

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

**REF**

FITC/PE/PerCP/APC 3F18PEI45PPI4AI-50T

50 test

## 1. DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

**Clon:** 33-2A3, 143-44, D3-9, HP2-6**Isotipo:** IgG2a de ratón, IgG1 de ratón, IgG1 de ratón, IgG2a de ratón**Aplicación probada:** Citometría de flujo**Inmunógeno:**

- El anticuerpo monoclonal anti-CD3 proviene de leucocitos humanos.
- El anticuerpo monoclonal anti-CD8 proviene de células T humanas.
- El anticuerpo monoclonal anti-CD45 proviene de células T de leucemia HPB-ALL.
- El anticuerpo monoclonal anti-CD4 proviene de células T de leucemia HPB-ALL.

**Reactividad con especies:** Humano**Instrucciones de almacenamiento:** Conservar en la oscuridad a 2-8 °C.**Buffer de almacenamiento:** Solución tampón acuosa con estabilizador de proteínas y 0,09% de acida sódica (NaN<sub>3</sub>).**Uso recomendado:** El anticuerpo CD3/CD8/CD45/CD4 de Immunostep es un anticuerpo monoclonal diseñado para la detección y enumeración simultánea de linfocitos. Apto para tinción por inmunofluorescencia directa en tejido humano mediante citometría de flujo, utilizando una prueba para 10<sup>6</sup> células. Para un rendimiento óptimo, se recomienda su uso en combinación con tubos de recuento StepCount (ref. 1399991218) y solución de lisis RBCX10 (ref. RBCX10-50ML).**Presentación:** Líquido**Fuente:** Sobrenadante obtenido de un cultivo celular de hibridoma in vitro.**Purificación:** Cromatografía de afinidad.

## 2. DETALLES DEL ANTÍGENO

**CD3:** Antígeno expresado en linfocitos T humanos. El anticuerpo monoclonal reacciona con el 80-90% de los linfocitos T periféricos humanos y los timocitos medulares. No reacciona con células B, monocitos, granulocitos ni plaquetas**CD8:** Antígeno expresado en linfocitos T humanos. El anticuerpo monoclonal reacciona con el 20-30% de los linfocitos T periféricos humanos.**CD45:** Antígeno también conocido como T200 o Antígeno Común de los Leucocitos. Se expresa en todas las células del linaje hematopoyético, pero no en células de otros linajes.**CD4:** Antígeno expresado en linfocitos T periféricos humanos y en el 80% de los timocitos. También reacciona a un nivel bajo con monocitos y macrófagos humanos. No reacciona con células B, granulocitos ni trombocitos.Please, refer to [www.immunostep.com](http://www.immunostep.com) technical support for more information.

## 3. GARANTÍA

Garantizado únicamente para cumplir con la cantidad y el contenido indicados en la etiqueta o en la documentación del producto en el momento de la entrega.

Immunostep no ofrece otras garantías y su única responsabilidad se limita a la reposición del producto o el reembolso del precio de compra.

## 4. INSTRUCCIONES DE USO

**Dilución de la solución de lisis RBCX10**

- Diluir el concentrado RBCX10 1:10 con agua desionizada a temperatura ambiente (20-25 °C).
- La solución preparada es estable durante 1 mes cuando se almacena en un recipiente de vidrio o polietileno de alta densidad (HDPE) a temperatura ambiente.

Realización de controles de calidad: De acuerdo con las directrices del College of American Pathologists (CAP) recomendamos realizar dos niveles de material líquido de control (control de proceso).

Los controles deben realizarse al menos una vez cada día que se efectúen pruebas en pacientes.

Utilice controles comerciales que proporcionen valores establecidos de porcentaje positivo y recuentos absolutos en cada ejecución para evaluar el rendimiento del sistema absoluto en cada ejecución para evaluar el rendimiento del sistema. Immunostep recomienda utilizar CD-Chex Plus (Streck) normal y CD4 Low como controles del proceso.

**Para realizar el control de calidad:** Mezcle a fondo el control CD-Chex Plus (Streck) apropiado, o control de proceso equivalente. Consulte la IFU del control para obtener instrucciones detalladas.

- Teñir la muestra de control utilizando Immunostep's CD3/CD8/CD45/CD4 de Immunostep como se describe en la sección siguiente. La muestra de control debe procesarse como las muestras de pacientes para supervisar el rendimiento continuo de todo el proceso analítico proceso analítico completo.
- Adquirir la muestra de control teñida en el citómetro de flujo.
- Inspeccione visualmente el gráfico de puntos CD45 frente a SSC. La población de linfocitos debe aparecer como un grupo brillante y compacto con baja SSC. Los monocitos y granulocitos también deben aparecer como grupos distintos. No continuar con el análisis si las poblaciones son difusas y hay poca o ninguna separación entre los grupos.
- Compruebe que los resultados están dentro de los valores indicados en la hoja de valores del ensayo.

