



SZABO SCANDIC

Part of Europa Biosite

Produktinformation



Forschungsprodukte & Biochemikalien



Zellkultur & Verbrauchsmaterial



Diagnostik & molekulare Diagnostik



Laborgeräte & Service

Weitere Information auf den folgenden Seiten!
See the following pages for more information!



Lieferung & Zahlungsart

siehe unsere [Liefer- und Versandbedingungen](#)

Zuschläge

- Mindermengenzuschlag
- Trockeneiszuschlag
- Gefahrgutzuschlag
- Expressversand

SZABO-SCANDIC HandelsgmbH

Quellenstraße 110, A-1100 Wien

T. +43(0)1 489 3961-0

F. +43(0)1 489 3961-7

mail@szabo-scandic.com

www.szabo-scandic.com

[linkedin.com/company/szaboscandic](https://www.linkedin.com/company/szaboscandic) 

Product: PE Anti-Human CD2

Cat. Ref: 2PE-100T

Reagent provided: 100 test (20µl/test)

Description: Mouse Monoclonal Anti-Human CD2 PE is recommended for use in flow cytometry for identification of peripheral T lymphocytes and 90% of the thymocytes. The conjugate is provided in aqueous buffered solution containing protein stabilizer, and $\leq 0.09\%$ sodium Azide

Clone: TP1/31

Isotype: IgG1

Fluorochrome: R-Ficoeritrina (Europa Bioproducts, Ely, Cambridge)



FINALIDAD PREVISTA.

CD2 PE es un anticuerpo monoclonal conjugado que se puede usar para enumerar los linfocitos CD2 + en sangre periférica humana por citometría de flujo.

RESUMEN TECNICO.

Reactividad: El anticuerpo monoclonal clon TP1 / 31 se dirige contra el antígeno CD2, que se expresa en los linfocitos T humanos. El anticuerpo monoclonal CD2 reacciona con todos los linfocitos T periféricos humanos y el 90% de los timocitos. Este anticuerpo bloquea la formación en roseta de los linfocitos T humanos con eritrocitos de oveja.

Especificidad: Es una proteína de 50 kD MW que identifica el antígeno de superficie de linfocitos que expresan CD2. El antígeno se expresa en todos los linfocitos T de sangre periférica, la mayoría de los timocitos y células malignas de origen de células T. las células B normales, monocitos o granulocitos no expresan el antígeno CD2 superficie.

RELEVANCIA CLÍNICA

El anticuerpo monoclonal CD2 de IMMUNOSTEP también puede ser utilizado como marcador en la evaluación de neoplasias malignas linfoidesya que se expresa tanto en la mayoría de los precursores de los linfomas como de las leucemias. En algunas poblaciones neoplásicas de células T por ejemplo, en los linfomas periféricos de células T, el CD2 se puede eliminar de manera aberrante.

PRINCIPIOS DE LA PRUEBA.

El anticuerpo monoclonal CD2 de IMMUNOSTEP conjugado en PE se une a la superficie de células que expresan el antígeno CD2. Para identificar estas células, se incuban leucocitos de sangre periférica con el anticuerpo y se lisan los glóbulos rojos antes de lavar para eliminar el anticuerpo no unido. Se añade una solución de fijación apropiada a células lisadas y lavadas antes de que las células teñidas y fijadas sean analizadas por citometría de flujo con un láser de iones de argón a 488 nm.

REACTIVOS

DESIGNACIÓN DEL CLUSTER

Clon

Isotipo

Especies

Composición

Fuente

Método de purificación

Fluorocromo

Longitud de onda de excitación

Longitud de onda de emisión

Composición molar

contenido del vial

Preparación del reactivo

CD2

TPI/3I

IgG1

Mouse

IgG1 cadena pesada

Kappa cadena ligera

Células de hibridoma

Cromatografía de afinidad

Fluoresceína (FITC)

488 nm

575 nm

PE/proteína 1.0

Vial de 2 ml vial que contiene anticuerpo monoclonal conjugado en PE suficiente para 100 determinaciones de hasta 1×10^6 células.

