



cFluor[®] Anti-Human CD14 (M5E2)

Instrucciones de uso

N.º de referencia	Muestras/Vial	Nombre del producto
R7-11077	100	cFluor [®] V450 Anti-Human CD14 (M5E2)
R7-11078	25	cFluor [®] V450 Anti-Human CD14 (M5E2)

Copyright y marcas comerciales

© 2022 Cytel Biosciences, Inc. Todos los derechos reservados. Cytel, el logotipo de Cytel, cFluor y Northern Lights son marcas comerciales o marcas registradas de Cytel Biosciences, Inc. Todas las demás marcas de servicio, marcas comerciales y nombres comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.



Cytel Biosciences, Inc.
47215 Lakeview Blvd.
Fremont, CA 94538
EE. UU.
1.877.92.CYTEK (1.877.922.9835)

products@cytekbio.com
cytekbio.com



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP La Haya
Países Bajos

1. Uso previsto

Este producto está indicado para uso diagnóstico *in vitro*, para identificar células humanas que expresen moléculas del antígeno CD14 en países en los que se haya obtenido la aprobación normativa de las autoridades sanitarias locales.

2. Aplicación

El anticuerpo monoclonal M5E2 se une al CD14 humano, una glucoproteína de membrana de 53-55-kDa unida a glicosilfosfatidilinositol (GPI) que funciona como receptor de ligandos como los lipopolisacáridos (LPS) en las células mieloides. Se ha descrito que el CD14 es un receptor de complejos de LPS y LBP, a los que se une con alta afinidad. Se expresa en niveles altos en los monocitos y los macrófagos. También está presente en algunas células dendríticas interfoliculares y macrófagos, células dendríticas reticulares y células de Langerhans. El anticuerpo se conjuga con un fluoróforo y se purifica por cromatografía de afinidad.

3. Componentes

El anticuerpo monoclonal anti-CD14 conjugado con el fluorocromos cFluor indicado a continuación se suministra en solución salina tamponada con fosfatos, pH 7,2, con un 0,09 % de azida sódica y un 0,2 % de seroalbúmina bovina (BSA, país de origen, EE. UU.).

Especificidad del anticuerpo	CD14
Clon	M5E2
Subtipo de inmunoglobulinas	IgG2α, kappa
Especie y género	Ratón
Fluorocromo	cFluor® V450
Longitud de onda de excitación	405 nm
Pico de emisión	450 nm

4. Almacenamiento y manipulación

Este producto es estable hasta la fecha de caducidad mostrada en la etiqueta, siempre que se guarde protegido de la luz, a una temperatura de 2-8 °C. No congelar.

5. Otros materiales necesarios pero no suministrados

- Solución de lisado de hematíes
- Pipetas y puntas de pipeta de 20 µl, 100 µl y 1000 µl
- Tubo de 12x75 mm
- Vórtex
- Citómetro de flujo

6. Requisitos de la muestra

- 1 Se requiere la recogida por venopunción de un mínimo de 500 µl de sangre periférica en un tubo anticoagulación con EDTA.
- 2 Tras la recogida, las muestras deben conservarse a temperatura ambiente (18-25 °C). No las agite. El tiempo de almacenamiento no debe ser superior a 24 horas.
- 3 Tras la tinción, las muestras deben conservarse a una temperatura de 2-8 °C, protegidas de la luz, y analizarse por citometría de flujo antes de 2 horas.
- 4 Evite utilizar muestras coaguladas o con contaminación microbiana.

7. Procedimiento

- 1 Añada 100 µl de sangre completa anticoagulada con EDTA bien mezclada al fondo de un tubo. Evite que la sangre toque la pared superior del tubo.
- 2 Centrifugue brevemente este producto antes de utilizarlo. Añada 5 µl de reactivo conjugado de CD14-cFluor al fondo del tubo.
- 3 Mezcle bien en el vórtex e incube durante 15-30 minutos a temperatura ambiente y protegido de la luz.
- 4 Añada 2 ml de tampón de lisis 1 X al tubo, mezcle brevemente en el vórtex e incube durante 10-15 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad.
- 5 Centrifugue a 300 x g durante 5 minutos, deseche el sobrenadante, añada 2 ml de PBS con un 0,02 % de BSA y un 0,09 % de NaN₃ para resuspender las células.
- 6 Centrifugue a 300 x g durante 5 minutos, deseche el sobrenadante, añada 300 µl de PBS con un 0,02 % de BSA y un 0,09 % de NaN₃ para resuspender las células, conserve a 4 °C y analice por citometría de flujo antes de 2 horas. Si es necesario retrasar el análisis (más de 2 horas), se deben utilizar 300 µl de PBS con 1 % de paraformaldehído para resuspender las células y conservar la muestra refrigerada a una temperatura de 2-8 °C, protegida de la luz; en este caso, sin embargo, el tiempo de almacenamiento no debe ser superior a 24 horas.

8. Control de calidad

- Control de calidad del instrumento: utilice los controles recomendados por el fabricante en función del modelo del citómetro de flujo.
- Consulte la Guía del usuario del instrumento para ver la información relativa al mantenimiento del instrumento.

