



cFluor® Anti-Human CD4 (SK3)

Instrucciones de uso

N.º de referencia	Muestras/Vial	Nombre del producto
R7-11027	100	cFluor® B515 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11028	25	cFluor® B515 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11037	100	cFluor® B532 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11038	25	cFluor® B532 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11043	100	cFluor® B548 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11044	25	cFluor® B548 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11049	100	cFluor® R668 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11050	25	cFluor® R668 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11045	100	cFluor® R720 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11046	25	cFluor® R720 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11057	100	cFluor® V450 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11058	25	cFluor® V450 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11003	100	cFluor® BYG781 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11004	25	cFluor® BYG781 Anti-Human CD4 (SK3)

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 CD4 en países en los que se haya obtenido la aprobación normativa de las autoridades sanitarias locales.

2. Aplicación

El anticuerpo monoclonal anti-CD4 (SK3) se une al CD4 humano, una glucoproteína transmembrana tipo I de 59 kDa de la superfamilia de las inmunoglobulinas. La molécula de CD4 se expresa predominantemente en los timocitos y en una subpoblación de linfocitos T cooperadores maduros. También está presente en niveles bajos en los monocitos. El CD4 participa en la interacción intercelular, actuando como correceptor para el MHC clase II en el reconocimiento de antígenos. También se ha demostrado que el CD4 se une a la glucoproteína 120 de la envoltura externa del VIH. El anticuerpo se conjuga con un fluoróforo y se purifica por cromatografía de afinidad.

3. Componentes

El anticuerpo monoclonal anti-CD4 conjugado con los fluorocromos cFluor indicados 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	CD4	CD4	CD4	CD4	CD4	CD4	CD4
Clon	SK3	SK3	SK3	SK3	SK3	SK3	SK3
Subtipo de inmunoglobulinas	IgG1, kappa	IgG1, kappa	IgG1, kappa	IgG1, kappa	IgG1, kappa	IgG1, kappa	IgG1, kappa
Especie y género	Ratón	Ratón	Ratón	Ratón	Ratón	Ratón	Ratón
Fluorocromo	cFluor [®] B515 ¹	cFluor [®] B532 ¹	cFluor [®] B548 ¹	cFluor [®] R668 ¹	cFluor [®] R720 ¹	cFluor [®] V450	cFluor [®] BYG781 ²
Longitud de onda de excitación	488 nm	488 nm	488 nm	640 nm	640 nm	405 nm	488 nm
Pico de emisión	515 nm	532 nm	548 nm	668 nm	720 nm	450 nm	781 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 CD4-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 Cytel 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 cada reactivo conjugado de CD4-cFluor y se analizaron en un citómetro de flujo Northern Lights™ de Cytek. Los resultados de porcentaje de linfocitos T CD4+ estuvieron dentro del intervalo de valores diana en sangre del control proporcionado por el fabricante.

Muestra: CD-CHEX PLUS	Porcentaje de linfocitos T CD4+				
CD4-Fluorocromo	R1	R2	R3	Media	Intervalo de valores diana
cFluor B515	49,2	48,8	48,5	48,9	42,7-54,7
cFluor B532	47,6	48,9	48,2	48,3	42,7-54,7
cFluor B548	45,6	45,0	47,9	46,2	42,7-54,7
cFluor BYG781	50,6	51,6	50,8	51,0	44,4-56,4
cFluor R668	48,6	47,8	49,3	48,5	42,7-54,7
cFluor R720	48,4	49,1	47,5	48,4	42,7-54,7
cFluor V450	46,8	49,5	46,7	47,7	42,7-54,7

10.2. Precisión intralote

Se tiñeron 10 réplicas de tubos con el mismo lote de cada reactivo conjugado de CD4-cFluor y se analizaron en un citómetro de flujo Northern Lights™ de Cytek. Se calculó el CV del porcentaje de linfocitos T CD4+ y estuvo dentro de los criterios de aceptación.

Muestra: sangre normal	Porcentaje de linfocitos T CD4+		
CD4-Fluorocromo	Promedio (%)	% CV	Criterios
cFluor B515	25,4	3,02	CV ≤15 %
cFluor B532	46,9	1,07	CV ≤8 %
cFluor B548	46,8	1,34	
cFluor BYG781	48,2	1,64	
cFluor R668	48,2	1,40	
cFluor R720	47,3	1,27	
cFluor V450	50,3	1,60	

10.3. Precisión entre lotes

Se tiñeron 3 réplicas de tubos con tres lotes de cada reactivo conjugado de CD4-cFluor y se analizaron en un citómetro de flujo Northern Lights™ de Cytex. Se calculó el CV del porcentaje de linfocitos T CD4+ y estuvo dentro de los criterios de aceptación.