El vial contiene proteína estabilizante y azida sódica $\leq 0.09\%$ a un pH de 7.2

Listo para usar

1. DECLARACIONES, AJUSTES Y ADVERTENCIAS.

- ☞ Los reactivos contienen azida sódica. Bajo condiciones ácidas, se transforma en ácido hidrazónico, un compuesto extremadamente tóxico. Los compuestos de azida deben ser disueltos con agua corriente antes de ser desechados. Estas condiciones son recomendadas para evitar depósitos en las tuberías, donde se podrían desarrollar condiciones explosivas.
- ☞ Debe evitarse la exposición a la luz. Use luz tenue durante la manipulación, incubación con células y antes del análisis.
- ☞ No pipetear con la boca.
- ☞ Las muestras deben tratarse de la misma manera que aquellas que pudiesen transmitir infecciones. Debe disponerse de los métodos apropiados para su manejo.
- ☞ El procedimiento de preparación de muestras emplea un fijador (formaldehído). Debe evitarse el contacto con la piel o membranas mucosas.
- ☞ No usar anticuerpos después de la fecha de caducidad establecida de los productos.
- ☞ Desviaciones de los procedimientos recomendados podrían invalidar los resultados de los análisis.
- ☞ PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*
- ☞ Sólo para uso profesional.

2. CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Fluorescein (PE) Keep in dark place at 2-8°C. DO NOT FREEZE.

**Note: it's been described stored conjugated monoclonal antibodies on PE at -20°C. This can affect to the conjugated intense.*

3. EVIDENCIAS DE DETERIORO.

Los reactivos no deben ser utilizados si se encuentra alguna evidencia de deterioro o de pérdida sustancial de la reactividad. Para más información, contacte con nuestro servicio técnico: tech@immunostep.com

- ☞ La apariencia normal del CD2 PE es la de un líquido transparente rosado. No deben aparecer precipitados ni presentar apariencia turbia.

4. RECOGIDA DE MUESTRAS.

La extracción de muestras de sangre venosa debe hacerse en tubos de recolección de sangre usando el anticoagulante apropiado (EDTA o heparina). Para resultados óptimos, la muestra debe ser procesada durante las 6 horas posteriores a la extracción. El EDTA, ACD o la heparina pueden utilizarse si la muestra de sangre es procesada para el análisis en las 30 horas posteriores a la extracción. ACD o heparina, pero no EDTA, pueden utilizarse si la muestra no se procesa durante las 30 horas posteriores a la extracción. Las muestras que no puedan ser procesadas en las 48 horas posteriores a la extracción deben ser descartadas.

Si las muestras de sangre venosa se recogen en ACD para análisis por Citometría de flujo, ha de tomarse otra muestra de sangre en EDTA si se requiere un CBC.

La sangre anticoagulada no procesada debe mantenerse a 20-25 °C antes del procesamiento de la muestra. Las muestras de sangre lisadas, coaguladas o aparentemente lipémicas, descoloreadas o que contengan sustancias que pudiesen interferir en el análisis, deberían ser descartadas.

Refiérase a "*Standard Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens*", publicado por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) para obtener mayor información en la recolección de sangres.

5. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Determine la viabilidad celular de una muestra de sangre recogida en el anticoagulante apropiado con EDTA, manteniéndola, hasta el momento de su uso, en frío. Para ello, use 7-actinomicina D (7-ADD) o yoduro de propidio (PI). Si la viabilidad celular no alcanza el 85%, debe descartarse la muestra.
2. Añadir 20 ul de CD2 PE a un tubo de poliestireno de 12 x 75 mm.
3. Añadir al tubo 100 ul de sangre anticuagulada o 1×10^6 células de la muestra a analizar y mezclar en un agitador.
4. Incubar la mezcla en oscuridad a temperatura ambiente (20-25° C) durante 15 minutos o refrigerado (2 – 8° C) durante 30 minutos.
5. Añadir la solución lisante de acuerdo a las instrucciones del fabricante en cada tubo y mezclar adecuadamente en un agitador.
6. Centrifugar a 540g durante 5 minutos. Aspirar adecuadamente el sobrenadante sin tocar las células precipitadas y descartarlo dejando aproximadamente 50 ul de fluido en el tubo.
7. Añadir 2 ml de 10 mM de PBS (es conveniente que la solución contenga el 0,5% de BSA) y resuspender las células. Mezclar correctamente.
8. Centrifugar a 540g durante 5 minutos. Aspirar adecuadamente el sobrenadante sin tocar las células precipitadas y descartarlo dejando aproximadamente 50 ul de fluido.
9. Resuspender el precipitado en el fluido apropiado para el Citómetro (ej. 0,3 ml de PBS con 0,5% de BSA) de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Analizar en un Citómetro de flujo o almacenar a 2-8° C en la oscuridad hasta su análisis. Las muestra deben ser adquiridas en las 3 horas siguientes a la lisis.

6. MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

Controles isotípicos:

IgG1 kappa de ratón conjugado en PE

Centrífuga.

Tubos de centrífuga de 12 x 75 de poliestireno

Micropipetas capaces de dispensar volumen de 5 µl, 20 µl, 100 µl y 500 µl

Tubos de recolección de sangre con anticoagulante

Buffer de fosfato salino (PBS)

7-ADD or PI 0.25% (w/v) en PBS para la determinación de la viabilidad celular

Solución de lisis

Solución de fijación (si se desea)

Citómetro de flujo

Cimómetro equipado con láser de (488 nm) y capaz de discriminar la emisión de 520 nm del resto (ej. Filtro dicróico 502LP y filtro de detección de 530/30BP)

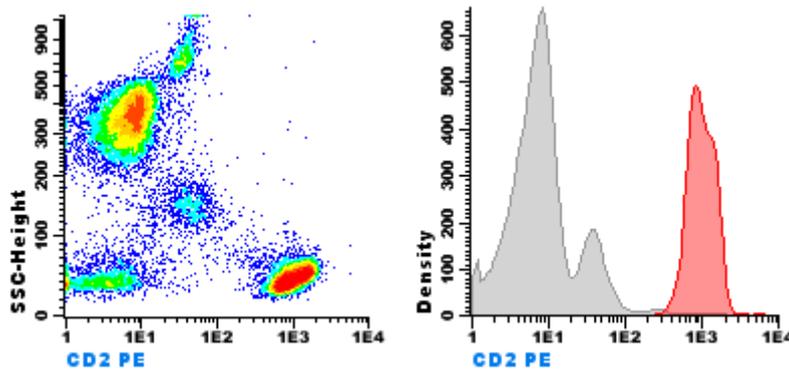
7. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

a. CITOMETRÍA DE FLUJO

Analice las células en un citómetro de flujo apropiado, con las características descritas anteriormente.

Recoger la fluorescencia atribuida al anticuerpo monoclonal CD2 conjugado con PE y determinar el porcentaje de células T marcadas. Se debe usar un control isotópico conjugado con PE, del mismo tipo de cadena pesada de inmunoglobulina y concentración que el CD2 para estimar y corregir la unión no específica de los linfocitos. Generar una región de análisis para eliminar el ruido de fondo de la fluorescencia y para incluir las células marcadas correctamente.

A continuación se muestra un ejemplo de representación del marcaje CD2 PE en sangre de paciente sano siguiendo el protocolo descrito en el punto 5.



La imagen es una representación biparamétrica de la intensidad media de fluorescencia y su complejidad interna para una muestra de sangre periférica de donante sano teñida un CD2 PE y lisada. La imagen de la derecha muestra la misma imagen en un histograma. Las células fueron adquiridas con un citómetro FACSCalibur (Becton Dickinson, San Jose, CA), usando el Cell Quest como software de adquisición

8. PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD.

La fluorescencia no específica de los controles isotípicos conjugados con FITC, OC515 y CF-Blue normalmente es menor del 2% en individuos normales. La fluorescencia no específica de los controles isotípicos conjugados con PE, PerCP y APC, y sus tandems, es normalmente menor de un 4% en individuos normales. Si los niveles de ruido excediesen estos valores, los resultados del test podrían incurrir en error. Niveles elevados de fluorescencia no específica podrían verse en algunos estados patológicos.

