau moindre sur les monocytes, macrophages tissulaires et granulocytes. Approximativement 20-60% des cellules mononucléaires humaines du sang périphérique sont marquées, ainsi qu'une sous-population de monocytes mais avec un signal plus faible. L'anticorps a été étudié au 8^{ème} "International Workshop on Human Cell Differentiation Molecules HCDM (former HLDA VIII)", mai 2006, à Québec, Canada. Le CD4 est un récepteur primaire cellulaire pour le virus de l'immunodéficience humaine (VIH).

Clone MEM-241
Isotype IgG1 monoclonal de souris

Applications:

- Identification et comptage de la sous-population des lymphocytes T CD4⁺ "*helper/inducer*"
- Études des infections VIH. Les patients infectés par le VIH perdent des lymphocytes CD4⁺ "*helper/inducer*"
- Caractérisation des sous-types de leucémies à cellules T et des lymphomes à cellules T
- Pour utilisation diagnostique *in vitro*

Méthode:

- Pipeter 20 µl de sang total (EDTA comme anticoagulant) dans un tube échantillon de Partec
- Ajouter 20 µl d'anticorps monoclonal *CD4 mAb PE*. Agiter doucement puis incubé pendant 15 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- Ajouter 800 µl de *no lyse buffer* (tampon sans lyse) et agiter ou vortexer doucement
- Analyser l'échantillon de sang sur un appareil de Partec

Analyse par cytométrie en flux: La fluorescence de CD4-PE peut être analysée sur un cytomètre en flux de Partec avec une source d'excitation de 488 ou 532 nm (laser solide bleu ou vert). Pour compter les cellules T CD4⁺, connecter le tube de 840 µl d'échantillon de sang préparé (voir *Méthode*) au cytomètre en flux de Partec et exécuter l'analyse. Pour des informations détaillées sur l'utilisation et la calibration des instruments prière de se référer au manuel d'utilisation et aux notes d'application.

La préparation du sang permet une procédure de comptage par échantillon. Suivant la procédure ci-dessus le facteur de dilution est de 42. Avec le CyFlow® Counter et le CyFlow® SL_3 ce facteur de dilution est déjà intégré dans le logiciel (respectivement CyView™ ou FloMax™/rapport Word). Les résultats de comptage seront automatiquement affichés en nombre de cellules T CD4⁺ par µl de sang total.

Matériels recommandés et requis:

- Cytomètre en flux de Partec (ex. CyFlow® Counter [N° de code CY-S-3022] et CyFlow® SL_3 [N° de code CY-S-1023])
- Tubes échantillon de Partec (N° de code 04-2000)
- Micropipettes et embouts (ex. Eppendorf, N° de code 3112 000 029 et 3111 000 0165)
- Gants en latex sans poudre (ex. Safeskin, N° de code 545-950-06)
- Système de collection de sang avec EDTA comme anticoagulant (ex. tubes Greiner Bio-One: Vacuette® EDTA, K3E/EDTA K3, 3 ml, N° de code 454217, aiguilles de collection de sang Vacuette® 38 x 0.8 mm, N° de code 450076, Portoir de tubes Vacuette® N° de code 450201)

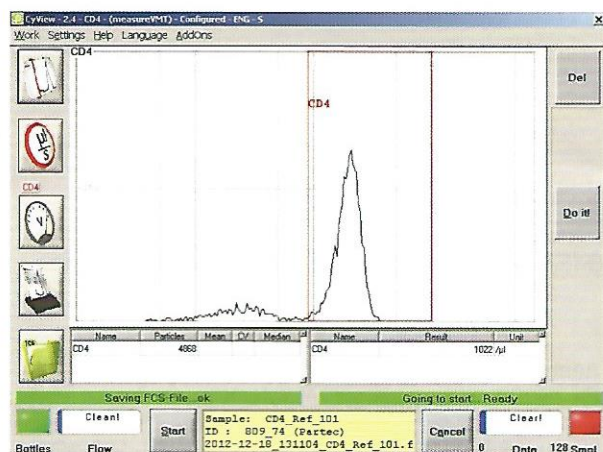
Stockage: L'anticorps monoclonal *CD4 mAb PE* est fourni dans 2 ml de PBS (tampon phosphate) de pH 7,4 contenant de l'ASB et 0,09% d'azote de sodium, suffisant pour 100 tests. 20 µl d'anticorps monoclonal *CD4 mAb PE* suffisent pour marquer 1x10⁶ cellules. Maintenu entre 2 et 8°C à l'abri de la lumière, le kit *CD4 easy count kit* est stable jusqu'à la date d'expiration imprimée sur l'étiquette. Ne pas congeler ou exposer à des températures élevées.

