

# Anti- Human CD3 – CD8- CD45- CD4 (33-2A3-143-44-D3/9- HP2/6)

Fluorocromo	Riferimento	Test
FITC/PE/PerCP/APC	3F18PE145PP14A-50T	50 test



## COMPOSIZIONE

Anticorpo monoclonale di topo anti-CD3/CD8/CD45/CD4 umano coniugato con un fluorocromo e in soluzione acquosa contenente proteina stabilizzante e lo 0,09% di sodio azide (NaN<sub>3</sub>).

## USO PROPOSTO

Il CD3/CD8/CD45/CD4 clone 33-2A3 – 143-44 – D3/9 – HP2/6 di Immunostep è un anticorpo monoclonale che può essere utilizzato nella diagnosi *in vitro* per l'identificazione e l'enumerazione di campioni umani esprimenti CD3/CD8/CD45/CD4 tramite citometria a flusso.

## CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE E MANIPOLAZIONE ADEGUATE

Conservare al buio, refrigerato tra 2 °C e 8 °C. NON CONGELARE. L'anticorpo è stabile fino alla data riportata sull'etichetta della fiala, se conservato a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C. Non usare oltre tale data.

Dopo l'apertura della fiala, il prodotto è stabile per un periodo di 90 giorni.

## SEGNI DI DETERIORAMENTO

I reagenti non devono essere utilizzati se presentano segni di deterioramento. Per ulteriori informazioni, contattare il nostro servizio tecnico [tech@immunostep.com](mailto:tech@immunostep.com)

Il loro aspetto normale è quello di un liquido semitrasparente e inodore. Non devono presentare precipitati o torbidità. Non devono avere odore.

## RACCOMANDAZIONI E AVVERTENZE

- I reagenti contengono sodio azide, che in condizioni acide, si trasforma in acido idrazonico, un composto altamente tossico. I composti di azide devono essere sciolti con acqua corrente prima di essere smaltiti. Si raccomanda di farlo per evitarne il deposito nelle tubazioni, dove potrebbero verificarsi condizioni esplosive. La scheda dei dati di sicurezza (SDS) è disponibile sul sito [www.immunostep.com](http://www.immunostep.com)
- Evitare la contaminazione microbica del reagente.
- Evitare l'esposizione alla luce. Utilizzare una luce tenue durante la manipolazione, l'incubazione con le cellule e prima dell'analisi.

- Non pipettare con la bocca.
- In caso di contatto con la pelle, lavare con abbondante acqua.
- I campioni devono essere trattati come potenzialmente infettivi. Si deve disporre di procedure di manipolazione adeguate.
- Non usare dopo la data di scadenza riportata sulla fiala.
- Qualsiasi deviazione dalle procedure raccomandate potrebbe inficiare i risultati dell'analisi.
- PER DIAGNOSI IN VITRO.
- Solo per uso professionale.
- Prima di acquisire i campioni, controllare che il citometro a flusso sia calibrato e compensato.

## PRELIEVO DEI CAMPIONI

Per il prelievo dei campioni di sangue venoso si devono utilizzare le apposite provette e l'anticoagulante appropriato (EDTA o eparina)<sup>1,2</sup>. Per risultati ottimali, il campione deve essere analizzato entro 6 ore dal prelievo. I campioni che non possono essere analizzati entro 48 ore dal prelievo devono essere scartati.

## MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

- Controlli isotipici:

Fluorocromo	Controllo isotipico	Riferimento Immunostep
FITC	Mouse IgG2a	ICIGG2AF-100UG
PE	Mouse IgG1	ICIGG1PE-50UG
PerCP	Mouse IgG1	ICIGG1PP-100UG
APC	Mouse IgG2a	ICIGG2AA-50UG

- Centrifuga
- Provette da 12 x 75 mm per citometria a flusso
- Micropipette in grado di erogare volumi compresi tra 5 µl e 2 ml
- Provette per la raccolta del sangue con anticoagulante
- Tampone fosfato salino (PBS) con lo 0,09% di sodio azide. Si raccomanda di aggiungere BSA allo 0,5%
- Sistema a vuoto
- Soluzione di lisi
- Citometro a flusso dotato di laser e filtri adeguati al fluorocromo
- Agitatore Vortex

## PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

- Aggiungere il volume indicato sulla fiala dell'anticorpo in una provetta per citometria 12 x 75 mm. Si raccomanda di preparare un'ulteriore provetta con il controllo isotipico appropriato (*vedi materiali necessari ma non forniti*).
- Aggiungere 100 µl di campione (fino a 10<sup>6</sup> di cellule) e miscelare accuratamente con Vortex.
- Incubare al buio a temperatura ambiente (20-25 °C) per 15 minuti o a 4 °C per 30 minuti.

4. Aggiungere 2 ml di soluzione di lisi, agitare con Vortex e incubare al buio per 10 minuti o fino a quando il campione non sarà lisato.
5. Centrifugare a 540 g per 5 minuti e aspirare il surnatante, evitando di toccare il pellet cellulare. Lasciare circa 50 µl di liquido non aspirato.
6. Risospendere il pellet.
7. Aggiungere 2 ml di PBS (*vedi materiali necessari ma non forniti*).
8. Centrifugare a 540 g per 5 minuti e aspirare il surnatante, evitando di toccare il pellet cellulare. Lasciare circa 50 µl di liquido non aspirato.
9. Risospendere il pellet in 0,3 ml di PBS.

Acquisire su un citometro a flusso o conservare a 2-8 °C al buio fino all'analisi. I campioni devono essere acquisiti entro 3 ore dalla lisi.

#### LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

1. Se non si seguono le procedure raccomandate per l'incubazione dell'anticorpo con le cellule, si può verificare una diminuzione o perdita dei determinanti antigenici della superficie cellulare.
2. Poiché i valori ottenuti da individui normali possono variare a seconda del laboratorio, si raccomanda a ciascun laboratorio di stabilire i propri range di normalità.
3. Le cellule anormali o le linee cellulari possono mostrare una maggiore densità antigenica rispetto alle cellule normali. Questo, in alcuni casi, potrebbe richiedere l'uso di una maggiore quantità di anticorpo monoclonale rispetto a quella indicata nelle procedure di preparazione del campione.
4. Nei campioni di sangue intero, gli eritrociti trovati in campioni patologici, come le cellule nucleate della serie rossa (sia di campioni normali che patologici), possono essere resistenti alla lisi. Onde evitare l'inclusione delle cellule non lisate nella regione delimitata dai leucociti, possono essere necessari tempi più lunghi per la lisi degli eritrociti.
5. Non refrigerare i campioni di sangue per un periodo troppo lungo (più di 24 ore), poiché il numero di cellule vitali diminuirà nel tempo, potendo anche interferire nell'analisi. Per ottenere migliori risultati, lasciarli qualche minuto a temperatura ambiente prima dell'incubazione con l'anticorpo monoclonale.
6. La precisione dei risultati nelle procedure di citometria a flusso dipende dal corretto allineamento e taratura del laser, nonché dallo stabilimento delle regioni corrette.

#### GARANZIA

I prodotti di Immunostep sono garantiti per quanto riguarda la quantità e il contenuto indicato sulla loro etichetta al momento della consegna al cliente. Immunostep esclude qualsiasi altra garanzia. La responsabilità di Immunostep è limitata alla sostituzione dei prodotti o al rimborso del prezzo d'acquisto.

#### RIFERIMENTI

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)

#### PRODOTTO DA



#### 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)