Se debe teñir una muestra de sangre de un donador normal y de otro que no lo sea, con los anticuerpos monoclonales CD45 Pan-linfocítico y CD14 Pan-monocítico, ya que al usar esta combinación, estos reactivos permiten la identificación de la región de análisis de los linfocitos; y así, distinguir linfocitos de monocitos, granulocitos, y células no lisadas o células de la serie roja nucleadas, o restos celulares.

Una muestra de sangre de un donante sano debe analizarse como control positivo en cada procesamiento diario, o bien tan frecuentemente como se necesite para asegurar unas condiciones de trabajo en el laboratorio correctas. Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos normales, ya que los valores obtenidos de muestras normales pueden variar entre dos laboratorios distintos.

Un control isotípico apropiado debería usarse como control negativo con cada muestra de pacientes para identificar la unión Fc no específica a los linfocitos, monocitos y granulocitos. Se debería llevar a cabo un análisis de la región para excluir la fluorescencia no específica identificada por el control isotípico, y para incluir la fluorescencia, más fuerte, de las poblaciones de linfocitos, monocitos y granulocitos, que se identifica por la especificidad del anticuerpo.

Consulte los manuales adecuados del citómetro de flujo y otras referencias disponibles para llevar a cabo una calibración apropiada del instrumento.

9. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. La incubación del anticuerpo con las células sin seguir los procedimientos recomendados puede concluir con una disminución o pérdida de los determinantes antigénicos de la superficie celular.
2. Los valores obtenidos de individuos normales pueden variar entre distintos laboratorios, por tanto, se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos de normalidad.
3. Las células anómalas o las líneas celulares pueden mostrar una mayor densidad antigénica que las células normales. Esto podría requerir, en algunos casos, el uso de una mayor cantidad de anticuerpo monoclonal de la que se indica en los procedimientos de preparación de la muestra.
4. Las muestras de sangre de donantes anómalos no siempre presentan valores anómalos en el porcentaje de linfocitos marcados con una cantidad dada de anticuerpo monoclonal. Los resultados obtenidos por el análisis con Citometría de flujo deberían considerarse en combinación con los resultados obtenidos con otras pruebas diagnósticas.
5. Cuando se use una muestra de sangre completa, los eritrocitos encontrados en algunos donantes anómalos, al igual que las células de la serie roja nucleadas (tanto de donantes anómalos como normales), pueden ser resistentes a la lisis por soluciones de lisis. Se pueden necesitar tiempos más largos de lisis de células rojas para evitar la inclusión de las células no lisadas en la región delimitada de los linfocitos.
6. Las muestras de sangre no deberían refrigerarse por un periodo excesivo (más de 24-30 horas). Para obtener mejores resultados, se debería mantenerse a temperatura ambiente minutos antes de la incubación con el anticuerpo monoclonal.
7. Los resultados más precisos con los procedimientos de Citometría de flujo dependen del alineamiento y calibración correcto de los láser, al igual que del establecimiento de las regiones (*gate*) correctas.
8. Debido a la variación entre los métodos de determinación absoluta de linfocitos entre distintos laboratorios, se necesita una estimación de la precisión del método usado.
9. Todos los resultados deben ser interpretados en su contexto clínico propio, con un inmunofenotipado completo y morfología celular que corrobore los resultados obtenidos en el Citómetro de flujo.

10. VALORES DE REFERENCIA.

Los elementos celulares de la médula ósea humana incluyen linfocitos, monocitos, granulocitos, eritrocitos y plaquetas.

Porcentaje de células nucleadas en la médula ósea

Tipo de células	Porcentaje
Progranulocitos	56,7
Neutrofilos	53,6
Mieloblastos	0,9
Promieloblastos	3,3
Promielocitos	12,7
Metamielocitos	15,9
Eosinofilos	3,1
Basofilos	<0,1
Proeritrocitos	25,6
Proeritroblastos	0,6
Basófilos eritroblastos	1,4
Eritroblastos policromáticos	21,6
Eritroblastos ortocromáticos	2
Megacariocitos	<0,2
Linfocitos	16,2
Células plasmáticas	2,3
Células reticulares	0,4

Porcentaje de células nucleadas en sangre periférica de un paciente sano.