CE IVD - Pour utilisation diagnostique *in vitro* sur les cytomètres de Partec.

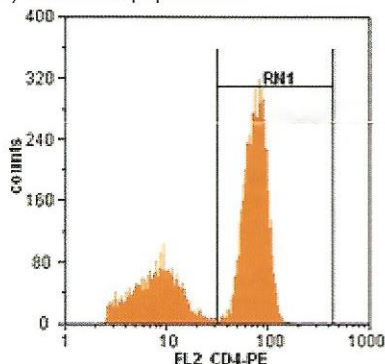
Contact pour information:

Sysmex Partec GmbH • Am Flugplatz 13 • 02828 Görlitz • Germany
Tel +49 3581 8746 0 • Fax +49 3581 8746 70 • E-mail: info@sysmex-partec.com

Exemple de résultat de comptage direct CD4 utilisant le kit CD4 easy count kit – Capture d'écran d'un CyFlow® Counter. Comme illustré sur l'histogramme, les cellules T CD4⁺ (pic visible entre les curseurs) sont facilement séparées des monocytes CD4⁺ (pic d'intensité de fluorescence faible plus à gauche). Le comptage absolu des lymphocytes T CD4⁺ est directement exprimé en nombre de cellules/µl de sang total.



Exemple de résultat de comptage direct CD4 utilisant le kit CD4 easy count kit – Affichage du CyFlow® SL_3. L'histogramme FL2 CD4-PE montre la séparation précise du groupe des lymphocytes T CD4⁺ (population entre les curseurs RN1) des autres populations.



Avertissements et précautions: Les réactifs contiennent 0.09% d'azoture de sodium qui en condition acide produit un acide hydrazoïque, composé explosif. L'azoture de sodium peut réagir avec le plomb et le cuivre des canalisations pour former des azotures métalliques potentiellement explosifs. Lors de l'élimination de l'azoture de sodium, rincer les canalisations avec de larges quantités d'eau pour prévenir la formation d'agréats. Très toxique si ingéré. Après contact avec la peau, laver immédiatement avec beaucoup d'eau.

Dangereux si ingéré (R22). Le contact avec les acides libère des gaz très toxiques (R32). Garder hors de portée des enfants (S2). Isoler de toutes boissons et de tous produits alimentaires (S13). Porter des vêtements appropriés de protection (S36). Si ingéré, chercher immédiatement un avis médical et montrer ce flacon ou étiquette (S46).

Manipuler tous les échantillons comme potentiellement infectieux. Décontaminer avec 0,5% d'hypochlorite de sodium. Ce produit doit être uniquement manipulé par du personnel formé. Les réactifs ne sont pas stériles. Non pour utilisation *in vivo* chez l'homme. Pour utilisation *in vitro* seulement.

Littérature:

Cassens, U. et al.: Simplified volumetric flow cytometry allows feasible and accurate determination of CD4 T lymphocytes in immunodeficient patients worldwide", *Antiviral Therapy* 9: 395-405 (2004)

Göhde, W. et al.: A New Protocol to Follow-up Immune Impairment in HIV/AIDS-Children, Scientific Presentation - Abstract No. MoPeLB151C02 at the 3rd IAS Conference on HIV Pathogenesis and Treatment in Rio de Janeiro, July 2005

Greve, B. et al.: "A New No-Lyse, No-Wash Flow-Cytometric Method for the Determination of CD4 T Cells in Blood Samples", *Transfus Med Hemoth* (2003), 30: 8-13

Imade, G. et al.: "Comparison of a New, Affordable Flow Cytometric Method and the Manual Magnetic Bead Technique for CD4 T-Lymphocyte Counting in a Northern Nigerian Setting", *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, Jan. 2005, p. 224-227

Dieye, T.N. et al.: Absolute CD4 T-Cell Counting in Resource-Poor Settings: Direct Volumetric Measurements Versus Bead-Based Clinical Flow Cytometry Instruments, *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, Volume 39, Number 1, May 1 2005

Fryland, M. et al.: The PARTEC CyFlow counter for CD4+ T-cell counting produces high quality results and is robust when evaluated under routine field conditions in Malawi, Scientific Oral Presentation - Abstract No. TuOrB1149 at the XV. International AIDS Conference in Bangkok, July 2004.