9. Advertencias

- Este reactivo contiene trazas de azida sódica. No pipetee con la boca.
- Cuando utilice este producto, use el equipo de protección individual adecuado según la ficha de datos de seguridad.
- Siga las prácticas de bioseguridad de conformidad con las normativas locales, regionales y nacionales al manipular todas las muestras biológicas y los materiales en contacto con ellas.
- Póngase en contacto con el servicio de asistencia de Cytex o consulte la información sobre solución de problemas en cytekbio.com.

10. Características de rendimiento

10.1. Exactitud

Se tiñeron 3 réplicas de tubos con reactivo conjugado de CD14-cFluor y se analizaron en un citómetro de flujo Northern Lights™ de Cytex. Los resultados de porcentaje de monocitos CD14+ estuvieron dentro del intervalo de valores diana en sangre del control proporcionado por el fabricante.

Muestra: CD-CHEX PLUS	Porcentaje de monocitos CD14+				
CD14-Fluorocromo	R1	R2	R3	Media	Intervalo de valores diana
cFluor V450	90,4	92,0	92,5	91,6	70-100

10.2. Precisión intralote

Se tiñeron 10 réplicas de tubos con el mismo lote de reactivo conjugado de CD14-cFluor y se analizaron en un citómetro de flujo Northern Lights™ de Cytex. Se calculó el CV del porcentaje de monocitos CD14+ y estuvo dentro de los criterios de aceptación.

Muestra: sangre normal	Porcentaje de monocitos CD14+		
CD14-Fluorocromo	Promedio (%)	% CV	Criterios
cFluor V450	80,2	1,08 %	CV ≤8 %

10.3. Precisión entre lotes

Se tiñeron 3 réplicas de tubos con tres lotes de reactivo conjugado de CD14-cFluor y se analizaron en un citómetro de flujo Northern Lights™ de Cytex. Se calculó el CV del porcentaje de monocitos CD14+ y estuvo dentro de los criterios de aceptación.

Muestra: CD-CHEX PLUS	Porcentaje de monocitos CD14+		
CD14-Fluorocromo	Promedio (%)	% CV	Criterios
cFluor V450	80,6	1,16 %	CV ≤8 %

10.4. Estabilidad de la tinción

Se tiñeron 3 réplicas de tubos con el mismo lote de cada reactivo conjugado de CD14-cFluor y se analizaron en un citómetro de flujo Northern Lights™ de Cytex en los siguientes puntos temporales: antes de 2 horas (T0) y después de 6 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas tras la tinción. El porcentaje de monocitos CD14+ en cada punto temporal se comparó con el T0 y se calculó la diferencia relativa media, que estuvo dentro de los criterios de aceptación.

Muestra: sangre normal	Porcentaje de monocitos CD14+					
CD14-Fluorocromo	Promedio (%)	Diferencia relativa frente a 2 h				Criterios
		6 h	24 h	48 h	72 h	
cFluor V450	79,3	-4,10 %	-4,18 %	-0,58 %	-4,44 %	Diferencia relativa ≤10 %

10.5. Linealidad de la dilución

Las muestras se diluyeron de forma seriada en cinco niveles (sin diluir, 2X, 4X, 8X, 16X). Se tiñeron 4 réplicas de tubos de cada dilución con el mismo lote de reactivo conjugado de CD14-cFluor y se analizaron en un citómetro de flujo Northern Lights™ de Cytex. La mediana del porcentaje de monocitos CD14+ de cada dilución se comparó con la mediana del porcentaje de monocitos CD14+ en todos los niveles y se calculó la diferencia relativa, que estuvo dentro de los criterios de aceptación.

Muestra: CD-CHEX PLUS	Porcentaje de monocitos CD14+					
CD14-Fluorocromo	Diferencia relativa					Criterios
	Sin diluir	Dilución 2X	Dilución 4X	Dilución 8X	Dilución 16X	
cFluor V450	-4,68 %	-1,27 %	-0,00 %	2,18 %	2,35 %	Diferencia relativa ≤10 %

11. Limitaciones

- 1 Este reactivo puede utilizarse para citometría de flujo y no se recomienda su uso para microscopía de fluorescencia ni inmunohistoquímica.
- 2 Este reactivo es un producto marcado con fluorescencia. La fluorescencia puede extinguirse fácilmente con la exposición prolongada a la luz y el producto debe manipularse protegido de la luz.
- 3 Si no se sigue el procedimiento de lavado y lisado descrito anteriormente, el rendimiento del reactivo puede verse afectado.
- 4 Los resultados pueden verse afectados por el almacenamiento incorrecto de los reactivos, la coagulación de las muestras, el almacenamiento incorrecto de las muestras o el lisado incompleto de los hematíes en las muestras.
- 5 Los resultados del ensayo con este reactivo son exclusivamente para referencia clínica. Para el diagnóstico debe considerarse también el historial del paciente, otras pruebas de laboratorio y la respuesta al tratamiento.

12. Referencias

- Pugin J, *et al.* 1998. Infect Immun. 66:1174
- Wright SD, *et al.* 1990. Science. 249:1431