Tipo celular	Porcentaje	Número de eventos por microlitro
Células rojas de la sangre		3,8 - 5,6 X10 ⁶ /μL
Plaquetas		150 - 450 X10 ³ /μL
Células blancas de la sangre		4.3 - 10.0 X10 ³ /μL
Neutrofilos	57 - 67 %	1,5 - 7.0 X10 ³ /μL
Linfocitos*	25 - 33 %	1.0 - 4.8 X10 ³ /μL
Células T	56 - 82 % de linfocitos	
Células T CD4+	60 % de células T	
Células T CD8+	40 % de células T	
Células NK	6 - 33% de linfocitos	
Células B	7.7 - 22% de linfocitos	
Monocitos	3 - 7 %	0.28 - 0.8 X10 ³ /μL
Eosinofilos	1 - 3 %	0.05 - 0,25 X10 ³ /μL
Basofilos	0 - 0,075 %	0,015 - 0,05 X10 ³ /μL
Reticulocitos	0,5 - 1,5 % del total de células rojas	

*Porcentaje de linfocitos en sangre periférica humana de un paciente sano es 20-47% (n=150)

No se han establecido los valores normales para pacientes pediátricos o adolescentes.

Los valores obtenidos de individuos normales podrían variar entre distintos laboratorios. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos de normalidad.

II. CARACTERISTICAS.

a. ESPECIFICIDAD

Las muestras de sangre se obtuvieron de donantes normales sanos de raza caucásica y se tiñeron con el anticuerpo monoclonal CD2 PE de IMMUNOSTEP. Se seleccionaron las células contenidas en las regiones de linfocitos, monocitos y granulocitos para el análisis. Las muestras de sangre se procesaron mediante un método de leucocitos, con una tinción de inmunofluorescencia directa para el análisis por citometría de flujo.

Para evaluar la especificidad del reactivo (reactividad cruzada con otras poblaciones celulares), se estudiaron 10 muestras de sangre de donantes sanos teñidas con un control isotópico adecuado y el AcMo para estudiar. Se evaluó el porcentaje de linfocitos, monocitos y granulocitos marcados con dicho AcMo. Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla:

Resumen de datos

Muestra	Linfocitos	Monocitos	Granulocitos
SPN1	82,22	11,44	0,84
SPN2	84,23	6,82	0,48
SPN3	79,78	10,78	0,41
SPN4	77,07	4,74	0,37
SPN5	69,38	11,96	1,00
SPN6	81,42	8,22	0,57
SPN7	67,6	7,80	0,33
SPN8	55,07	11,20	0,73
SPN9	81,98	8,86	0,47
SPN10	83,39	3,35	0,51
10	10	10	10

Estadística descriptiva

		Linfocitos	Monocitos	Granulocitos
N	Validos	10	10	10
	Perdidos	0	0	0
	Media	76,2140	8,5170	,5710
	Mediana	80,6000	8,5400	,4950
	Moda	55,07	3,35	,33
	Desviación stdr	9,39027	2,93032	,21815
	Varianza	88,17720	8,58680	,04759
	Rango			

b. SENSIBILIDAD

La sensibilidad del anticuerpo monoclonal CD2 de IMMUNOSTEP se determinó teñiendo una muestra de sangre de donantes sanos. Se realizaron diluciones de una muestra de sangre periférica para comprobar la escala de concentración de las células marcadas obtenidas. Los resultados muestran un excelente nivel de correlación entre los resultados obtenidos con los esperados en base a la dilución efectuada.

Para determinar la consistencia del anticuerpo monoclonal conjugado se estudiaron las diferencias frente a pequeñas variaciones (pero deliberadas). Los datos proporcionan una indicación de su fiabilidad durante su uso normal