Muestra: CD-CHEX PLUS	Porcentaje de linfocitos T CD4+		
CD4-Fluorocromo	Promedio (%)	% CV	Criterios
cFluor B515	43,3	5,37	CV ≤8 %
cFluor B532	46,7	1,19	
cFluor B548	47,5	1,15	
cFluor BYG781	46,8	1,66	
cFluor R668	48,9	1,76	
cFluor R720	47,5	2,00	
cFluor V450	49,9	1,37	

10.4. Estabilidad de la tinción

Se tiñeron 3 réplicas de tubos con el mismo lote de cada reactivo conjugado de CD4-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 linfocitos T CD4+ 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 linfocitos T CD4+					
CD4-Fluorocromo	Promedio (%)	Diferencia relativa frente a 2 h				Criterios
		6 h	24 h	48 h	72 h	
cFluor B515	48,3	0,14 %	1,75 %	2,83 %	3,22 %	Diferencia relativa ≤10 %
cFluor B532	47,0	0,15 %	0,99 %	2,05 %	3,01 %	
cFluor B548	47,1	1,10 %	0,04 %	0,52 %	0,66 %	
cFluor BYG781	48,2	-1,05 %	1,79 %	0,14 %	NA	
cFluor R668	46,2	4,46 %	5,64 %	6,89 %	7,28 %	
cFluor R720	47,4	2,05 %	3,55 %	0,58 %	0,33 %	
cFluor V450	47,6	-0,57 %	3,17 %	3,57 %	3,94 %	

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 cada reactivo conjugado de CD4-cFluor y se analizaron en un citómetro de flujo Northern Lights™ de Cytex. La mediana del porcentaje de linfocitos T CD4+ de cada dilución se comparó con la mediana del porcentaje de linfocitos T CD4+ en todos los niveles y se calculó la diferencia relativa, que estuvo dentro de los criterios de aceptación.

Muestra: CD-CHEX PLUS	Porcentaje de linfocitos T CD4+					
CD4-Fluorocromo	Diferencia relativa frente a 2 h					Criterios
	Sin diluir	Dilución 2X	Dilución 4X	Dilución 8X	Dilución 16X	
cFluor B515	1,50 %	-0,37 %	1,78 %	-1,08 %	-3,10 %	Diferencia relativa ≤10 %
cFluor B532	0,79 %	0,00 %	0,80 %	-0,09 %	-0,13 %	
cFluor B548	0,73 %	0,18 %	0,52 %	0,66 %	-1,37 %	
cFluor BYG781	0,69 %	1,57 %	1,29 %	-1,98 %	-0,71 %	
cFluor R668	-2,74 %	0,34 %	-0,36 %	1,40 %	1,22 %	
cFluor R720	1,45 %	1,17 %	0,25 %	-0,86 %	-2,42 %	
cFluor V450	1,62 %	0,78 %	0,53 %	-0,53 %	-3,89 %	

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, que 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

- Evans RL, *et al.* 1981. Immunol. 78:544
- Muench M, *et al.* 1997. Blood 89:1364
- Arno A *et al.* 1999. J. Infect. Dis. 180:56

¹cFluor[®] B515, cFluor[®] B532, cFluor[®] B548, cFluor[®] R668 y cFluor[®] R720 son equivalentes a CF[®] 488A, CF[®] 503R, CF[®] 514, CF[®] 647 y CF[®] 700, respectivamente, fabricados y suministrados por Biotium, Inc. bajo un acuerdo entre Biotium y Cytex (LICENCIATARIO). La fabricación, el uso, la oferta de venta o la importación del producto están cubiertas por una o varias de las patentes o solicitudes pendientes propiedad o con licencia de Biotium. La compra de este producto incluye una excepción de jurisdicción limitada y no transferible bajo las reivindicaciones de las patentes antes mencionadas sobre el uso de esta cantidad de producto exclusivamente para la investigación interna del propio comprador. Por el presente documento no se otorga (ni expresa ni implícitamente ni por doctrina de actos propios) ningún derecho derivado de otra solicitud de patente, ni tampoco ningún derecho a emplear métodos patentados o a prestar servicios comerciales de cualquier tipo, incluyendo (a título orientativo, no exhaustivo) la notificación de resultados de actividades del comprador a cambio de honorarios u otras contraprestaciones comerciales.

²cFluor[®] BYG781 es un fluorocromo en tándem fabricado con R-PE. Precaución: Los fluorocromos en tándem pueden mostrar cambios en su espectro de emisión con la exposición prolongada a la luz o a fijadores.