



cFluor[®] Anti-Human CD4 (SK3)

Mode d'emploi

| Référence | Essais/flacon | Nom du produit |
|-----------|---------------|---|
| R7-11027 | 100 | cFluor [®] B515 Anti-Human CD4 (SK3) |
| R7-11028 | 25 | cFluor [®] B515 Anti-Human CD4 (SK3) |
| R7-11037 | 100 | cFluor [®] B532 Anti-Human CD4 (SK3) |
| R7-11038 | 25 | cFluor [®] B532 Anti-Human CD4 (SK3) |
| R7-11043 | 100 | cFluor [®] B548 Anti-Human CD4 (SK3) |
| R7-11044 | 25 | cFluor [®] B548 Anti-Human CD4 (SK3) |
| R7-11049 | 100 | cFluor [®] R668 Anti-Human CD4 (SK3) |
| R7-11050 | 25 | cFluor [®] R668 Anti-Human CD4 (SK3) |
| R7-11045 | 100 | cFluor [®] R720 Anti-Human CD4 (SK3) |
| R7-11046 | 25 | cFluor [®] R720 Anti-Human CD4 (SK3) |
| R7-11057 | 100 | cFluor [®] V450 Anti-Human CD4 (SK3) |
| R7-11058 | 25 | cFluor [®] V450 Anti-Human CD4 (SK3) |
| R7-11003 | 100 | cFluor [®] BYG781 Anti-Human CD4 (SK3) |
| R7-11004 | 25 | cFluor [®] BYG781 Anti-Human CD4 (SK3) |

Droits d'auteur et marques commerciales

© 2022 Cytex Biosciences, Inc. Tous droits réservés. Cytex, le logo Cytex, cFluor et Northern Lights sont des marques commerciales ou déposées de Cytex Biosciences, Inc. Toutes les autres marques de service, toutes les marques commerciales et tous les noms de marque sont détenus par leurs propriétaires respectifs.



Cytex Biosciences, Inc.
47215 Lakeview Blvd.
Fremont, CA 94538
États-Unis
1 877 92-CYTEK (1 877 922-9835)

products@cytekbio.com
cytekbio.com



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP La Haye
Pays-Bas

1. Utilisation prévue

Ce produit est destiné à une utilisation diagnostique *in vitro* pour l'identification des cellules humaines exprimant des molécules d'antigène CD4 dans les pays où l'approbation réglementaire a été obtenue auprès des autorités de réglementation locales.

2. Application

L'anticorps monoclonal anti-CD4 (SK3) se lie à la molécule CD4 humaine, une glycoprotéine transmembranaire de type I de 59 kDa appartenant à la superfamille des immunoglobulines. La molécule CD4 est exprimée essentiellement sur les thymocytes et dans une sous-population de lymphocytes T auxiliaires matures. Elle est aussi présente à faible densité sur les monocytes. La molécule CD4 joue un rôle dans l'interaction entre les cellules en agissant comme corécepteur pour le CMH de classe II lors de la reconnaissance antigénique. La molécule CD4 se lie aussi à la glycoprotéine 120 sur l'enveloppe externe du VIH. L'anticorps est conjugué à un fluorophore et purifié par chromatographie d'affinité.

3. Composants

L'anticorps monoclonal anti-CD4 conjugué au colorant fluorescent cFluor indiqué ci-dessous est fourni dans une solution saline tamponnée au phosphate (PBS), de pH 7,2, contenant 0,09 % d'azoture de sodium et 0,2 % d'albumine de sérum bovin (BSA) (provenant des États-Unis).

| Spécificité de l'anticorps | CD4 | CD4 | CD4 | CD4 | CD4 | CD4 | CD4 |
|------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------|---|
| Clone | SK3 | SK3 | SK3 | SK3 | SK3 | SK3 | SK3 |
| Sous-type d'immunoglobuline | IgG1, kappa | IgG1, kappa | IgG1, kappa | IgG1, kappa | IgG1, kappa | IgG1, kappa | IgG1, kappa |
| Espèce et genre | Souris | Souris | Souris | Souris | Souris | Souris | Souris |
| Colorant fluorescent | cFluor [®] B515 ¹ | cFluor [®] B532 ¹ | cFluor [®] B548 ¹ | cFluor [®] R668 ¹ | cFluor [®] R720 ¹ | cFluor [®] V450 | cFluor [®] BYG781 ² |
| Longueur d'onde d'excitation | 488 nm | 488 nm | 488 nm | 640 nm | 640 nm | 405 nm | 488 nm |
| Pic d'émission | 515 nm | 532 nm | 548 nm | 668 nm | 720 nm | 450 nm | 781 nm |

4. Stockage et manipulation

Ce produit est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette lorsqu'il est stocké à l'abri de la lumière entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler.

