

# Anti-Human

## CD3 – CD8- CD45- CD4

### (33-2A3-143-44-D3/9- HP2/6)

Fluorochrome	Référence	Test
FITC/PE/PerCP/APC	3F18PE145PP14A-50T	50 test



#### COMPOSITION

Anticorps monoclonal de souris anti-CD3/CD8/CD45/CD4 humain conjugué avec fluorochrome et dans une solution aqueuse avec protéine stabilisante et azoture de sodium (NaN<sub>3</sub>) à 0,09 %.

#### UTILISATION PRÉVUE

Le CD3/CD8/CD45/CD4 clone 33-2A3 – 143-44 - D3/9 – HP2/6 d'Immunostep est un anticorps monoclonal utilisé dans le cadre des diagnostics *in vitro* pour l'identification et l'énumération des échantillons humains qui expriment le CD3/CD8/CD45/CD4 par cytométrie en flux.

#### CONDITIONS DE STOCKAGE ET DE MANIPULATION APPROPRIÉES

Conserver à l'obscurité, dans un endroit réfrigéré entre 2 et 8 °C. NE PAS CONGELER. L'anticorps est stable jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette du flacon et s'il est stocké à une température comprise entre 2 °C et 8 °C. Ne pas utiliser après cette date.

Une fois le flacon ouvert, le produit reste stable pendant une période de 90 jours.

#### SIGNES DE DÉTÉRIORATION

Les réactifs ne doivent pas être utilisés s'ils présentent un quelconque signe de détérioration. Pour plus de renseignements, contacter notre bureau technique [tech@immunostep.com](mailto:tech@immunostep.com)

L'aspect normal est celui d'un liquide semi-transparent et inodore. Il ne doit pas présenter de précipités ni de turbidité. Il ne doit pas avoir d'odeur.

#### RECOMMANDATIONS ET MISES EN GARDE

- Les réactifs contiennent de l'azoture de sodium. Dans des conditions acides, celui-ci se transforme en acide azoïque, composant extrêmement toxique. Les composés de l'azoture doivent être dissous dans de l'eau courante avant d'être jetés. Il est recommandé de suivre ces précautions pour éviter toute formation de dépôt dans les canalisations, où des conditions explosives pourraient se développer. La fiche de données de sécurité (FDS) est disponible sur la page Web [www.immunostep.com](http://www.immunostep.com).
- Éviter la contamination microbienne du réactif.

- Éviter d'exposer le produit à la lumière. Utiliser un éclairage faible lors de la manipulation, de l'incubation avec des cellules et avant l'analyse.
- Ne pas pipeter à la bouche.
- En cas de contact avec la peau, rincer abondamment à l'eau.
- Traiter les échantillons de la même façon que ceux pouvant transmettre des infections. Garantir les méthodes de manipulation appropriées.
- Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur le flacon.
- Tout écart des procédures recommandées pourrait invalider les résultats de l'analyse.
- UTILISATION DANS LE CADRE DU DIAGNOSTIC *IN VITRO*.
- Uniquement pour un usage professionnel.
- Avant d'acquiescer les échantillons, s'assurer que le cytomètre en flux est calibré et compensé.

#### PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

Prélever les échantillons de sang veineux dans des tubes de prélèvement de sang avec l'anticoagulant approprié (EDTA ou héparine)<sup>1,2</sup>. Pour optimiser les résultats, traiter l'échantillon dans les 6 heures suivant le prélèvement. Les échantillons qui ne peuvent pas être traités dans les 48 heures suivant le prélèvement doivent être rejetés.