**Tinción de las células:** Tenga cuidado de proteger los tubos de la luz directa. Realice el procedimiento a temperatura ambiente. Precauciones y condiciones de interferencia:

- Para cada muestra de paciente, etiquete un tubo de 12 x 75 mm con el número de identificación de la muestra. Para recuentos absolutos, etiquete un tubo de recuento STEPCOUNT en lugar del tubo de 12 x 75 mm. de 12 x 75 mm. Nota: Antes de usar, verifique que el gránulo STEPCOUNT esté intacto y dentro del retenedor metálico en la parte inferior del tubo. de metal en el fondo del tubo. En caso contrario, deseché el tubo de recuento STEPCOUNT y sustitúyalo por otro.
- Pipetear 20 µL de anticuerpo CD3/CD8/CD45/CD4 de Immunostep en el fondo del tubo. Nota: Si utiliza un tubo de recuento STEPCOUNT, pipetee el reactivo en el lateral del tubo, justo por encima del retenedor metálico del tubo, justo por encima del retenedor metálico, sin tocar el precipitado de microesferas.
- Pipetear 50 µL de sangre total anticoagulada y bien mezclada en el fondo del tubo. Nota: Si se utiliza un tubo de recuento STEPCOUNT, se recomienda utilizar la técnica de pipeteo inverso para pipetear la muestra en el tubo; técnica de pipeteo inverso para pipetear la muestra en el lado del tubo justo por encima del metálico. Evite untar sangre en el lateral del tubo. Si queda sangre entera en el lado del tubo, no se teñirá con el reactivo y puede afectar a los resultados.
- Tapar el tubo y agitar suavemente para mezclar.
- Incubar durante 15-30 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente (20-25 °C).
- Añadir 450 µL de solución de lisis IX RBCX10 al tubo.
- Tapar el tubo y agitar suavemente para mezclar.
- Incubar durante 15-30 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente (20-25 °C). La muestra ya está lista para ser analizada en el citómetro de flujo. Si las muestras no se van a analizar inmediatamente después de la tinción, guárdelas en la oscuridad a temperatura ambiente (20-25 °C).

**Adquisición de las muestras:**

- Agite las células en un vórtex a baja velocidad. Es importante reducir la agregación antes de pasar las muestras por el citómetro de flujo. Nota: Si utiliza un cargador, agite los tubos inmediatamente antes de colocarlos en las gradillas del cargador.
- Instale el tubo en el citómetro y adquiera la muestra.

Antes de adquirir las muestras ajuste el umbral para minimizar los residuos y asegurarse de que las poblaciones de interés están incluidas de interés.

3. Analice los datos utilizando el software específico del citómetro. Consulte las instrucciones de uso del citómetro para obtener más información.

Resultados: Los resultados se informan como el porcentaje de células positivas por población de linfocitos o como el número de células positivas por microlitro de sangre (recuento absoluto).

**Cálculo de recuentos absolutos:** Durante el análisis, se puede determinar el número absoluto (células/µL) de células positivas en la muestra comparando los eventos celulares con los eventos de microesferas. Si se utiliza el software Immunostep, el software determinará los recuentos absolutos. Para el análisis manual de datos, el recuento absoluto de la población celular (A) puede calcularse mediante la siguiente ecuación:

$$A = \frac{X}{Y} \times \frac{N}{V}$$

Donde:

X = número de eventos de células positivas

Y = número de eventos de microesferas

N = número de microesferas por test (se encuentra en el envase del tubo STEPCOUNT)

V = volumen de muestra (50 µL)

## 5. CONTROLES Y MATERIAL ADICIONAL

**Controles recomendados**

- Controles positivos: CD-Chex Plus (Streck) normal y CD4 Low.
- Controles negativos: Controles isotípicos y células no teñidas.

**Material no incluido**

- Tubos de recuento STEPCOUNT (ref. 1399991218)
- Solución de lisis RBCX10 (ref. RBCX10-50ML)
- Controles CD-Chex Plus (Streck) normal y CD4 Low

## 6. REFERENCIAS

- Orfao A, Ciudad J, López-Berges MC, López A, Vidriales B, Caballero MD. Acute lymphoblastic leukemia (ALL): detection of minimal residual disease (MRD) at flow cytometry. Leuk Lymph 1994;13:87-90.
- Piatier-Tonneau D. CD Guide. CD4. In: Mason D, André P, Bensussan A, Buckley C, Civin C, Clark E, et al., editors. Leucocyte typing VII. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 7th International Workshop and Conference; 2000 Jun 19-23; Harrogate, United Kingdom. New York: Oxford University Press Inc.; 2002. p. 750-51.
- Mason DY, Cordell JL, Gaulard P, Tse AGD, Brown MH. Immunohistological detection of human cytotoxic/suppressor T cells using antibodies to a CD8 peptide sequence. J Clin Pathol 1992;45:1084-8.
- Nuckols JD, Shea CR, Horenstein MG, Burchette JL, Prieto VG. Quantitation of intraepidermal T-cell subsets in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue helps in the diagnosis of mycosis fungoides. J Cutan Pathol 1999;26:169-75.

## 7. EXPLICACIÓN DE LOS SÍMBOLOS



Formulación



Referencia del catálogo



Contaminación suficiente para &lt;n&gt; prueba



Cantidad por prueba



Situación reglamentaria



Uso exclusivo en investigación



Fabricado

## 8. FABRICADO POR:



**Address:** Avda. Universidad de Coimbra, s/n  
Cancer Research Center (C.I.C)  
Campus de Unamuno  
37007 Salamanca (Spain)

**Telf./fax:** (+34) 923 294 827

**E-mail:** [info@immunostep.com](mailto:info@immunostep.com)  
[www.immunostep.com](http://www.immunostep.com)