5. Autres consommables et accessoires requis mais non fournis

- Solution de lyse des globules rouges
- Pipettes et embouts de pipette de 20 µl, 100 µl et 1 000 µl
- Tube de 12 mm x 75 mm
- Vortex
- Cytomètre en flux

6. Exigences concernant les échantillons

- 1 Au moins 500 µl de sang périphérique prélevé par ponction veineuse dans un tube d'anticoagulant EDTA.
- 2 Après le prélèvement, les échantillons doivent être conservés à température ambiante (entre 18 et 25 °C). Éviter de secouer le tube. La durée de conservation ne doit pas dépasser 24 heures.
- 3 Après la coloration, les échantillons doivent être conservés entre 2 et 8 °C à l'abri de la lumière et analysés par cytométrie en flux dans les 2 heures.
- 4 Éviter les échantillons coagulés ou présentant une contamination microbienne.

7. Procédure

- 1 Ajouter 100 µl de sang entier anticoagulé à l'EDTA bien mélangé au fond d'un tube. Éviter que le sang ne touche la paroi supérieure du tube.
- 2 Centrifuger brièvement le produit avant de l'utiliser. Ajouter 5 µl de conjugué anti-CD4-cFluor au fond du tube.
- 3 Bien mélanger au vortex et incuber pendant 15 à 30 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière.
- 4 Ajouter 2 ml de tampon de lyse 1 X dans le tube, mélanger brièvement au vortex, et incuber pendant 10 à 15 minutes à température ambiante à l'abri de la lumière.
- 5 Centrifuger à 300 g pendant 5 minutes, jeter le surnageant, ajouter 2 ml de PBS contenant 0,02 % de BSA et 0,09 % de NaN₃ pour remettre les cellules en suspension.
- 6 Centrifuger à 300 g pendant 5 minutes, jeter le surnageant, ajouter 300 µl de PBS contenant 0,02 % de BSA et 0,09 % de NaN₃ pour remettre les cellules en suspension ; conserver à 4 °C avant de les analyser par cytométrie en flux dans les 2 heures. Si l'analyse doit être reportée (plus de 2 heures), utiliser 300 µl de PBS contenant 1 % de paraformaldéhyde pour remettre les cellules en suspension et conserver l'échantillon dans un réfrigérateur entre 2 et 8 °C, à l'abri de la lumière. La durée de conservation ne doit pas dépasser 24 heures.

8. Contrôle de qualité (CQ)

- CQ de l'instrument : utiliser les contrôles recommandés par le fabricant en fonction du modèle de cytomètre en flux utilisé.
- Se reporter au guide de l'utilisateur de l'instrument pour consulter les consignes d'entretien.

9. Avertissements

- Ce réactif contient des traces d'azoture de sodium. Ne pas pipeter à la bouche.
- Utiliser un équipement de protection individuelle approprié, conforme à la fiche de données de sécurité, lors de l'utilisation de ce produit.
- Suivre le protocole de biosécurité en respectant les règlements nationaux, régionaux et locaux lors de la manipulation de tous les échantillons biologiques et du matériel en contact avec ces derniers.
- Contacter le service technique de Cytek ou se reporter au site cytekbio.com pour des détails sur la résolution des problèmes.

10. Caractéristiques de performance

10.1. Exactitude

Trois réplicats ont été colorés avec chaque conjugué anti-CD4-cFluor et analysés avec le cytomètre en flux Cytek Northern Lights™. Les résultats en pourcentage de lymphocytes T CD4+ sont tombés dans les plages cibles pour les échantillons de sang témoins fournies par le fabricant.