#### MATÉRIEL NÉCESSAIRE NON FOURNI

- Contrôles isotypes :

Fluorochrome	Contrôle isotype	Référence Immunostep
FITC	Mouse IgG2a	ICIGG2AF-100UG
PE	Mouse IgG1	ICIGG1PE-50UG
PerCP	Mouse IgG1	ICIGG1PP-100UG
APC	Mouse IgG2a	ICIGG2AA-50UG

- Centrifugeuse
- Tubes à essais habituels pour la cytométrie en flux, de 12x75 mm
- Micropipettes pour doser des volumes de 5 µl à 2 ml
- Tubes de prélèvement de sang avec anticoagulant
- Tampon phosphate salin (PBS) avec azoture de sodium à 0,09 %. Il est recommandé d'ajouter du BSA à 0,5 %
- Pompe à vide
- Solution de lyse
- Cytomètre en flux avec laser et filtres adaptés au fluorochrome
- Agitateur vortex

## PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

1. Verser le volume recommandé sur le flacon de l'anticorps dans un tube de cytométrie de 12x75 mm. Il est recommandé de préparer un tube supplémentaire avec le contrôle isotype correspondant (voir « Matériel nécessaire non fournis »).
2. Ajouter 100 µL d'échantillon (jusqu'à 10<sup>6</sup> cellules) et agiter au vortex.
3. Incuber dans l'obscurité à température ambiante (20-25 °C) pendant 15 minutes ou à 4 °C pendant 30 minutes.
4. Ajouter 2 ml de solution de lyse, agiter au vortex et incuber dans l'obscurité pendant 10 minutes ou jusqu'à obtention du lysat.
5. Centrifuger à 540 g pendant 5 minutes et aspirer le surnageant en veillant à ne pas toucher la pastille cellulaire. Laisser environ 50 µl de liquide non aspiré.
6. Remettre en suspension la pastille.
7. Ajouter 2 ml de PBS (voir « Matériel nécessaire non fournis »).
8. Centrifuger à 540 g pendant 5 minutes et aspirer le surnageant en veillant à ne pas toucher la pastille cellulaire. Laisser environ 50 µl de liquide non aspiré.
9. Remettre en suspension la pastille dans 0,3 ml de PBS.

Placer dans un cytomètre en flux ou conserver à 2-8 °C dans l'obscurité jusqu'à l'analyse. Les échantillons doivent être acquis dans les 3 heures suivant la lyse.

## LIMITES DE LA PROCÉDURE

1. Si les procédures recommandées ne sont pas suivies pour l'incubation de l'anticorps avec les cellules, les déterminants antigéniques peuvent se voir diminuer ou perdre de la surface cellulaire.
2. Les valeurs obtenues d'individus normaux peuvent varier selon les laboratoires. Les laboratoires doivent donc établir leurs propres plages de normalité.
3. Les cellules anormales ou les lignes cellulaires peuvent présenter une densité antigénique plus grande que les cellules normales. Il se peut alors qu'une quantité plus importante d'anticorps monoclonaux indiqués dans les procédures de préparation de l'échantillon soit demandée.
4. Dans les échantillons de sang complets, certains globules rouges trouvés dans les échantillons anormaux, ainsi que des cellules de globules rouges nucléées (échantillons normaux ou anormaux) peuvent être résistants à la lyse. Pour éviter l'inclusion de cellules non lysées dans la zone délimitée des leucocytes, les temps de lyse des globules rouges peuvent devoir être plus longs.
5. Ne pas réfrigérer les échantillons de sang pendant une période trop longue (plus de 24 heures) car le nombre de cellules viables diminue avec le temps, ce qui peut avoir une incidence sur l'analyse. Pour optimiser les résultats, les laisser à température ambiante quelques minutes avant l'incubation avec l'anticorps monoclonal.
6. Pour une plus grande précision des résultats des procédures de cytométrie en flux, correctement compenser et calibrer les lasers et délimiter les zones correctes.

## GARANTIE

Les produits d'Immunostep sont garantis quant à la quantité et au contenu indiqués sur l'étiquette du produit au moment de la livraison au client. Immunostep renonce à toute autre garantie. La responsabilité d'Immunostep se limite au remplacement des produits ou au remboursement au prix d'achat.

## RÉFÉRENCES

1. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture- approved standard; Fifth edition (2003). Wayne PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; Document H3-A5.
2. Standard Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens", publicado por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)

## FABRIQUÉ PAR



### Immunostep S.L

Avda. Universidad de Coimbra, s/n  
Cancer Research Center (CIC)  
Campus Miguel de Unamuno  
37007 Salamanca (Spain)  
Tel. (+34) 923 294 827  
[www.immunostep.com](http://www.immunostep.com)