IVD - Pour utilisation diagnostique *in vitro* sur les cytomètres de Partec.

Contact pour information:

Sysmex Partec GmbH • Am Flugplatz 13 • 02828 Görlitz • Germany
Tel +49 3581 8746 0 • Fax +49 3581 8746 70 • E-mail: info@sysmex-partec.com

CD4% easy count kit page 1/2

Nom du produit CD4% easy count kit

IVD

Code N°. 05-8405

Contenu Conditionnement contenant des réactifs pour 100 tests:

- 100 ml de *Buffer 1*
- 100 ml de *Buffer 2*
- 1000 µl de *CD4 mAb PE* (MEM-241, anticorps monoclonal PE-conjugué au CD4 humain)
- 1000 µl de *CD45 mAb PE-Dy647* (MEM-28, anticorps monoclonal PE-Dy647-conjugué au CD45 humain)

Information générale: Les patients atteints du SIDA présentent une lymphopénie des cellules T, une perte des lymphocytes CD4⁺ et une augmentation relative du sous-type CD8⁺ ainsi que du sous-type CD3⁺CD4⁺CD8⁺. Le seuil généralement utilisé de 350 cellules CD4⁺/µl de sang pour débiter une thérapie antirétrovirale (ART) des patients adultes peut ne pas être approprié pour les enfants ayant des taux de comptage CD4 significativement plus élevés que pour les adultes. Donc une mesure CD4% plus fiable devrait être effectuée pour les patients pédiatriques en contrôle et suivi du traitement antirétroviral.

Spécificité et distribution antigénique: L'anticorps monoclonal de souris MEM-241 reconnaît l'antigène humain CD4, une glycoprotéine transmembranaire (de 55 kDa) de la famille des super-gènes d'immunoglobuline, présente sur une sous-population de lymphocytes T "helper/inducer" qui est aussi exprimée à un niveau moindre sur les monocytes, macrophages tissulaires et granulocytes. Approximativement 20-60% des cellules mononucléaires humaines du sang périphérique sont marquées, ainsi qu'une sous-population de monocytes mais avec un signal plus faible. L'anticorps a été étudié au 8^{ème} "International Workshop on Human Cell Differentiation Molecules HCDM (former HLDA VIII)", mai 2006, à Québec, Canada. Le CD4 est un récepteur primaire cellulaire pour le virus de l'immunodéficience humaine (VIH).

L'anticorps monoclonal de souris MEM-28 réagit avec toutes les formes alternatives d'antigène CD45 humain (Leukocyte Common Antigen), une protéine transmembranaire mono chaîne de type I et de 180-220 kDa, exprimée à haut niveau sur toutes les cellules d'origine hématopoïétique, sauf les érythrocytes et les plaquettes. L'anticorps a été groupé au CD45 au 3^{ème} "International Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens" (Ref.: Leucocyte Typing III, McMichael A. J. et al. (Eds.), Oxford University Press, Oxford 1987).

Clone	<i>CD4 mAb PE</i>	MEM-241
	<i>CD45 mAb PE-Dy647</i>	MEM-28

Isotype	<i>CD4 mAb PE</i>	Mouse monoclonal IgG ₁
	<i>CD45 mAb PE-Dy647</i>	Mouse monoclonal IgG ₁

Applications:

- Identification et comptage de la sous-population des lymphocytes T CD4⁺ "helper/inducer" et des cellules CD45⁺ de lignée hématopoïétique
- Détermination du pourcentage de cellules T CD4⁺ par rapport aux lymphocytes totaux
- Etudes des infections VIH. Les patients infectés par le VIH perdent des lymphocytes CD4⁺ "helper/inducer", pendant que les cellules T CD8⁺ augmentent
- Caractérisation des sous-types de leucémies à cellules T et des lymphomes à cellules T
- Pour utilisation diagnostique *in vitro*

Méthode:

- Ajouter 20 µl de sang total (EDTA comme anticoagulant) à un tube échantillon de Partec
- Ajouter 10 µl d'anticorps monoclonal *CD4 mAb PE* et 10 µl d'anticorps monoclonal *CD45 mAb PE-Dy647*. Agiter doucement puis incubé pendant 15 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière
- Ajouter 400 µl de *Buffer 1* (tampon 1) et agiter doucement
- Juste avant la mesure, verser 400 µl de *Buffer 2* (tampon 2) et analyser immédiatement (dans les 10 minutes)
- Analyser l'échantillon de sang sur un appareil CyFlow® de Partec