| Échantillon : CD-CHEX PLUS | Lymphocytes T CD4+ (pourcentage) | | | | |
|-------------------------------|----------------------------------|------|------|---------|------------------------|
| Anti-CD4-colorant fluorescent | R1 | R2 | R3 | Moyenne | Plage de valeurs cible |
| cFluor B515 | 49,2 | 48,8 | 48,5 | 48,9 | 42,7-54,7 |
| cFluor B532 | 47,6 | 48,9 | 48,2 | 48,3 | 42,7-54,7 |
| cFluor B548 | 45,6 | 45,0 | 47,9 | 46,2 | 42,7-54,7 |
| cFluor BYG781 | 50,6 | 51,6 | 50,8 | 51,0 | 44,4-56,4 |
| cFluor R668 | 48,6 | 47,8 | 49,3 | 48,5 | 42,7-54,7 |
| cFluor R720 | 48,4 | 49,1 | 47,5 | 48,4 | 42,7-54,7 |
| cFluor V450 | 46,8 | 49,5 | 46,7 | 47,7 | 42,7-54,7 |

10.2. Précision intra-lot

Dix réplicats ont été colorés avec le même lot de chaque conjugué anti-CD4-cFluor et analysés avec le cytomètre en flux Cytek Northern Lights™. Les CV du pourcentage de lymphocytes T CD4+ ont été calculés et se situaient dans les limites des critères d'acceptation.

| Échantillon : Sang normal | Lymphocytes T CD4+ (pourcentage) | | |
|-------------------------------|----------------------------------|------|-----------|
| Anti-CD4-colorant fluorescent | Moyenne (%) | % CV | Critères |
| cFluor B515 | 25,4 | 3,02 | CV ≤ 15 % |
| cFluor B532 | 46,9 | 1,07 | CV ≤ 8 % |
| cFluor B548 | 46,8 | 1,34 | |
| cFluor BYG781 | 48,2 | 1,64 | |
| cFluor R668 | 48,2 | 1,40 | |
| cFluor R720 | 47,3 | 1,27 | |
| cFluor V450 | 50,3 | 1,60 | |

10.3. Précision inter-lot

Trois réplicats ont été colorés avec trois lots de chaque conjugué anti-CD4-cFluor et analysés avec le cytomètre en flux Cytek Northern Lights™. Les CV du pourcentage de lymphocytes T CD4+ ont été calculés et se situaient dans les limites des critères d'acceptation.

| Échantillon : CD-CHEX PLUS | Lymphocytes T CD4+ (pourcentage) | | |
|-------------------------------|----------------------------------|------|----------|
| Anti-CD4-colorant fluorescent | Moyenne (%) | % CV | Critères |
| cFluor B515 | 43,3 | 5,37 | CV ≤ 8 % |
| cFluor B532 | 46,7 | 1,19 | |
| cFluor B548 | 47,5 | 1,15 | |
| cFluor BYG781 | 46,8 | 1,66 | |
| cFluor R668 | 48,9 | 1,76 | |
| cFluor R720 | 47,5 | 2,00 | |
| cFluor V450 | 49,9 | 1,37 | |

10.4. Stabilité de la coloration

Trois réplicats ont été colorés avec le même lot de chaque conjugué anti-CD4-cFluor et analysés avec le cytomètre en flux Cytek Northern Lights™ aux échéances suivantes : dans les 2 heures (T0), 6 heures, 24 heures, 48 heures et 72 heures après la coloration. À chaque échéance, le pourcentage de lymphocytes T CD4+ a été comparé à T0. La différence relative moyenne a été calculée et se situait dans les limites des critères d'acceptation.

| Échantillon : Sang normal | Lymphocytes T CD4+ (pourcentage) | | | | | |
|-------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|--------|--------|----------------|----------------------------|
| Anti-CD4-colorant fluorescent | Moyenne (%) | Différence relative par rapport à T0 | | | | Critères |
| | | 6 h | 24 h | 48 h | 72 h | |
| cFluor B515 | 48,3 | 0,14 % | 1,75 % | 2,83 % | 3,22 % | Différence relative ≤ 10 % |
| cFluor B532 | 47,0 | 0,15 % | 0,99 % | 2,05 % | 3,01 % | |
| cFluor B548 | 47,1 | 1,10 % | 0,04 % | 0,52 % | 0,66 % | |
| cFluor BYG781 | 48,2 | -1,05 % | 1,79 % | 0,14 % | Non disponible | |
| cFluor R668 | 46,2 | 4,46 % | 5,64 % | 6,89 % | 7,28 % | |
| cFluor R720 | 47,4 | 2,05 % | 3,55 % | 0,58 % | 0,33 % | |
| cFluor V450 | 47,6 | -0,57 % | 3,17 % | 3,57 % | 3,94 % | |

