

Etablissement de normes pédiatriques pour les populations de lymphocytes T naïfs mémoires

Journée des laboratoires d'immunologie
réseau CEREDIH
15/12/2016
Institut IMAGINE

Marie Rimbart CHU NANTES

Normes pédiatriques LyT naïfs mémoires

Réponses réseau CEREDIH 2015: 12 laboratoires

Bilan classique = numération T/B/NK :

- 7 BD Biosciences trucount (6 en 2 tubes)
- 4 Beckman Coulter BC (3Tetrachromes)
- Evolution vers des solutions automatisées : Aquios

- Numération des Lymphocytes T4/T8
- Accréditation 15189 : normes pédiatriques, pour chaque laboratoire?

OBJECTIFS

Valeurs de référence sur les populations T Naïves Mémoires

Par classe d'âge de la naissance à 18 ans
250 enfants / 7 classes d'âges

Critères d'exclusions (infection, DIP)

Tubes EDTA de la NFS

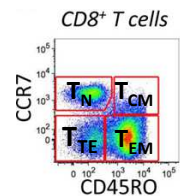
Table 1. Demographic information for the 242 healthy children tested

Age group	Median age	Number of children
0-1 month	3.0 days	14
1-6 months	1.9 months	19
6-18 months	11.5 months	37
18 months-4 years	3.1 years	37
4-6 years	6.1 years	36
8-12 years	10.3 years	36
12-18 years	14.7 years	63

B-cell subpopulations in children: National reference values
Marie Duchamp¹, Delphine Sterlin², Aminata Diabate¹, Béatrice Léving-Lambert¹, Valérie Guerin-D'Onofrio¹, Brigitte Le Beau^{1,2}, Delphine Monnier¹, Christophe Malouf³, Myriam Labalette⁴, & Capucine Picard^{1,4*}

Normes pédiatriques LyT naïfs mémoires

- Minimum: 2 marqueurs 4 sous populations:
 - TN / Ly T naïf
 - TCM / Ly T Central mémoire
 - TE / Ly T Effecteur
 - TEM / Ly T Effecteur Mémoire



- CCR7 / CD62L
- CD45RA +/- CD45RO

Aspects réglementaires



Pour l'ANSM et le MESR :

Tests analytiques de performance = Tests à finalité technique (et non scientifique)

Ex : DMDIV, validation de méthode : utilisation d'échantillon biologique hospitalier "fond de tube" pour valider la performance technique d'une analyse.

(finalité Scientifique: Utilisation d'EBH "fond de tube" en rétrospectif et prospectif pour valider la pertinence d'une analyse pour le diagnostic ou le suivi d'une pathologie. (sans retour vers le patient))

- Pas de formalité réglementaire
- Information des patients par affichage / livret d'accueil
- Codage en interne



Raw-data et transfert de donné : Pas de formalité réglementaire si anonyme (sinon Cnil/CIL)

Normes pédiatriques LyT naïfs mémoires

Quels marqueurs pour les 12 laboratoires? :

CD45, CD3, CD4 (3 clones), CD8 (4 clones)

CD62L : 4 Labos

	laboratoires	fluorochromes
CCR7 / CD197	10	
BD 3D12	3	PC7/PC7/PE
BD 150503	3	V450/PE/FITC
R&D 150503	4	PE/PE/FITC/FITC
CD45RA	12	
BD L48	2	FITC/V450/PE
BD H100	4	APC-H7/V450/PC7
BC ALB11	5	FITC/PE/PE/PE (FITC)
BC 2H4	1	ECD
CD45RO	7	
BD UCHL1	4	PE/PC7/PE/APC
BC UCHL1	3	ECD/PE/PE

Normes pédiatriques LyT naïfs mémoires

Homogénéisation des marqueurs d'intérêt?

Panel 6 couleurs :

CD45, CD3, CD4, CD8: clones et fluorochromes au choix

CCR7, CD45RA 2 clones 2 fluorochromes?

2 clones et fluorochromes au choix

	laboratoires	fluorochromes
CCR7 / CD197	10	
BD 3D12	3	PC7/PC7/PE
BD 150503	3	V450/PE/FITC
R&D 150503	4	PE/PE/FITC/FITC/
CD45RA	12	
BD L48	2	FITC/V450
BD H100	4	APC-H7/V450/PC7/PC7
BC ALB11	5	FITC/PE/PE/PE (FITC)
BC 2H4	1	ECD
CD45RO	7	
BD UCHL1	4	PE/PC7/PE/APC
BC UCHL1	3	ECD/PE/PE

Normes pédiatriques LyT naïfs mémoires

- Demande de budget pour les Lyotubes /Duraclones (300)
- Laboratoires participants?
- Formalisation du projet
- Financement?

Normes pédiatriques LyT naïfs mémoires

1. Ly T/B/NK en % et Valeur Absolue : au choix

2. Tubes Mémoires Naïfs : 6 couleurs

CD45/CD3/CD4/CD8 : au choix

CCR7 : *clone 3D12 BD PC7*

clone 150503 BD ou RnD FITC /PE

CD45RA : *clone H100 BD PC7*

clone ALB11 BC PE

Ou

1 Tube unique pour tous les labos avec mélanges d'Ac lyophilisés/secs: BD Lyotube / BC Duraclone

6 couleurs : CANTOII/NAVIOS

configuration 3 lasers : 4/2/2

Normes pédiatriques LyT naïfs mémoires

Accréditation?

- Validation de la combinaison d'Ac?
 - Tests de répétabilité /reproductibilité?
- Double analyse:
 - par le laboratoire qui technique le prélèvement
 - par 1 ou 2 autres laboratoires
 - ⇒ pas de variabilité due à l'analyse et/ou au logiciel d'analyse
- Tester en parallèle le mélange "CEREDIH" et le mélange "maison" de chaque laboratoire
 - ⇒ pas de variabilité due aux clones/fluorochromes
- Normes pédiatriques B/T/NK