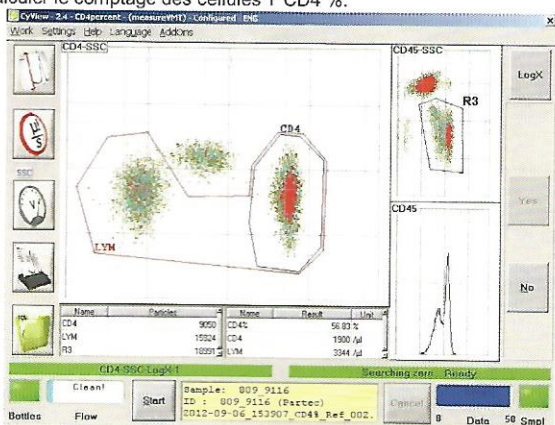


Pour la réalisation de diagnostics *in vitro* avec des cytomètres en flux IVD Partec.

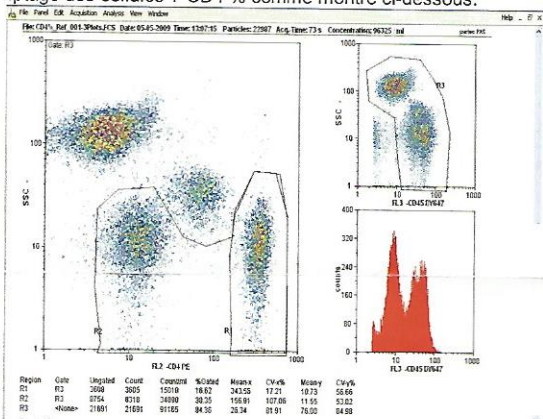
Contact:

Sysmex Partec GmbH • Am Flugplatz 13 • 02828 Görlitz • Germany
Tel +49 3581 8746 0 • Fax +49 3581 8746 70 • E-mail: info@sysmex-partec.com

Exemple de résultat de comptage direct CD4% utilisant le kit CD4% easy count kit – Affichage du CyFlow® Counter. Dans cette analyse 2-couleurs CD4/CD45, le nombre absolu de lymphocytes + monocytes, lymphocytes et lymphocytes T CD4⁺ sont respectivement affichés dans les polygones R3, LYM et CD4; ils sont utilisés afin de calculer le comptage des cellules T CD4 %.



Exemple de résultat de comptage direct CD4% utilisant le kit CD4% easy count kit – Affichage du CyFlow® SL_3. Dans cette analyse 2-couleurs CD4/CD45, le nombre absolu de leucocytes, lymphocytes et lymphocytes T CD4⁺ sont respectivement affichés dans les polygones R3, R2 et R1; ils sont utilisés afin de calculer le comptage des cellules T CD4 % comme montré ci-dessous.



Population Cellulaire	Commentaire	Concentration (échantillon de sang dilué)	Concentration (échantillon de sang total)
Cellules T CD4 ⁺	Polygone R1	15 010 cellules/ml	630 cellules/µl
Lymphocytes	Polygone R2	34 890 cellules/ml	1 465 cellules/µl
Leucocytes	Polygone R3	91 165 cellules/ml	3 829 cellules/µl
% T CD4 ⁺	R1/R2	43,0%	43,0%

Analyse de cytométrie en flux: La fluorescence de CD4-PE et CD45-PE-Dy647 peut être analysée sur un cytomètre en flux de Partec avec une source d'excitation de 532 nm (laser solide vert). Pour compter les cellules T CD4⁺ et CD45⁺ connecter le tube de 840 µl d'échantillon de sang préparé (voir *Méthode*) au cytomètre en flux de Partec et exécuter l'analyse. Pour des informations détaillées sur l'utilisation et la calibration des instruments prière de se référer au manuel d'utilisation et aux notes d'applications. La préparation du sang permet une procédure de comptage par échantillon. Suivant la procédure ci-dessus le facteur de dilution est de 42. Avec le CyFlow® Counter et le CyFlow® SL_3 ce facteur de dilution est déjà intégré dans le logiciel (respectivement CyView™ ou FloMax™/rapport Word). Les résultats de comptage seront automatiquement affichés en nombre de cellules T CD4⁺ par µl de sang total et en pourcentage des lymphocytes CD4⁺ par rapport aux lymphocytes totaux.