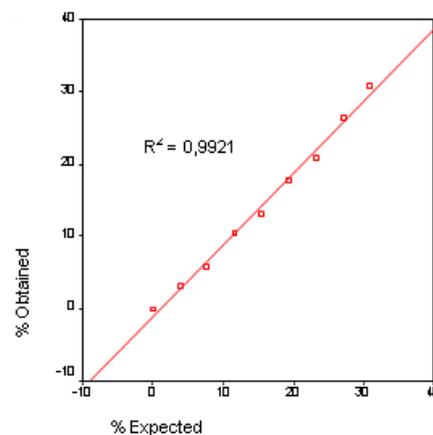
Resumen de datos

	Muestra	Dilución	Experados	Obtenidos
1	400µl A + 0µl B	100,00	30,93	30,93
2	350µl A + 50µl B	87,50	27,06	26,35
3	300µl A + 100µl B	75,00	23,19	20,82
4	250µl A + 150µl B	62,50	19,33	17,74
5	200µl A + 200µl B	50,00	15,46	13,03
6	150µl A + 250µl B	37,50	11,60	10,33
7	100µl A + 300µl B	25,00	7,73	5,65
8	50µl A + 350µl B	12,50	3,86	3,13
9	0µl A + 400µl B	,00	,00	,00
Total	N 9	9	9	9

Tabla resumen

Modelo	R	R ²	R ² ajustado	Error
1	,996 (a)	,992	,991	1,00862

a Predicción: (Constante), Experados



c. REPRODUCIBILIDAD

La reproducibilidad del anticuerpo monoclonal CD2 PE de IMMUNOSTEP, se determinó mediante la realización de 10 determinaciones o replicas de cada anticuerpo en cada uno de los tres rangos de CD2 +, alta, media y baja. Por lo tanto, se realizaron un total de 30 determinaciones para cada forma de CD2. De esta manera, la reproducibilidad se demostró a través de todo el rango de medición.

Las 10 determinaciones para cada gama se realizaron mediante el marcaje, procesamiento y análisis de 10 muestras independientes. Se seleccionaron los linfocitos para el análisis de porcentaje de células teñidas en cada uno de los tres rangos.

Para llevar a cabo este estudio, se obtuvo sangre anticoagulada a partir de un donante normal que expresa un alto porcentaje de células CD2 +, de valores medios y muestras de valores bajos que se obtuvieron mediante la mezcla de células CD2 conocidas en relaciones apropiadas, mientras se mantiene la misma concentración total de células para los tres rangos.

El estudio se realizó en cada uno de tres laboratorios independientes, de manera que cada laboratorio obtiene, marca y analiza muestras de sangre por separado.

Resumen datos

Muestra	Alto	Medio	Bajo
MUESTRA 1	32,74	20,83	3,51
MUESTRA 2	33,61	20	3,53
MUESTRA 3	32,26	19,96	3,83
MUESTRA 4	33,31	19,18	3,45
MUESTRA 5	32,99	19,7	3,46
MUESTRA 6	32,77	20,92	2,87
MUESTRA 7	34,64	19,79	3,42
MUESTRA 8	39,28	20,21	3,23
MUESTRA 9	36,24	20,98	3,26
MUESTRA 10	32,52	20,18	3,34
N 10	10	10	10

Estadística descriptiva

	N	Minimo	Maximo	Mean	Desviación std	Coef. variación
Altos	10	32,26	39,28	34,0360	2,19240	4,807
Medios	10	19,18	20,98	20,1750	,58443	,342
Bajos	10	2,87	3,83	3,3900	,24775	,061
Validos N	10					

12. BIBLIOGRAFIA.

1. Galocha B, López D, López de Castro JA. Clonal heterogeneity in LFA-3 and ICAM-1 requirement for lysis by alloreactive T lymphocytes. *J Immunol.* 1993 Mar 1;150(5):1653-62.
2. Orfao A, Ciudad J, González M. Flow cytometry in the diagnosis of cancer. *Scand J Clin Lab Invest* 1995;221:145-52.
3. Leong A, Cooper K, Leong F. *Manual of diagnostic antibodies for immunohistology*; London: Oxford University Press; 1999. p. 45-6.
4. Kato K. CD Guide CD2. 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. 748-9.
5. Kaleem Z, White G, Zutter MM. Aberrant expression of T-cell-associated antigens on B-cell non-Hodgkin lymphomas. *Am J Clin Pathol* 2001;115:396-403.
6. Thalhammer-Scherrer R, Mitterbauer G, Simonitsch I, Jaeger U, Lechner K, Schneider B, et al. The immunophenotype of 325 adult acute leukemias: relationship to morphologic and molecular classification and proposal for a minimal screening program highly predictive for lineage discrimination. *Am J Clin Pathol* 2002;117:380-9.