10.5. Linéarité des dilutions

Les échantillons ont été dilués en série à cinq niveaux (non dilué, 2X, 4X, 8X, 16X). Quatre réplicats de chaque dilution ont été colorés avec le même lot de chaque conjugué anti-CD4-cFluor et analysés avec le cytomètre en flux Cytex Northern Lights™. La médiane du pourcentage de lymphocytes T CD4+ à chaque dilution a été comparée à la médiane du pourcentage de lymphocytes T CD4+ à tous les niveaux. La différence relative a été calculée et se situait dans les limites des critères d'acceptation.

| Échantillon : CD-CHEX PLUS | Lymphocytes T CD4+ (pourcentage) | | | | | |
|-------------------------------|--------------------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|----------------------------|
| Anti-CD4-colorant fluorescent | Différence relative par rapport à T0 | | | | | Critères |
| | Non dilué | Dilution 2X | Dilution 4X | Dilution 8X | Dilution 16X | |
| cFluor B515 | 1,50 % | -0,37 % | 1,78 % | -1,08 % | -3,10 % | Différence relative ≤ 10 % |
| cFluor B532 | 0,79 % | 0,00 % | 0,80 % | -0,09 % | -0,13 % | |
| cFluor B548 | 0,73 % | 0,18 % | 0,52 % | 0,66 % | -1,37 % | |
| cFluor BYG781 | 0,69 % | 1,57 % | 1,29 % | -1,98 % | -0,71 % | |
| cFluor R668 | -2,74 % | 0,34 % | -0,36 % | 1,40 % | 1,22 % | |
| cFluor R720 | 1,45 % | 1,17 % | 0,25 % | -0,86 % | -2,42 % | |
| cFluor V450 | 1,62 % | 0,78 % | 0,53 % | -0,53 % | -3,89 % | |

11. Limites du test

- 1 Ce réactif peut être utilisé avec un cytomètre en flux et n'est pas recommandé pour la microscopie par fluorescence et l'immunohistochimie.
- 2 Ce réactif est un produit marqué par fluorescence. Il peut être désactivé facilement par une exposition prolongée à la lumière et doit être manipulé à l'abri de la lumière.
- 3 Les performances du réactif peuvent être compromises si le lavage suite à la lyse n'est pas effectué conformément à la méthode décrite ci-dessus.
- 4 Les résultats peuvent être affectés par un stockage non conforme des réactifs et des échantillons, la coagulation des échantillons ou une lyse incomplète des globules rouges présents dans les échantillons.
- 5 Les résultats des essais de ce réactif sont donnés à titre de référence clinique uniquement. Les antécédents du patient et d'autres examens de laboratoire, ainsi que la réponse au traitement doivent également être pris en compte pour le diagnostic.

12. Références

- Evans RL, *et al.* 1981. Immunol. 78:544
- Muench M, *et al.* 1997. Blood 89:1364
- Arno A *et al.* 1999. J. Infect. Dis. 180:56

¹cFluor[®] B515, cFluor[®] B532, cFluor[®] B548, cFluor[®] R668 et cFluor[®] R720 sont équivalents à CF[®] 488A, CF[®] 503R, CF[®] 514, CF[®] 647 et CF[®] 700 respectivement, fabriqués et fournis par Biotium, Inc. dans le cadre d'un accord entre Biotium et Cytek (DÉTENTEUR DE LICENCE). La fabrication, l'utilisation, la vente, l'offre de vente ou l'importation du produit sont protégées par un ou plusieurs brevets ou demandes de brevet en instance détenus ou utilisés sous licence par Biotium. L'achat de ce produit comprend une immunité juridictionnelle limitée non cessible aux termes des revendications de brevets précédents quant à l'utilisation de la quantité de produit indiquée aux fins exclusives de recherche interne de l'acheteur. Aucun droit en vertu de toute autre revendication de brevet, aucun droit d'utiliser une méthode brevetée et aucun droit de fournir des services commerciaux d'aucune sorte, y compris, sans toutefois s'y limiter, la communication des résultats des activités de l'acheteur en contrepartie d'honoraires ou d'autre considération commerciale, ne sont accordés expressément, implicitement ou par préclusion.

²cFluor[®] BYG781 est un colorant en tandem fabriqué avec R-PE. Mise en garde : les colorants en tandem peuvent présenter des spectres d'émission différents en cas d'exposition prolongée à la lumière ou à des fixateurs.