

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

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



## COMPOSIÇÃO

Anticorpo monoclonal de rato anti-CD3/CD8/CD45/CD4 humano conjugado com fluorocromo e em solução aquosa que contém proteína estabilizante e 0,09% de azida de sódio (NaN<sub>3</sub>).

## USO PROPOSTO.

O CD3/CD8/CD45/CD4 clon 33-2A3 – 143-44 – D3/9 – HP2/6 da Immunostep é um anticorpo monoclonal que pode ser usado em diagnóstico *in vitro* para a identificação e a enumeração de amostras humanas que expressem CD3/CD8/CD45/CD4 por citometria de fluxo.

## CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E MANUSEAMENTO ADEQUADOS.

Guardar ao abrigo da luz, em local refrigerado entre 2 e 8 °C. NÃO CONGELAR. O anticorpo é estável até à data indicada na etiqueta do frasco se armazenado entre 2 e 8 °C. Não usar depois desta data.

Depois de abrir o frasco, o produto mantém-se estável durante um período de 90 dias.

## EVIDÊNCIAS DE DETERIORAÇÃO.

Os reagentes não devem ser utilizados se for encontrada alguma evidência de deterioração. Para mais informação, contacte o nosso serviço técnico [tech@immunostep.com](mailto:tech@immunostep.com)

O aspeto normal é o de um líquido semitransparente e inodoro. Não deve haver precipitados nem apresentar-se turbidez. Não deve apresentar odor.

## RECOMENDAÇÕES E ADVERTÊNCIAS.

- Os reagentes contêm azida de sódio. Em condições ácidas, transforma-se em ácido hidrazoico, um composto extremamente tóxico. Os compostos de azida devem ser dissolvidos com água corrente antes de serem eliminados. Recomendam-se estas condições para evitar depósitos nas tubagens, onde se poderiam desenvolver condições explosivas. A ficha com os dados de segurança (FDS) encontra-se disponível no website [www.immunostep.com](http://www.immunostep.com)
- Evitar a contaminação microbiana do reagente.
- Evitar a exposição à luz. Usar luz ténue durante o manuseamento, a incubação com células e antes da análise.

- Não pipetar com a boca.
- No caso de contacto com a pele, lavar abundantemente com água.
- As amostras devem ser tratadas da mesma forma das que poderiam transmitir infeções. É preciso dispor dos métodos apropriados para o seu manuseamento.
- Não usar após o prazo de validade indicado no frasco.
- Eventuais desvios dos procedimentos recomendados podem vir a invalidar os resultados das análises.
- PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.
- Apenas para uso profissional.
- Antes de adquirir as amostras é necessário verificar que o citómetro de fluxo está calibrado e compensado.

## COLHEITA DE AMOSTRAS.

A colheita de amostras de sangue venoso deve ser feita em tubos para a recolha de sangue usando o anticoagulante apropriado (EDTA ou heparina)<sup>1,2</sup>. Para resultados precisos, a amostra deve ser processada durante as 6 horas que seguem a colheitas. As amostras que não possam ser processadas nas 48 horas que seguem a colheita devem ser descartadas.

## MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS.

- Controlos isotípicos:

Fluorocromo	Controlo isotípico	Referência Immunostep
FITC	Mouse IgG2a	ICIGG2AF-100UG
PE	Mouse IgG1	ICIGG1PE-50UG
PerCP	Mouse IgG1	ICIGG1PP-100UG
APC	Mouse IgG2a	ICIGG2AA-50UG

- Centrífuga
- Tubos de ensaio de 12 x 75 mm comuns para citometria de fluxo
- Micropipetas capazes de dispensar um volume entre 5 µl e 2 ml
- Tubos de colheita de sangue com anticoagulante
- Tampão de fosfato salino (PBS) com 0,09% de azida de sódio. É recomendável acrescentar BSA a %0,5
- Sistema de vácuo
- Solução de lise
- Citómetro de fluxo equipado com laser e filtros adequados ao fluorocromo
- Agitador Vortex

## PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

- Acrescentar o volume recomendado no frasco do anticorpo a um tubo de citometria 12 x 75 mm. É recomendável preparar um tubo adicional com o controlo isotípico adequado (*ver materiais necessários não fornecidos*).
- Acrescentar 100 µL de amostra (até 10<sup>6</sup> células) e misturar adequadamente no Vortex.

3. Incubar ao abrigo da luz a temperatura ambiente (20-25 °C) durante 15 minutos ou a 4 °C durante 30 minutos.
4. Acrescentar 2 ml da solução de lise, agitar no Vortex e incubar ao abrigo da luz durante 10 minutos ou até a amostra estar lisada.
5. Centrifugar a 540 g durante 5 minutos e aspirar o sobrenadante com cuidado para não tocar no pellet celular. Deixar uns 50 µl de líquido por aspirar.
6. Voltar a suspender o pellet.
7. Acrescentar 2 ml de PBS (*ver materiais necessários não fornecidos*).
8. Centrifugar a 540 g durante 5 minutos e aspirar o sobrenadante com cuidado para não tocar no pellet celular. Deixar uns 50 µl de líquido por aspirar.
9. Voltar a suspender o pellet em 0,3 ml de PBS.

Adquirir num citómetro de fluxo ou armazenar a 2-8 °C ao abrigo da luz até à análise. As amostras devem ser adquiridas durante as 3 horas que seguem a lise.

#### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

1. A incubação do anticorpo com as células sem seguir os procedimentos recomendados pode determinar uma diminuição ou perda dos determinantes antigénicos da superfície celular.
2. Os valores obtidos de indivíduos normais podem variar entre laboratórios diferentes, portanto recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios intervalos de normalidade.
3. As células anómalas ou as linhas celulares podem mostrar uma maior densidade antigénica do que as células normais. Isso poderá exigir, em alguns casos, o uso de uma maior quantidade de anticorpo monoclonal do que se indica nos procedimentos de preparação da amostra.
4. Em amostras de sangue completo, os eritrócitos encontrados em amostras patológicas, assim como as células da série vermelha nucleadas (tanto de amostras normais como de patológicas), podem ser resistentes à lise. Podem ser necessários tempos mais longos de lise de eritrócitos para evitar a inclusão das células não lisadas na região delimitada dos leucócitos.
5. As amostras de sangue não devem ser refrigeradas por um período excessivo (mais de 24 horas), porque o número de células viáveis irá diminuindo com o tempo, podendo inclusivamente interferir na análise. Para obter melhores resultados, convém manter-se a temperatura ambiente durante alguns minutos antes da incubação com o anticorpo monoclonal.
6. Os resultados mais precisos com os procedimentos de citometria de fluxo dependem do alinhamento e da calibração corretos dos lasers, assim como do estabelecimento das regiões corretas.

#### GARANTIA

Os produtos da Immunostep têm garantia relativamente à quantidade e ao conteúdo indicado no rótulo do produto no momento da entrega ao cliente. A Immunostep abstém-se de qualquer outra garantia. A responsabilidade da Immunostep limita-se à substituição de produtos ou ao reembolso do preço de compra.

#### REFERÊNCIAS

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)

#### FABRICADO PELA



#### 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)