Matériels recommandés et requis:

- Cytomètre en flux de Partec (ex. CyFlow® Counter [N° de code CY-S-3022] et CyFlow® SL_3 [N° de code CY-S-1023])
- Tubes échantillon de Partec (N° de code 04-2000)
- Micropipettes et embouts (ex. Eppendorf, N° de code 3112 000 029 et 3111 000 0165)
- Gants en latex sans poudre (ex. Safeskin, N° de code 545-950-06)
- Système de collection de sang avec EDTA comme anticoagulant (ex. tubes Greiner Bio-One: Vacuette® EDTA, K3E/EDTA K3, 3 ml, N° de code 454217, aiguilles de collection de sang Vacuette® 38 x 0.8 mm, N° de code 450076, Portoir de tubes Vacuette® N° de code 450201)

Stockage: CD4 mAb PE and CD45 mAb PE-Dy647 sont chacun fournis dans 1 ml de PBS (tampon phosphate) de pH 7,4 contenant 0,2% de BSA et 0,09% d'azide de sodium suffisant pour 100 tests. 10 µl des anticorps monoclonaux suffisent pour marquer 1x10⁶ cellules. Maintenu entre 2 et 8°C à l'abri de la lumière, le kit CD4% easy count kit est stable jusqu'à la date d'expiration imprimée sur l'étiquette. Ne pas congeler ou exposer à des températures élevées.

Avvertissements et précautions: Les réactifs contiennent 0,09% d'azide de sodium qui en réaction avec l'acide produit de l'acide hydrazoïque, un composé explosif. L'azide de sodium peut réagir avec le plomb et le cuivre des canalisations pour former des azides métalliques potentiellement explosifs. Lors de l'élimination de l'azide de sodium, rincer les canalisations avec de larges quantités d'eau pour prévenir la formation d'agréats. Très toxique si ingéré. Après contact avec la peau, laver immédiatement avec beaucoup d'eau.

Dangereux si ingéré (R22). Le contact avec les acides libère des gaz très toxiques (R32). Garder hors de portée des enfants (S2). Isoler de toutes boissons et de tous produits alimentaires (S36). Porter des vêtements appropriés de protection (S36). Si ingéré, chercher immédiatement un avis médical et montrer ce flacon ou étiquette (S46). Manipuler tous les échantillons comme potentiellement infectieux. Décontaminer avec 0,5% d'hypochlorite de sodium. Ce produit doit être uniquement manipulé par du personnel formé. Les réactifs ne sont pas stériles. Non pour utilisation *in vivo* chez l'homme. Pour utilisation *in vitro* seulement.

Littérature:

Cassens, U. et al.: Simplified volumetric flow cytometry allows feasible and accurate determination of CD4 T lymphocytes in immunodeficient patients worldwide", *Antiviral Therapy* 9: 395-405 (2004)

Göhde, W. et al.: A New Protocol to Follow-up Immune Impairment in HIV/AIDS-Children, *Scientific Presentation - Abstract No. MoPeLB151C02* at the 3rd IAS Conference on HIV Pathogenesis and Treatment in Rio de Janeiro, July 2005

Greve, B. et al.: "A New No-Lyse, No-Wash Flow-Cytometric Method for the Determination of CD4 T Cells in Blood Samples", *Transfus Med Hemoth* (2003), 30: 8-13

Imade, G. et al.: "Comparison of a New, Affordable Flow Cytometric Method and the Manual Magnetic Bead Technique for CD4 T-Lymphocyte Counting in a Northern Nigerian Setting", *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, Jan. 2005, p. 224-227

Dieye, T.N. et al.: Absolute CD4 T-Cell Counting in Resource-Poor Settings: Direct Volumetric Measurements Versus Bead-Based Clinical Flow Cytometry Instruments, *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, Volume 39, Number 1, May 1 2005

Fryland, M. et al.: The PARTEC CyFlow counter for CD4+ T-cell counting produces high quality results and is robust when evaluated under routine field conditions in Malawi, *Scientific Oral Presentation - Abstract No. TuOrB1149* at the XV. International AIDS Conference in Bangkok, July 2004.



Pour la réalisation de diagnostics *in vitro* avec des cytomètres en flux IVD Partec.

Contact:

Sysmex Partec GmbH • Am Flugplatz 13 • 02828 Görlitz • Germany
Tel +49 3581 8746 0 • Fax +49 3581 8746 70 • E-mail: info@sysmex-partec.com